

## Sarcoma estromal esplênico em canino da raça labrador

Splenic Stromal Sarcoma in a Labrador Dog

Mateus de Melo Lima Waterloo<sup>1</sup>, Mirza Pessoa de Miranda<sup>2</sup>, Liana Mesquita Vilela<sup>2</sup>,  
Allynneide Emannuely da Silva Rodrigues<sup>2</sup>, Gabriela de Souza Borba<sup>2</sup>, Rogério de Holanda Teixeira<sup>2</sup>,  
Andrea Alice da Fonseca Oliveira<sup>3</sup> & Márcia de Figueiredo Pereira<sup>3</sup>

### ABSTRACT

**Background:** Splenic stromal neoplasms are a heterogeneous group of tumors that shares the morphology of spindle cells, and are considered a primary mesenchymal neoplasm of the spleen. Among these neoplasms, some are as yet unclassified. Although stromal neoplasms represent 25 a 50% of dog splenic neoplasms in dogs, subtypes rarely occur alone. As these neoplasms are difficult to diagnose in the routine veterinary medical examination, the objective of this article was to report a case of splenic stromal sarcoma in a dog treated at a private veterinary hospital in Recife, Pernambuco, Brazil.

**Case:** An 8-year-old male labrador dog was treated at a veterinary hospital for an initial clinical suspicion of gastroenteritis. Clinical examinations showed anemic ocular mucosa and a distended abdomen. Considering the animal's condition, blood count, serum biochemistry, and abdominal ultrasonography (US) were requested. The laboratory tests revealed anemia, thrombocytopenia, leukocytosis with neutrophilia, and changes in the indices of alanine aminotransferase (ALT) and alkaline phosphatase (ALP), among other findings. Abdominal ultrasound showed hepatomegaly, diffuse splenomegaly, a neof ormation in the spleen suggestive of splenic neoplasia, and mild cystic prostatic hyperplasia. The dog underwent exploratory laparotomy with splenectomy. During the procedure, a nodule was found attached to the spleen. It was removed, fixed in a 10% neutral buffered formalin solution, and sent for histopathological and immunohistochemical examinations (vimentin, S100, desmin, MyoD1, HHHF35, CD31, and alpha smooth muscle actin). The histopathological diagnosis was poorly differentiated spindle cell splenic sarcoma, compatible with splenic stromal sarcoma. Immunohistochemistry showed neoplastic cells immunoreactive for vimentin and S100, and it was not reactive for other markers. Based on the immunohistochemical and morphological profile, the diagnosis of splenic stromal sarcoma was confirmed.

**Discussion:** Dogs affected by splenic neoplasms are generally aged between three and 17 years, and clinically present with anorexia, emesis, lethargy, weight loss, and abdomen distension, which were observed in the present case. However, a purely clinical diagnosis is disputable, since other diseases can present the same signs. Thus, complementary exams are essential for a correct diagnosis. Laboratory changes in blood count and serum biochemistry are considered nonspecific for splenic neoplasms, with neutrophilic leukocytosis and anemia being consistent with paraneoplastic syndromes frequently diagnosed in small animals. Microscopically, splenic stromal sarcomas are characterized by focal splenic nodules composed of cohesive polygonal to spindle-shaped cell layers. The cells usually exhibit anisokaryosis and often have large oval to round vesicular nuclei and, occasionally, multinucleated cells. They have large areas of necrosis, diffuse or nodular lymphoid aggregates, and foci of extramedullary hematopoiesis, consistent with the histopathological examination reported in the present case. The immunohistochemical analysis included evaluation of seven markers to elucidate the histogenesis of the neoplasm, with the anti-vimentin and anti-S100 markers demonstrating positive cytoplasmic immunoreactivity, revealing the mesenchymal origin of the neoplasm. Thus, the definitive diagnosis was splenic stromal sarcoma, a rare and aggressive neoplasm.

**Keywords:** spleen, histopathology, immunohistochemistry, neoplasm.

**Descritores:** baço, histopatologia, imunohistoquímica, neoplasia.

DOI: 10.22456/1679-9216.116608

Received: 19 July 2021

Accepted: 6 October 2021

Published: 30 November 2021

<sup>1</sup>Residência em Anatomia Patológica Veterinária, Universidade Federal Fluminense (UFF), Niterói, RJ, Brazil. <sup>2</sup>M.V. Autônomos, Recife, PE, Brazil.

<sup>3</sup>Área de Patologia, Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Recife. CORRESPONDENCE: M.M.L. Waterloo [mateuswaterloo@icloud.com]. Av. Almirante Ary Parreiras n. 503. CEP 24220-000 Niterói, RJ, Brazil.

## INTRODUÇÃO

As neoplasias estromais esplênicas compõem um grupo heterogêneo de tumores que compartilham a morfologia de células fusiformes, incluindo formas benignas e malignas, e são consideradas neoplasias mesenquimais primárias do baço, algumas ainda não classificadas [20].

O exame histopatológico é essencial para obtenção do correto diagnóstico e estabelecimento do prognóstico em cães acometidos por estas neoplasias. Nessa perspectiva, a análise imuno-histoquímica (IHQ) destaca-se como ferramenta diagnóstica auxiliar, permitindo a diferenciação entre os diversos tipos histológicos inseridos neste grupo relacionando-os ao prognóstico do animal [13,20].

Embora as neoplasias estromais representem 25 a 50% dos tumores esplênicos do cão, os subtipos, isoladamente, são pouco frequentes. Dentre os mais frequentes, destacam-se as variantes malignas, sendo mais relatados os fibrossarcomas e leiomiossarcomas. Há, porém, muitos relatos de neoplasias estromais esplênicas relacionadas a sarcomas indiferenciados, em virtude das dificuldades de estabelecer sua tipificação [20].

Assim, por se tratar de uma neoplasia de difícil diagnóstico na rotina médica veterinária e pela importância deste para o prognóstico, objetivou-se relatar um caso de sarcoma estromal esplênico em um cão, atendido em um Hospital Veterinário particular, localizado na Região Metropolitana do Recife (RMR), Pernambuco, Brasil.

## CASO

Foi atendido em um Hospital Veterinário particular da RMR um cão, labrador, macho, 8 anos, com histórico de apatia, inapetência, êmese e distensão abdominal, com suspeita clínica inicial de gastroenterite.

Ao exame clínico, foram observadas mucosas oculares anêmicas e abdômen distendido. Diante do quadro, o animal foi encaminhado para a realização de exames complementares, sendo eles hemograma, bioquímica sérica e ultrassonografia (USG) abdominal, no mesmo hospital.

No hemograma, constatou-se anemia normocítica normocrômica, trombocitopenia, leucocitose com neutrofilia com discreto desvio à esquerda regenerativo, neutrofilia, linfopenia e monocitose relativas. Já o exame de bioquímica sérica revelou alterações

severas nas dosagens da alanina aminotransferase (ALT) [354,3 U.I./L] e da fosfatase alcalina (FA) [319,6 U.I./L].

No exame de ultrassonografia abdominal, evidenciou-se hepatomegalia, esplenomegalia difusa, com presença de uma neoformação localizada no baço, sugestivo de neoplasia esplênica, cisto anecóico no testículo esquerdo e hiperplasia prostática cística discreta.

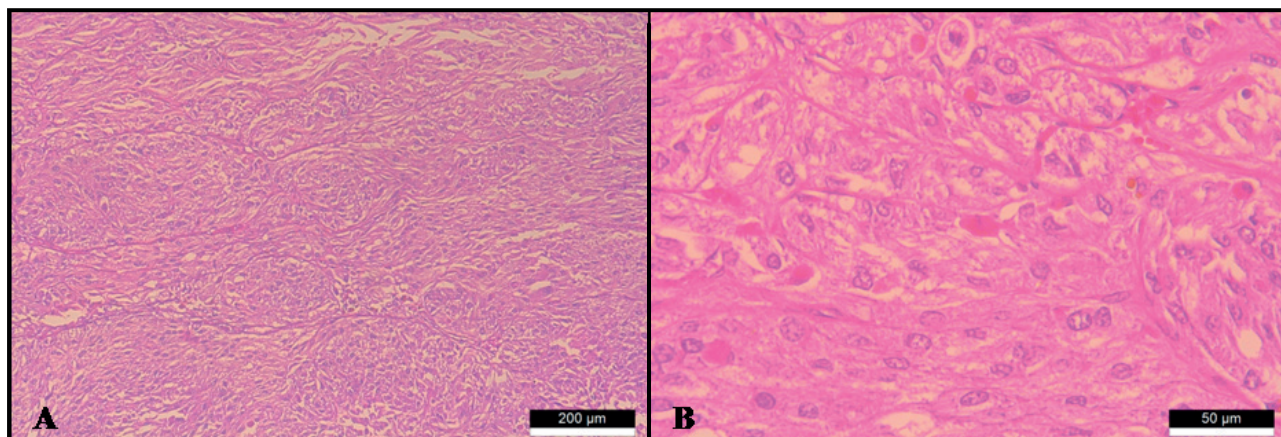
Diante dos resultados, optou-se pela realização de laparotomia exploratória para melhor avaliação. Durante o procedimento, após abertura da cavidade abdominal, foi observado um nódulo de aproximadamente 6,5 cm, de aspecto macio, por vezes friável e irregular, coloração castanha esbranquiçada, aderido ao baço.

Foi realizada a hemostasia e optou-se pela esplenectomia. O baço pesava 4,35 kg e media 7 cm de largura, superfície e as bordas eram irregulares e com coloração esbranquiçada.

No transoperatório, fragmentos do nódulo foram removidos e fixados em solução de formalina neutra e tamponada a 10% e encaminhados para exame histopatológico e imuno-histoquímico.

Foram enviados 5 fragmentos do nódulo esplênico, o maior medindo 2,7 x 1,6 x 0,8 cm, e o menor 0,7 x 0,6 x 0,4 cm. Para cada fragmento foi realizado o processamento histopatológico de rotina, com impregnação em parafina e coloração pela Hematoxilina e Eosina (HE)<sup>1</sup>. Ao corte, todos apresentavam superfície castanha esbranquiçada, macia, por vezes friável e irregular. Microscopicamente, havia agrupamentos coesos de células neoplásicas, formando pequenos enovelados entremeados a estroma mixóide e arranjadas em padrão estoriforme irregular a sólido (Figura 1A). Essas células eram predominantemente fusiformes, pleomórficas, com núcleos hipercoreados, redondos a alongados, evidente anisocariose e multinucleação; citoplasmas escassos, acidófilos, granulares, raramente contendo vacúolos, ondulados de bordos indistintos (Figura 1B); presença de esparsas mitoses. Na mensuração do índice mitótico, foi observada uma média geral de 47 mitoses em 10 campos de grande aumento (10/CGA). Havia também áreas extensas de necrose e hemorragia. O diagnóstico histopatológico foi conclusivo para sarcoma esplênico fusocelular pouco diferenciado, compatível com sarcoma estromal esplênico.

Posteriormente, seções do nódulo esplênico foram processadas para a análise imuno-histoquímica com os anticorpos anti-vimentina (Monoclonal Mouse,



**Figura 1.** Análise microscópica do sarcoma estromal esplênico em um canino de 8 anos, macho, labrador. A- Agrupamentos coesos de células mesenquimais, formando pequenos enovelados entremeados a estroma mixóide e arranjadas em padrão estoriforme irregular a sólido [HE; 10x]. B- Células fusiformes, pleomórficas, com núcleos hipercondensados, redondos a alongados, evidente anisocariose; citoplasmas escassos, acidófilos, granulares, raramente contendo vacúolos, ondulados de bordos indistintos [HE; 40x].

Clone V9)<sup>2</sup>, anti-S100 (Polyclonal Rabbit)<sup>2</sup>, anti-desmina (Monoclonal Mouse, Clone D33)<sup>2</sup>, anti-alfa actina de músculo liso (Monoclonal Mouse, Clone 1A4)<sup>2</sup>, anti-CD31 (Monoclonal Mouse, Clone 4E20)<sup>3</sup>, anti-HHF35 (Monoclonal Mouse, Clone HHF35)<sup>2</sup> e anti-MyoD1 (Monoclonal Mouse, Clone 5,8A)<sup>2</sup>.

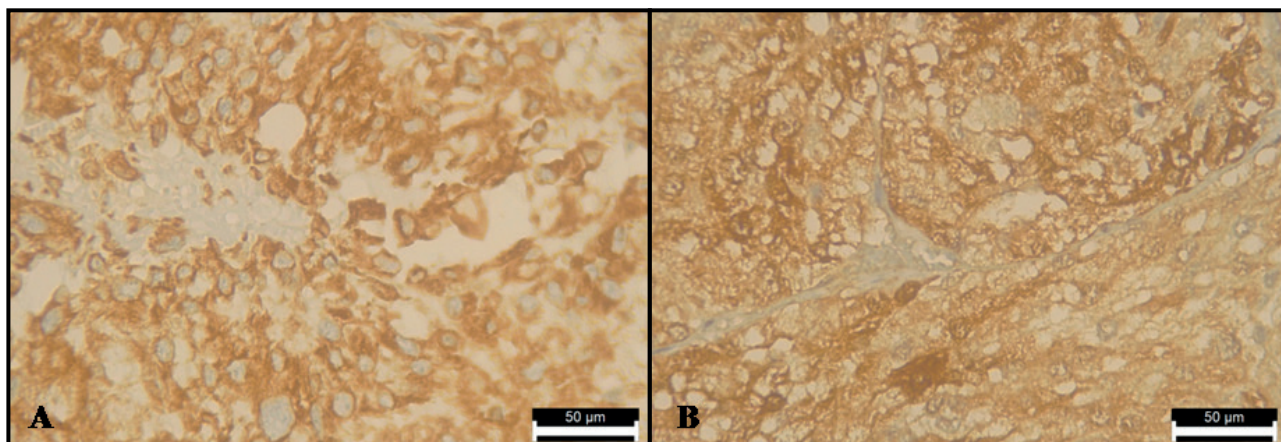
As células neoplásicas exibiram intensa imunoreatividade citoplasmática para os anticorpos anti-vimentina (Figura 2A) e anti-S100 (Figura 2B), não havendo imunomarcagem para os demais anticorpos testados. Concluiu-se, portanto, com base no perfil morfológico e imuno-histoquímico, o diagnóstico de sarcoma estromal esplênico.

### DISCUSSÃO

Anteriormente, as neoplasias estromais esplênicas eram classificadas como neoplasias não-angiomasos e não-linfomasos, que incluía as

neoplasias histiocíticas, mas estas foram agrupadas separadamente após um estudo retrospectivo [13]. Neste trabalho, os nódulos esplênicos fibrohistiocíticos diagnosticados em cães submetidos a esplenectomia foram reclassificados por exames imuno-histoquímicos, sugerindo que o termo “fibrohistiocítico” não era adequado na caracterização das neoplasias mesenquimais esplênicas, pois trata-se de um grupo bem mais complexo. Assim, evidenciou-se a importância dos exames histopatológico e imuno-histoquímico para o correto diagnóstico e, posterior estabelecimento do prognóstico e tratamento para os animais acometidos por neoplasias esplênicas.

Os cães diagnosticados com neoplasias do baço geralmente possuem entre 3 a 17 anos de idade; e não há uma clara predisposição quanto a raça ou sexo [20]. O animal diagnosticado no presente relato possuía 8 anos de idade, encontrando-se na faixa descrita.



**Figura 2.** Análise imuno-histoquímica do sarcoma estromal esplênico em um canino de 8 anos, macho, labrador. A & B- Células neoplásicas exibem acentuada imunomarcagem citoplasmática, respectivamente, para os anticorpos anti-vimentina e anti-S100 [IHQ peroxidase; DAB; 40x].

Apesar dos tumores mesenquimais esplênicos constituírem 25 a 50% das neoplasias do baço, cada subtipo isolado é raro [9] e, por isso, os estudos epidemiológicos relativos a cada um destes são limitados. No entanto, em um trabalho com 179 casos de tumores esplênicos, consideraram cães de raças grandes, como o Pastor Alemão, e a idade entre 8 e 15 anos como fatores de risco [1].

Os sinais clínicos mais comuns em cães com neoplasias esplênicas incluem anorexia, êmese, letargia, perda de peso e distensão do abdomen [13,20]. Estes sinais também foram observados no animal em questão, cujo quadro clínico caracterizou-se principalmente por distensão abdominal. No entanto, o diagnóstico não está embasado somente no quadro clínico, pois outras enfermidades podem cursar com os mesmos sinais e, deste modo, os exames complementares são essenciais para o diagnóstico.

As disfunções esplênicas decorrentes da neoplasia podem justificar as alterações no hemograma [14], que também podem ser causadas por processos inflamatórios sistêmicos. A leucocitose com neutrofilia com desvio à esquerda e a monocitose são achados descritos na literatura com relação a estas neoplasias esplênicas, contudo também podem estar relacionadas a outras causas e, portanto não são específicas para o diagnóstico de neoplasia esplênica [4].

Em um estudo, com cães portadores de neoplasias malignas e benignas, a presença de anemia mostrou-se um achado variável com diferença significativa entre os comportamentos neoplásicos, sendo, assim, esse foi considerado um achado inespecífico na indicação de malignidade da neoplasia [7]. A anemia foi um dos sinais observados no cão do presente caso.

Outros achados laboratoriais que podem apresentar variabilidade nos casos de distúrbios esplênicos, pois tanto podem estar associados a processo inflamatório como a neoplásico, são o número de granulócitos e plaquetas, os quais podem estar normais, diminuídos ou aumentados [10]. Contudo, esses valores não sofreram variações no caso descrito, e são achados inespecíficos para as neoplasias esplênicas.

Vale ressaltar que achados laboratoriais como leucocitose neutrofilica e anemia são compatíveis com as síndromes paraneoplásicas frequentemente observadas em pequenos animais [21], o que pode justificar tais alterações neste paciente. No entanto, estas

manifestações clínicas e laboratoriais são inespecíficas, sendo necessários outros exames para o diagnóstico.

As alterações bioquímicas, como a elevação das enzimas hepáticas alanina aminotransferase e fosfatase alcalina, normalmente estão relacionadas com possíveis metástases ou locais do tumor primário em fígado [5]. No presente caso, apesar destes achados laboratoriais estarem presentes, a possibilidade da origem da neoplasia ser hepática foi descartada por meio do exame histopatológico e imuno-histoquímico, além de não terem sido encontradas metástases hepáticas.

Macroscopicamente e microscopicamente, os sarcomas estromais esplênicos são caracterizados por nodulação esplênica focal composta por camadas de células coesas poligonais a fusiformes. As células, normalmente, exibem anisocariose e frequentemente tem núcleo grande vesicular oval a redondo, ocasionais células multinucleadas. Apresentam grandes áreas de necrose, agregados linfóides difuso ou nodular e focos de hematopoese extramedular [20]. Esta descrição condiz com o exame histopatológico descrito no presente caso e que permitiu o diagnóstico, posteriormente confirmada pela imuno-histoquímica.

O índice mitótico é também uma importante característica, pois há correlação entre este e o comportamento biológico do tumor, além de ser um fator preditivo de sobrevivência [20]. Observaram que 80 a 100% dos cães com índice mitótico acima de 10 mitoses em 10/CGA, morreram ou foram submetidos a eutanásia em até 1 ano após o diagnóstico [17]. No caso presente, o índice mitótico foi de 47 em 10/CGA, sendo, portanto, um parâmetro de malignidade que sugere prognóstico desfavorável ao paciente. Por outro lado, a presença de uma única massa, como observado neste caso, é um fator favorável a maior sobrevida, quando comparado aos que já apresentam metástases [20].

Na análise imuno-histoquímica, foram testados 7 marcadores, para determinar a histogênese da neoplasia, com marcação citoplasmática positiva para vimentina e proteína S-100, ambos marcadores de células mesenquimais, e negativo para desmina, MyoD1, HHF35, CD31 e alfa actina de músculo liso, dessas forma excluindo os tumores vasculares e musculares.

Vários autores consideram a IHQ essencial para o diagnóstico diferencial entre as neoplasias esplênicas [13,18]. No caso do sarcoma estromal esplênico, também denominado sarcoma estromal indiferenciado, estes não possuem características

histológicas específicas para sua classificação, sendo, portanto, imprescindível a realização da IHQ para sua diferenciação de outros sarcomas esplênicos [9].

Em um estudo envolvendo neoplasias mesenquimais primárias que ocorreram no baço de cães, no qual foram consideradas a classificação anatômica e análise imuno-histoquímica, foi demonstrado que para o marcador vimentina, de um total de 53 amostras analisadas, 96,22% (51/53) foram marcadas indicando alta sensibilidade da vimentina para células mesenquimais [17]. Assim, a vimentina apresenta-se como um dos principais marcadores para os sarcomas estromais esplênicos, evidenciando a origem mesenquimal de tais neoplasias, corroborando com o diagnóstico do caso presente.

A proteína S100, que também demonstrou demonstrou imunorreatividade positiva, é um regulador do cálcio e está presente em numerosas células como células gliais, neurônios, condrócitos, células de Schwann, melanócitos, células mioepiteliais, entre outras. Na oncologia veterinária, é utilizada para distinguir schwannomas (numerosas células marcadas), neurofibromas (pouca marcação) e fibrossarcomas (negativo) [11,15]. Apesar de ser considerado um marcador característico de células de Schwann, existe relato de imunorreatividade positiva para células tronco mesenquimais [3]. Tal marcação positiva, reforça a origem mesenquimal da neoplasia esplênica descrita pelos autores.

Seguindo a pesquisa quanto a origem da neoplasia, utilizou-se o anti-HHF35 (actina muscular específica) que consiste em um anticorpo monoclonal, o qual reage com praticamente todas as células musculares, sendo útil como um marcador para neoplasias com origem muscular e derivados [16,19]. Outro anticorpo monoclonal utilizado foi o anti- alfa actina

de músculo liso, o qual é um marcador de células de musculatura lisa presente em neoplasias fusiformes e pleomórficas [8].

Já a utilização do anticorpo anti-desmina consiste na reatividade citoplasmática [15] de células neoplásicas miogênicas, contudo ele apenas sugere uma origem muscular, uma vez que pode apresentar marcação interna positiva em vasos [8]. Outro anticorpo foi o anti-MyoD1, utilizado para células neoplásicas oriundas de musculatura esquelética, principalmente, em casos de rabdomiossarcomas [2,15]. Logo, a ausência de marcação para os 4 marcadores (HHF35, alfa actina de músculo liso, desmina, MyoD1) citados anteriormente, exclui assim, a possibilidade da neoplasia ter a origem muscular.

O anticorpo anti-CD31 é marcador de células endoteliais de vasos sanguíneos e megacariócitos [6,12], demonstrando imunorreatividade positiva em neoplasias endoteliais e, esporadicamente, relatada em carcinomas [15]. Devido a sua negatividade no presente relato, a origem endotelial da neoplasia foi descartada.

O sarcoma estromal esplênico é uma neoplasia rara, agressiva e com características morfológicas semelhantes a outras neoplasias esplênicas, necessitando da associação do exame clínico aos exames complementares (análises clínicas e imagem), diagnóstico histopatológico e análise imuno-histoquímica para sua diferenciação, desse modo, contribuindo para o diagnóstico e prognóstico do caso.

#### MANUFACTURERS

<sup>1</sup>WCOR Corantes. São Paulo, SP, Brazil.

<sup>2</sup>Dako North America Inc. Carpinteria, CA, USA.

<sup>3</sup>Sigma-Aldrich. Saint Louis, MO, USA.

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

#### REFERENCES

- 1 **Bandinelli M.B., Pavarini S.P., Oliveira E.C., Gomes D.C., Cruz C.E.F. & Driemeier D. 2011.** Estudo retrospectivo de lesões em baços de cães esplenectomizados: 179 casos. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 31(8): 697-701.
- 2 **Bhuiyan M.S.A., Kim N.K., Cho Y.M., Yoon D., Kim K.S., Jeon J.T. & Lee J.H. 2009.** Identification of SNPs in MYOD gene family and their associations with carcass traits in cattle. *Livestock Science*. 126: 292-297.
- 3 **Cartarozzi L.P. 2013.** Utilização do selante de fibrina combinado com células tronco mesenquimais no reparo de nervos periféricos através da técnica de tubulização. 112f. Campinas, SP. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Estrutural) - Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Estrutural. Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia.
- 4 **Couto C.G. 2014.** Lymphadenopathy and Splenomegalyn. In: Nelson R.W. & Couto C.G. (Eds). *Small Animal Internal Medicine*. 5th edn. St. Louis: Mosby Elsevier, pp.1264-1275.

- 5 **Filgueira K.D., Reis P.F.C.C., Batista J.S. & Paula V.V. 2012.** Hemangiossarcoma cutâneo com metástase no sistema nervoso central de um canino. *Acta Scientiae Veterinariae.* 40(1): 1024. 7p.
- 6 **Gleason B.C. & Hornick J.L. 2019.** Vascular Tumors. In: Hornik J.L. (Ed). *Practical Surgical Soft Tissue Pathology: a Diagnostic Approach.* 2nd edn. Philadelphia: Elsevier, pp.341-390.
- 7 **Gomaa M., Samy M.T., Kramer M., Omar M.S. & Nefissa H.M. 2010.** Ultrasonographic Diagnosis of Splenic Surgical Affections in Dogs and Cats. *Zagazig Veterinary Journal.* 38: 31-41.
- 8 **Leong A.S.Y., Cooper K. & Leong F.J.W.M. 1999.** *Manual of Diagnostic Antibodies for Immunohistology.* London: Greenwich Medical Media Ltd., pp.3-40.
- 9 **Linder K.E. 2017.** Tumors of the spleen. In: Meuten D.J. (Ed). *Tumors in Domestic Animals.* 5th edn. Ames: Wiley Blackwell, pp.307-321.
- 10 **Mahoney P. 2011.** Spleen. In: Barr F. & Gaschen L. (Eds). *BSAVA Manual of Canine and Feline Ultrasonography.* Quedgeley: British Small Animal Veterinary Association, pp.100-109.
- 11 **Miller A.D. & Zachary J.F. 2017.** Nervous System. In: Zachary J.F. (Ed). *Pathologic Basis of Veterinary Disease.* 6th edn. St. Louis: Elsevier, pp.805-907.
- 12 **Miller L.M. & Gal A. 2017.** Cardiovascular System and Lymphatic Vessels. In: Zachary J.F. (Ed). *Pathologic Basis of Veterinary Disease.* 6th edn. St. Louis: Elsevier, pp.561-616.
- 13 **Moore A.S., Frimberger A.E., Sullivan N. & Moore P.F. 2012.** Histologic and Immunohistochemical Review of Splenic Fibrohistiocytic Nodules in Dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine.* 26: 1164-1168.
- 14 **Morais H.L., Argyle D.J. & O'Brien R.T. 2010.** Diseases of the Spleen. In: Ettinger S.J. & Feldman E.C. (Eds). *Textbook of Veterinary Internal Medicine.* 7th edn. St. Louis: Elsevier Saunders, pp.810-819.
- 15 **Ramos-Vara J.A. & Borst L.B. 2017.** Immunohistochemistry: Fundamentals and Applications in Oncology. In: Meuten D.J. (Ed). *Tumors in Domestic Animals.* 5th edn. Ames: Wiley Backwell, pp.69-76.
- 16 **Rangdaeng S. & Truong L.D. 1991.** Comparative Immunohistochemical Staining for Desmin and Muscle-Specific Actin: A Study of 576 Cases. *American Journal of Clinical Pathology.* 96(1): 32-45.
- 17 **Spangler W.L., Culbertson M.R. & Kass P.H. 1994.** Primary Mesenchymal (Nonangiomatous/Nonlymphomatous) Neoplasms Occurring in the Canine Spleen: Anatomic Classification, Immunohistochemistry, and Mitotic Activity Correlated with Patient Survival. *Veterinary Pathology.* 31: 37-47.
- 18 **Spangler W.L. & Kass P.H. 1998.** Pathologic and prognostic characteristics of splenomegaly in dogs due to fibrohistiocytic nodules: 98 cases. *Veterinary Pathology.* 35(6): 488-498.
- 19 **Tsukada T., Tippens D., Gordon D., Ross R. & Gown A.M. 1987.** HHF35, a Muscle-Actin-Specific Monoclonal Antibody. I. Immunocytochemical and Biochemical Characterization. *The American Journal of Pathology.* 126(1): 51-60.
- 20 **Valli V.E., Bienzle D., Meuten, D.J. & Linder K.E. 2017.** Tumors of hemolymphatic system. In: Meuten D.J. (Ed). *Tumors in Domestic Animals.* 5th edn. Ames: Wiley Backwell, pp.203-321.
- 21 **Zambarda T.T., Souza M.J., Cannavon J.M., Felten C., Pavarini S.P. & Poppl A.G. 2017.** Mixossarcoma esplênico em cão. *Acta Scientiae Veterinariae.* 45(Suppl 1): 245. 4p.