



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"  
Faculdade de Medicina Veterinária  
Câmpus de Araçatuba

**Carolina Eugênia Facion**

**Metástase e sobrevida no tratamento  
quimioterápico de osteossarcoma apendicular  
em cães: Revisão Sistemática**

**Araçatuba – São Paulo  
2017**

**Carolina Eugênia Facion**

**Metástase e sobrevida no tratamento  
quimioterápico de osteossarcoma apendicular  
em cães: Revisão Sistemática**

Trabalho Científico, como parte do Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação apresentado à Faculdade de Medicina Veterinária, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, câmpus de Araçatuba, para obtenção do grau de Médico Veterinário.

**Orientadora: Profa. Ass. Dra. MARIA CECÍLIA RUI LUVIZOTTO**

**Araçatuba – São Paulo  
2017**

### Catálogo na Publicação(CIP)

Facion, Carolina Eugênia

F137m

Metástase e sobrevida no tratamento quimioterápico de osteossarcoma apendicular em cães: revisão sistemática / Carolina Eugênia Facion.

Araçatuba: [s.n], 2017.  
31 f.

Trabalho de Conclusão de Curso – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Medicina Veterinária, 2017

Supervisor: Profa. Ass. Dra. Maria Cecília Rui Luvizotto

1. Tratamento farmacológico. 2. Cisplatino. 3. Carboplatina.  
4. Doxorrubicina. I. T.

CDD 636.8

Serviço de Biblioteca e Documentação – FMVA/UNESP

## **ENCAMINHAMENTO**

Encaminhamos o presente Trabalho Científico para que a Comissão de Estágios Curriculares tome as providências cabíveis.

---

**Carolina Eugênia Facion**

---

**Profa. Ass. Dra. MARIA CECÍLIA RUI LUVIZOTTO**  
**Orientadora**

**Araçatuba – São Paulo**  
**Junho / 2017**

## DEDICATÓRIA

*Dedico este trabalho a minha avó, por me ensinar o valor da simplicidade, do trabalho e da força que existe em todas as mulheres.*

*A minha mãe por me oferecer um mundo de oportunidades e por ser o exemplo vivo de luta, paciência e perseverança.*

*A minha orientadora por me ensinar o valor dos estudos.*

*A minha família, que nunca me abandonou nos momentos difíceis e frustrantes desta jornada.*

*Ao meu companheiro Guilherme, por acreditar em nós.*

*As meninas do Londres 31, por toda alegria compartilhada em nosso lar.*

## EPÍGRAFE

*“Eu não sou o que me acontece.  
Eu sou o que escolho me tornar.”  
Carl Gustav Jung*

# **METÁSTASE E SOBREVIDA NO TRATAMENTO QUIMIOTERÁPICO DE OSTEOSSARCOMA APENDICULAR EM CÃES: REVISÃO SISTEMÁTICA**

**Carolina Eugênia Facion**

## **RESUMO**

O osteossarcoma apendicular é uma neoplasia óssea maligna que acomete membros torácicos e pélvicos de cães de grande porte e gigante caracterizado por ser localmente invasivo e pela alta capacidade metastática. O diagnóstico por meio de biópsia permite graduar o tumor definindo o prognóstico. O tratamento de osteossarcoma canino ainda é um desafio na medicina veterinária. A conduta cirúrgica preconiza a amputação alta do membro acometido e, a associação com a quimioterapia demonstrou aumentar a sobrevida média dos cães portadores da doença. Este trabalho avaliou a eficácia quimioterápica da cisplatina, carboplatina e doxorrubicina no tratamento de osteossarcoma apendicular em cães por meio de artigos científicos disponíveis na base de dados PubMed. Após seleção, os trabalhos foram analisados e observou-se que o tratamento com carboplatina ofereceu sobrevida média de 479 dias, valor superior a cisplatina e doxorrubicina. Cães que receberam quimioterapia apresentaram intervalo livre de doença e sobrevida média superior aos tratados apenas com a amputação alta do membro acometido.

**Palavras-chave:** quimioterapia. cisplatina. carboplatina. doxorrubicina. cães. osteossarcoma.

# **METASTASIS AND SURVIVAL IN THE APPENDICULAR OSTEOSARCOMA CHEMOTHERAPY TREATMENT: SYSTEMATIC REVIEW**

**Carolina Eugênia Facion**

## **SUMMARY**

The appendicular osteosarcoma is a malignant bone tumor that affects thoracic and pelvic limbs of big and giant breeds of dogs; it is characterized by the locally invasive, and highly metastatic capacity. The definitive diagnosis through biopsy allows staging the tumor, and setting the prognosis. The treatment of canine osteosarcoma is still a challenge in veterinary medicine. The surgery handling advocates the complete amputation of the affected member, and the association with chemotherapy demonstrated increases the survival rate of the dogs with this disease. This paper evaluated the efficiency of cisplatin, carboplatin, and doxorubicin chemotherapy in the treatment of appendicular osteosarcoma in dogs through scientific articles on PubMed databases. After screening the papers were analyzed, and it was found that the treatment with carboplatin brought a 479 days of survival rate, that was a better value than the ones with cisplatin and doxorubicin. Dogs treated with chemotherapy showed a time free of the disease, and higher survival rates than the ones treated only with the complete amputation of the affected member.

**Palavras-chave:** chemotherapy. cisplatin. carboplatin. doxorubicin. dogs. osteosarcoma.

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Autores, ano de publicação e número de trabalhos selecionados em relação aos quimioterápicos cisplatina, carboplatina e doxorrubicina.....	17
<b>Tabela 2.</b> Média e porcentagem de sobrevida de cães submetidos à amputação e tratamento quimioterápico com cisplatina (Straw et al.,1991).....	19
<b>Tabela 3.</b> Sobrevida de cães (n=65) mediante variáveis: dose inicial, início da aplicação de carboplatina, interrupção do tratamento e motivo da interrupção (Samm DE et al., 2011).....	22
<b>Tabela 4.</b> Sobrevida dos cães tratados com carboplatina mediante variáveis dose inicial, número de ciclos, intervalo entre ciclos, idade, fosfatase alcalina sérica pré-operatória e local da neoplasia (Phillips et al., 2009).....	24
<b>Tabela 5.</b> Intervalo livre de doença e sobrevida média de cães com osteossarcoma apendicular submetidos a quimioterapia com carboplatina e sua associação com doxorrubicina (Skorupski et. al., 2013).....	28
<b>Tabela 6.</b> Intervalo livre de doença e sobrevida média dos artigos analisados.....	30

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

FA..... fosfatase alcalina  
n ..... número de animais  
OSA..... osteossarcoma apendicular

## SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	11
MATERIAL E MÉTODOS.....	13
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	15
CONCLUSÃO.....	28
REFERÊNCIAS.....	28

## INTRODUÇÃO

Dentre as neoplasias ósseas o osteossarcoma apendicular (OSA) representa 75% dos casos diagnosticados em cães (Dernell et al., 2007). Tal patologia é caracterizada pela proliferação de células mesenquimais primitivas malignas que produzem osteóide ou osso imaturo (Straw et al., 1996). É um tumor localmente invasivo com alta capacidade metastática (Mauldin et al., 1988) que afeta principalmente os membros torácicos nas regiões distal de rádio, distal de rádio e ulna e proximal de úmero e, menos frequente, em membros pélvicos nas regiões distal de fêmur e proximal de tíbia (Silveira et al., 2008).

As raças mais acometidas são Pastor Alemão, Rottweiler, Dogue Alemão, Dobermann, São Bernardo, Setter Irlandês, Golden Retriever e Fila Brasileiro (Daleck et al., 2006; Dernell et al., 2007). Segundo JONGEWARD et al. (1995) a probabilidade de um animal desenvolver osteossarcoma apendicular está mais relacionada ao peso do que a raça. Observa-se que animais acima de 36 quilos possuem maior chance de desenvolver OSA do que animais de até 10 quilos. Uma das justificativas é a sobrecarga constante em sítios adjacentes às fises de fechamento tardio, ou seja, animais mais pesados possuem predisposição relacionada à sobrecarga de trabalho a que os ossos longos estão submetidos, associada ao fechamento tardio de sua linha de crescimento, gerando pequenos e múltiplos traumas no local de maior atividade celular, a metáfise óssea. A sensibilização das células desta região pode induzir sua mutação através de sinais mitogênicos, aumentando a probabilidade do desenvolvimento de uma linhagem de células mutantes (Straw et al., 1996). Entretanto, a etiologia do osteossarcoma não está totalmente esclarecida.

Em relação ao sexo, machos e fêmeas são afetados, não existindo consenso literário que justifique uma possível predisposição sexual. Alguns autores afirmam incidência maior em machos (Spodnick et al., 1992; Straw et al., 1990) enquanto DERNELL et al. (2007) relata maior predisposição em fêmeas das raças Rottweiler, Setter Irlandês e São Bernardo. Cães castrados possuem duas vezes mais chances de desenvolver osteossarcoma do que cães inteiros (Ru et al., 1998). Um estudo realizado com 683 cães da raça Rottweiler submetidos a gonadectomia com idade inferior a um ano mostrou que estes possuem maior chance de desenvolver OSA,

sugerindo que os hormônios sexuais podem desempenhar um papel no desenvolvimento de tumores (Cooley et al., 2002).

A enfermidade ocorre principalmente em cães acima de 7,5 anos (Straw, 1996), mas há relatos em animais jovens, como PHILLIPS et al. (1986) que descreveu o aparecimento da doença em um cão filhote de seis meses de idade.

Os sinais clínicos relacionados com a neoplasia são dor, claudicação, aumento de volume do membro afetado e, em casos mais graves, impotência funcional. A dor é induzida por microfraturas e por danos ao periósteo devido à extensão tumoral no canal medular (Liu, et al., 1996; Straw et. al 1996).

O diagnóstico de osteossarcoma apendicular é baseado nos sinais clínicos, achados radiográficos, citopatologia e histopatologia (Loukopoulos et. al., 2007). A mensuração de fosfatase alcalina pode auxiliar o clínico na diferenciação desta neoplasia com outras neoplasias primárias (Boerman et al., 2012).

A radiografia é importante para avaliar a extensão da lesão e diferenciação das neoplasias ósseas de outras condições não neoplásicas como fraturas, osteomielite e doenças metabólicas (Whithrow et al., 1993). O aspecto radiográfico varia de lesões osteolíticas com bordas irregulares ou onduladas a lesões cujo contorno ósseo está alargado ao longo das trabéculas, como também elevação do periósteo, achado radiográfico presente em 95% dos casos de OSA. Esta alteração radiográfica é chamada de triângulo de Codman, que consiste na deposição de tecido ósseo reativo entre a superfície óssea e periósteo. Essas alterações são observadas em toda a extensão óssea, abrangendo regiões metafisárias e epifisárias. Independentemente do tipo de lesão é frequente observar lise cortical que varia de moderada a severa, podendo promover áreas de descontinuidade do córtex, causando fraturas espontâneas (Straw et al, 1996).

Na suspeita de osteossarcoma apendicular se faz necessário a avaliação radiográfica da região torácica para a pesquisa de metástases, visto que os pulmões são acometidos em 90% dos casos, porque constitui um resultado que interfere na conduta clínica e prognóstico (Mauldin et al., 1988; O'Brien et al., 1993).

Para a confirmação diagnóstica a histopatologia e citologia são necessárias (Wykes et al., 1985). O exame histopatológico fornece diagnóstico definitivo e graduação da lesão, permitindo o tratamento adequado (Cassone et al., 1996; Kirpensteijn et al., 2002), mas a biópsia incisional consiste em um procedimento

invasivo devido a necessidade de um fragmento maior para análise (Graça, 2007). Porém a citologia, com a utilização da técnica de punção aspirativa por agulha fina demonstrou eficiência diagnóstica em 83% dos casos, sendo uma técnica de baixo custo, simplicidade na coleta, além de causar menor dano ao paciente (Guedes et al., 2000).

Com o diagnóstico definitivo de osteossarcoma se faz necessário instituir o tratamento que envolve procedimentos cirúrgicos e a quimioterapia. Cães com OSA tratados com amputação alta do membro de forma isolada possuem tempo médio de sobrevida de quatro a seis semanas, vindo a óbito ou eutanasiados devido a metástases (Spodnick et al., 1988; Straw et al., 1991). A associação com técnicas medicamentosas, como a quimioterapia, interfere positivamente no período de sobrevida dos pacientes, que pode chegar a 64 semanas (Langova et al., 2004).

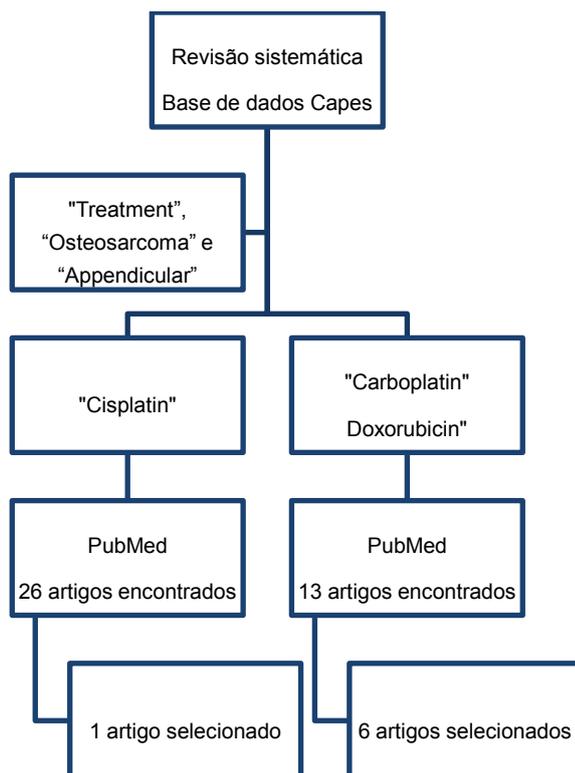
Devido à correlação na utilização de agentes quimioterápicos como método auxiliar no tratamento e índices prognósticos favoráveis se faz necessário avaliar quais medicamentos trazem melhores resultados. O objetivo deste trabalho foi o de avaliar o tempo médio de sobrevida de cães portadores de osteossarcoma apendicular submetidos aos tratamentos auxiliares com a utilização dos agentes quimioterápicos cisplatina, carboplatina e doxorrubicina além de avaliar a confiabilidade comprovada na literatura científica.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

Foi realizada uma revisão sistemática de literatura. O objetivo deste trabalho foi avaliar o tempo médio de sobrevida de cães com osteossarcoma apendicular mediante a associação do tratamento cirúrgico com a utilização dos agentes quimioterápicos cisplatina, carboplatina, doxorrubicina e associação entre eles. Avaliou-se a sobrevida dos animais doentes após o procedimento de amputação alta do membro acometido como única forma de tratamento ou em associação à quimioterapia. Para a confecção deste trabalho foram utilizados artigos obtidos através de uma base de dados (PubMed), sendo que o primeiro acesso aos documentos foi através do portal de periódicos Capes. Os critérios de seleção basearam-se na escolha de artigos científicos, escritos em inglês, disponíveis em texto completo de forma gratuita que abordavam a temática específica de tratamento

do osteossarcoma apendicular em cães e, em seguida realizou-se duas buscas por meio das palavras “treatment”, “osteossarcoma”, “apendicular”, “cisplatin”, “carboplatin”, “doxorubicin”. Não se utilizou como critério de seleção o ano de publicação dos artigos ou tipo de estudo.

A estratégia de busca inicial foi através do agente quimioterápico cisplatina, com 26 artigos encontrados e um selecionado. Esse método foi repetido nas demais buscas de carboplatina e doxorubicina, com 13 artigos encontrados e seis selecionados. Ao final, os documentos foram discutidos nesta revisão sistemática na tentativa de responder a questão inicial “Qual quimioterápico oferece maior sobrevida quando utilizado no tratamento auxiliar de osteossarcoma apendicular canino?”. Cabe destacar que os artigos científicos que apresentavam associação entre os quimioterápicos pesquisados foram selecionados. Analisou-se individualmente cada deles e, para concluir, os resultados foram comparados, e tabulados. O método de busca e achados estão elucidados na figura a Figura 1.



**Figura 1.** Seleção dos artigos científicos na base de dados.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

**Tabela 1.** Autores, ano de publicação e número de trabalhos selecionados em relação aos quimioterápicos cisplatina, carboplatina e doxorubicina.

Quimioterápico	Autores	Ano de publicação	Número de trabalhos
Cisplatina	Straw et al.	1991	1
	Saam DE et al.	2011	
Carboplatina	Phillips et al.	2009	2
Doxorrubicina	Moore AS et al.	2007	1
	Frimberger et al.	2016	
	Skorupski et al.	2013	
Carboplatina e doxorubicina	Bacon et al.	2008	3

A Tabela 1 demonstra o número de trabalhos encontrados na literatura referente aos quimioterápicos utilizados na terapia auxiliar do osteossarcoma apendicular em cães entre os anos de 1991 a 2016. É possível observar que a cisplatina foi fármaco precursor no tratamento quimioterápico adjuvante, enquanto os artigos científicos referentes a carboplatina e doxorubicina são recentes representando 85,71%. As publicações recentes, como FRIMBERGER et al (2016), testam a efetividade de quimioterápicos utilizados de forma isolada e em associação, na busca por um protocolo ideal no tratamento de osteossarcoma apendicular. Ao realizar a busca por artigos científicos notou-se certa dificuldade quanto sua utilização em cães, pois a maioria dos trabalhos é voltada a medicina humana, dificultando o estudo.

A cisplatina foi o primeiro quimioterápico a ser estudado no tratamento de osteossarcoma canino. O mecanismo de ação deste fármaco consiste na sua ligação ao DNA celular e indução de apoptose pela inibição da transcrição e replicação do DNA. O principal efeito adverso da cisplatina é a toxicidade renal, por este motivo se faz necessário uma fluidoterapia pré e uma após o tratamento, independentemente do protocolo utilizado segundo referido por BERG et al. (1996). O uso da cisplatina foi substituído por outros quimioterápicos como carboplatina e

doxorubicina e associação de ambos, visto que novos estudos demonstraram efeitos promissores quanto à maior sobrevida.

Dentre os trabalhos que correlacionavam o uso da cisplatina como forma de tratamento auxiliar para osteossarcoma apendicular, um foi selecionado principalmente pela qualidade do estudo e confiabilidade de dados, apesar do ano de publicação. O artigo foi publicado em 1991 na revista "Journal of Veterinary Internal Medicine" com o título "Amputation and cisplatin for treatment of canine osteosarcoma" por STRAW et al. Para elaborar o estudo, foram selecionados 71 cães que deram entrada no departamento de medicina veterinária com diagnóstico confirmado de osteossarcoma apendicular (setor de clínica cirúrgica de pequenos animais) por meio de exame histopatológico., na Universidade de Michigan (Michigan State University) no período de março de 1986 a janeiro de 1988.

Os cães foram agrupados de acordo com o tratamento recebido em três grupos distintos. O primeiro, composto por 17 cães foram tratados com amputação alta do membro acometido, isto é, com a desarticulação escapuloumeral para membros torácicos e coxofemoral para membros pélvicos. Após 18 dias de cirurgia os animais retornaram ao para a aplicação da primeira dose de quimioterapia, com cisplatina intravenosa na dose de 70 mg/m<sup>2</sup> durante 48 horas de fluidoterapia com ringer lactato e tratamento de suporte para vômito com clorpromazina. Após 21 dias do primeiro protocolo quimioterápico foi realizada a segunda e última aplicação de cisplatina respeitando a mesma dose e tempo de fluidoterapia.

No segundo grupo, 19 cães foram submetidos à amputação do membro acometido associado a quimioterapia de forma pré e pós-operatória. A administração de cisplatina foi realizada no momento do diagnóstico histológico, ou seja, 22 dias antes do procedimento cirúrgico e uma segunda dose quatro horas após a amputação do membro, utilizando o fármaco na dose de 70mg/m<sup>2</sup> de forma intravenosa e hidratação na prevenção de danos renais durante 6 horas após a quimioterapia.

O terceiro grupo de estudo, composto por 35 cães, recebeu procedimento cirúrgico de amputação do membro acometido como forma isolada de tratamento para o osteossarcoma apendicular. Todos os animais do experimento foram submetidos a retornos periódicos com intervalo de 30 a 40 dias, para avaliação clínica, bioquímica sérica dosando fosfatase alcalina, avaliação radiográfica dos

demais membros e região torácica para a pesquisa da possibilidade dos animais desenvolverem metástases. Os cães que receberam outros tratamentos adicionais durante o experimento foram excluídos. Os resultados deste estudo foram avaliados, tabelados e discutidos a seguir.

**Tabela 2.** Média e porcentagem de sobrevida de cães submetidos à amputação e tratamento quimioterápico com cisplatina (Straw et al., 1991).

Protocolo		Sobrevida (dias)	Após 1 ano	Após 2 anos	
Amputação do membro acometido e cisplatina 70mg/m <sup>2</sup> , IV	Pós-operatório	1° aplicação 18 dias pós operatório	226	38%	18%
		2° aplicação 39 dias pós operatório			
	Pré e pós-operatório	1° aplicação 22 dias pré operatório	177	43%	16%
		2° aplicação 4 horas pós operatório			
Amputação do membro		119	11%	4%	

Analisando a Tabela 2 foi verificado que o tempo médio de sobrevida dos cães submetidos aos protocolos que utilizaram a quimioterapia com cisplatina foi de 262 dias, não havendo diferença estatística significativa em ambos os tratamentos. A quimioterapia auxiliar quando comparada ao procedimento cirúrgico de amputação alta do membro com osteossarcoma apresentou maior tempo de sobrevida dos cães, estatisticamente significativo. Pode-se observar que animais submetidos à quimioterapia com cisplatina possuíam maior chance de sobreviver um ano após o tratamento instituído, enquanto cães tratados com amputação do membro de forma isolada apresentaram sobrevida inferior (11%), no mesmo período analisado.

Segundo STRAW et al. (1991), os animais foram submetidos a necropsia a fim de diagnosticar possíveis metástases e a *causa mortis*. Nos três protocolos instituídos, sete cães não apresentaram metástases do tumor, ou seja, em apenas 9,85% dos animais com osteossarcoma apendicular estudados não vieram a óbito devido a consequências da doença.

Desta forma é possível constatar a alta capacidade metastática do osteossarcoma em cães e a importância da cisplatina como um fármaco precursor no tratamento quimioterápico auxiliar. Os autores concluíram que a cisplatina elevou os índices prognósticos, mesmo com efeitos colaterais, motivando outros pesquisadores a iniciarem a busca por quimioterápicos com a capacidade de inibir o crescimento tumoral com mínimo dano ao organismo.

A carboplatina foi utilizada como adjuvante no tratamento de osteossarcoma apendicular canino demonstrando eficácia semelhante à cisplatina, com índice de sobrevida após um ano de tratamento de 35,4% (Bergman et al., 1991). A carboplatina é um composto derivado de platina, possuindo vantagens quando comparada à cisplatina devido à facilidade na administração, não necessitando de fluidoterapia auxiliar. Devido a efetividade comprovada, novos protocolos foram testados na tentativa de elevar os índices prognósticos. A carboplatina age no DNA celular através de ligações cruzadas nas duas cadeias, alterando a configuração da hélice e inibindo sua síntese independentemente da fase do ciclo celular. Pode ser utilizada de forma única ou em associação com outros agentes, como a doxorrubicina (Stewart, 2007).

A doxorrubicina é citada como fármaco empregado em associação à carboplatina por elevar o tempo médio de sobrevida dos cães portadores de osteossarcoma após a amputação do membro acometido. Enquanto SAMM DE et. al. (2011) relatam média de 277 dias de vida após o tratamento com carboplatina, esse período foi elevado para 320 dias com a utilização adjuvante de doxorrubicina (Bacon et. al, 2013). A doxorrubicina provoca a quebra das cadeias de DNA e afeta os processos de replicação e transcrição em consequência da ligação ao DNA em bases intercaladas e específicas, inibindo a síntese de DNA, RNA ou de ambos. O efeito citotóxico da doxorrubicina está correlacionado a inibição da topoisomerase II e formação de radicais livres responsáveis por fenômenos de stress oxidativo e peroxidação lipídica (Raj et al.; 2014).

Atualmente os quimioterápicos mais utilizados são carboplatina e doxorrubicina devido a maior tempo de sobrevida em cães diagnosticados com osteossarcoma apendicular. Foram selecionados três trabalhos a fim de avaliar a efetividade desses quimioterápicos utilizados de forma isolada no tratamento auxiliar de osteossarcoma apendicular canino.

O estudo “Predictors of outcome in dogs treated with adjuvant carboplatin for appendicular osteosarcoma: 65 cases (1996–2006)”, publicado na revista “Journal of Veterinary Internal Medicine” em 2011 pelos autores SAAM DE et. al avaliou a eficácia da carboplatina no tratamento auxiliar de osteossarcoma apendicular. Realizou-se um levantamento dos registros médicos dos anos de 1996 a 2006 nas universidades de Ontario e Wisconsin (“Ontario Veterinary College” e “University of Wisconsin Veterinary Medical Teaching Hospital”). Foram selecionados 65 cães diagnosticados com a doença por meio de histopatologia da biópsia pré-operatória e radiografia para a pesquisa de metástases. Apenas cães com ausência de metástase no momento diagnóstico foram incluídos no estudo.

Os protocolos quimioterápicos variaram de ciclos de 21 dias de carboplatina na dose de 300mg/m<sup>2</sup> intravenosa, a ciclos de 6 dias com dose inicial de 250mg/m<sup>2</sup> intravenosa e, na ausência de efeitos adversos, a dose foi alterada para 300mg/m<sup>2</sup>, num total de 286 doses de carboplatina iniciadas em períodos inferiores e superiores a 14 dias de pós-operatório. Houve certa variação em relação ao número de doses administradas em cada cão, devido à desistência por parte dos proprietários, em decorrência dos efeitos colaterais e diagnóstico de metástase. Os resultados estão apresentados na Tabela 3.

**Tabela 3.** Sobrevida de cães (n=65) mediante variáveis: dose inicial, início da aplicação de carboplatina, interrupção do tratamento e motivo da interrupção (Samm DE et al., 2011).

Variável		Número de animais	Sobrevida (dias)
Dose inicial	250mg/m <sup>2</sup>	22	224
	300mg/m <sup>2</sup>	43	304
Início da aplicação de carboplatina	≤ 14 dias após a amputação	30	273
	>14 dias após a amputação	34	238
Interrupção do tratamento quimioterápico	Sim	25	152
	Não	40	393
Motivo da interrupção do tratamento	Metástase	17	136
	Outras/preferência	8	360

Dos resultados apresentados, os autores concluíram que o tempo médio livre de doença foi de 137 dias e sobrevida de 277 dias, com 95% de confiabilidade. A porcentagem de cães que sobreviveram após um, dois e três anos foi respectivamente de, 36%, 22% e 19%. A análise estatística das variáveis: idade, raça, peso, sexo e estado reprodutivo não demonstrou correlação ao tempo de sobrevida dos cães, porém os autores não avaliaram o estágio de desenvolvimento da neoplasia.

Os autores afirmaram que a utilização da carboplatina no período inferior ou superior a 14 dias pós-operatório não mostrou diferença significativa. Houve variação em relação ao número de doses de carboplatina ocorreu devido a fatores financeiros, agressividade do tumor, efeitos colaterais intensos (vômito e diarreia) e por opção do proprietário. Desta forma, dois cães receberam apenas uma dose de carboplatina, seis cães, três doses; oito cães, quatro doses; 24 cães, cinco doses; seis cães, seis doses; 15 cães, sete doses; um cão, oito doses e dois cães, 12 doses. A interrupção do tratamento ocorreu em 25 cães, o que refletiu em sobrevida média de 152 dias, enquanto no tratamento completo a sobrevida foi de 393 dias. Os

17 animais que interromperam a quimioterapia mostraram metástases de osteossarcoma.

Deste modo, pode-se concluir que a carboplatina foi uma terapia auxiliar eficaz no tratamento de osteossarcoma apendicular em cão. Esse artigo científico evidencia como os protocolos se alteraram devido a fatores extrínsecos e intrínsecos da quimioterapia, sendo estes também responsáveis pelo sucesso, elevando os fatores prognósticos. Os autores concluíram que a administração de carboplatina foi bem aceita e resultou em intervalo livre de doença e tempo médio de sobrevivência semelhante ao descrito na literatura.

O artigo científico “Use of Single-Agent Carboplatin as Adjuvant or Neoadjuvant Therapy in Conjunction With Amputation for Appendicular Osteosarcoma in Dogs” publicado na revista “Journal of the American Animal Hospital Association” no ano de 2009, pelos autores PHILLIPS et. al avaliou a eficácia da carboplatina no tratamento auxiliar de osteossarcoma apendicular canino em 155 registros médicos no período de dezembro de 1991 a julho de 2001. Foram analisados prontuários de 14 centros de atendimento veterinário, cujo diagnóstico de osteossarcoma dos cães com aumento de volume e claudicação foi realizado por meio de radiografia do membro e confirmado pela biópsia.

A variação quanto aos protocolos apresentados no estudo foi justificada pelos autores devido aos dados coletados serem de diferentes instituições. Os protocolos variaram quanto ao número de ciclos de três a quatro de carboplatina intravenosa, início do tratamento auxiliar variando de pré-operatório até 25 dias após a cirurgia, nas doses de  $130\text{mg}/\text{m}^2$ ,  $292\text{mg}/\text{m}^2$ ,  $300\text{mg}/\text{m}^2$  e  $351\text{mg}/\text{m}^2$  e, no intervalo entre ciclos. Os resultados são demonstrados na Tabela 4.

**Tabela 4.** Sobrevida dos cães tratados com carboplatina mediante variáveis dose inicial, número de ciclos, intervalo entre ciclos, idade, fosfatase alcalina sérica pré-operatória e local da neoplasia (Phillips et al., 2009).

Variável		Número de animais	Sobrevida (dias)
Dose inicial de carboplatina (n=155)	<270mg/m <sup>2</sup>	17	297
	>270mg/m <sup>2</sup>	138	324
Número de ciclos de carboplatina (n=153)	3	25	233
	4	128	324
Intervalo entre ciclos (n=139)	<25 dias	97	324
	≥25 dias	42	297
Idade (n=155)	<5 anos	23	1263
	>5 anos	132	293
Fosfatase Alcalina sérica pré-operatória (n=138)	Normal	88	463
	Elevado	50	222
Local do tumor (n=155)	Região proximal de úmero	40	201
	Outros locais	115	366

Os autores constataram intervalo médio livre de doença de 256 dias, enquanto o tempo médio de sobrevida de 307 dias. A porcentagem de animais que sobreviveram após um, dois e três anos de tratamento foi 36,8%, 18,7% e 11%, respectivamente. Não houve correlação estatística quanto a sobrevida e a dose inicial, número e intervalo entre ciclos de carboplatina, entretanto quanto à idade, fosfatase alcalina sérica pré-operatória e localização do tumor houve diferença significativa. Nos 23 cães com idade inferior a cinco anos a sobrevida média foi de 1263 dias; os níveis de fosfatase alcalina pré-operatória diferiram quanto a sobrevida após tratamento visto que os 88 cães com níveis séricos classificados como “normal” apresentaram 463 dias de vida após o tratamento enquanto nos 50 cães classificados como “elevado” a sobrevida média foi de 222 dias e no que se refere à

localização a maioria (n=40) apresentou a região proximal de úmero como sítio primário do tumor. Dos 155 casos analisados 37 não completaram o tratamento em decorrência dos efeitos colaterais gastrointestinais como vômito e diarreia intensos. Foi atribuído à quimioterapia e seus efeitos colaterais como *causa mortis* em três cães.

Em conclusão a carboplatina demonstrou eficácia comprovada quando utilizada no tratamento adjuvante de osteossarcoma apendicular, confirmando estudos na literatura pertinente. Os resultados obtidos pelos autores revelaram sobrevida média semelhante a cisplatina.

O estudo “Doxorubicin and BAY 12-9566 for the Treatment of Osteosarcoma in Dogs: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Study” publicado na revista “Journal of Veterinary Internal Medicine” no ano de 2007, pelos autores MOORE AS et. al avaliou a eficácia da doxorubicina no tratamento auxiliar de osteossarcoma apendicular. Realizou-se um estudo randomizado, duplo-cego com 303 cães diagnosticados com osteossarcoma apendicular após biópsia e histopatologia. A ausência de metástases foi fundamental para incluir os cães no estudo. Apesar da associação com o BAY 12-9566, inibidor de metaloproteinases da matriz com atividade antiangiogênica, este artigo foi selecionado por demonstrar que tal medicamento não influenciou na sobrevivência dos cães.

O protocolo instituído foi de doxorubicina na dose de 30mg/m<sup>2</sup> intravenosa, cinco ciclos a cada duas semanas, com início 14 dias após o procedimento cirúrgico de amputação do membro acometido. Dos 303 cães selecionados 80 apresentaram metástases antes da randomização e 11 não completaram os cinco ciclos de doxorubicina, totalizando 212 cães analisados.

Os resultados obtidos evidenciaram tempo médio de sobrevida de 240 dias após tratamento. A porcentagem de cães que sobreviveram após um, dois e três anos foi de, respectivamente, 35%, 17% e 9%.

A avaliação cardíaca antes do tratamento é referida como de fundamental importância. Os autores relataram que todos os cães foram avaliados por meio de ecocardiografia antes de receberem quimioterapia, não encontrando alterações cardíacas. Após completa administração de doxorubicina 23 cães apresentaram contratilidade cardíaca diminuída associada a sinais clínicos de doença cardíaca e tempo médio para o desenvolvimento de cardiomiopatia de 126 dias, confirmando os

efeitos cardiogênicos da doxorubicina. Por este motivo os fatores prognósticos do tratamento utilizando esse quimioterápico estão relacionados aos efeitos colaterais e às características do tumor. Dos 23 cães, todos vieram a óbito devido a complicações do osteossarcoma apendicular.

Neste estudo a idade, peso e fosfatase alcalina sérica demonstraram correlação prognóstica. Os autores concluíram que a doxorubicina é um quimioterápico efetivo para o tratamento auxiliar de osteossarcoma apendicular com resultados semelhantes aos derivados de platina (cisplatina e carboplatina), nos animais sobreviventes.

É descrito a associação de carboplatina e doxorubicina interferindo positivamente no tratamento de osteossarcoma, por este motivo selecionou-se três artigos com a finalidade verificar a veracidade desta afirmação.

O artigo científico “Canine Osteosarcoma Treated by Post-Amputation Sequential Accelerated Doxorubicin and Carboplatin Chemotherapy: 38 Cases” publicado pelo “American Animal Hospital Association” no ano de 2016 pelos autores FRIMBERGER et al. analisou os registros médicos de cães tratados com a amputação do membro acometido associado ao tratamento auxiliar quimioterápico de carboplatina e doxorubicina no período de 2007 a 2013.

O diagnóstico da neoplasia foi realizado por meio de sinais clínicos e biópsia pré-operatória. Os cães foram submetidos a radiografias torácicas na pesquisa de metástases e apenas os resultados negativos foram incluídos no estudo, totalizando 38 casos. As condutas clínicas foram avaliadas e discutidas a seguir.

O protocolo quimioterápico teve início 14 dias após a amputação do membro acometido, usando doxorubicina intravenosa, na dose de 30mg/m<sup>2</sup> para cães acima de 15 quilos e 1mg/kg para cães abaixo deste peso, com intervalo de 14 dias, totalizando três ciclos. Após a terceira dose, aguardou-se 21 dias iniciando a segunda fase do tratamento com carboplatina intravenosa, na dose de 300mg/m<sup>2</sup> para cães com peso superior a 15 quilos e 250mg/m<sup>2</sup> para os cães abaixo deste peso, em um intervalo de 21 dias, totalizando três ciclos de carboplatina. Após quimioterapia os cães retornaram periodicamente para realização de radiografias torácicas na pesquisa de metástases.

O tempo médio de sobrevivência, desde o procedimento cirúrgico de amputação do membro até a data do óbito foi de 317 dias. A porcentagem de cães que

sobreviveram um e dois anos após o tratamento foi respectivamente de 43,2% e 13,9%. A carboplatina e doxorrubicina ofereceram sobrevida superior a 400 dias em 20% dos casos. O protocolo quimioterápico instituído foi realizado de maneira completa em 71% dos casos, sendo que os motivos de interrupção incluíram a progressão do tumor (metástases), fatores financeiros e efeitos colaterais gastrointestinais e cardíacos, representando 29% dos casos. Os cães que completaram o protocolo quimioterápico apresentaram sobrevida de 378 dias, com variação de 138–1446 dias. Em 33 cães, diagnosticados com osteossarcoma apendicular grau III, a sobrevida média foi de 317 dias, enquanto três cães com grau I da doença apresentaram média de 1120 dias de sobrevida, comprovando que o osteossarcoma é um tumor quimiossensível em seus estágios iniciais.

O tempo médio de sobrevida de cães tratados com carboplatina e doxorrubicina foi semelhante a outros protocolos descritos com o uso isolado dos quimioterápicos, não diferindo estatisticamente. Após a morte dos 38 cães observou-se que 82,1% vieram a óbito devido a consequências da doença. Os autores concluíram que, embora a quimioterapia seja útil na tentativa de prolongar a sobrevida dos cães com osteossarcoma apendicular, são necessárias novas pesquisas.

O estudo “Carboplatin versus alternating carboplatin and doxorubicin for the adjuvant treatment of canine appendicular osteosarcoma: a randomized, phase III trial” publicado pelo “Veterinary and Comparative Oncology” no ano de 2013 pelos autores SKORUPSKI et. al analisou o tratamento quimioterápico auxiliar por meio da utilização de carboplatina como único agente e em associação com doxorrubicina em 50 cães.

Cães diagnosticados com osteossarcoma apendicular por meio de biópsia e histopatologia foram encaminhados ao setor de radiologia e, excluído a existência de metástase pulmonar, foram agrupados ao acaso.

O primeiro grupo, composto de 25 cães, recebeu seis ciclos de carboplatina intravenosa na dose de 300mg/m<sup>2</sup> enquanto o segundo grupo recebeu o mesmo tratamento associado a três ciclos de doxorrubicina na dose de 30mg/m<sup>2</sup> intravenosa. Nos dois protocolos o intervalo entre ciclos foi de 21 dias. A média de intervalo entre a amputação do membro acometido e início da quimioterapia foi de 15 dias. Os resultados estão demonstrados na Tabela 5.

**Tabela 5.** Intervalo livre de doença e sobrevida média de cães com osteossarcoma apendicular submetidos a quimioterapia com carboplatina e sua associação com doxorrubicina (Skorupski et. al., 2013).

Protocolo	Intervalo livre de doença (dias)	Sobrevida (dias)	Após 1 ano	Após 2 anos	Após 3 anos
Carboplatina 300mg/m <sup>2</sup> IV, 6 ciclos com intervalo de 21 dias	425	479	52%	35%	15%
Carboplatina 300mg/m <sup>2</sup> IV, 6 ciclos com intervalo de 21 dias e doxorrubicina 30mg/m <sup>2</sup> , IV, 3 ciclos de 21 dias	135	287	20%	12%	12%

Em 32 casos foi realizado o protocolo completo, com sobrevida média de 300 dias, variando de 140-1125 dias. O intervalo livre de doença foi de 425 dias para cães tratados com carboplatina e 135 dias para cães tratados com carboplatina e doxorrubicina, com valores estatisticamente significativos para a carboplatina. A sobrevida média também variou significativamente, pois a carboplatina de forma isolada ofereceu 498 dias enquanto associada a doxorrubicina a sobrevida caiu para 287 dias. A metástase foi referida em 35 cães (70%). Dos cães que receberam carboplatina de maneira isolada 60% apresentaram metástase, enquanto em associação com doxorrubicina 80% apresentaram as consequências da metástase do osteossarcoma apendicular. Os efeitos tóxicos da quimioterapia foram observados em 11 casos e a sobrevida média foi de 147 dias, vindo a óbito em decorrência de metástases 43 cães ao término do estudo e a ausência de metástase foi observada em apenas três casos. Ao final do período de observação sete cães estavam vivos e sem sinais de metástase, no entanto não há referência sobre a quimioterapia empregada.

Skorupski et al. (2011) concluíram que o tratamento quimioterápico auxiliar de osteossarcoma apendicular utilizando somente a carboplatina forneceu intervalo livre de doença e tempo de sobrevida médio superiores ao tratamento deste fármaco em associação a doxorrubicina.

O artigo científico “Use of alternating administration of carboplatin and doxorubicin in dogs with microscopic metástases after amputation for apendicular osteosarcoma: 50 cases (1999–2006)” publicado pelo “Journal of the American Veterinary Medical Association ” no ano de 2008 pelos autores BACON et al. avaliou registros médicos de 50 cães diagnosticados com osteossarcoma apendicular.

O protocolo quimioterápico de carboplatina intravenosa na dose de 300mg/m<sup>2</sup> e doxorubicina intravenosa 30mg/m<sup>2</sup> a cada 21 dias forneceu intervalo livre de doença de 202 dias e sobrevida média de 258 dias, com 95% de confiabilidade. Cães que apresentaram efeitos colaterais cardíacos foram excluídos do programa, totalizando 29 (59%) ao final do experimento. Os autores afirmam que a doxorubicina não foi um quimioterápico eficaz no tratamento de osteossarcoma e que seus efeitos colaterais sobressaíram seus benefícios.

BACON et. al (2008) concluíram que o protocolo testado ofereceu intervalo livre de doença e sobrevida média semelhante ao descrito anteriormente na literatura e que os efeitos colaterais foram a principal causa de desistência por parte dos proprietários. Desta forma é possível observar que, mesmo efetivos, os quimioterápicos trazem malefícios ao organismo e muitos pacientes vem a óbito em decorrência dos efeitos colaterais.

A utilização da quimioterapia no tratamento auxiliar de osteossarcoma apendicular se mostrou efetiva e a busca pelo protocolo ideal justifica as pesquisas analisadas. É notória a qualidade dos artigos no que se diz respeito a inclusão e agrupamento de animais notando que trabalhos recentes possuem confiabilidade superior devido análise estatística empregada. O tempo livre de doença e sobrevida média dos sete artigos analisados estão na Tabela 6.

**Tabela 6.** Intervalo livre de doença e sobrevida média dos artigos analisados.

Quimioterápico	Autores	Intervalo livre de doença (dias)	Sobrevida média (dias)
Cisplatina	Straw et al (1991)	202	262
	Saam DE et al. (2011)	137	277
Carboplatina	Phillips et al. (2009)	256	277
	Frimberger et al. (2016)	425	498
Doxorrubicina	Moore et al. (2007)	-	240
Carboplatina e doxorubicina	Frimberger et al. (2016)	135	287
	Bacon et al. (2008)	202	258

## CONCLUSÃO

Os estudos clínicos e retrospectivos são de grande valor na análise da sobrevida de cães submetidos ao procedimento cirúrgico de amputação do membro acometido com osteossarcoma apendicular associada a tratamentos quimioterápicos. A quimioterapia analisada incrementa a sobrevida média e, dentre os quimioterápicos estudados a carboplatina foi o que apresentou melhores resultados quanto ao maior intervalo livre de doença e maior sobrevida média, com menor efeitos colaterais.

Metástases são relatadas como a principal *causa mortis* de cães com osteossarcoma, evidenciando a alta capacidade metastática da neoplasia e a necessidade de diagnóstico prévio, a fim de se elevar os índices prognósticos.

## REFERÊNCIAS

Bacon, Nicholas J. et al. Use of alternating administration of carboplatin and doxorubicin in dogs with microscopic metastases after amputation for appendicular osteosarcoma: 50 cases (1999–2006). *Journal of the American Veterinary Medical Association* 2008; v. 232, n. 10, p. 1504-1510, 2008.

Bailey, Dennis et al. Carboplatin and doxorubicin combination chemotherapy for the treatment of appendicular osteosarcoma in the dog. *Journal of veterinary internal medicine*, v. 17, n. 2, p. 199-205, 2003.

Berg, John. Canine osteosarcoma: amputation and chemotherapy. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, v. 26, n. 1, p. 111-121, 1996.

Bergman, Philip J. et al. Amputation and carboplatin for treatment of dogs with osteosarcoma: 48 cases (1991 to 1993). *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v. 10, n. 2, p. 76-81, 1996.

Boerman, Ilse et al. Prognostic factors in canine appendicular osteosarcoma—a meta-analysis. *BMC veterinary research*, v. 8, n. 1, p. 56, 2012.

Cassone, Alejandro Enzo; GONÇALVES, J. C.; AGUIAR, Simone. Eficácia da biópsia com agulha nos tumores ósseos. *Rev. bras. ortop*, v. 31, n. 11, p. 891-4, 1996.

Cooley, Dawn M. et al. Endogenous gonadal hormone exposure and bone sarcoma risk. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*, v. 11, n. 11, p. 1434-1440, 2002.

Daleck, Carlos Roberto et al. Estudo retrospectivo de osteossarcoma primário dos ossos da pelve em cães em um período de 14 meses. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v. 43, n. 1, p. 125-131, 2006.

Da Silveira, Patrícia Rodrigues et al. Estudo retrospectivo de osteossarcoma apendicular em cães. *Ciência Animal Brasileira*, v. 9, n. 2, p. 487-495, 2008.

Dernell, W. S. et al. *Withrow & MacEwen's Small animal clinical oncology*. St. Louis, Mo: Saunders Elsevier, p. 540-567, 2007.

Ehrhart, N. et al. Prognostic importance of alkaline phosphatase activity in serum from dogs with appendicular osteosarcoma: 75 cases (1990-1996). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 213, n. 7, p. 1002-1006, 1998.

Graça, Roberta Fraga. Citologia para clínicos: como utilizar esta ferramenta diagnóstica. *Acta Scientiae Veterinariae*, v. 35, n. Supl 2, p. 267-269, 2007.

Guedes, R. M. C. et al. Acurácia do exame citológico no diagnóstico de processos inflamatórios e proliferativos dos animais domésticos. *Arq. bras. med. vet. zootec*, v. 52, n. 5, 2000.

Jongerward, Sandra J. Primary bone tumors. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, v. 15, n. 3, p. 609-641, 1985.

Kent, Michael S. et al. Alternating carboplatin and doxorubicin as adjunctive chemotherapy to amputation or limb-sparing surgery in the treatment of appendicular osteosarcoma in dogs. *Journal of veterinary internal medicine*, v. 18, n. 4, p. 540-544, 2004.

Kirpensteijn, J. et al. Prognostic significance of a new histologic grading system for canine osteosarcoma. *Veterinary pathology*, v. 39, n. 2, p. 240-246, 2002.

Langova, V. et al. Treatment of eight dogs with nasal tumours with alternating doses of doxorubicin and carboplatin in conjunction with oral piroxicam. *Australian veterinary journal*, v. 82, n. 11, p. 676-680, 2004.

Liu, S.-K. et al. Primary and secondary bone tumours in the dog. *Journal of Small Animal Practice*, v. 18, n. 5, p. 313-326, 1977.

Loukopoulos, P., and W. F. Robinson. "Clinicopathological relevance of tumour grading in canine osteosarcoma." *Journal of comparative Pathology* 136.1 (2007): 65-73.

Mauldin, Guy Neal et al. Canine osteosarcoma. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v. 2, n. 4, p. 177-180, 1988.

Moore, Antony. FEATURES-Osteosarcoma in dogs: Managing a destructive disorder-This most common bone tumor in dogs is debilitating and deadly. By choosing the right therapy, you can increase a patient's. *Veterinary Medicine*, v. 96, n. 7, p. 539-547, 2001.

Moore, Antony S. et al. Doxorubicin and BAY 12–9566 for the Treatment of Osteosarcoma in Dogs: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Study. *Journal of veterinary internal medicine*, v. 21, n. 4, p. 783-790, 2007.

O'Brien, M. G. et al. Resection of pulmonary metastases in canine osteosarcoma: 36 cases (1983–1992). *Veterinary Surgery*, v. 22, n. 2, p. 105-109, 1993.

Patel, Sandhiya et al. Identification of yeast DNA topoisomerase II mutants resistant to the antitumor drug doxorubicin: implications for the mechanisms of doxorubicin action and cytotoxicity. *Molecular pharmacology*, v. 52, n. 4, p. 658-666, 1997.

Phillips, Brenda et al. Use of single-agent carboplatin as adjuvant or neoadjuvant therapy in conjunction with amputation for appendicular osteosarcoma in dogs. *Journal of the American Animal Hospital Association*, v. 45, n. 1, p. 33-38, 2009.

Phillips, Lesley et al. Osteosarcoma with a pathologic fracture in a six-month-old dog. *Veterinary Radiology & Ultrasound*, v. 27, n. 1, p. 18-19, 1986.

Raj, Shashi; Franco, Vivian I.; Lipshultz, Steven E. Anthracycline-induced cardiotoxicity: a review of pathophysiology, diagnosis, and treatment. *Current treatment options in cardiovascular medicine*, v. 16, n. 6, p. 315, 2014.

RU, G.; TERRACINI, B.; GLICKMAN, L. T. Host related risk factors for canine osteosarcoma. *The Veterinary Journal*, v. 156, n. 1, p. 31-39, 1998.

Samm, Dianna E. et al. Predictors of outcome in dogs treated with adjuvant carboplatin for appendicular osteosarcoma: 65 cases (1996–2006). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 238, n. 2, p. 195-206, 2011.

Selmic, L. E. et al. 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, p. 554-563, 2014.

Shapiro, W. et al. Use of cisplatin for treatment of appendicular osteosarcoma in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 192, n. 4, p. 507-511, 1988.

Spodnick, G. J. et al. Prognosis for dogs with appendicular osteosarcoma treated by amputation alone: 162 cases (1978-1988). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 200, n. 7, p. 995-999, 1992.

Stewart, David J. Mechanisms of resistance to cisplatin and carboplatin. *Critical reviews in oncology/hematology*, v. 63, n. 1, p. 12-31, 2007.

Straw, Rodney C. et al. Amputation and cisplatin for treatment of canine osteosarcoma. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v. 5, n. 4, p. 205-210, 1991.

Straw, Rodney C.; WITHROW, Stephen J. Limb-sparing surgery versus amputation for dogs with bone tumors. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, v. 26, n. 1, p. 135-143, 1996.

Straw, Rodney C.; WITHROW, Stephen J.; POWERS, Barbara E. Management of canine appendicular osteosarcoma. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, v. 20, n. 4, p. 1141-1161, 1990.

Whithrow, S. J. et al. Intra-arterial cisplatin with or without radiation in limb-sparing for canine osteosarcoma. *Cancer*, v. 71, n. 8, p. 2484-2490, 1993.

Wykes, P. M. et al. Closed biopsy for diagnosis of long bone tumors: accuracy and results. *The Journal of the American Animal Hospital Association (USA)*, 1985.