



Associação do clorambucil e prednisolona no tratamento da leucemia mieloide aguda canina

Association of chlorambucil and prednisolone in the treatment of canine acute myeloid leukemia

Vitor Brasil Medeiros¹, Luã Barbalho de Macêdo², Muriel Magda Lustosa Pimentel², Ilanna Vanessa Pristo de Medeiros Oliveira², André Menezes do Vale³, Kilder Dantas Filgueira^{1*}

¹Médico Veterinário, Hospital Veterinário, Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, Rio Grande do Norte, Brasil. Email: kilder@ufersa.edu.br

²Médico Veterinário, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, Rio Grande do Norte, Brasil. Email: murielpimentel@yahoo.com.br

³Farmacêutico-Bioquímico, Hospital Veterinário, Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, Rio Grande do Norte, Brasil. Email: andre.vale@ufersa.edu.br

* **Autor para correspondência:** Hospital Veterinário, Universidade Federal Rural do Semi-Árido. Avenida Francisco Mota, Bairro Costa e Silva, Mossoró, Rio Grande do Norte, Brasil. 59625-900. E-mail: kilder@ufersa.edu.br

Resumo: A leucemia mieloide aguda (LMA) é um tipo de neoplasia que se caracteriza por infiltração, principalmente na medula óssea e sangue periférico, por células indiferenciadas do sistema hematopoiético. Em geral, o tratamento quimioterápico em cães com LMA é ineficaz e os pacientes apresentam um prognóstico desfavorável. Objetivou-se a descrição de um protocolo terapêutico para o controle da LMA na espécie canina. Uma cadela, oito anos de idade, raça poodle, apresentou o histórico de apatia e perda de peso. Foram solicitados exames complementares. Estes corresponderam a hemograma, bioquímica sérica (alanina aminotransferase, fosfatase alcalina, creatinina, proteína total e frações, cálcio iônico e glicose), além de citologia da medula óssea. As principais alterações laboratoriais corresponderam à leucocitose por neutrofilia e na citologia da medula óssea observou-se proliferação acentuada de precursores blásticos com critérios de malignidade, indicando-se assim um quadro de LMA. Instituiu-se protocolo quimioterápico, com clorambucil (4mg/m²) e prednisolona (40mg/m²). Realizou-se periodicamente seguimento clínico e laboratorial do animal, onde por vezes, houve necessidade de reajustes nas doses dos fármacos utilizados. Em cães com contínua e sucessiva leucocitose periférica, associada à sintomatologia inespecífica, deve-se considerar a possibilidade de LMA, sendo fundamental a avaliação citológica da medula óssea. A poliquimioterapia composta por clorambucil e prednisolona pode corresponder a uma perspectiva terapêutica em canino portador de LMA.

Palavras-chave: desordens mieloproliferativas, leucocitose, antineoplásicos, cão.

Abstract: Acute myeloid leukemia (AML) is a type of neoplasm that is characterized by infiltration, especially in the bone marrow and peripheral blood, by undifferentiated cells of the hematopoietic system. In general, chemotherapy in dogs with AML is ineffective and patients have an unfavorable prognosis. The objective of this study was to describe a therapeutic protocol for the control of AML in dogs. An eight-year-old poodle bitch presented the history of apathy and weight loss. Further examinations were requested. These corresponded to hemogram, serum biochemistry (alanine

aminotransferase, alkaline phosphatase, creatinine, total protein and fractions, ionic calcium and glucose), as well as cytology of the bone marrow. The main laboratory alterations corresponded to leukocytosis by neutrophilia and in the cytology of the bone marrow there was a marked proliferation of blast precursors with criteria of malignancy, thus indicating an AML. A chemotherapeutic protocol was established with chlorambucil (4mg/m²) and prednisolone (40mg/m²). Clinical and laboratorial follow-up of the animal was carried out periodically, where in some cases there was a need for readjustments in the doses of the drugs used. In dogs with continuous and successive peripheral leukocytosis associated with nonspecific symptoms, the possibility of AML should be considered, and cytologic evaluation of the bone marrow is essential. Polychemotherapy composed of chlorambucil and prednisolone may correspond to a therapeutic perspective in a canine with AML.

Keywords: myeloproliferative disorders, leukocytosis, antineoplastic, dog.

Autor para correspondência: E-mail: * kilder@ufersa.edu.br

Recebido em 12.8.2016, Aceito em 28.12.2016

<http://dx.doi.org/10.5935/1981-2965.20160057>

Introdução

A medula óssea é o principal órgão produtor de células sanguíneas e sua avaliação deve ser realizada sempre que forem verificadas anormalidades hematológicas persistentes e com ausência de uma explicação aparente. Dentre esses distúrbios podem-se citar as anemias não regenerativas, leucopenias, trombocitopenias crônicas, pancitopenia e os tumores de origem hematopoiéticos, como os linfomas e as leucemias (DOMINGUEZ & CARABALLO, 2009).

As neoplasias mieloides são raramente descritas em cães e há pouca informação a respeito de tal enfermidade na literatura (DOMINGUEZ & CARABALLO, 2009). Dentre as proliferações celulares neoplásicas da medula óssea canina, tem-se a leucemia mieloide aguda (LMA), a qual é definida como um distúrbio hematopoiético maligno progressivo, de curso rápido e com perfil celular constituído por blastos, os quais equivalem as linhagens celulares precursoras

do sangue (HAYASHI et al., 2011; YOUNG & VAIL, 2013).

A maioria dos animais acometidos apresentam sinais clínicos inespecíficos (DOBSON et al., 2006; YOUNG & VAIL, 2013). Para a conclusão definitiva é necessária a realização de investigações hematológicas, aspirado da medula óssea, imunocitoquímica, imunoistoquímica, imunofenotipagem e estudo estrutural, visando-se a análise do perfil celular (FRANCO et al., 2008; YOUNG & VAIL, 2013).

Em geral, o tratamento dos cães com LMA é decepcionante. Na maioria dos pacientes há uma resposta insatisfatória à terapia. Com base na literatura, o período de remissão é extremamente reduzido e os protocolos utilizados costumam causar efeitos colaterais severos, acentuando a depressão do estado geral dos animais (DOBSON et al., 2006; WILLMANN et al., 2009; HAYASHI et al., 2011). Os antineoplásicos utilizados usualmente para a terapia da LMA canina equivalem à citosina-arabinosídea,

doxorubicina, cicloforfamida e vincristina (YOUNG & VAIL, 2013).

No intuito de promover um alerta para o reconhecimento da LMA e esclarecer a possibilidade de terapias eficientes e com reduzida toxicidade, o presente trabalho objetivou a descrição de um protocolo terapêutico (e suas intercorrências) para o controle de tal neoplasia mieloide na espécie canina.

Materiais e Métodos

Foi atendido, no Hospital Veterinário da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (situado na cidade de Mossoró, Rio Grande do Norte, Brasil), uma cadela, oito anos de idade, raça poodle, 8kg, castrada, com o histórico de apatia e anorexia. A paciente foi submetida ao exame físico. Foram solicitados hemograma, bioquímica sérica (alanina aminotransferase, fosfatase alcalina, creatinina, proteína total e frações, cálcio iônico e glicose), radiografias torácicas e ultrassonografia abdominal. Optou-se por executar citologia da medula óssea, utilizando-se a técnica de punção aspirativa por agulha fina.

Prescreveu-se o uso sistêmico de antineoplásicos, na forma farmacêutica de comprimidos, correspondendo ao clorambucil (Leukeran[®], GlaxoSmithKline, Rio de Janeiro, RJ, Brasil), na posologia de 4mg/m², a cada 72 horas e a prednisolona (Prediderm[®], Ouro Fino Saúde Animal, Cravinhos, SP, Brasil), na posologia de 40mg/m², a cada 24 horas, na primeira semana, seguido de 40mg/m², a cada 48 horas. Durante todo o período de tratamento foi realizado

seguimento periódico da paciente, com avaliação física e laboratorial (hemograma, alanina aminotransferase, fosfatase alcalina, creatinina, proteína total e frações, cálcio iônico, glicose, citologia da medula óssea, radiografias torácicas e ultrassonografia abdominal). A tutora do animal foi orientada em relação à adoção de normas de segurança durante a manipulação da administração dos antineoplásicos, assim como no manejo dos dejetos do animal após a quimioterapia.

Resultados e Discussão

A cadela apresentou normalidade dos parâmetros fisiológicos. A principal alteração nos exames complementares foi verificada na hematologia, correspondendo à leucocitose por neutrofilia (Figura 1). Em virtude de tal distúrbio hematológico, justificou-se a inspeção citológica da medula óssea, a qual exibiu proliferação acentuada de precursores blásticos mieloides dotados de critérios de malignidade, indicando-se um quadro de LMA (Figura 2).

Transcorridos 15 dias do começo da quimioterapia, iniciou-se o seguimento do animal. Clinicamente o mesmo encontrava-se com normalidade dos parâmetros vitais. Em relação aos achados laboratoriais, verificou-se que o valor total dos leucócitos da circulação periférica estava entre o intervalo habitual para a espécie (Figura 1). As demais provas laboratoriais demonstravam-se inalteradas, com exceção para a citologia da medula óssea, a qual exibia hiperplasticidade com predomínio de série granulocítica, porém bem diferenciada. Achados similares foram

encontrados seguidos 30 e 90 dias do primórdio da terapia. Durante todo esse

período o tratamento permaneceu sem modificações.

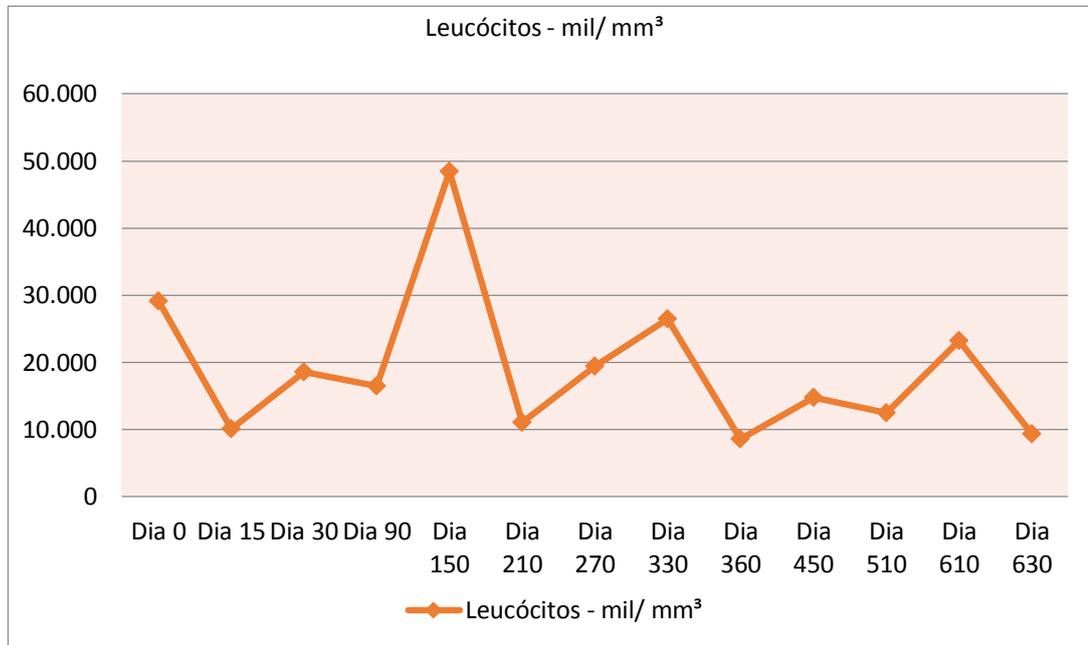


Figura 1: Demonstração da variação da contagem leucocitária periférica global no decorrer do tratamento.

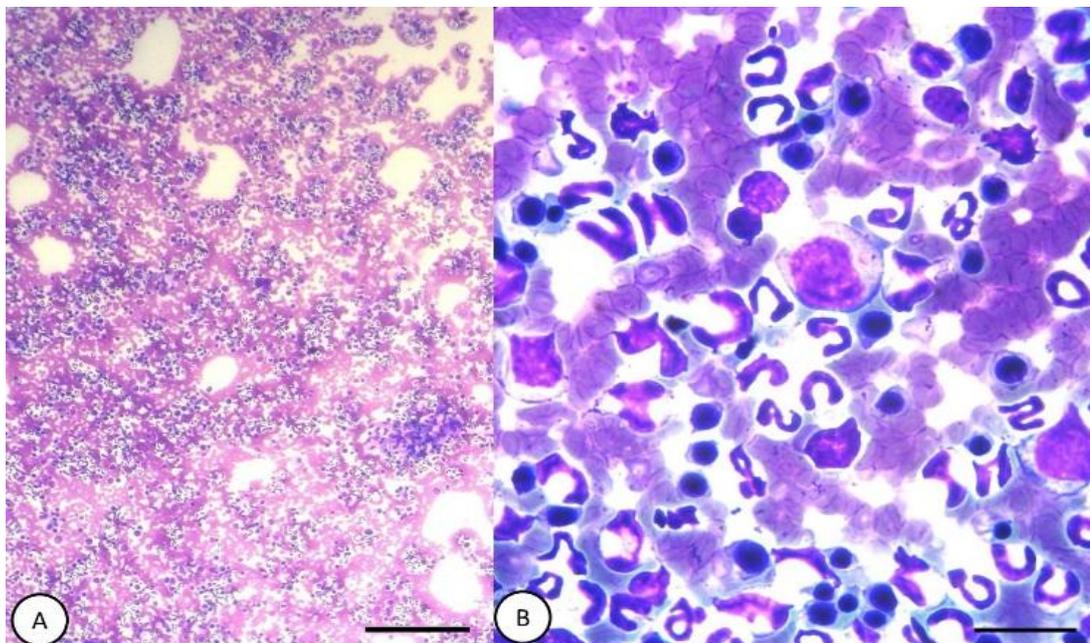


Figura 2: Fotomicrografia citológica da medula óssea. A: verifica-se amostra hiperplásica com predomínio dos elementos da série granulocítica [Coloração: Romanowsky (panótico), obj. 10x, barra 200µm]. B: proliferação de blastos mieloides com critérios de malignidade [Coloração: Romanowsky (panótico), obj. 100x, barra 20µm].

No 150º dia ocorreu retorno da paciente, sendo relatada pela tutora a exclusão da prednisolona do tratamento, tomando como base motivos pessoais, mantendo-se apenas o clorambucil. Os parâmetros vitais da cadela estavam nos intervalos de normalidade. Porém, na hematologia notou-se leucocitose (Figura 1) e a inspeção citológica medular elucidou hiperplasia com elevada quantidade de células blásticas dotadas de nucléolos múltiplos, figuras de mitose atípicas e granulações primárias excessivas. Os demais testes complementares exibiam-se no intervalo de referência. Foi preconizado a reinstituição da terapia com prednisolona, conforme a prescrição inicial. Durante o seguimento executado nos dias 210 e 270 pós-início da administração dos fármacos, a cadela revelou parâmetros clínicos e laboratoriais nos padrões usuais para a espécie. Nesse sentido, não houve necessidade de alterações posológicas nos medicamentos.

Transcorridos 330 dias do princípio do tratamento, a cadela apresentou parâmetros vitais estáveis. Todavia, constatou-se leucocitose na circulação periférica (Figura 1) e a avaliação microscópica da medula óssea revelou a presença preponderante de células blásticas com nucléolos múltiplos, com numerosos precursores hematopoéticos da série mieloide dotados de características típicas de LMA. Diante desses achados, ocorreu acréscimo na dose do clorambucil (8mg/m^2), com manutenção do intervalo de administração. A posologia do corticoide permaneceu

inalterada. As demais análises laboratoriais estavam inalteradas.

Após aproximadamente um ano de iniciar o tratamento para a neoplasia mieloide (dia 360), análise clínica da paciente detectou condições satisfatórias na sanidade física assim como nos exames laboratoriais, com exceção da concentração sérica da fosfatase alcalina, a qual demonstrou-se elevada (750 U/L). Logo, orientou-se para a redução da dose da prednisolona (20mg/m^2), com preservação do tempo de administração (a cada 48 horas). A posologia do clorambucil manteve-se inalterada. Os outros exames complementares expressavam valores corriqueiros para a espécie. No acompanhamento estabelecido nos dias 450 e 510 após o início da terapia, a paciente exibiu todos os parâmetros clínicos e laboratoriais condizentes com a regularidade. Assim, encorajou-se com a continuidade posológica dos antineoplásicos utilizados.

No 610º dia, a cadela apresentava avaliação física sem alterações. Todavia a hematologia exibiu elevação da contagem global de leucócitos (Figura 1) e a citologia da medula óssea constatou a presença de infiltrado de células blásticas, com desequilíbrio escalonado das linhagens hematopoéticas, resultando em desordem do estroma medular. Além disso, verificaram-se precursores blásticos dotados de critérios de malignidade como macronúcleolos e assincronismo maturativo. Logo, optou-se em retornar para a dose inicial do glicocorticoide (40mg/m^2), com permanência do intervalo de administração

estabelecido anteriormente. Não houve modificação da posologia do clorambucil. As demais provas laboratoriais encontravam-se nos limites de referência para a espécie.

Durante o 630º dia, o animal encontrava-se com os parâmetros vitais inalterados assim como as provas laboratoriais rotineiramente executadas. Nesse sentido, o tratamento permaneceu sem modificações. Contudo, após esse período não ocorreu retorno da tutora com a cadela, não sendo possível obter informações da condição do animal.

A LMA em cães constitui menos de 10% das neoplasias hematopoiéticas e por isso é considerada uma enfermidade rara. O registro da incidência na espécie é de 4,1 casos para cada 100.000 animais e o pico de incidência ocorre aos 12 anos de idade (YOUNG & VAIL, 2013). Tais citações reforçaram a importância do presente relato, uma vez que se referiu a uma situação insólita e a idade da paciente encontrou-se desviada da faixa etária convencional da literatura.

Animais com LMA não apresentam massas tumorais óbvias, entretanto demonstram sinais clínicos inespecíficos que incluem anorexia, perda de peso, febre, letargia, linfadenopatia, esplenomegalia, distúrbios gastroentéricos e dispneia. A sintomatologia pode variar conforme a infiltração celular nos órgãos mais susceptíveis (ANTOIGNONI et al., 2003; FRANCO et al., 2008). Logo, na paciente em discussão, observaram-se parcialmente as manifestações clínicas usuais da neoplasia mieloide, possivelmente por ainda não existir, no momento inicial da abordagem, um

comprometimento imagiológico de vários sistemas orgânicos.

O diagnóstico de afecções mieloproliferativas é baseado na anamnese e achado físicos com associação a exames complementares tais como hemograma completo e punção de órgãos hematopoiéticos, como a medula óssea (WILLMANN et al., 2009). Tal conduta foi adotada na cadela em questão e favoreceu a obtenção de um diagnóstico preciso e precoce. Todavia não houve possibilidade de adoção de técnicas mais avançadas, como a imunocitoquímica e imunoistoquímica.

No geral, o tratamento para a LMA canina não apresenta boa resposta e o animal vem a óbito em poucos meses (DOBSON et al., 2006; HAYASHI et al., 2011). O objetivo da terapia é a destruição das células leucêmicas para proporcionar o retorno da hematopoiese normal, mas para atingir esse efeito devem-se empregar protocolos com alto potencial citotóxico, os quais resultam em um maior número de efeitos colaterais (DOBSON et al., 2006). A poliquimioterapia mais comumente utilizada é constituída por citosina-arabinósideo, doxorrubicina ou ciclofosfamida, vincristina e prednisona, dentre outros (YOUNG & VAIL, 2013). Todavia, a associação do clorambucil com a prednisolona apresenta uma adequada ação antineoplásica no tratamento de diversos distúrbios mieloproliferativos (como exemplo, os linfomas) em pequenos animais, apresentando uma satisfatória relação custo-benefício e evidenciando mínimos efeitos colaterais

(RECHE-JUNIOR et al., 2010; YOUNG & VAIL, 2013). Com base nas informações acima citadas, justificou-se a utilização conjunta dos antineoplásicos clorambucil e prednisolona na cadela descrita, os quais denotaram eficiência uma vez que refletiram em um aumento na expectativa e qualidade de vida da paciente.

A ocorrência do acréscimo na contagem leucocitária durante o 150º dia na cadela relatada, provavelmente relacionou-se com a suspensão inadvertida da prednisolona anteriormente prescrita. Sabe-se que os glicocorticoides possuem efeitos citotóxicos na terapia antineoplásica, através de mecanismos que inibem a produção de citocinas e alteram a expressão de vários oncogenes, com indução da apoptose das células neoplásicas (INABA & PUI, 2010).

No 330º dia, o retorno da leucocitose no animal em discussão poderia ser decorrente da dose do clorambucil, a qual estava ineficaz para o controle da proliferação leucêmica. Tal situação foi corroborada ao elevar a quantidade desse fármaco em cada administração, com a verificação da estabilização do valor leucocitário nas monitorações subsequentes.

O clorambucil é um antineoplásico, pertencente ao grupo dos agentes alquilantes. Possui como mecanismo antitumoral a ligação cruzada com o material genético das células neoplásicas, bloqueando a sua replicação, além de promover a apoptose celular (DI ANTONIO et al., 2014).

Atua por difusão passiva, com rápida absorção e atingindo picos plasmáticos em

duas a quatro horas após a administração (YOUNG & VAIL, 2013).

Na cadela em evidência, a elevação no valor da fosfatase alcalina, detectada do 360º dia, possivelmente sucedeu-se em virtude do uso crônico do esteroide exógeno. Em cães, o aumento da atividade sérica da fosfatase alcalina (hiperfosfatemia) geralmente é associado com doença hepatobiliar, atividade osteoclástica (em geral por neoplasias ósseas) e indução por alguns medicamentos, como os corticosteroides.

Em relação a esses últimos, a hiperfosfatemia é benigna na maioria dos casos, com decréscimo após semanas ou meses quando há descontinuidade do esteroide sintético (WIEDMEYER et al, 2002; ALLISON, 2015). Assim, a dose da prednisolona para a paciente do presente relato foi reduzida no sentido de prevenir hepatopatias e também endocrinopatias, como *diabetes mellitus* e hiperadrenocorticism, uma vez que a idade e o padrão racial do animal poderiam corresponder a fatores somatórios, com o esquema posológico da glicocorticoideterapia, para o desencadeamento de doenças endócrinas.

Todavia, ao 610º dia, o incremento nos níveis circulantes dos glóbulos brancos no indivíduo descrito, presumivelmente transcorreu-se em razão da atenuação da dose do corticoide. Nessa lógica, recomendou-se retomar a quantidade inicialmente preconizada da prednisolona, visto que as condições clínicas e laboratoriais da cadela permitiram essa manobra terapêutica.

Conclusão

Em cães com contínua leucocitose periférica, onde o paciente exibe sintomatologia inespecífica, deve-se considerar a possibilidade de LMA, sendo fundamental a inspeção citológica da medula óssea, além de outros exames complementares. A poliquimioterapia composta por clorambucil e prednisolona pode corresponder a uma perspectiva terapêutica eficaz para os animais portadores de tal neoplasia mieloide. Esse protocolo terapêutico tende a proporcionar melhoria na qualidade de vida dos pacientes e redução dos efeitos colaterais.

Referências

1. ALLISON, R.W. Avaliação laboratorial da função hepática. In: THRALL, M. A.; WEISER, G.; ALISON, R.W.; CAMPBELL, T.W. (Ed.). **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015. cap.26, p.346-366.
2. ANTOGNONI, M.T.; MANGILI, V.; SPATERNA, A.; FRUGANTI, G. Acute myeloid leukaemia in five dogs: clinical findings and cytochemical characterization. **Veterinary Research Communications**, v.27, n.1, p.367-371, 2003.
3. DI ANTONIO, M.; MCLUCKIE, K. I.; BALASUBRAMANIAN, S. Reprogramming the mechanism of action of chlorambucil by coupling to a g-quadruplex ligand. **Journal of the American Chemical Society**, v.136, n.16, p.5860-5863, 2014.
4. DOBSON, J.; VILLIERS, E.; MORRIS, J. Diagnosis and management of leukaemia in dogs and cats. **In Practice**, v.28, n.1, p.22-31, 2006.
5. DOMÍNGUEZ, M.S.G.; CARABALLO, A.J. Leucemia mieloide aguda. Reporte de un caso. **Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias**, v.22, n.2, p.199-207, 2009.
6. FRANCO, D.G.; SEGUNDO, J.P.; DE NARDO, C.D.D.; SUEIRO, F.A.R.; DE CASTRO, K.F.; DAGNONE, A. S. Leucemia canina: aspectos laboratoriais e clínicos-revisão de literatura. **Veterinária e Zootecnia**, v.15, n.3, p.15-18, 2008.
7. HAYASHI, A.; TANAKA, H.; KITAMURA, M.; NISHIDA, H.; SHIMODA, T.; OHASHI, F.; NAKAYAMA, M. Acute myelomonocytic leukemia (AML-M4) in a dog with the extradural lesion. **Journal of Veterinary Medical Science**, v.73, n.3, p.419-422, 2011.
8. INABA, H.; PUI, C.H. Glucocorticoid use in acute lymphoblastic leukaemia. **The Lancet Oncology**, v.11, n.11, p.1096-1106, 2010.
9. RECHE-JUNIOR, A.; CHALITA, M.C.C.; WANG, L.; GERALDO JUNIOR, C.A.; SANTOS, C.F.; FREITAS, M.F. Uso da L-asparaginase (Elspar[®]), prednisona (Meticorten[®]) e clorambucil (Leukeran[®]) no tratamento de gatos com linfoma alimentar: 32 casos (2004-2009). **A Hora Veterinária**, v.29, n.173, p.9-16, 2010.
10. WIEDMEYER, C.E.; SOLTER, P.E.; HOFFMAN, W.E. Alkaline phosphatase expression in tissues from glucocorticoid-treated dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v.63, n.8, p.1083-1088, 2002.
11. WILLMANN, M.; MULLAUER, L.; SCHWENDENWEIN, I.; WOLFESBERGER, B.; KLEITER, M.; PAGITZ, M.; HADZIJUSUFOVIC, E.; SHIBLY, S.; REIFINGER, M.; THALHAMMER, J.G.; VALENT, P. Chemotherapy in canine acute megakaryoblastic leukemia: a case report and review of the literature. **In Vivo**, v.23, n.6, p.911-918, 2009.
12. YOUNG, K.M.; VAIL, D.M. Canine acute myeloid leukemia, myeloproliferative neoplasms and myelodysplasia. In: WITHROW, S.J.; VAIL, D.M.; PAGE, R.L. (Ed.). **Small animal clinical oncology**. 5.ed. St Louis: Elsevier, 2013. cap.32, p.653-665.

