

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
CURSO DE ESPECIALIZAÇÃO EM CLÍNICA MÉDICA DE FELINOS
DOMÉSTICOS**

**AVALIAÇÃO DA RESPOSTA AO USO DE FATOR ESTIMULADOR DE
COLÔNIAS DE GRANULÓCITOS (FILGRASTIM) EM FELINOS COM
NEUTROPENIA – ESTUDO RETROSPECTIVO DE 64 CASOS**

Deisy Daiana Lerner

Porto Alegre

2019

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
CURSO DE ESPECIALIZAÇÃO EM CLÍNICA MÉDICA DE FELINOS
DOMÉSTICOS**

**Avaliação da resposta ao uso de fator estimulador de colônias de granulócitos
(Filgrastim) em felinos com neutropenia – Estudo retrospectivo de 64 casos**

Autora: Deisy Daiana Lerner

**Trabalho apresentado à Faculdade de Veterinária
como requisito parcial para obtenção do grau de
Especialista em Clínica Médica de Felinos
Domésticos**

Orientadora: Fernanda Vieira Amorim da Costa

PORTO ALEGRE

2019

CIP - Catalogação na Publicação

Lerner, Deisy Daiana
AVALIAÇÃO DA RESPOSTA AO USO DE FATOR ESTIMULADOR
DE COLÔNIAS DE GRANULÓCITOS (FILGRASTIM) EM FELINOS
COM NEUTROPENIA - ESTUDO RETROSPECTIVO DE 64 CASOS /
Deisy Daiana Lerner. -- 2019.
33 f.
Orientadora: Fernanda Vieira Amorim da Costa.

Trabalho de conclusão de curso (Especialização) --
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade
de Veterinária, CURSO DE ESPECIALIZAÇÃO EM CLÍNICA
MÉDICA DE FELINOS DOMÉSTICOS, Porto Alegre, BR-RS,
2019.

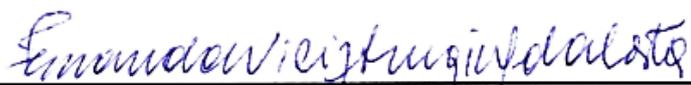
1. G-CSF. 2. FELV. 3. FIV. 4. MIELOSSUPRESSÃO. 5.
LEUCOPENIA. I. da Costa, Fernanda Vieira Amorim,
orient. II. Título.

Deisy Daiana Lerner

AVALIAÇÃO DA RESPOSTA AO USO DE FATOR ESTIMULADOR DE COLÔNIAS DE GRANULÓCITOS (FILGRASTIM) EM FELINOS COM NEUTROPENIA – ESTUDO RETROSPECTIVO DE 64 CASOS

Aprovado em 02 de Agosto de 2019

APROVADO POR



Fernanda Vieira Amorim da Costa

Orientadora



Camila Serina Lasta

Membro da Comissão



Gabriela da Cruz Schaefer

Membro da Comissão

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Fernanda Vieira Amorim da Costa, e ao MedFeL, pelo apoio, incentivo, oportunidade e ensinamentos na área de medicina felina.

Aos colegas veterinários, Laboratório de Análises Clínicas (LAC-VET) e funcionários do HCV-UFRGS que participaram e aprimoraram a realização desse trabalho.

Aos meus familiares, noivo e amigos que sempre apoiaram e acreditaram nos meus objetivos.

RESUMO

A neutropenia em felinos é uma alteração hematológica comum na prática clínica, caracterizada pela contagem absoluta de neutrófilos circulantes inferior a 2.500/ μ L. Existem diversas doenças associadas a essa redução, sendo as infecções virais, bacterianas, neoplasias e reações a drogas causas frequentes em felinos. As consequências da neutropenia podem ser graves, sendo os neutrófilos um dos principais leucócitos envolvidos na resposta imunológica inata. A neutropenia coloca o paciente em risco de desenvolver infecções secundárias, especialmente bacterianas, que podem evoluir para sepse. O fator estimulador de colônias de granulócitos (G-CSF) é amplamente usado para o tratamento de neutropenias em seres humanos e mostrou eficácia variável em felinos, entretanto, os estudos são escassos e seu uso nessa espécie ainda é debatido. Esse estudo avaliou a resposta do uso do filgrastim, um G-CSF recombinante humano comercialmente disponível, no tratamento de felinos que apresentaram neutropenia por diferentes causas. Sessenta e quatro gatos que apresentaram neutropenia e receberam tratamento com filgrastim, nas doses de 5 μ g/kg ou 0,1 mL/gato a cada 24 horas, pela via subcutânea, com duração média de 3 dias, foram avaliados retrospectivamente entre os anos de 2012 e 2016. Uma resposta hematológica satisfatória com aumento do número de neutrófilos acima do valor de referência foi vista em 81,25% dos gatos, enquanto 18,75% tiveram resposta considerada insatisfatória ou nenhuma resposta ao tratamento. Do total de gatos analisados, 45,31% eram positivos para infecção pelo vírus da leucemia felina, 3,12% para infecção pelo vírus da imunodeficiência felina e 31,25% eram positivos para ambos os retrovírus. Ainda que nem todos os pacientes respondam satisfatoriamente ao tratamento, e que ainda não se saiba a implicação do tratamento no prognóstico dos pacientes, o uso a curto-prazo de filgrastim como adjuvante no tratamento de neutropenias em felinos pode ser benéfico para a maioria dos casos e deve ser considerado.

Palavras-chave: G-CSF, FeLV, FIV, leucopenia, mielossupressão.

ABSTRACT

Feline neutropenia is a common hematological disorder in clinical practice, characterized as an absolute circulating neutrophil count of less than 2,500 cells/ μ L. There are several diseases associated with this reduction and viral or bacterial infections, neoplasms and drug reactions are common causes in cats. Consequences of neutropenia can be grave, as neutrophils are one of the major leukocytes involved in the innate immune response. Neutropenia puts the patient at risk for developing secondary infections, especially bacterial, which can evolve to sepsis. Granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) is widely used for the neutropenia treatment in humans and has shown variable efficacy in felines, although studies are limited and its use in this species is still debated. This study evaluated the response to the use of filgrastim, a commercially available human recombinant G-CSF, in the treatment of cats presenting neutropenia for different causes. Sixty-four cats that presented neutropenia and received filgrastim treatment, at doses of 5 μ g/kg or 0.1 mL/cat every 24 hours, subcutaneously, with average duration of 3 days, were retrospectively evaluated between 2012 and 2016. A satisfactory hematological response rate with an increase in neutrophils number above the reference range was seen in 81,25% of cats, while 18,75% had unsatisfactory or no treatment response. Of the total cats analyzed, 45,31% were FeLV positive, 3,21% FIV positive and 31,25% were positive for both retroviruses. Although not all patients respond well to treatment, and the implication of treatment on the prognosis is not yet known, the short-course use of filgrastim as an adjunct in the treatment of neutropenia in cats may be beneficial in most cases and should be considered.

Keywords: G-CSF, FeLV, FIV, leucopenia, myelosuppression

LISTA DE TABELAS E GRÁFICOS

Tabela 1.	Avaliação da resposta ao uso de filgrastim nos gatos com neutropenia..	14
Tabela 2.	Dados dos pacientes e resposta na contagem de neutrófilos ao tratamento com filgrastim.....	16
Gráfico 1.	Resposta satisfatória ao uso de filgrastim.....	20

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

µg	Micrograma
µL	Microlitro
Céls	Células
CPV	Parvovírus canino
EUA	Estados Unidos da América
FeLV	<i>Feline Leucemia Virus</i> (Vírus da Leucemia Felina)
FIV	<i>Feline Immunodeficiency virus</i> (Vírus da Imunodeficiência Felina)
FPV	<i>Feline Panleucopenia Virus</i> (Vírus da Panleucopenia Felina)
FeG-CSF	Fator estimulador de colônia de granulócitos felino (endógeno)
G-CSF	Fator estimulador de colônia de granulócitos
HCV	Hospital de Clínicas Veterinárias
LacVet	Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias
MedFeL	Serviço de Medicina Felina
p. ex.	Por exemplo
PegFeG-CSF	Fator estimulador de colônia de granulócitos recombinante felino peguilado
rCaG-CSF	Fator estimulador de colônia de granulócitos recombinante canino
rFeG-CSF	Fator estimulador de colônia de granulócitos recombinante felino
rHuG-CSF	Fator estimulador de colônia de granulócitos recombinante humano
UFRGS	Universidade Federal do Rio Grande do Sul

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	11
2	MATERIAIS E MÉTODOS.....	14
2.1	Critérios de inclusão.....	14
2.2	Avaliação da resposta.....	14
3	RESULTADOS.....	15
4	DISCUSSÃO.....	21
5	CONCLUSÃO.....	29
	REFERÊNCIAS.....	30

1 INTRODUÇÃO

A neutropenia é caracterizada pela redução na contagem de neutrófilos no sangue periférico e constitui uma alteração hematológica frequente na clínica de felinos (VALENCIANO et al., 2010). O neutrófilo é o leucócito predominante na circulação do gato, que possui um papel importante no sistema imunológico inato, sendo assim uma das primeiras linhas de defesa do hospedeiro contra patógenos invasores, especialmente bactérias (SCHNELLE e BARGER, 2012). Participa da resposta inflamatória por meio da quimiotaxia aos locais de inflamação e fagocitose dos organismos e materiais estranhos (WEISER, 2012a). Portanto, em número reduzido, sua resposta se torna ineficaz. Quando a neutropenia é acentuada, ocorre aumento da suscetibilidade a infecções, inclusive de organismos que fazem parte da microbiota natural do hospedeiro, como bactérias do trato gastrointestinal, pele e nasofaringe (WEISER, 2012c). As consequências da neutropenia podem ser graves, onde infecções bacterianas que poderiam ser facilmente contidas, podem evoluir para quadros de sepse nos pacientes acometidos (SCHNELLE e BARGER, 2012).

A neutropenia pode estar associada à diversas doenças. Em gatos, as doenças infecciosas são causas frequentes, especialmente nas infecções pelo vírus da leucemia felina (FeLV) e o vírus da imunodeficiência felina (FIV) (GLEICH e HARTMAN, 2009). Além deles, o vírus da panleucopenia felina (FPV), histoplasmose, infecções bacterianas graves, choque endotóxico, citotoxicidade induzida por drogas, neoplasias, mielofibrose, mielodisplasia e neutropenia cíclica também podem ser causas relacionadas. Os mecanismos que levam à neutropenia podem envolver a deficiência de produção dos neutrófilos pela medula óssea, aumento da demanda pelos tecidos ou ainda processos imunomediados que suprimem a granulopoiese ou destroem neutrófilos circulantes (VALENCIANO et al., 2010; SCHNELLE e BARGER, 2012).

Através da granulopoiese, os neutrófilos estão constantemente sendo produzidos na medula óssea e, quando comparados aos eritrócitos e plaquetas, a sua meia-vida circulantes é curta, aproximadamente de 10 horas, portanto, mudanças na sua contagem podem ocorrer rapidamente (WEISER, 2012b). Diversas citocinas e fatores de crescimento regulam a atividade da granulopoiese, entre elas, o fator estimulador de colônia de granulócitos (G-CSF) é um dos principais mediadores, produzido pelo estroma da medula óssea, neutrófilos e células endoteliais (JAVINSKY, 2012; WEISER, 2012b). Existem receptores para o G-CSF tanto em neutrófilos imaturos quanto maduros e a sua ligação à essas células irá estimular a divisão e diferenciação da célula precursora mieloide em mieloblastos, promielócitos, mielócitos, metamielócitos, neutrófilos bastonetes e, por fim, neutrófilos segmentados ou maduros

(WEISER, 2012b). Além disso, o G-CSF também estimula uma maior liberação dos neutrófilos pela medula, bem como a função dos mesmos, aumentando as atividades de quimiotaxia, fagocitose, citotoxicidade celular anticorpo-dependente e produção de superóxidos (SYKES e PAPICH, 2014). Os neutrófilos maduros são liberados pela medula óssea e dividem-se no *pool* circulante, os quais estão na corrente sanguínea e são contabilizados no hemograma, e o *pool* marginal, os quais ficam aderidos ao endotélio vascular exibindo marcadores próprios e não são contabilizados no hemograma (VALENCIANO et al., 2010).

A produção de neutrófilos nos gatos pode ser estimulada pela administração de G-CSF recombinante humano (rHuG-CSF), também denominado filgrastim, na dose de 5µg/kg a cada 24 horas pela via subcutânea (SUTER, 2010; COUTO, 2014b). Esta medicação está disponível comercialmente para uso em pessoas com neutropenias associadas com infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV), transplante de medula óssea, câncer e mielossupressão induzida por quimioterapia (WELTE, 2014). Em gatos, o seu uso tem sido indicado para o tratamento de neutropenias causadas por infecções virais associadas a FIV, FeLV e FPV, em doenças mieloproliferativas, aplasias medulares, tumores linfoides e neutropenias associadas ao uso de quimioterápicos em pacientes oncológicos ou outras drogas citotóxicas (SUTER, 2010; HARTMANN, 2012a; SYKES e PAPICH, 2014). Porém, existem poucos estudos e com número limitado de animais que avaliam seus efeitos nos gatos (FULTON et al., 1991; KRAFT e KUFFER, 1995; KUFFER et al., 1999; PHILLIPS et al., 2005), sendo a utilização ainda controversa em determinadas situações, como, por exemplo, em gatos infectados pelo FeLV, onde Kuffer et al. (1999) e Hartmann (2012a) citam que o uso de filgrastim nesses casos não parece trazer benefícios significativos.

O uso do filgrastim em gatos normalmente estimula uma resposta inicialmente rápida, aumentando o número de neutrófilos circulantes (FULTON et al., 1991; KUFFER et al., 1999; PHILLIPS et al., 2005; COLEMAN et al., 2014). Porém, diversos estudos em gatos e cães mostraram que o seu uso prolongado induz a produção de anticorpos neutralizantes tanto contra o G-CSF recombinante, quanto ao endógeno felino, causando uma queda abrupta na contagem de neutrófilos circulantes após 14 dias ininterruptos de uso (FULTON et al., 1991; HAMMOND et al., 1991; PHILLIPS et al., 2005; COLEMAN et al., 2014), portanto seu uso a longo-prazo é contraindicado.

Um G-CSF recombinante felino (rFeG-CSF) já foi produzido e usado em estudo que comprova sua eficácia e segurança a longo prazo, sem a formação de anticorpos neutralizantes (COLEMAN et al., 2014). Outra opção que parece ser mais segura é o uso do recombinante canino (rCaG-CSF) em gatos, o qual parece ter maior semelhança genética com o FeG-CSF do

que o rHuG-CSF e não houve evidência da formação de anticorpos neutralizantes após 42 dias de uso (OBRADOVICH et al., 1993). Porém, tanto o rFeG-CSF quanto o rCaG-CSF estão indisponíveis comercialmente devido ao alto custo de produção e são utilizados apenas em meios científicos. Sendo assim, o filgrastim é o único G-CSF disponível para uso veterinário atualmente.

Esse estudo teve como objetivo realizar uma avaliação retrospectiva da resposta ao uso a curto prazo do filgrastim em gatos que apresentaram neutropenia por causas diversas.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Os registros de gatos atendidos no Serviço de Medicina Felina (MedFel) do Hospital de Clínicas Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (HCV-UFRGS), RS/Brasil e que realizaram hemograma no Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias da UFRGS (LacVet-UFRGS) entre os anos 2012 e 2016 foram revisados retrospectivamente.

2.1 Critérios de inclusão

Os felinos que apresentaram neutropenia (contagem absoluta de neutrófilos menor que 2.500/ μ L), diagnosticada laboratorialmente (ProCyte Dx, Hematology Analyser, IDEXX Laboratories, EUA) e confirmada na hematoscopia por patologista clínico, tiveram seus prontuários revisados. Aqueles que apresentaram histórico de tratamento com filgrastim e pelo menos um hemograma de acompanhamento após seu uso foram incluídos nesse estudo. Os dados referentes ao sexo, raça, idade e resultado do teste para retrovírus (Teste SNAPP FIV/FelV Combo, IDEXX Laboratories, EUA) foram coletados, bem como as doses utilizadas e duração do tratamento. Os casos em que um hemograma de acompanhamento não foi realizado em até 10 dias após a última aplicação do medicamento foram excluídos.

2.2 Avaliação da resposta

Os hemogramas após e/ou durante o tratamento com filgrastim foram avaliados e classificados de acordo com a contagem de neutrófilos, conforme descrito na Tabela 1. A resposta ao tratamento foi considerada satisfatória quando os neutrófilos aumentaram em mais de 2.500 céls/ μ L, sendo ainda qualificados como resposta boa ou resposta exagerada. A resposta ao tratamento foi considerada insatisfatória quando os neutrófilos não ultrapassaram a contagem mínima do valor de referência para a espécie, sendo ainda qualificados como resposta fraca ou sem resposta (Tabela 1).

Tabela 1. Avaliação da resposta ao uso de filgrastim nos gatos com neutropenia.

		Contagem absoluta de neutrófilos
Resposta Satisfatória	Resposta exagerada	> 12.500 céls/ μ L
	Resposta boa	2.500 a 12.500 céls/ μ L
Resposta Insatisfatória	Resposta fraca	1.500 a 2500 céls/ μ L
	Sem resposta	< 1500 céls/ μ L ou sem aumento

3 RESULTADOS

Sessenta e quatro (64) gatos foram incluídos nesse estudo. Os dados dos pacientes estão resumidos na Tabela 2. Apenas dois dos 64 pacientes tinham raça definida (1 Persa e 1 Siamês), 56,25% (36/64) eram machos e as idades variaram de 4 meses a 13 anos, com média de 4,2 anos. Uma taxa alta de pacientes tiveram resultados reagentes para infecções retrovirais, sendo 45,31% (29/64) FeLV positivos, 31,25% (20/64) ambos FIV e FeLV positivos, 3,12% (2/64) FIV positivos e o restante dos gatos (20,31%) não foram reagentes para os retrovírus.

Os protocolos de tratamento com filgrastim utilizaram o medicamento na concentração de 300 µg/mL, nas doses de 5 µg/kg ou 0,1 mL/gato, pela via subcutânea, com intervalo de 24 horas entre as aplicações. A duração dos tratamentos variou de uma a oito aplicações consecutivas, com média de 3,3 dias.

Todos os pacientes realizaram um hemograma de acompanhamento em até 10 dias após a última aplicação do filgrastim. Vinte felinos realizaram um segundo e 7 um terceiro hemograma de acompanhamento. A Tabela 2 resume os dados dos pacientes, número de aplicações de filgrastim e as contagens de leucócitos e neutrófilos acompanhadas.

A resposta ao tratamento foi considerada satisfatória em 81,25% dos casos, sendo que 36/64 gatos apresentaram uma resposta boa e 16/64 uma resposta exagerada (Gráfico 1). Doze gatos (18,75%) tiveram uma resposta considerada insatisfatória, onde 3 gatos tiveram uma fraca resposta e 9 não responderam ao tratamento.

Dos 52 gatos que apresentaram uma resposta satisfatória ao tratamento, 21 eram FeLV positivos, 1 era FIV positivo, 19 eram ambos FIV e FeLV positivos e os 11 gatos restantes eram negativos. Dos gatos que tiveram uma resposta insatisfatória ao tratamento, 8 gatos eram FeLV positivos, 1 era FIV positivo, 1 era FIV e FeLV positivo e 2 eram negativos.

33	SRD, M, 5 a	-	4900	882	2156	3	Dia 5	
							6200	0
34	SRD, F, 7 a	-	3900	0	1911	3	Dia 3	
							12300	0
35	SRD, M, 8 a	-	3700	0	1887	3	Dia 3	
							7800	312
36	SRD, F, 2 a	-	3500	0	2065	3	Dia 3	
							16300	0
37	SRD, F, 1 a	FelV	1000	*	*	5	Dia 17	
							0	3132
38	SRD, M, 1 a	FelV	900	*	*	7	Dia 10	
							3900	195
39	SRD, F, 13 a	FelV	4800	0	1728	3	Dia 7	
							2800	140
40	SRD, M, 1 a	FelV	2400	0	1584	3	Dia 6	
							2800	140
41	SRD, M, 2 a	FelV	2900	0	319	3	Dia 11	
							42500	850
42	SRD, M, 4 a	FelV	4400	0	2168	3	Dia 7	
							33600	0
43	Siarnês, M, 6 a	FelV	1700	170	850	3	Dia 4	
							15000	0
44	SRD, M, 5 a	FelV	4000	40	560	3	Dia 8	
							15200	0
45	SRD, M, 5 a	FelV	4350	87	1653	1	Dia 55	
							19300	1158
46	SRD, F, 3 a	FelV	800	*	*	3	Dia 3	
							24900	0
47	SRD, F, 4 a	FelV	2500	0	1675	3	Dia 8	
							60500	2420
48	SRD, F, 6 a	FelV	800	*	*	6	Dia 18	
							25300	0
49	SRD, F, 8 a	FelV	3400	0	2454	2	Dia 4	
							27500	0
							Dia 7	
							16200	0
							Dia 3	
							20000	400

50	SRD, F, 8 a	FIV ^e FelV	1200	*	*	2	Dia 3	34700	694	32271	
51	SRD, F, 4 m	FIV ^e FelV	2700	0	675	3	Dia 4	26200	262	13362	
52	SRD, M, 11 m	-	2300	0	1081	2	Dia 2	9500	2185	5605	Dia 6
53	SRD, M, 1 a	FelV	4200	*	882	2	Dia 10	5100	0	2040	
54	SRD, M, 3 a	FelV	2200	132	0	8	Dia 5	2500	0	1775	Dia 9
55	SRD, M, 9 a	-	3000	0	2370	6	Dia 3	2600	0	1974	Dia 8
56	SRD, F, 7 a	FelV	3100	*	*	3	Dia 5	3500	35	1155	
57	SRD, F, 10 a	FelV	3000	*	*	3	Dia 5	3400	0	1020	
58	SRD, F, 2 a	FelV	3100	0	2421	6	Dia 3	100	*	*	Dia 6
59	SRD, M, 2 a	FelV	500	*	*	3	Dia 3	500	*	*	
60	SRD, F, 3 a	FelV	400	*	*	3	Dia 4	190	*	*	
61	SRD, F, 1 a	FelV	1500	*	*	3	Dia 4	750	*	*	
62	SRD, M, 10 a	FIV	740	*	*	3	Dia 3	300	*	*	
63	SRD, M, 3 a	FIV ^e FelV	1900	*	*	3	Dia 4	1100	*	*	
64	SRD, F, 3 a	-	3500	0	2205	5	Dia 3	3000	0	1860	Dia 6
											2700
											0
											1026

a = anos; F = fêmea; FelV = vírus da leucemia felina; FIV = vírus da imunodeficiência felina; LT = número absoluto de leucócitos totais; M = macho; m = meses; NB = número absoluto de neutrófilos bastonetes; NS = número absoluto de neutrófilos segmentados; SRD = sem raça definida;

* Sem contagem diferencial devido intensa leucopenia.

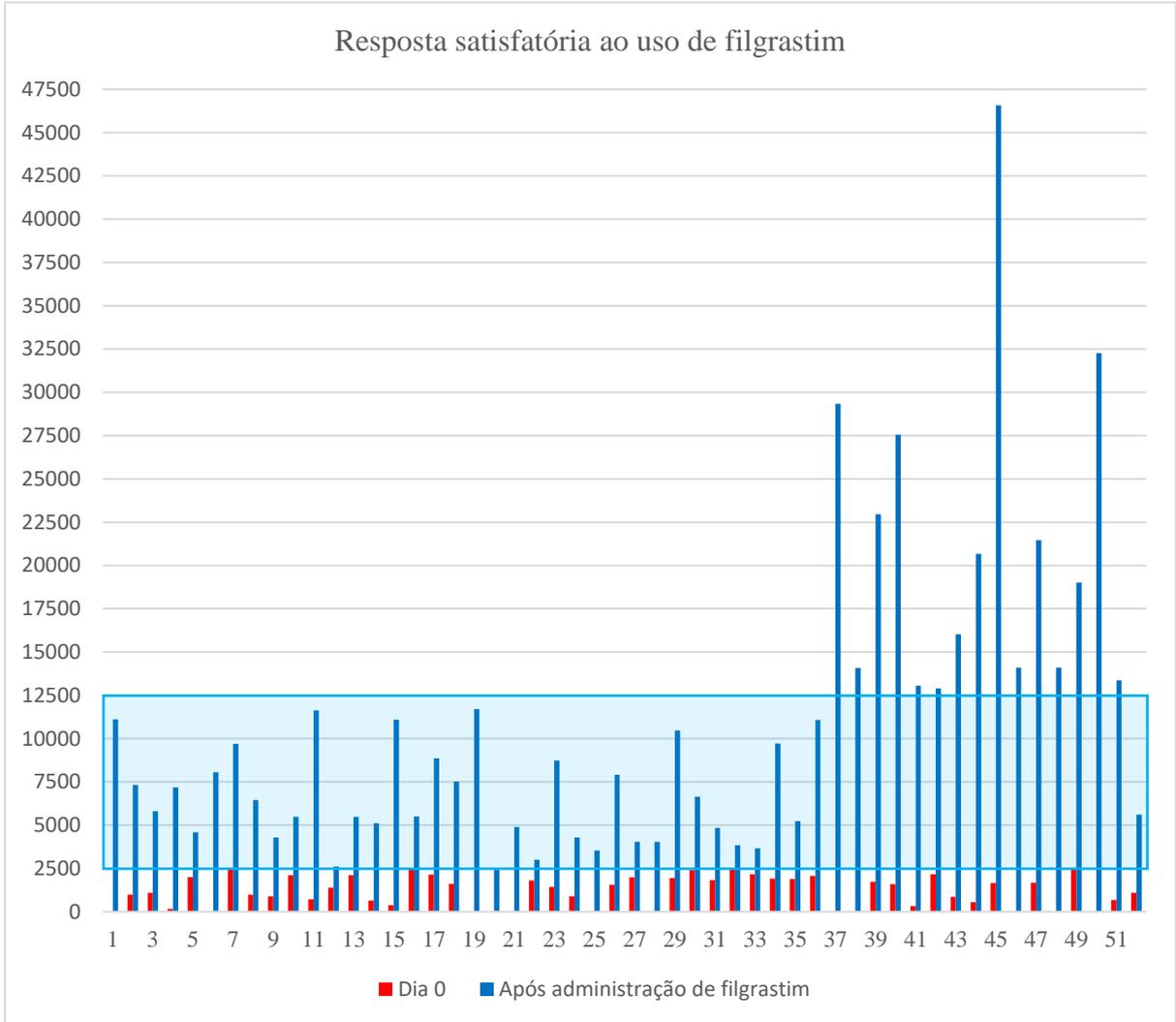


Gráfico 1. Resposta satisfatória ao uso de filgrastim. O gráfico mostra os casos (números horizontais) onde houve aumento satisfatório na contagem de neutrófilos (números verticais) após administração do filgrastim em gatos que apresentaram neutropenia. As barras vermelhas representam a contagem de neutrófilos inicial e as barras azuis a contagem após a administração. A porção destacada em azul claro mostra o intervalo de valor de referência desejável para a espécie.

4 DISCUSSÃO

O objetivo desse estudo foi avaliar retrospectivamente se felinos com neutropenia apresentam resposta ao uso de fator estimulador de colônia de granulócitos (G-CSF). Os resultados revelaram que a maioria dos pacientes neutropênicos se beneficiaram das aplicações do filgrastim, já que 81,25% dos gatos com neutropenia apresentaram um aumento satisfatório na contagem de neutrófilos nos hemogramas seguintes e apenas 18,75% dos gatos não apresentaram uma resposta ao tratamento. Outros estudos possuem taxas de respostas variadas (FULTON et al., 1991; KRAFT e KUFFER, 1995; KUFFER et al., 1999; PHILLIPS et al., 2005), onde a maioria avaliou um número pequeno de gatos com doenças específicas, porém o seu uso *off-label* em animais é relatado e indicado por diversos autores (OGILIVIE, 1995; SUTER, 2010; JAVINSKY, 2012; SYKES e PAPICH, 2014).

Esse estudo não teve como objetivo avaliar as causas das neutropenias, entretanto, um número grande de felinos apresentou infecção por doenças retrovirais pelo FeLV e FIV, condições que provavelmente estão associadas ao desenvolvimento das neutropenias nesses casos. A região onde o estudo foi conduzido (Sul do Brasil) possui alta prevalência de FIV e FeLV (DA COSTA et al., 2017), o que contribuiu para que quase 80% dos gatos fossem portadores de um ou ambos os vírus, sendo a principal causa associada a neutropenia dos felinos na região. Ao investigar as causas de neutropenia em felinos, o estudo de Brown e Rogers (2001) também atribuiu o maior percentual de casos associados a essas doenças retrovirais.

A neutropenia pode resultar de diversas causas e mecanismos. Uma única causa (p. ex. endotoxemia) pode agir por diferentes mecanismos para produzir neutropenia. De uma maneira geral, esses mecanismos incluem: aumento da demanda tecidual de neutrófilos em injúrias ou infecções agudas, diminuição da produção ou liberação pela medula óssea, sequestro ou destruição dos neutrófilos circulantes e seus precursores (VALENCIANO et al., 2010). Além das doenças retrovirais, outras causas que podem estar associadas a neutropenia em felinos incluem infecção pelo vírus da panleucopenia felina (FPV), infecções fúngicas, como na histoplasmose, aumento do consumo por inflamação, sepse ou endotoxemia. Bem como mielotoxicidade por diversas drogas, doenças primárias da medula óssea, como a aplasia ou hipoplasia medular, a mieloptose por tecido fibrótico ou neoplasias primárias e metastáticas, mielonecrose, síndromes congênitas, como a de Chédiak-Higashi e a destruição imunomediada primária ou secundária de neutrófilos maduros e seus precursores (BROWN e ROGERS, 2001; JAVINSKY, 2012; SCHNELLE e BARGER, 2012). Entretanto, essas causas não foram

investigadas nesse estudo, podendo ou não ocorrer nos casos avaliados, concomitantemente, inclusive, com as infecções pelo FeLV ou FIV.

Os retrovírus felinos são causas importantes de neutropenia em gatos. Apesar de nem todos os gatos infectados apresentarem neutropenia, ela pode ocorrer em 26% a 50% dos gatos infectados (FUJINO et al., 2009; GLEICH e HARTMANN, 2009; SCHNELLE e BARGER, 2012; DA COSTA et al., 2017). Os mecanismos das neutropenias e outras citopenias nas doenças retrovirais é provavelmente multifatorial e têm sido investigados. A supressão da atividade medular ocorre nas duas infecções virais, porém parece ser mais comum e grave em gatos infectados pelo FeLV (HARTMANN, 2012b; DA COSTA et al., 2017). No presente estudo, 22 gatos apresentaram resultado reagente para FIV, contudo, 20 deles estavam co-infectados com FeLV, sugerindo um maior envolvimento do FeLV nas neutropenias.

Devido a resposta imunológica comprometida nessas doenças virais, os pacientes tem maior risco de desenvolver diversas infecções secundárias e a neutropenia pode ser relacionada com o aumento da demanda de neutrófilos nessas infecções. Em gatos, é esperado que um processo inflamatório agudo e intenso ocorra, especialmente em órgãos mais vascularizados, para que a demanda de neutrófilos exceda a capacidade de reposição pela medula óssea e, conseqüentemente, leve à neutropenia (VALENCIANO et al., 2010). Nesses casos, quando a medula óssea tem uma resposta adequada e estimula a aceleração da proliferação, maturação e liberação de neutrófilos, é esperado, depois de um tempo, uma progressão para neutrofilia e o desvio à esquerda é comum (WEISER, 2012c). Devido esse mecanismo, é possível que alguns casos desse estudo apresentassem essa resposta, aumentando o número de neutrófilos, mesmo que não tivessem recebido o filgrastim.

Pode também ocorrer diminuição da produção de neutrófilos pela ação retroviral direta e conseqüente morte das células precursoras, causando aplasia ou hipoplasia da medula óssea. Frequentemente o FeLV afeta outras linhagens celulares, além dos granulócitos, e outras citopenias podem ocorrer, como anemia e/ou trombocitopenia. Porém, devido a meia vida mais curta dos neutrófilos, a neutropenia pode ser o primeiro sinal de injúria a células tronco (WEISER, 2012c). O FeLV pode estimular a mutação celular e predispor a formação de neoplasias, especialmente linfomas, que podem substituir a população de células normais na medula óssea (HARTMANN, 2012b; SCHNELLE e BARGER, 2012). Além disso, casos de neutropenia cíclica em gatos FeLV positivos já foram relatadas (SWENSON et al., 1987) e também, em gatos FIV positivos, um possível fator inibitório sérico que diminui a diferenciação de granulócitos e monócitos foi identificado (SHELTON et al., 1989).

Ainda que raro, a infecção por FeLV em estágio latente na medula óssea pode estar associada a citopenias em 5% dos casos de gatos que apresentam resultado não reagente para os retrovírus nos testes que detectam antígenos (STÜTZER et al., 2010). É estimado que aproximadamente 10% dos gatos infectados pelo FeLV desenvolvem a infecção regressiva, na qual ocorre uma viremia transiente, com replicação viral e infecção de precursores hematopoiéticos na medula óssea. Esses gatos conseguem cessar a viremia após algumas semanas, tornando-se livres da detecção do antígeno viral no plasma. Entretanto, não são capazes de eliminar completamente o vírus do organismo, pois a informação para a replicação viral (DNA proviral) é mantida nas células tronco da medula óssea, condição chamada de infecção latente. Nesses casos, métodos sensíveis de reação em cadeia de polimerase (PCR) podem detectar o DNA proviral no sangue (HARTMANN, 2012b).

Existe apenas um estudo com o uso do filgrastim em um número limitado de gatos infectados por FeLV (KUFFER et al., 1999), onde a resposta parece ser fraca, conseqüentemente tendo seu uso questionado nesses casos (HARTMANN, 2012^a). Entretanto, os resultados do presente estudo contradizem o de Kuffer et al. (1999), pois foi observada uma resposta satisfatória na grande maioria dos gatos infectados por FeLV. Este estudo incluiu 49 gatos FeLV positivos, sendo 20 desses co-infectados com FIV, onde 40 (81,6%) responderam satisfatoriamente ao tratamento. Conforme discutido anteriormente, as causas de neutropenia associadas à infecção pelo FeLV podem ser variadas, portanto, respostas diferentes ao tratamento com filgrastim podem ser esperadas.

A estimulação da produção de neutrófilos pela medula óssea pelo G-CSF vai depender da presença de células precursoras e formadoras de granulócitos (OGILVIE, 1995). Como a infecção por FeLV pode destruir esses precursores, é esperado que o número de neutrófilos não aumente nesses casos, bem como em qualquer outra doença que cause a destruição massiva de precursores mieloides. De fato, a maioria dos gatos que não responderam ao tratamento satisfatoriamente eram FeLV positivos (9/12), entretanto, a confirmação do diagnóstico das condições mielodisplásicas ou de mieloptise requer punção de medula óssea e mielograma, o qual pode ser um exame de alto custo, demorado e proibitivo para alguns pacientes que não podem passar por procedimento anestésico.

Nos gatos FeLV positivos onde a neutropenia pode estar associada ao aumento do consumo de neutrófilos por infecções bacterianas secundárias, diminuição da produção por fatores inibitórios ou por redução de células precursoras sem destruição do seu número total, parece haver maior possibilidade de resposta à terapia. Considerando que o uso a curto-prazo não parece ser prejudicial para os gatos e que mais 80% dos gatos FeLV positivos nesse estudo

responderam satisfatoriamente em relação ao aumento do número de neutrófilos circulantes após administrações de alguns dias de filgrastim, o seu uso como tratamento adjuvante nesses gatos pode ser indicado e benéfico.

O G-CSF foi usado em alguns estudos em gatos infectados por FIV, onde foram demonstrados aumentos significativos no número de neutrófilos com o tratamento a curto-prazo (PHILLIPS et al., 2005; COLEMAN et al., 2014). No nosso estudo, dos 22 gatos que apresentaram resultado reagente para FIV, a resposta foi satisfatória em 90% dos casos, ainda que 20 deles estavam co-infectados por FeLV. Apenas 1 gato FIV positivo e 1 gato FIV e FeLV positivo não responderam ao tratamento, provavelmente por falta de precursores mielóides, como ocorreu de maneira semelhante em alguns FeLV positivos. Portanto, o uso de filgrastim também pode ser indicado nesses casos.

Um dos efeitos adversos mais importantes do uso de G-CSF recombinante humano (rHuG-CSF) a longo-prazo em gatos é a indução de anticorpos anti-G-CSF endógeno com consequente queda do número de neutrófilos circulantes, por isso ele é contraindicado para o uso prolongado. Diversos estudos já relataram esse efeito (FULTON et al., 1991; PHILLIPS et al., 2005; COLEMAN et al., 2014), portanto, assim como nos protocolos utilizados nesse estudo, deve-se evitar o uso além de 14 dias consecutivos, já que a sequência genética entre os aminoácidos do G-CSF humano e o felino é apenas 80,8% identificada e 95,9% dessa sequência é homóloga entre as espécies (HAMMOND et al., 1991; COLEMAN et al., 2014).

Até hoje, não é estabelecido se aplicações repetidas com um intervalo de tempo mais prolongado, também levam à formação dos anticorpos neutralizantes. No estudo de Phillips et al. (2005), 6 gatos FIV positivos tiveram inicialmente uma boa resposta ao tratamento com filgrastim, sem que houvesse aumento da carga viral. Entretanto todos desenvolveram anticorpos anti-G-CSF endógeno após 14 dias de uso. Após três a cinco meses sem tratamento, três desses gatos repetiram o tratamento com filgrastim durante 7 dias e houve desenvolvimento de anticorpos neutralizantes, porém, mesmo assim, apresentaram aumento na contagem de neutrófilos nos primeiros quatro dias de uso.

Um estudo testou a administração de outra citocina envolvida na granulopoiese, o fator estimulador de colônia de granulócito-macrófago (GM-CSF) em gatos FIV positivos, entretanto, apesar do aumento de neutrófilos e monócitos em 50% dos gatos, houve produção de anticorpos anti-GM-CSF e aumento da carga viral do FIV, contraindicando o uso de GM-CSF em gatos FIV (ARAI et al., 2000). O acompanhamento da carga viral através da RT-PCR (*reverse transcriptase polymerase chain reaction*) quantitativa dos pacientes tratados com

quaisquer estimulantes de medula óssea deveria ser sempre realizado (HARTMANN, 2012b), entretanto, é um teste ainda pouco acessível na medicina veterinária.

Os fatores estimulantes espécie-específicos para caninos e felinos foram produzidos e parecem ser mais seguros e eficazes, porém não estão disponíveis comercialmente, devido seu alto custo de produção (HAMMOND et al., 1991; COLGAN et al., 1992; OBRADOVICH et al., 1993; YAMAMOTO et al., 2002; COLEMAN et al., 2014). Um estudo mais recente utilizou um G-CSF felino na sua forma recombinante e peguilada (rFeG-CSF e PegFeG-CSF) em 14 gatos FIV positivos, os quais induziram aumentos maiores na contagem de neutrófilos quando comparado ao recombinante humano, ainda que todos os grupos tenham respondido significativamente (COLEMAN et al., 2014). O benefício é que o rFeG-CSF e a sua forma peguilada não induzem a formação de anticorpos neutralizantes a longo prazo, parecendo ser mais eficaz e seguro para o uso em gatos. Além disso, o uso do PegFeG-CSF foi utilizado com sucesso para tratar gatos com neutropenia induzida pelo uso a longo-prazo de rHuG-CSF (COLEMAN et al., 2014).

O G-CSF recombinante canino (rCaG-CSF) também já foi usado em gatos para o tratamento de neutropenias na síndrome de Chediak-Higashi (COLGAN et al., 1992) e em gatos saudáveis por 42 dias (OBRADOVICH et al., 1993), com aumento significativo na contagem de neutrófilos e sem formação detectada de anticorpos cruzados quando comparado ao recombinante humano, podendo também ser uma opção mais segura.

O vírus da panleucopenia felina (FPV) também é um patógeno que tipicamente deprime a contagem dos leucócitos e a neutropenia faz parte da progressão clínica da doença (BARRS, 2019). A infecção parvoviral de precursores na medula óssea destrói grande parte da sua população, levando a escassez das células armazenadas, bem como no sangue periférico, o que é uma preocupação em filhotes com o trato gastrointestinal inflamado. Entretanto, parece que as células pluripotentes são preservadas (MACARTNEY et al., 1984). O filgrastim foi usado em gatos infectados por FPV em dois estudos (KRAFT e KUFFER, 1995; KUFFER et al., 1999), onde os resultados foram contraditórios, entretanto, o número de felinos era limitado.

Existem mais estudos com o uso de filgrastim em cães infectados pelo parvovírus canino (CPV), onde os resultados também são contraditórios e alguns autores não indicam o uso de G-CSF em caninos e felinos com infecção por parvovírus, pois o vírus se replica em células em divisão rápida e o aumento do estímulo da granulopoiese poderia promover maior replicação viral e piorar a infecção (LONDON, 2000; HARTMANN, 2012a; SYKES e PAPICH, 2014), mas mais estudos com acompanhamento da carga viral são necessários para comprovar essa teoria. Em dois estudos com cães gravemente neutropênicos infectados por CPV não foram

observadas diferenças significativas na contagem de neutrófilos ou redução do tempo de hospitalização nos cães tratados com filgrastim (REWERTS et al., 1998; MISCHKE et al., 2001). Entretanto, outros estudos demonstraram uma resposta significativa (FOX e BRUEDERLE, 1996; DUFFY et al., 2010; ARMENISE et al., 2019), incluindo um estudo recente com 62 filhotes de cães infectados naturalmente com CPV, onde todos que receberam tratamento adjuvante com filgrastim apresentaram uma melhora mais rápida na contagem de leucócitos totais (ARMENISE et al., 2019). Esse aumento ocorreu principalmente pelos monócitos e linfócitos, apesar de não ser o alvo do G-CSF, e os neutrófilos aumentaram seu número mais lentamente nesses pacientes. Os autores acreditam que o fato se deve ao parvovírus destruir parte dos mieloblastos mitoticamente ativos na medula óssea e interferir na habilidade de ligação aos receptores para o G-CSF nos neutrófilos e, além disso, ao consumo massivo de neutrófilos para controlar a endotoxemia nas paredes intestinais afetadas pelos vírus. Ainda assim, no grupo tratado houve uma boa recuperação, os cães receberam alta e tiveram um menor tempo de hospitalização, enquanto que no grupo placebo houveram cinco óbitos (ARMENISE et al., 2019). São necessários mais estudos clínicos para avaliar as indicações de filgrastim em gatos infectados por FPV, juntamente com a carga viral.

Um insulto à medula óssea por drogas citotóxicas ou seus metabólitos também são potentes indutores de citopenias (SCHNELLE e BARGER, 2012). As quimioterapias antineoplásicas tem como alvo células de divisão rápida via múltiplos processos, portanto é relativamente comum ocorrer neutropenia em pacientes oncológicos em tratamento, p. ex. com doxorubicina, lomustina ou vincristina. A citotoxicidade por outros fármacos como cloranfenicol, sulfa-trimetoprim, griseofulvina, metimazol, albendazol e drogas imunossupressoras como a azatioprina também estão associados a neutropenia em gatos (JAVINSKY, 2012; SCHNELLE e BARGER, 2012). O filgrastim é amplamente utilizado em humanos para o controle das neutropenias em pacientes oncológicos, possibilitando o andamento de protocolos quimioterápicos mais intensivos, sem a necessidade de redução da dose quando o efeito adverso ocorre (PAGE e LILES, 2010; WELTE, 2014). Ele também é indicado por alguns autores com a mesma finalidade em pequenos animais (HARTMANN, 2012a; JAVINSKY, 2012; COUTO, 2014a; SYKES e PAPICH, 2014), porém, faltam estudos em felinos avaliando sua eficácia como adjuvante na quimioterapia.

As consequências da neutropenia irão variar de acordo com a sua causa, intensidade e duração. Os valores de referência considerados normais são baseados em médias para cobrir cerca de 90% dos gatos, entretanto, 5% de uma população de gatos saudáveis poderão ter uma contagem naturalmente mais baixa (VALENCIANO et al., 2010; JAVINSKY, 2012). Uma

neutropenia de 1.800 a 2.300 céls/ μ L pode ser normal em gatos, desde que assintomáticos e sem anormalidades hematológicas como desvio à esquerda ou neutrófilos tóxicos (COUTO, 2014b). Para todas as outras formas de neutropenias, a investigação, prevenção e tratamento se tornam críticos, principalmente nas neutropenias severas, onde a abordagem pode afetar a sobrevivência desses pacientes (JAVINSKY, 2012; ARMENISE et al., 2019). O uso de antimicrobianos de amplo espectro é indicado para gatos com menos de 2.000 neutrófilos circulantes, tanto com o objetivo de prevenir infecções secundárias, quanto de tratá-las quando já estão instaladas (OGG e KRUTH, 2000). Os gatos com neutropenias graves (menos de 500 neutrófilos/ μ L), febris e/ou com infecção bacteriana confirmada, devem ser hospitalizados, preferencialmente isolados, para tratamento de suporte com antimicrobianoterapia endovenosa, já que o risco de desenvolvimento de sepse é extremamente elevado (JAVINSKY, 2012; SCHNELLE e BARGER, 2012).

De acordo com os achados desse estudo, o uso a curto-prazo de filgrastim em gatos que apresentam neutropenia parece ser benéfico e deve ser considerado como terapia adjuvante, já que a alteração, independente da causa, expõe o paciente ao risco de infecções que podem ser graves e fatais (WEISER, 2012c). A causa da neutropenia deve ser sempre investigada e o tratamento específico deve ser empregado sempre que possível, porém esse processo pode levar algum tempo. Em humanos, o G-CSF mostrou benefícios no tratamento de neutropenias febris e afebris, reduzindo o tempo de hospitalização (COSLER et al., 2007). Dessa forma, doses farmacológicas de filgrastim podem ser efetivas para aumentar o número de neutrófilos, estimulando uma recuperação da resposta imune de forma rápida, mesmo em situações em que os níveis de G-CSF endógenos estão normais (OGILVIE, 1995). Assim, mantendo o paciente estável durante a busca pelo diagnóstico e início do efeito do tratamento definitivo, as complicações decorrentes da neutropenia, como sepse e óbito, podem ser evitadas e o tempo de recuperação desses pacientes acelerado (ARMENISE et al., 2019).

O objetivo deste trabalho foi comprovar que gatos neutropênicos respondem ao tratamento com filgrastim, mesmo quando infectados por retrovírus imunodepressores. As limitações desse estudo são referentes à sua natureza retrospectiva, com um grupo não homogêneo de pacientes, falta de grupos controle ou placebo, variações dos protocolos de tratamento, com diferentes doses e durações, bem como falta de padronização dos acompanhamentos hematológicos. Alguns hemogramas foram realizados após vários dias da última aplicação do medicamento, onde uma resposta considerada insatisfatória poderia ter sido avaliada diferentemente se o exame fosse realizado mais próximo da última aplicação, já que pode ser esperada uma resposta hematológica nas primeiras 24 horas após o seu uso (SUTER,

2010). Apesar da eficácia na resposta dos parâmetros hematológicos, a evolução clínica, a sobrevida ou efeitos adversos nesses pacientes não foram avaliados. O tratamento pode variar significativamente de acordo com a causa das neutropenias, as quais não foram investigadas sistematicamente nesse estudo. Portanto, novos estudos controlados devem ser executados para investigar melhor os benefícios e desvantagens da utilização de filgrastim em felinos.

5 CONCLUSÃO

Os achados desse estudo sugerem que o uso a curto-prazo do filgrastim para o tratamento de gatos com neutropenia é eficaz na grande maioria dos casos e deve, portanto, ser considerado como terapia adjuvante. Especialmente em gatos infectados por FIV e FeLV, a resposta inicial pode ser satisfatória em aproximadamente 80% dos casos, o que pode determinar um prognóstico satisfatório impedindo infecções e sepse nesses pacientes. Novos estudos controlados devem ser conduzidos para avaliar adequadamente suas indicações e impacto na sobrevida a longo prazo.

REFERÊNCIAS

- ARAI, M., DARMEN, J., LEWIS, A., YAMAMOTO, J.K. The use of human hematopoietic growth factors (rhGM-CSF and rhEPO) as a supportive therapy for FIV-infected cats. **Veterinary Immunology and Immunopathology**. 2000, v. 77, p: 71–92.
- ARMENISE, A., TREROTOLI, P., CIRONE, F., DE NITTO, A. et al. Use of recombinant canine granulocyte-colony stimulating factor to increase leukocyte count in dogs naturally infected by canine parvovirus. **Vet Microbiology**. 2019, Accepted Manuscript.
- BARRS, V. R. Feline Panleukopenia: A Re-emergent Disease. *Vet Clin Small Anim*. 2019. Article in press.
- BROWN, R., ROGERS, K. S. Neutropenia in Dogs and Cats: A Retrospective Study of 261 Cases. **J Am Anim Hosp Assoc**. 2001, v. 37, p: 131–139.
- COLEMAN, J. K., SAKAGAWA, Y., TANABE, T. et al. Pegylated feline granulocyte colony-stimulating factor increases neutrophil levels in cats. **The Veterinary Journal**. 2014, v. 200, p: 44-50.
- COLGAN, S.P., GASPER, P.W., THRALL, M.A. et al. Neutrophil function in normal and Chediak-Higashi syndrome cats following administration of recombinant canine granulocyte colony-stimulating factor. **Exp Hematol**. 1992, v. 20, n. 10, p: 1229-34.
- COSLER, L. E., ELDAR-LISSAI, A., CULAKOVA, E. et al. Therapeutic use of granulocyte colony-stimulating factors for established febrile neutropenia: effect on costs from a hospital perspective. **Pharmacoeconomics**. 2007, v. 4, p: 343-351.
- COUTO, C. G. Complications of Cancer Chemotherapy. *In*: NELSON, R. W., COUTO, C. G. **Small Animal Internal Medicine**. 5th ed. St Louis: Elsevier, 2014. Cap 75, p: 1147-1148. (a)
- COUTO, C. G. Leukopenia and Leukocytosis. *In*: NELSON, R. W., COUTO, C. G. **Small Animal Internal Medicine**. 5th ed. St Louis: Elsevier, 2014. Cap 83, p: 1230-1234. (b)
- DA COSTA, F. V. A., VALLE, S. D. F., MACHADO, G. et al. Hematological findings and factors associated with feline leukemia virus (FeLV) and feline immunodeficiency virus (FIV) positivity in cats from southern Brazil. **Pesq. Vet. Bras**. 2017, v. 37, n. 12, p: 1531-1536.
- DUFFY, A., DOW, S., OGILVIE, G. et al. Hematologic improvement in dogs with parvovirus infection treated with recombinant canine granulocyte-colony stimulating factor. **J Vet Pharmacol Ther**. 2010, v. 33, p: 352-356.
- FOX, L. M., BRUEDERLE, J. B. Nearly foolproof parvovirus treatments. **Vet Forum**. 1996, v. 13, p: 36-38.
- FUJINO, Y., HORIUCHI, H., MIZUKOSHI, F. et al. Prevalence of hematological abnormalities and detection of infected bone marrow cells in asymptomatic cats with feline immunodeficiency virus infection. **Vet Microbiol**. 2009, v. 136, p: 217–25.

- FULTON, R., GASPER, P. W., OGILVIE, G. K. et al: Effect of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor on hematopoiesis in normal cats. **Exp Hematol.** 1991, v. 19, p: 759-767.
- GLEICH, S., HARTMANN, J. Hematology and Serum Biochemistry of Feline Immunodeficiency Virus-Infected and Feline Leukemia Virus-Infected Cats. **J Vet Intern Med.** 2009, v. 23, p: 552–558.
- HAMMOND, W. P., CSIBA, E., CANIN, A., HOCKMAN, H., SOUZA, L. M., LAYTON, J. E., DALE, D.C. Chronic neutropenia. A new canine model induced by human granulocyte colony stimulating factor. **Journal of Clinical Investigation.** 1991, v. 87, p: 704–710.
- HARTMANN K. Clinical aspects of feline retroviruses: a review. **Viruses.** 2012, v. 4, n. 11, p: 2684-2710. (b)
- HARTMANN, K. Antiviral and Immunomodulatory Chemotherapy. *In:* GREENE, C. E. **Infectious diseases of the dog and cat.** 4rd ed. St Louis: Elsevier, 2012. Cap 2, p: 17-21. (a)
- JAVINSKY, E. Hematology and Immune-Related Disorders. *In:* LILLTE, S. **The Cat: Clinical Medicine and Management.** 1sr ed. St. Louis: Elsevier, 2012. Cap 25, p: 675-679
- KRAFT, W., KUFFER, M. Treatment of severe neutropenias in dogs and cats with filgrastim. **Tierarztl Prax.** 1995, v. 23, n. 6, p: 609-13.
- KUFFER, M, F., JUNG, H., KRAFT, W. Use of recombinant human granulocyte colony stimulating factor (r-metHuG-CSF) in neutropenic cats. **Tierärztliche Praxis.** 1999, v. 27, p: 136-143.
- LONDON, C. Hematopoietic cytokines: the myelopoietic factors. *In:* **BONAGURA, J.** Kirk's current veterinary therapy XIII small animal practice. 13 ed. Philadelphia: Saunders, 2000, p: 403.
- MACARTNEY, L., MCCANDLISH, I. A., THOMPSON, H. et al. Canine parvovirus enteritis, 1: Clinical, haematological and pathological features of experimental infection. **Vet Rec.** 1984, v. 115, p: 201–10.
- MISCHKE, R., BARTH, T., WOHLSEIN, P. et al. Effect of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor (rhG-CSF) on leukocyte count and survival rate of dogs with parvoviral enteritis. **Res Vet Sci.** 2001, v. 70, p: 221-225.
- OBRADOVICH, J. E., OGILVIE, G. K., STADLER-MORRIS, S. et al. Evaluation of canine recombinant granulocyte colony-stimulating factor in the cat. **J Vet Intern Med.** 1993, v. 7, p: 65-69.
- OGG, A., KRUTH, S. Antimicrobial therapy for the neutropenic dog and cat. *In:* **BONAGURA, J.** Kirk's current veterinary therapy XIII small animal practice. 13 ed. Philadelphia: Saunders, 2000, p: 267.

- OGILVIE, G.K. Hematopoietic growth factors: frontiers for cure. **The Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice**. 1995, v. 25, p: 1441–1456.
- PAGE, A. V., LILES, W. C. Immunomodulators. *In*: MANDELL, G. L., BENNETT, J. E., DOLIN, R. *In: Principles and Practice of Infectious Diseases*. 7th ed. Philadelphia: Elsevier, 2010. p: 611-623.
- PHILLIPS, K., ARAI, M., TANABE, T. et al. FIV-infected cats respond to short-term rHuG-CSF treatment which results in anti-GCSF neutralizing antibody production that inactivates drug activity. **Vet Immunol Immunopathol**. 2005, v. 108, p: 357-371.
- REWERTS, J. M., MCCAWE, D. L., COHN, L.A. et al. Recombinant human granulocyte colony-stimulating factor for treatment of puppies with neutropenia secondary to canine parvovirus infection. **J Am Vet Med Assoc**. 1998, v. 213, p: 991-992.
- SCHNELLE, A. N., BARGER, A. M. Neutropenia in Dogs and Cats: Causes and Consequences. **Vet Clin Small Anim**. 2012, v. 42, p: 111-122.
- SHELTON, G. H., ABKOWITZ, J. L., LINENBERGER, M. L. *et al*. Chronic leukopenia associated with feline immunodeficiency virus infection in a cat. **J Am Vet Med Assoc**. 1989, v. 194, p: 253–55.
- STÜTZER, B., MÜLLER, F., MAJZOUB, M. et al. Role of latent feline leukemia virus infection in nonregenerative cytopenias of cats. **J Vet Intern Med**. 2010, v. 24, p: 192–7.
- SUTER, S. E. Clinical use of Hematopoietic Growth Factors. *In*: WEISS, D. J. e WARDROP, J. **Schalm's Veterinary Hematology**. 6th ed. Iowa: Wiley-Blackwell, 2010. Cap 103, p: 790-794.
- SWENSON, C. L., KOCIBA, G. J., O'KEEFE, D. A. *et al*. Cyclic hematopoiesis associated with feline leukemia virus infection in two cats. **J Am Vet Med Assoc**. 1987, v. 191, p: 93–96.
- SYKES, J. E. e PAPICH, M. G. Antiviral and Immunomodulatory Drugs. *In*: SYKES, J. E. **Canine and Feline Infectious Diseases**. 1st ed. St Louis: Elsevier, 2014. Cap 7, p: 59-61.
- VALENCIANO, A. C., DECKER, L. S., COWELL, R. L. Interpretation of Feline Leukocyte Responses. *In*: WEISS, D. J. e WARDROP, J. **Schalm's Veterinary Hematology**. 6th ed. Iowa: Wiley-Blackwell, 2010. Cap 49, p: 335-344.
- WEISER, G. Introduction to Leukocytes and the Leukogram. *In*: THRALL, M. A., WEISER, G., ALLISON, R. W., CAMPBELL, T. W. **Veterinary Hematology and Clinical Chemistry**. 2nd ed. Iowa: Wiley-Blackwell, 2012. Cap 10, p: 118-122. (a)
- WEISER, G. Neutrophil Production, Trafficking and Kinetics. *In*: THRALL, M. A., WEISER, G., ALLISON, R. W., CAMPBELL, T. W. **Veterinary Hematology and Clinical Chemistry**. 2nd ed. Iowa: Wiley-Blackwell, 2012. Cap 11, p: 123-126. (b)

WEISER, G. Interpretation of Leukocyte Responses in Disease. **In:** THRALL, M. A., WEISER, G., ALLISON, R. W., CAMPBELL, T. W. *Veterinary Hematology and Clinical Chemistry*. 2nd ed. Iowa: Wiley-Blackwell, 2012. Cap 12, p: 127-139. (c)

WELTE, K. G-CSF: filgrastim, lenograstim and biosimilars. **Expert Opin Biol Ther**. 2014, v. 14, n. 7, p: 983-93.

YAMAMOTO, A., IWATA, A., SAITOH, T. et al. Expression in Escherichia coli and purification of the functional feline granulocyte colony-stimulating factor. **Veterinary Immunology and Immunopathology**. 2002, v. 90, p: 169–177.