

**DIFERENCIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA E IMUNOISTOQUÍMICA DE
LEIOMIOMAS E FIBROMAS VAGINAIS EM CADELAS**

**HISTOPATHOLOGICAL AND IMMUNOHISTOCHEMICAL DIFFERENTIATION
OF THE VAGINAL LEYOMIOMAS AND FIBROMAS IN BITCHES**

**Leandro Bertoni Cavalcanti Teixeira¹; Paulo Amstalden Franco²; Renée Laufer
Amorim³; Eliane Maria Ingrid Amstalden⁴**

¹. Autor. Docente da disciplina de anatomia patológica do curso de medicina veterinária da Unipinhal.* ². Aluno do curso de medicina veterinária da Unipinhal ³. Profa. Ass. Dra. Setor de patologia veterinária FMVZ –UNESP, Botucatu ⁴. Profa. Dra. Faculdade de ciências médicas, dep. de anatomia patológica - UNICAMP

*Endereço para contato: Centro Regional Universitário de Espírito Santo do Pinhal. Rua Hélio Vergueiro Leite s/n CEP: 13990-000 Espírito Santo do Pinhal – SP
e-mail: leteixeira-vet@hotmail.com

RESUMO

Os tumores da vagina e da vulva compreendem as neoplasias mais frequentes do trato reprodutivo das cadelas, representando um total de 2% a 3% das neoplasias caninas, sendo os leiomiomas e os fibromas reportados mais frequentemente. As características histomorfológicas de ambos os tumores são muito similares, o que dificulta seu diagnóstico por meio das técnicas de rotina. Neste sentido, este trabalho teve como objetivo correlacionar os aspectos histopatológicos e imunoistoquímicos dos leiomiomas e fibromas vaginais em cadelas utilizando-se marcadores para Actina alfa de músculo liso (1A4) e Vimentina (vim 3B4). A análise dos resultados mostrou que, dos 10 casos estudados, 5 leiomioma e 5 fibromas recuperados dos arquivos do laboratório de patologia da Unipinhal, três apresentaram diagnóstico histopatológico discordante da marcação imunoistoquímica, sendo eles dois fibromas que marcaram positivamente para 1A4 e um leiomioma positivo apenas para Vimentina. Concluiu-se que a marcação imunoistoquímica dos leiomiomas e fibromas vaginais pelos anticorpos actina alfa de músculo liso (1A4) e vimentina (vim 3B4) mostrou-se uma ferramenta útil na diferenciação histogênica destes tumores.

Palavras-chave: Cadelas, neoplasias vaginais, leiomioma, fibroma, imunoistoquímica

ABSTRACT

Vagina and vulva tumors are the most frequent reproductive tract neoplasm in bitches and represent 2% or 3% of all neoplasm in dogs. Leyomiomas and fibromas are the most frequent tumors reported. The histomorphological characteristics of both tumors are very similar with difficults the diagnostic when using the routine techniques. This work aims to correlate the histopathological aspects of the vaginal leyomiomas and fibromas with the immunohistochemical markers of smooth muscle alpha actin (1A4) and vimentin (vim 3B4). The results showed that in the 10 studied cases, 5 leiomioma and 5 fibromas recovered from de archives of the laboratory of Pathology of the Unipinhal, 3 were miss diagnosed demonstrating difference between the histopathological diagnose and the immunohistochemical result, being two fibromas that were positive for 1A4 and a leiomioma positive for Vimentina only. We conclude

that the immunohistochemical procedures using the antibodies for smooth muscle alpha actin (1A4) and vimentin (vim 3B4) are an useful tool in the histogenic differentiation of leiomyomas and fibromas..

Key words: bitches, vaginal neoplasm, leiomyomas, fibromas, immunohistochemic.

REVISÃO DA LITERATURA

Os tumores da vagina e da vulva são a segunda neoplasia mais comum do trato reprodutivo feminino em cadelas, ficando atrás apenas das neoplasias de mama (HERRON, 1983). Estas representam de 2% a 3% do total das neoplasias em cães (THACHER & BRADLEY, 1983), onde 73% a 94% são benignos, sendo os leiomiomas e os fibromas reportados mais freqüentemente (KYDD, 1986).

Os sinais clínicos mais comuns dos tumores vaginais são descarga vulvar ou um súbito aparecimento de uma massa protruindo da vulva (THACHER & BRADLEY, 1983). Outros sinais observados menos freqüentemente incluem sangramento vulvar, disúria, hematúria, tenesmo, corrimento vulvar excessivo e distocia (PATNAIK et. al., 1976). BLACKWOOD et. al. (1992) descreveram um caso de uma cadela com distúrbios de micção e insuficiência renal causada por um leiomioma uretral., e SAHAY et. al. (1985) relataram um caso de incontinência urinária causada por um fibroma instalado na parede esquerda da vagina de uma cadela.

O leiomioma, um tumor benigno do músculo liso, tem sido encontrado em cães, em todas as regiões do corpo em que o músculo liso esta presente (KATAMOTO, 2003). Estas regiões incluem a traquéia (BLACK et. al., 1981), esôfago e estômago (CULBERTSON et. al., 1983), reto (HOLT; LUKE, 1985), rim (MILLS, et. al., 1977), uretra (BLACKWOOD, 1992), útero (SURESH KUMAR et. al., 1995), vagina (THACHER & BRADLEY, 1983), e vasos sanguíneos (KATSUA et. al., 1998).

Fibromas são neoplasias benignas de fibrócitos com estroma de colágeno abundante que tem origem no tecido conjuntivo do trato genital feminino.

Segundo WOLK (1963), o leiomioma é a neoplasia mais freqüentemente encontrada na vagina canina. Porém, THACHER & BRADLEY (1983) ao realizarem uma pesquisa com tumores de vulva e vagina em 99 cadelas, sendo a maioria dos animais idosos, (idade média de 10.8 anos) e sexualmente intactos (91%),

diagnosticaram 27 foram como fibromas e 26 como leiomiomas, o que revela que a incidência dos dois tumores não difere muito.

O leiomioma ocorre com maior frequência em cadelas nulíparas e pode estar associado a irregularidades no ciclo estral ou a pseudociese (SILVA & VARASCHIN, 1996). SAHAY et. al., (1985), demonstraram um caso de fibroma vaginal em uma cadela que apresentava ciclos estrais regulares.

Um estudo descreveu que os animais da raça Boxer tem maior risco de apresentar leiomiomas quando comparados com outras raças (THACHER & BRADLEY, 1983)

Dados subjetivos indicam que os leiomiomas podem ser hormônio-dependentes, pois em dois estudos, nenhuma das cadelas diagnosticadas com leiomioma, fibroma ou tumores polipóides tinham sido ovariectomizadas (THACHER et. al., 1983; KYDD et. al. 1986). Estes estudos ainda mostraram que ocorreram recidivas em 15% naquelas cadelas cujo tratamento não incluía ovariectomia e nenhuma recidiva ocorreu naquelas que realizaram este procedimento. Um terço destes animais também apresentavam alterações uterinas, mamárias e ovarianas, tais como: hiperplasia endometrial cística, cisto ovarianos e neoplasias de glândula mamária(THACHER & BRADLEY, 1983).

Quanto às características macroscópicas destas neoplasias, tumores extra e intra-luminais já foram descritos. As formas extra luminais apresentam-se como uma massa perineal de crescimento lento. Ao corte, estes tumores variam do cinza a branco, são bem encapsulados e pouco vascularizados (BRODEY et. al., 1967; HERRON, 1983). Tumores intra-luminais são aderidos à parede vestibular ou vaginal por um pedículo de tamanho variado. Eles geralmente são firmes e ovais e, apesar de sua mucosa apresentar-se geralmente intacta, ulcerações podem ocorrer devido à exposição ao meio ambiente ou irritação (THACHER & BRADLEY, 1983). Tumores intra-luminais podem ser múltiplos (THACHER et. al., 1983; KYDD et. al., 1986) e a maioria dos tumores pedunculados ou polipóides são benignos (THACHER et. al., 1983).

Microscopicamente os leiomiomas são tumores pequenos, não encapsulados e não invasivos. Apresentam uma população homogênea de células fusiformes, densamente agrupadas, com bordas citoplasmáticas indistinguíveis, extremidades alongadas e núcleos ovalados (em forma de charuto), arrançados em fascículos entrelaçados que mimetizam o tecido muscular liso normal. Os fascículos geralmente

formam ângulos de 90 graus entre eles, formando um padrão do tipo “impressão digital” (COOPER & VALENTINE, 2002).

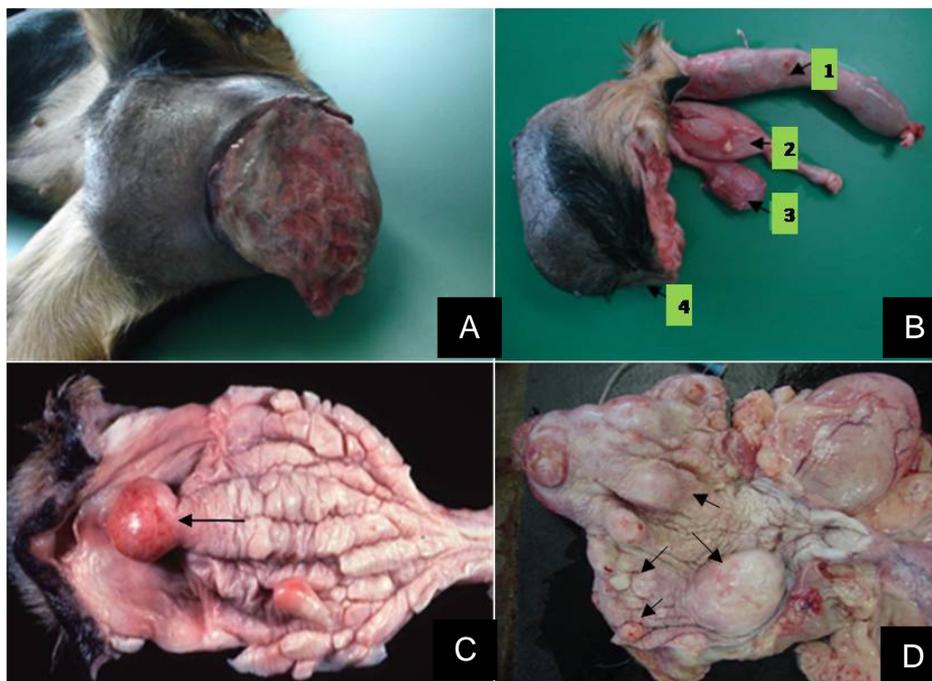


Figura 1. A- Aspecto macroscópico de um leiomioma vaginal. Massa em assoalho vaginal prolapsada pela abertura da vagina. B- Detalhe da figura A. 1. reto, 2. canal vaginal, 3. bexiga, 4. leiomioma, massa em vestíbulo vaginal comprimindo estruturas adjacentes. Caso PA 141/06 C- Aspecto macroscópico de um fibroma vaginal. Nódulo único e pedunculado em região de vestíbulo vagina (seta). Caso PC 190/04 D- Aspecto macroscópico de um fibroma vaginal. Múltiplas massas em assoalho vagina (setas). Caso PC 97/02.

Podem aparecer “bandas” que se alternam criadas por células cortadas longitudinalmente e transversalmente. O citoplasma pode estar fortemente eosinofílico. Leiomiomas bem diferenciados podem ser dificilmente distinguíveis do músculo liso normal, mas a presença de uma massa nodular, muitas vezes com algum grau de desorientação celular, caracteriza a massa como tumor (COOPER & VALENTINE, 2002).

Os fibromas são compostos de fibroblastos maduros produzindo colágeno abundante. As fibras colágenas são geralmente arranjadas em fascículos entrelaçados e mais raramente em emaranhados. Os fibrócitos neoplásicos são uniformes, com núcleos ovais e normocromáticos e um citoplasma indistinguível que se mistura com o estroma de colágeno extracelular. Figuras de mitose são raramente observadas. Ocasionalmente, o colágeno pode ser eosinofílico e hialino (GOLDSCHMIDT & HENDRICK, 2002).

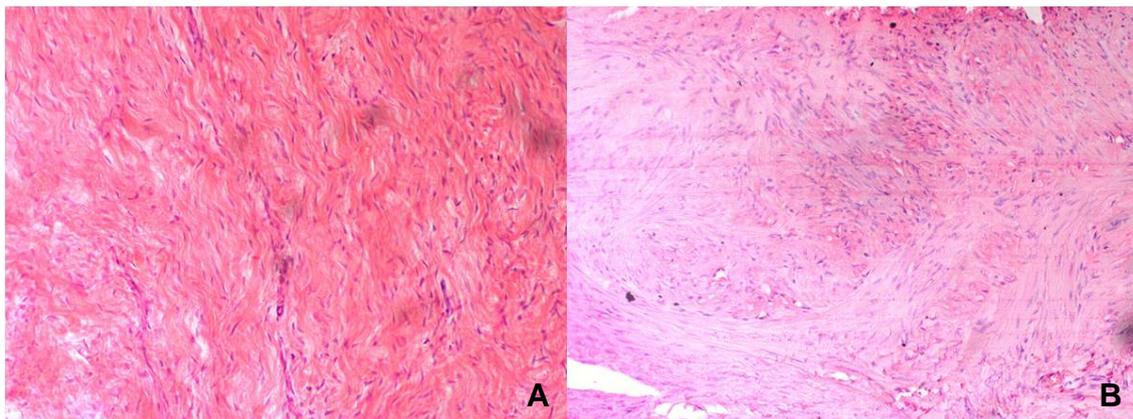


Figura 2. **A-** Corte histológico de um fibroma vaginal. Células de morfologia fusiforme arranjadas em fascículos e entremeadas por tecido colágeno. (HE obj. 20X) **B-** Corte histológico de um leiomioma vaginal. Células de morfologia fusiforme, com núcleos alongados e ovalados formando arranjos em padrão de “impressão digital”. (HE obj. 20X.) Fonte:Arquivo Pessoal

O tratamento destes tumores geralmente é cirúrgico, utilizando-se uma excisão cirúrgica conservativa, e com base nas evidências de dependência hormonal do desenvolvimento dos leiomiomas e a alta incidência em cadelas idosas não castradas, a ovário-salpingo-histerectomia (OSH) acompanhada da retirada cirúrgica da massa é aconselhável, sendo este procedimento, geralmente curativo (KLEIN, 2007).

Imunoistoquímica

De modo geral, as principais indicações para o exame imunoistoquímico são: diagnóstico histogenético de neoplasias morfológicamente indiferenciadas, subtipagem de neoplasias, caracterização da origem de carcinomas, caracterização de produtos de secreção de células neoplásicas, discriminação de natureza “benigna” versus “maligna”, determinação da proliferação celular, avaliação prognóstica de neoplasias e identificação de agentes infecciosos (ALVES, 1999).

Quanto à diferenciação celular, muitos tumores fusiformes e lesões similares a tumores podem apresentar características histológicas que lembrem uma diferenciação de músculo liso. Fibroma, fibrossarcoma, nevus colágeno (dermatofitoma), schwannoma, tumores malignos de bainha nervosa, sarcoma associado à vacina em gatos, hemangiossarcoma, hemangiopericitoma, sarcoide, rabdomiossarcoma, e sarcoma indiferenciado podem ser erroneamente diagnosticados como leiomioma ou leiomiossarcoma (COOPER & VALENTINE, 2002).

Sendo assim, alguns marcadores podem ser utilizados para definir histogeneticamente a origem destes tumores (muscular e fibroblástica). O marcador imunoistoquímico Actina alfa de músculo liso (1A4) reage com o isotipo alfa da actina de músculo liso, não reagindo com a actina de células musculares esqueléticas ou cardíacas ou com actina de células não musculares. Em tumores, é útil na determinação de diferenciação muscular lisa, miofibroblástica ou mioepitelial (MELLO & ALVES, 1999). Reações intensas e difusas costumam ser consideradas como evidência de diferenciação para músculo liso (MELLO & ALVES, 1999).

Já o marcador Vimentina (V9; vim 3B4) reage com filamento intermediário típico das células mesenquimais e, portanto dos sarcomas. Muitos carcinomas também apresentam positividade para vimentina, principalmente os renais, endometriais, pulmonares e mamários (MELLO & ALVES, 1999).

Portanto a utilização destes dois marcadores no mesmo tumor pode nos trazer informações acerca da sua origem histogénetica, possibilitando a diferenciação entre uma origem muscular lisa ou fibroblástica, diferenciando os leiomioma dos fibromas (COOPER & VALENTINE, 2002).

MATERIAL E MÉTODOS

Foram selecionados 10 casos do arquivo do serviço de patologia do Hospital veterinário da UNIPINHAL, sendo cinco leiomiomas e cinco fibromas vaginais diagnosticados histopatologicamente com a utilização de colorações de rotina.

O material, incluso em parafina, foi cortado em micrótomo na espessura de 5µm e colocado em lâminas histológicas banhadas em organolisina (Sigma-Aldrich A 3648). Foram realizados três cortes de cada bloco, sendo um deles corado pela técnica de rotina de Hematoxilina e Eosina e os outros dois separados para a realização de imunoistoquímica.

As reações de imunoistoquímica foram realizadas no laboratório de imunoistoquímica da FMVZ – UNESP de Botucatu e no Serviço de patologia da UNICAMP, utilizando dois marcadores, Actina alfa de músculo liso (clone 1A4, DAKO M0851) e Vimentina (clone vim3B4, DAKO M7020), sendo as lâminas desparafinizadas com dois banhos de xilol por 30 minutos e cinco banhos em álcool

absoluto por 5 minutos, procedendo-se então a recuperação antigênica com citrato 10 Mm pH 6,0 em banho Maria (steammer) por 25 minutos.

Foi realizado bloqueio da peroxidase endógena com água oxigenada 10 volumes deixando as lâminas em banho por 20 minutos e realizado um banho de BSA 1% por 1 hora para diminuir as marcações inespecíficas das lâminas. Os anticorpos primários Vimentina e Actina alfa foram diluídos na proporção de 1:100 e 1:400 respectivamente e incubados por 18 horas em câmara úmida a 4° C.

Como anticorpo secundário foi realizado o kit En-vision (Dako K4065) e incubado por 1 hora e a revelação da reação foi feita utilizando cromógeno diaminobenzidina DAB (Dako K34466) incubado por 5 minutos ao abrigo da luz.

Como contra-corante foi utilizada Hematoxilina de Meyer por 5 minutos e as lâminas foram desidratadas e montadas com resina sintética (Permount Fisher-Scientific Sp 15 500) e lamínulas.

As lâminas coradas com HE foram classificadas conforme a histomorfologia em fibromas ou leiomiomas por três patologistas experientes em análises independentes e cegas e os resultados foram comparados com os resultados imunoistoquímicos.

As reações imunoistoquímicas foram consideradas positivas quando a marcação apresentava-se forte e intracitoplasmática nas células tumorais.

RESULTADOS

Oito dos dez animais não apresentava raça definida, sendo os outros dois, um da raça Poodle e outro Cocker Spaniel. Os animais apresentando idade variando entre 5 e 11 anos com uma média de 8 anos.

Os principais sinais clínicos relatados foram corrimento vaginal mucopurulento em um caso de fibroma associado a uma vulvo-vaginite e aumento de volume no vestíbulo vaginal com exposição da mucosa, necrose e infecção bacteriana secundária em um caso de leiomioma (figura 1 A e B), os outros casos foram achados de exame físico e necropsia, não sendo relatados pelos proprietários como queixa principal.

Os resultados das análises histopatológicas e imunoistoquímicas estão sumarizados na tabela 1.

Os resultados foram analisados pelas suas porcentagens quanto à correlação dos diagnósticos histopatológicos e a positividade ou não das reações imunoistoquímicas.

Nos casos em que houve discordâncias na classificação histopatológica entre os observadores foi considerado o diagnóstico que se repetiu por duas vezes.

Tabela 1. Resultados das análises histopatológicas e imunoistoquímicas

Número da lâmina	Hematoxilina Eosina			1A4	Vimentina
	Observadores				
	1	2	3		
PC 69/04	Fibroma	Leiomioma	Fibroma	-	+
PC 190/04	Fibroma	Fibroma	Fibroma	-	+
PC 12/06	Fibroma	Fibroma	Leiomioma	-	+
PC 97/02	Fibroma	Fibroma	Fibroma	+	+
PC 124/04	Fibroma	Fibroma	Fibroma	+	+
PC 30/05	Leiomioma	Leiomioma	Leiomioma	+	-
B 123/05	Leiomioma	Leiomioma	Leiomioma	+	+
PA 141/06	Leiomioma	Leiomioma	Leiomioma	+	+
PC 20/01	Leiomioma	Leiomioma	Fibroma	-	+
PC 108/01	Leiomioma	Leiomioma	Fibroma	+	-

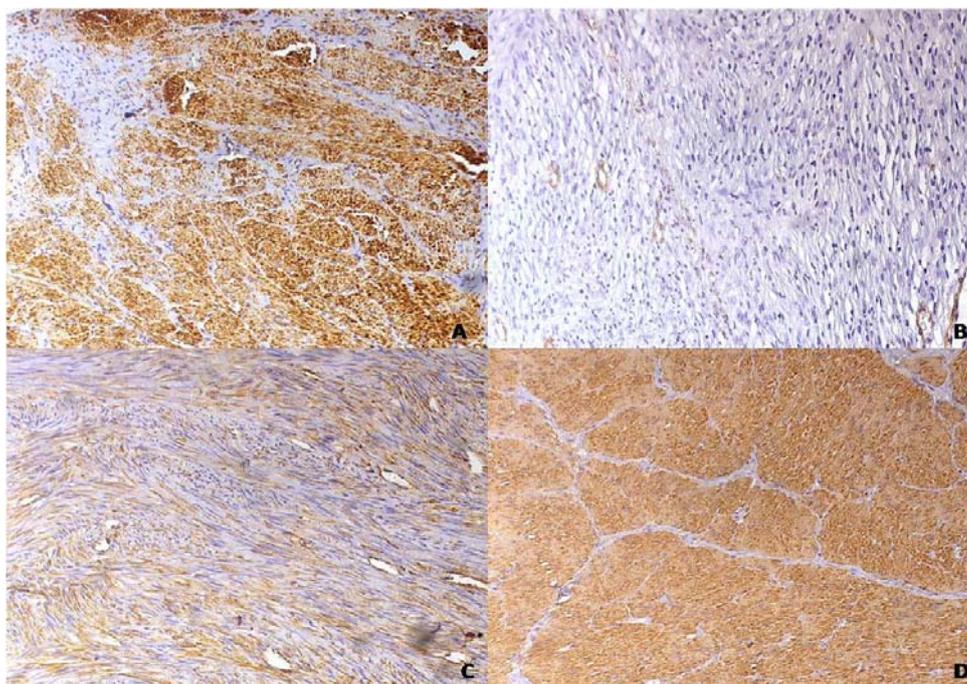


Figura 3. **A-** Imuno-marcação positiva de um fibroma (Anticorpo anti-vimentina, En-vision, DAB, contracoloração hematoxilina de Meyer, Obj. 20X). **B-** Imuno-marcação negativa de um fibroma (Anticorpo anti-Actina alfa, En-vision, DAB, contracoloração hematoxilina de Meyer, Obj. 20X). **C-** Imuno-marcação positiva de um leiomioma (Anticorpo anti-vimentina, En-vision, DAB, contracoloração hematoxilina de Meyer, Obj. 20X) **D-** Imuno-marcação positiva de um leiomioma (Anticorpo anti-Actina alfa, En-vision, DAB, contracoloração hematoxilina de Meyer, Obj. 20X).

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

A análise dos resultados mostrou que em quatro dos dez casos houve discordância entre os diagnósticos histopatológicos dados por um dos três observadores, sendo dois casos de fibromas e dois leiomiomas.

Dos 10 casos, três apresentaram diagnóstico histopatológico final discordante da marcação imunoistoquímica, sendo eles dois tumores diagnosticados como fibromas que marcaram positivamente para 1A4, o que confirma uma origem muscular lisa, e um tumor diagnosticado como leiomioma que foi negativo para 1A4 e positivo para Vimentina, sendo assim, não considerado como tendo origem muscular lisa.

Outros dois casos de leiomiomas foram positivos para 1A4 e negativos para Vimentina, o que não deveria acontecer, pois, a Vimentina deveria marcar células musculares lisas, que tem origem mesenquimal.

Os outros sete diagnósticos histopatológicos foram confirmados pela marcação imunoistoquímica, os fibromas marcando positivamente para Vimentina e negativamente para 1A4, e os leiomiomas marcando positivamente para ambos os anticorpos.

Os dois casos de leiomiomas em que a marcação foi negativa para Vimentina devem ser atribuídos à falha na execução da reação, uma vez que os mesmos casos marcaram positivamente para 1A4, o que confirma a sua origem muscular lisa.

A marcação imunoistoquímica dos leiomiomas e fibromas vaginais pelos anticorpos 1A4 e Vimentina mostrou-se útil na diferenciação histogênica destes tumores, uma vez que as características histomorfológicas de ambos são muito parecidas, dificultando o seu diagnóstico através das técnicas de coloração de rotina, o que foi evidenciado pela discordância dos diagnósticos morfológicos entre os observadores.

Deve-se ainda ressaltar a necessidade de se definir um diagnóstico etiológico correto destas neoplasias, pois só assim pode-se traçar um correto plano de tratamento, uma vez que a OSH é recomendada nos casos de leiomioma, por este apresentar uma

provável dependência hormonal, e dispensável nos casos de fibroma, e também para que se possa tentar definir os prováveis agentes promotores e indutores destes tumores e desenvolver ações preventivas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, V. A. F.; BACCHI, C. E.; VASSALO, J. **Manual de Imuno-Histoquímica**. Sociedade Brasileira de Patologia. Editores Venâncio Avancini Ferreira Alves; Carlos Eduardo Bacchi; José Vassallo, São Paulo, 1 ed., 1999.

AKKERMANS, J. P. W. M.; BEUSEKOM. Tumors and tumor-like lesions in the genitália of sows. **The Veterinary Quarterly**. v.6, n.2, p. 90-96, 1984.

BLACK, A. P.; LIU, S.; RANDOLPH, J. F. Primary tracheal leiomyoma in a dog. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. v.179, p. 905-906, 1981.

BLACKWOOD, L.; SULLIVAN, M.; THOMPSON, H. Urethral leiomyoma causing post renal failure in a bitch. **Veterinary Record**. v. 131, n. 18, p. 416-417, 1992.

BRODEY, R.S.; ROSZEL, J.F. Neoplasms of the canine uterus, vagina, and vulva: a clinicopathologic survey of 90 cases. **Journal of American Veterinary Association**. v. 151, n. 10, p. 1294-1307, 1967.

CULBERTSON, R.; BRANAN, J. E.; ROSENBLATT, L. S.. Esophageal/ gastric leiomyoma in the laboratory beagle. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. v. 183, p. 1168-1171, 1983.

GOLDSCHMIDT, M. H.; SHOFER, F. S. **Skin Tumors of the Dog and Cat**. Butterworth Heinemann. Oxford, 1998.

HERRON, M. A. Tumors of the canine genital system. **J Am Anim Hosp Assoc**. v. 19, p. 981-994, 1983.

HOLT, P. E.; LUCKE, V. M.. Rectal neoplasia in the dog: a clinicopathological review of 31 cases. **Veterinary Record**. v. 116, p. 400-405, 1985.

JUNQUEIRA, L. J.; CARNEIRO, J.. **Histologia Básica**. Editora Guanabara Koogan SA., Rio de Janeiro, 8 ed., p. 382-383, 1995.

KATAMOTO, H.; KUMAGAI, D.; KOUZAI, N.; TAKIGAMI, S.; KUAMURA, M.; YAMATE, J.; KOTANI, T.. Space-occupying leiomyoma in the pelvic canal of a dog. **Journal of Small Animal Practice**. v. 44, p. 277-279, 2003.

KATSUA, O.; DOI, T.; YOKOYAMA, M.; OKAZAKI, Y.; KIDACHI, F. Vascular leiomyoma of the mesentery in a dog. **Journal of Comparative Pathology**. v. 18, p. 155-161, 1998.

KLEIN, M.K., Tumors of female reproductive system *in*: WITHROW, S. J.; MACEWEN, E. G. **Small Animal Clinical Oncology**. WB Saunders. St.Louis, 4 ed., p. 610-618, 2007.

KYDD, D. M.; BURNIE, A. G. Vaginal neoplasia in the bitch: A review of 40 cases. **Journal of Small Animal Practice**. v. 27, p. 255-263, 1986.

- LAROCK, R. G.; FINN.P. E.. Immunohistochemical staining characteristics of canine gastrointestinal stromal tumors. **Vet Pathol.** v. 34, p. 303-311, 1997.
- MILLS, J. H.; MOORE, J. T.; ORR, J. P.. Canine renal leiomyoma – an unusual tumour. **Canadian Veterinary Journal.** v. 18, p. 76-78, 1977.
- SAHAY, P. N.; DASS, L. L.; KHAN, A. A., SINGH, K. K.. Urinary incontinence in a bitch caused by vaginal fibroma. **The Veterinary Record.** v. 116, p. 76-77, 1985.
- SILVA, A.M.; VARASCHIN, M.S. Leiomioma vaginal em cadela. **A Hora Veterinária.** v. 15, n. 90, 1996.
- STEIN, B. S.. Tumors of feline genital tract. **Journal of American Veterinary Association.** v. 17, p. 1022- 1025, 1981.
- SURESH KUMAR, R. V.; RAMAKRISHNA, O.; SREERAVAN , P. K.. Leiomyoma uterine in a bitch. **Canadian Veterinary Journal.** v. 36, p.186, 1995.
- TANAKA, R.; HOSHI, K.; YAMANE, Y. Partial bladder resection in a bitch with urinary retention following surgical excision of a vaginal leiomyoma. **Journal of Small Animal Practice.** v. 42, n. 6, p. 301-306, 2001.
- THACHER, C.; BRADLEY, R.L. Vulvar and vaginal tumors in the dog: A retrospective study. **Journal of American Veterinary Association.** v. 183, n. 6, p. 690-692, 1983.
- VERBERCKMOES, S.; de BOSSCHERE, H.; van SOOM, A.; VERVAET, P.; de KRUIF, A. Intravaginal fibroma in a sheep. **Veterinary Record.** v. 152, n. 18, p. 566-567, 2003.
- WITHROW, S. J.; MACEWEN, E. G. **Small Animal Clinical Oncology.** WB Saunders. St.Louis, 4 ed., p. 610-618, 2007.
- WOLK, R. E.. Vaginal leiomyoma as a cause of chronic constipation in the cat. **Journal of American Veterinary Association.** v.143, p.1103-1105, 1963