

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Escola de Veterinária

Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal

Vanessa Stuart Marques

**ASSOCIAÇÃO DO CORTISOL PILOSO, GRAVIDADE E QUALIDADE DE VIDA
EM CÃES COM DERMATITE ATÓPICA APÓS TERAPIA COM LOKIVETMAB**

Belo Horizonte

2021

Vanessa Stuart Marques

**ASSOCIAÇÃO DO CORTISOL PILOSO, GRAVIDADE E QUALIDADE DE VIDA
EM CÃES COM DERMATITE ATÓPICA APÓS TERAPIA COM LOKIVETMAB**

Versão final

Dissertação apresentada na Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal.

Orientadora: Profa. Dra. Adriane Pimenta da Costa Val Bicalho.

Belo Horizonte

2021

M357a Marques, Vanessa Stuart, 1989-
Associação do Cortisol Piloso, gravidade e qualidade de vida em cães com dermatite atópica após terapia com Lokivetmab/ Vanessa Stuart Marques. -2021.
73 f.:il

Orientadora: Adriane Pimenta da Costa Val Bicalho
Dissertação (Mestrado) apresentado à Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito para obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal
Área de concentração: Clínica e Cirurgia Veterinárias.
Bibliografias: f.: 61 - 69.

1. Cães - Teses - 2. Prurido - Teses - 3. Dermatologia Veterinária – Teses – 4. Ciência Animal - Teses - I. Val Bicalho, Adriane Pimenta da Costa - II. Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária – III. Título.

CDD – 636.089 69

Bibliotecária responsável Cristiane Patrícia Gomes – CRB2569
Biblioteca da Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE VETERINÁRIA
COLEGIADO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

FOLHA DE APROVAÇÃO

VANESSA STUART MARQUES

Dissertação submetida à banca examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIA ANIMAL, como requisito para obtenção do grau de MESTRE em CIÊNCIA ANIMAL, área de concentração Patologia Animal.

Aprovado(a) em 30 de junho de 2021, pela banca constituída pelos membros:

Dr.(a). Adriane Pimenta da Costa Val Bicalho - Presidente - Orientador(a)

Dr.(a). Fabiola de Oliveira Paes Leme Bonna

Dr.(a). Ana Claudia Balda



Documento assinado eletronicamente por **Adriane Pimenta da Costa Val Bicalho, Cidadã**, em 02/07/2021, às 13:45, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Fabiola de Oliveira Paes Leme, Professora do Magistério Superior**, em 02/07/2021, às 18:30, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Ana Claudia Balda, Usuário Externo**, em 02/07/2021, às 22:13, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0804827** e o código CRC **A88246A9**.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus, essa energia dentro de mim que sempre se fez presente, me fortalecendo e me direcionando o caminho. Por ter me permitido descobrir minha paixão desde nova e fazer dela meu propósito de vida.

À minha família, em especial aos meus pais, que sempre me apoiaram e me mostraram que vale a pena ser feliz e lutar pelo que acredito. Vocês são meus exemplos! Às minhas irmãs, Déborah, Marina e Mariana pelo apoio e amor incondicional. Ao meu afilhado, Arthur, à Lala e ao Beni, por serem meu Sol e alegrarem meus dias. Ao Pedro, pelo amor, companheirismo e por estar ao meu lado ao longo desses dois anos, me incentivando e me ajudando a evoluir.

À minha orientadora Profa. Adriane “Tia”, que despertou meu encanto pela dermatologia, sempre esteve presente e me deu todo o suporte necessário no mestrado. Obrigada pelos ensinamentos, pelos valores e pela consciência profissional. A você, todo meu respeito e admiração.

À professora Fabíola e professor Rodolfo, pelo conhecimento proporcionado, pelo entusiasmo e por estarem sempre dispostos a ajudar.

À Jéssica, amiga que o mestrado me presenteou, pela parceria, por dividir comigo seus conhecimentos, pelas tardes compartilhadas e pelas “figurinhas” trocadas. Você fez essa caminhada ser mais leve e alegre. À Marina “Nina”, sempre prestativa e presente em todas as etapas deste trabalho. Às estagiárias, em especial à Júlia e Isabela, por toda ajuda e disponibilidade.

A todos os funcionários do Hospital Veterinário da UFMG que, em cada função, contribuíram de forma essencial para a conclusão deste trabalho.

Aos meus grandes amigos e colegas de profissão, Isabela “Marmota”, Carlos, Hariany e Joana. Obrigada por, mesmo distantes, se fazerem presentes. Admiro vocês e desejo que essa amizade perdure por toda a vida.

Ao laboratório TECSA pela parceria e apoio, em especial ao Dr. Otávio Valério, que sempre esteve disponível e que, com sua excelência profissional, foi imprescindível para a finalização deste trabalho.

Ao CNPq pelo apoio a esta pesquisa.

À Mel e à Xuxa (*in memoriam*), minhas filhas de quatro patas. Quis o destino que vocês viessem para nossa família para nos transbordar de amor. Serei eternamente grata.

E por fim, agradeço a todos os pacientes e seus tutores do serviço de dermatologia do HV-UFMG que contribuíram para o projeto de pesquisa e para o meu aprendizado. Espero agradecer ajudando os animais e suas famílias a serem mais felizes, proporcionando a eles mais qualidade de vida por meio da dermatologia.

“Não importa se os animais são incapazes
ou não de pensar. O que importa é que são
capazes de sofrer.”

Jeremy Bentham

RESUMO

A dermatite atópica canina (DAC) é uma doença inflamatória e pruriginosa da pele, com características clínicas associadas aos anticorpos IgE, mais comumente direcionados contra alérgenos ambientais e que impacta na qualidade de vida dos animais acometidos e de seus tutores. O tratamento é multifacetado e deve ser adaptado a cada paciente. Atualmente, uma medicação baseada em anticorpo monoclonal (mAb) caninizado, denominada lokivetmab, tem se mostrado promissora para o controle dos sinais da doença, pois neutraliza a interleucina (IL)-31, citocina que desempenha papel importante na patogênese da DAC. O impacto das doenças dermatológicas na vida do cão afetado e de seus tutores tem sido estudado apenas nos últimos anos, por meio de questionários validados. Essa ferramenta de medição adicional tem se mostrado importante para a avaliação do sucesso terapêutico das intervenções na dermatite atópica, já que a melhora clínica pode não se correlacionar com o aumento da qualidade de vida. Um método não invasivo e objetivo, atualmente considerado um indicador promissor da qualidade de vida dos pacientes atópicos, é a mensuração do cortisol incorporado ao folículo piloso. Este trabalho teve como objetivo avaliar e comparar a gravidade clínica da doença, qualidade de vida e níveis de cortisol piloso de cães com dermatite atópica após terapia com lokivetmab. Foram selecionados 10 cães atópicos atendidos no serviço de dermatologia do Hospital Veterinário da Escola de Veterinária da UFMG. Os pacientes foram avaliados quanto a gravidade da doença, através das pontuações do índice de extensão e gravidade da dermatite atópica canina (CADESI)-04 e escala visual analógica de prurido (pVAS); qualidade de vida, por meio de um questionário validado; e níveis de cortisol piloso, antes e após terapia com lokivetmab. Pode-se concluir que o tratamento com lokivetmab não foi capaz de reduzir a extensão e a gravidade das lesões dérmicas, mas melhorou de forma significativa o prurido e a qualidade de vida dos cães com dermatite atópica e de seus tutores; e que o impacto na qualidade de vida de ambos é pior quanto maior o prurido do paciente. Não houve correlação observada entre níveis de cortisol piloso, gravidade da doença e qualidade de vida dos cães com dermatite atópica após uso do lokivetmab. No entanto, concentrações menores foram encontradas após a segunda aplicação da medicação. Mais estudos são necessários acerca dos níveis de cortisol piloso nesses pacientes, seu papel como biomarcador de estresse e qualidade de vida e, mais ainda, sua contribuição para a perpetuação da doença.

Palavras-chave: anticorpo monoclonal, atopia, canina, IL-31, questionário.

ABSTRACT

Canine atopic dermatitis is an inflammatory and pruritic skin disease, with clinical characteristics associated to IgE antibodies, most commonly directed against environmental allergens which impacts the quality of life in affected animals and their owners. Treatment is multifaceted and must be adapted to each patient individually. Currently, a medication based on caninized monoclonal antibody (mAb), called lokivetmab, has shown promise for controlling of the signs of the disease, as it neutralizes interleukin (IL)-31, a cytokine that plays an important role in the pathogenesis of atopy. The impact of dermatological diseases on the affected dog's life and its owners has only been studied in recent years through validated questionnaires. This additional measurement tool has been shown to be important for evaluating the therapeutic success of interventions in atopic dermatitis, as clinical improvement may not correlate with an increased quality of life. A non-invasive and objective method, currently considered a promising indicator of the quality of life in atopic patients, is the measurement of cortisol incorporated into the hair follicle. This study aimed to evaluate and compare the clinical severity of the disease, quality of life and hair cortisol levels in atopic dogs after lokivetmab therapy. Ten atopic dogs treated at the dermatology service of the Veterinary Hospital of the Veterinary School from UFMG were selected. Severity of the disease was assessed using the canine atopic dermatitis extent and severity index (CADESI)-04 and pruritus visual analog scale (pVAS) scores, quality of life using a validated questionnaire, and hair cortisol levels in these patients, before and after lokivetmab therapy. It concludes that treatment with lokivetmab was not able to reduce the extent and severity of dermal lesions in atopic patients, but it significantly improved the pruritus and quality of life of dogs and their owners; and the impact on the quality of life of both is worse the more itchy the patient were. There was no correlation observed between hair cortisol levels, severity of the disease and quality of life of atopic dogs after lokivetmab. However, lower concentrations were found after the second application of the medication. More studies are needed on the levels of hair cortisol in these patients and its role as a biomarker of stress and quality of life, and even more, its contribution to the perpetuation of the disease.

Keywords: monoclonal antibody, atopy, canine, IL-31, questionnaire.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1.** Ilustração dos papéis hipotéticos da interleucina (IL) -31 em doenças de pele pruriginosas. IL-31 é produzida principalmente por células T helper (Th) do tipo 2, embora as outras células imunes inatas também possam produzir IL-31. O receptor de IL-31 é amplamente expresso por vários tipos de células, incluindo nervos sensoriais periféricos, queratinócitos e células imunológicas. A ligação da IL-31 ao seu receptor nos neurônios sensoriais estimula o nervo, causando prurido. IL-31 também está envolvida na disfunção da barreira cutânea e inflamação. Fonte: adaptado de Kabashima e Irie, 2021.....20
- Figura 2.** Lesões cutâneas características da dermatite atópica canina. A: eritema interdigital; B: eritema, hiperpigmentação, liquenificação e alopecia em região ventral; C: hiperpigmentação e liquenificação em pavilhão auricular; D: eritema e alopecia auto induzida em região dorsal. Fonte: arquivo pessoal..... 21
- Figura 3.** Distribuição comum das lesões e prurido associados à dermatite atópica canina. Fonte: adaptado de Hensel et al., 2015.....22
- Figura 4.** Mecanismo de ação do Cytopoint®. O lokivetmab bloqueia a interleucina 31 (IL-31) no meio extracelular, impedindo que a sinalização mediada por ela nos neurônios periféricos da pele cause prurido. Fonte: adaptado de Zoetis, 2018.....25
- Figura 5.** Critérios propostos por Favrot et al. (2010a) para auxílio no diagnóstico da dermatite atópica canina..... 33
- Figura 6.** Classificação de lesões pelo índice de extensão e gravidade da dermatite atópica (CADESI)-04. Fonte: adaptado de Olivry et al., 2014.....35
- Figura 7.** Ficha de graduação de lesões pelo índice de extensão e gravidade da dermatite atópica (CADESI)-04. Fonte: adaptada de Olivry et al., 2014.....36
- Figura 8.** Escala analógica visual de prurido. Fonte: adaptada de Hill et al., 2007.....37
- Figura 9.** Escala analógica visual de prurido. Fonte: adaptada de Rybníček et al., 2009.....38
- Figura 10.** Questionário sobre a qualidade de vida de cães com doença de pele e seus tutores. Fonte: adaptado de Noli et al., 2011a.....39
- Figura 11.** Coleta de pelo da região isquiática esquerda para posterior mensuração de cortisol piloso em um cão com dermatite atópica. Fonte: arquivo pessoal.....40
- Figura 12.** Etapas de extração e mensuração do cortisol piloso. 1– lavagem dos pelos duas vezes com 2,5ml de isopropanol; 2– secagem em temperatura ambiente por 5 dias; 3- pelos secos picados em pequenos fragmentos (+-1mm) e, em seguida, adicionados a 1,5ml de metanol absoluto para extração do cortisol por 24h; 4- secagem do metanol a 60°C em uma estufa; 5- mensuração do cortisol piloso do extrato seco pelo método de quimioluminescência.....41
- Figura 13.** Intercorrências mais frequentes relatadas nos cães com dermatite atópica ao longo do estudo. A- otite externa; B- piodermite superficial. Fonte: arquivo pessoal.....44
- Figura 14.** Gravidade das lesões (CADESI-04) nos cães com dermatite atópica, antes (M0) e após (M1 e M2) terapia com lokivetmab. As letras acima de cada grupo representam as comparações múltiplas. Grupos que compartilham pelo menos uma mesma letra, não possuem diferenças significativas entre si a um nível de significância de 5%.....46
- Figura 15.** Frequência relativa da gravidade do prurido em cães com dermatite atópica antes (momento 0) e após (momento 1 e 2) terapia com lokivetmab. Gravidade do prurido classificada conforme

pontuação na pVAS (0 a 10): leve ($\geq 2-4$ cm), moderado ($>4-6$ cm), grave ($>6-8$ cm) e muito grave ($>8-10$ cm).....47

Figura 16. Pontuações de prurido (pVAS) dos cães com dermatite atópica antes (M0) e após (M1 e M2) terapia com lokivetmab. As letras acima de cada grupo representam as comparações múltiplas. Grupos que compartilham pelo menos uma mesma letra, não possuem diferenças significativas entre si a um nível de significância de 5%.....48

Figura 17. Correlação entre a dose de lokivetmab administrada e os valores de pVAS em cães com dermatite atópica.....50

Figura 18. Pontuações de cada pergunta referente a qualidade de vida dos cães com dermatite atópica (QoL1) e seus tutores (QoL2), antes (momento 0) e após (momento 2) terapia com lokivetmab.....53

Figura 19. Correlações entre gravidade da doença percebida (pergunta 1, S) e: qualidade de vida dos cães (QoL1) e seus tutores (QoL2), prurido (pVAS), e extensão das lesões (CADESI-04), em pacientes com dermatite atópica.....54

Figura 20. Concentrações de cortisol piloso em função do peso, idade, sexo e status sexual.....56

Figura 21. Concentrações de cortisol piloso em função do tamanho e cor prevalente da pelagem.....57

Figura 22. Concentrações de cortisol piloso nos cães com dermatite atópica antes (M0), e após primeira (M1) e segunda (M2) aplicação do lokivetmab. As letras acima de cada grupo representam as comparações múltiplas. Grupos que compartilham pelo menos uma mesma letra, não possuem diferenças significativas entre si a um nível de significância de 5%.....58

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Valores do CADESI-04 (0 a 180) e pVAS (0 a 10) encontrados antes (momento 0), 28 dias (momento 1) e 56 dias (momento 2) após início da terapia com lokivetmab em 10 cães com dermatite atópica. Em destaque, cão que apresentou remissão da doença após o uso da medicação.....44
- Tabela 2.** Pontuações do questionário de qualidade de vida aplicado em 10 cães com dermatite atópica, antes (momento 0) e após (momento 1 e 2) terapia com lokivetmab.....50
- Tabela 3.** Melhoria média e relativa observada nas pontuações de cada pergunta do questionário de qualidade de vida, aplicado a tutores de cães com dermatite atópica, antes (dia 0) e após (dia 56) terapia com lokivetmab.....52
- Tabela 4.** Características da população e níveis de cortisol piloso encontrados em 10 cães com dermatite atópica, antes (M0) e após primeira (M1) e segunda (M2) aplicação de lokivetmab.....55

LISTA DE QUADROS

- Quadro 1.** Momentos em que os animais receberam as aplicações do lokivetmab e onde foram realizadas as avaliações da gravidade da doença (CADESI-04 e escala visual analógica de prurido), aplicação do questionário de qualidade de vida e coleta de pelos..... 34
- Quadro 2.** Dados demográficos de 10 cães com dermatite atópica canina, provenientes da rotina clínica do serviço de dermatologia do Hospital Veterinário da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais..... 43
- Quadro 3.** Intercorrências observadas nos cães com dermatite atópica em cada momento e terapias utilizadas.....44
- Quadro 4.** Número de animais e porcentagem relativa do sucesso reportado 28 (D28) e 56 (D56) dias após o início da terapia com lokivetmab em cães com dermatite atópica. Dados em negrito representam a taxa de sucesso do tratamento para prurido.....49
- Quadro 5.** Correlação não paramétrica de Spearman entre cortisol piloso e outras variáveis avaliadas em 10 cães com dermatite atópica.....59

LISTA DE ABREVIATURAS

AKT	Proteína quinase B
ACTH	Hormônio adenocorticotrófico
ASIT	Imunoterapia específica para alérgeno
ASIS	Teste de sorologia para IgE específica para alérgeno
CADESI	Índice de extensão e gravidade da dermatite atópica canina
DA	Dermatite atópica
DAC	Dermatite atópica canina
DAPP	Dermatite alérgica a picada de pulga
EFAs	Ácidos graxos essenciais
HHA	Hipotálamo-hipófise-adrenais
ICADA	Comitê Internacional de Doenças Alérgicas em Animais
IDT	Teste intradérmico
IFN	Interferon
IgE	Imunoglobulina E
IL	Interleucina
IL-31RA	Receptor A de IL-31
JAK	Janus quinase
mAb	Anticorpo monoclonal
MAPK	Quinase proteica ativada por mitogênio
OSMR	Receptor da oncostatina M
P13K	Fosfatidilinositol 3-quinase
pVAS	Escala visual analógica de prurido
QV	Qualidade de vida
QoL1	Qualidade de vida do cão
QoL2	Qualidade de vida do tutor
STAT	Transdutores de sinal e ativadores de transcrição
TEWL	Perda de água transepidermica
Th	T helper

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	14
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	16
2.1 Dermatite atópica canina.....	16
2.1.1 Conceito.....	16
2.1.2 Prevalência.....	16
2.1.3 Fisiopatogenia.....	16
2.1.3.1 Alterações na barreira cutânea.....	17
2.1.3.2 Alterações imunológicas.....	17
2.1.4 Sinais clínicos.....	20
2.1.5 Diagnóstico.....	22
2.1.6 Tratamento.....	23
2.1.6.1 Lokivetmab – uma nova terapia biológica.....	23
2.2 Impacto na qualidade de vida.....	25
2.3 Cortisol piloso.....	28
3. OBJETIVO GERAL	31
4. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	31
5. MATERIAL E MÉTODOS	31
5.1 Animais.....	32
5.2 Procedimentos	33
5.2.1 Gravidade das lesões	34
5.2.2 Prurido.....	36
5.2.3 Questionário de qualidade de vida.....	37
5.2.4 Cortisol piloso.....	39
5.2.4.1 Extração do cortisol piloso.....	39
6. ANÁLISE ESTATÍSTICA	41
7. RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
8. CONCLUSÕES.....	59
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	60
ANEXOS	69

1 INTRODUÇÃO

A dermatite atópica (DA) é uma doença extremamente comum, pruriginosa e frustrante de tratar (Marsella e De Benedetto, 2017). As descobertas nos aspectos clínicos, histológicos, imunológicos e epidemiológicos desta dermatopatia levaram à definição de dermatite atópica canina (DAC) como doença inflamatória e pruriginosa da pele, com características clínicas associadas aos anticorpos imunoglobulina E (IgE), mais comumente direcionados contra alérgenos ambientais (Halliwell, 2006) e que impacta na qualidade de vida (QV) dos animais acometidos e, por conseguinte, de seus tutores (Linek e Favrot, 2010).

A DAC não possui sinais clínicos patognomônicos que permitam que o diagnóstico definitivo seja feito após a anamnese inicial e exame clínico (Griffin e DeBoer, 2001). O sinal mais comum é o prurido, que precede outros sinais clínicos e é responsivo ao uso de corticóides (Favrot et al., 2010a; Bruet et al., 2012). O tratamento da DAC é multifacetado e deve ser adaptado a cada paciente dependendo do estágio da doença, sua gravidade e distribuição das lesões. A QV de ambos, cães e tutores, deve ser considerada (Medeiros, 2017). Atualmente, uma medicação denominada lokivetmab (Cytoint; Zoetis) se mostrou promissora para o controle dos sinais da DAC (Souza et al., 2018). Composta por anticorpo monoclonal (mAb) caninizado, esta medicação neutraliza a interleucina (IL)-31, citocina que desempenha papel importante na patogênese da atopia.

O impacto complexo das doenças dermatológicas na vida do cão afetado e de seus tutores foi até muito recentemente negligenciado (Noli et al., 2011a). A QV nas dermatopatias de pequenos animais tem sido estudada apenas nos últimos anos por meio, na maioria dos estudos, de questionários validados (Favrot et al., 2010b; Linek e Favrot, 2010; Noli et al., 2011a; Noli et al., 2011b). Na medicina, testes de QV já têm sido usados como ferramenta de medição adicional para a avaliação do sucesso terapêutico das intervenções médicas (Balkrishnan et al., 2003; Chamlin et al., 2007), já que a melhora clínica não, necessariamente, se correlaciona com o aumento da QV.

O prurido e a gravidade da doença em cães com DA foram associados ao aumento da frequência de comportamentos considerados como indicativos de estresse (Harvey et al., 2019). Um método não invasivo, atualmente considerado como indicador promissor da atividade do eixo hipotálamo-hipófise-adrenais (HHA) em longo prazo, é a mensuração do cortisol incorporado ao folículo piloso (Roth et al., 2016). Em um estudo recente, Park et al. (2016) investigaram os

níveis de cortisol piloso como marcador biológico para estresse crônico e encontraram correlação significativa entre gravidade clínica da DAC e cortisol no pelo.

Este trabalho teve como objetivo avaliar e comparar os níveis de cortisol piloso de cães atópicos, gravidade da doença e o impacto na qualidade de vida desses animais e de seus tutores, antes e após a interferência terapêutica com lokivetmab. A hipótese do presente estudo considera que cães atópicos apresentam menor gravidade dos sintomas, maior qualidade de vida e, conseqüentemente, níveis mais baixos de cortisol piloso após terapia com lokivetmab.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Dermatite atópica canina

2.1.1 Conceito

A DAC é uma doença multifatorial, que envolve anormalidades na função de barreira cutânea, inflamação da pele e hipersensibilidade a alérgenos ambientais, alimentares, bacterianos e/ou fúngicos (Marsella et al., 2012; Nuttall et al., 2013). Sua apresentação clínica pode ser afetada por várias condições, como genética do animal, meio ambiente, exposição a alérgenos e fatores desencadeantes da crise, como alimentos e microorganismos (Wilhem et al., 2011).

2.1.2 Prevalência

Na dermatologia veterinária, a DAC atinge cerca de 20-30% da população canina (Marsella e De Benedetto, 2017). É claramente uma doença hereditária, e o risco do cão desenvolvê-la é maior quando ambos os pais são atópicos, moderado quando apenas um dos pais é afetado e menor quando nenhum dos pais tem DAC (Tengvall et al., 2013; Ardesjö-Lundgren et al., 2017).

A prevalência racial é variável de acordo com a localização geográfica (Sousa e Marsella, 2001; Favrot, 2009). Raças puras são mais acometidas pela DAC, sendo esta mais descrita nas raças: boxer, chihuahua, yorkshire terrier, shar pei chinês, cairn terrier, west highland white terrier, scottish terrier, lhasa apso, shih tzu, fox terrier de pêlo duro, dálmata, pug, setters, boston terrier, golden retriever, labrador retriever, cocker spaniel, beagle, poodle, schnauzer miniatura, tervuren belga, bull terrier, chow chow, pastor dos Pirineos, shiba inus, pastor alemão, pastor de Beauce, bulldog francês e inglês, e cães sem raça definida (Scott et al., 2001; Sousa e Marsella, 2001; Favrot et al., 2010a). Não parece haver predisposição sexual (Favrot et al., 2010a).

2.1.3 Fisiopatogenia

A patogênese da DAC é complexa e envolve vários fatores genéticos e ambientais (Marsella et al., 2012). É provável que uma barreira cutânea defeituosa permita a aderência microbiana, a penetração de proteínas alergênicas e o início de respostas inflamatórias e alérgicas anormais, assim como o aumento da perda de água transepidérmica (TEWL) (Olivry e Dunstun, 2015).

A DA é conhecida como forma extrínseca quando as características clínicas estão associadas a anticorpos IgE (Halliwell, 2006). No entanto, embora seja aceito atualmente que a IgE amplifica e aumenta a eficiência na captura do alérgeno bem como participa da resposta inflamatória em cães com DAC, a atopia também pode se manifestar na ausência de IgE detectáveis para alérgenos específicos. Alguns autores equivalem isso com o que é chamado de forma intrínseca da doença (Marsella et al., 2012).

2.1.3.1 Alterações na barreira cutânea

De acordo com a teoria "de fora para dentro", quando prejudicada, a epiderme leva a um aumento da penetração do alérgeno (Santoro et al., 2015), o que causa super estimulação da imunidade local, tanto inata quanto adaptativa (Elias et al., 2008). Evidências mais recentes sugerem que mudanças em alguns fatores podem estar associadas à perpetuação e ao desenvolvimento da DAC.

O defeito da barreira cutânea pode se dever à expressão alterada de filagrina na pele de cães atópicos (Chervet et al., 2010) e a maior expressão das enzimas envolvidas no metabolismo dessa proteína, como caspase 14 (Fanton et al., 2017). Além disso, foram observadas mudanças na composição de ceramidas em cães com DA (Reiter et al., 2009; Yoon et al., 2011; Chermprapai et al., 2018), o que pode ser uma razão para a maior TEWL em pele lesionada e não lesionada desses animais (Shimada et al., 2009). Também foi notado que os alérgenos dos ácaros da poeira doméstica podem alterar a expressão e possivelmente a função dos corneodesmosomos e proteínas de junção, através da digestão proteolítica e/ou inflamação, facilitando a penetração de alérgenos através da epiderme (Olivry e Dunston, 2015).

2.1.3.2 Alterações imunológicas

O desenvolvimento da DAC depende de um gama de fatores, que podem incluir polarização de subpopulação de células T e degranulação alterada de mastócitos. Embora no passado os mastócitos fossem considerados os mais importantes na patogênese da DAC e responsáveis pela produção de mediadores da inflamação, várias outras células inflamatórias também desempenham papel no desenvolvimento da doença (Marsella et al., 2012). As células dendríticas e as de Langerhans, por exemplo, são responsáveis pelo processamento e apresentação de antígenos (Olivry et al., 1997); os linfócitos B, pela produção de anticorpos

reagínicos; e os linfócitos T auxiliares específicos para alérgenos, pela produção de citocinas, ativando as células B e outras células inflamatórias (Nuttall et al., 2002a; Nuttall et al., 2002b).

Em cães predispostos ou com alteração na permeabilidade epidérmica, alérgenos podem penetrar na barreira cutânea e desencadear uma complexa reação imunológica (Marsella et al., 2012). Inicialmente, na fase aguda da DAC, a resposta imune é dominada por células T helper (Th) do tipo 2 e envolve citocinas como IL-4, IL-5, IL-6, IL-13 e IL-31 (Marsella et al., 2012; Olivry et al., 2016).

O desenvolvimento de inflamação crônica, no entanto, envolve resposta mista de células Th1, mediadores Th2, Th17 e Th22 (Olivry et al., 2016), possivelmente associada a auto trauma ou infecção secundária (Marsella et al., 2012), onde células CD4⁺ e CD8⁺, associadas aos linfócitos T, também estimulam a produção de várias citocinas como IL-13, IL-22 e interferon (IFN)- γ (Jassies-van der Lee et al., 2014), que por sua vez ativam as células monócito-macrófago (Marsella et al., 2012). Essas citocinas de células T podem causar alterações deletérias na pele, como redução da expressão de proteínas de barreira, produtos antimicrobianos e fatores de aderência, bem como diminuição da viabilidade de queratinócitos e aumento da suscetibilidade a lesões cutâneas e infecções (Ong e Leung, 2006; Ogg, 2009).

As citocinas de padrão Th1 e Th2 têm sido o foco de vários estudos. Uma citocina de interesse recentemente identificada é a IL-31 (Dillon et al., 2004). A superexpressão de IL-31 demonstrou estar associada à promoção de crescimento (Feld et al., 2016) e estimulação (Furie et al., 2019) de neurônios sensoriais, propiciando maior sensibilidade a estímulos mínimos de prurido, o que pode resultar em sua perpetuação.

Os receptores para IL-31 são expressos constitutivamente na superfície de queratinócitos, eosinófilos e neurônios de pequeno diâmetro (Saleem et al., 2017). Esses são complexos heterodiméricos, compostos pelo receptor A de IL-31 (IL-31RA) e receptor da oncostatina M (OSMR) (Dillon et al., 2004; Zhang et al., 2008). A ligação de IL-31 ao seu receptor ativa as vias de sinalização nas células incluindo janus quinase (JAK)/ transdutores de sinal e ativadores de transcrição (STAT), fosfatidilinositol 3-quinase (PI3K)/ proteína quinase B (AKT) e proteína quinase ativada por mitogênio (MAPK) (Zhang et al., 2008). Além da indução do prurido, a via da IL-31 também estimula a liberação de mediadores e reduz a expressão das moléculas envolvidas na barreira da pele, como a filagrina, resultando em sinais cutâneos adicionais (Cornelissen et al., 2012). Em queratinócitos, foi observado que IL-31

parece induzir a parada do ciclo celular, resultando em redução de proliferação, que por sua vez leva a um desenvolvimento atípico da pele (Cornelissen et al., 2012; Singh et al., 2016; Bagci e Ruzicka, 2018; Furue et al., 2018) (Figura 1).

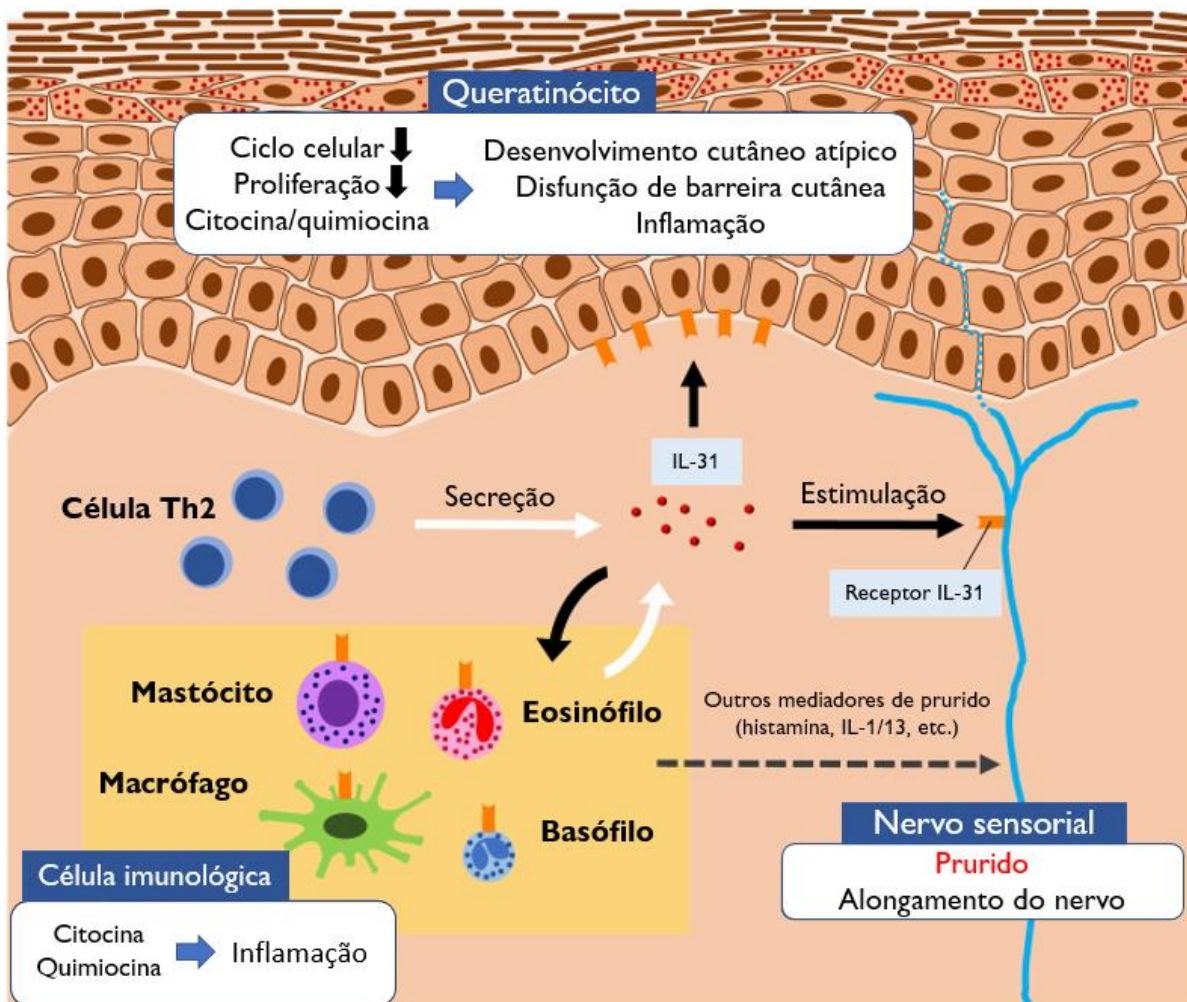


Figura 1. Ilustração dos papéis hipotéticos da interleucina (IL) -31 em doenças de pele pruriginosas. A IL-31 é produzida principalmente por células T helper (Th) do tipo 2, embora as outras células imunes inatas também possam produzir IL-31. O receptor de IL-31 é amplamente expresso por vários tipos de células, incluindo nervos sensoriais periféricos, queratinócitos e células imunológicas. A ligação da IL-31 ao seu receptor nos neurônios sensoriais estimula o nervo, causando prurido. IL-31 também está envolvida na disfunção da barreira cutânea e inflamação. Fonte: adaptado de Kabashima e Irie, 2021.

Com base em seus papéis no desenvolvimento do prurido, déficits cutâneos e inflamação (Cornelissen et al., 2012; Singh et al., 2016; Furue et al., 2017; Bagci e Ruzicka, 2018; Furue et al., 2018), o direcionamento da via da IL-31 é um passo lógico no desenvolvimento de novos agentes farmacológicos (Kabashima e Irie, 2021).

2.1.4 Sinais clínicos

A maioria dos cães desenvolvem sinais de DA antes dos 3 anos de idade (Favrot et al., 2010a; Marsella e De Benedetto, 2017), e o início dos sintomas geralmente se dá entre 6 e 36 meses (Olivry et al., 2010). A característica fundamental da doença é o prurido, motivo mais comum para buscar atendimento veterinário (Nuttall et al., 2019), que pode aparecer antes de quaisquer outras alterações cutâneas e geralmente é responsivo ao tratamento com glicocorticóides (Favrot et al., 2010a). Além disso, cães com DAC podem apresentar variedade de lesões cutâneas primárias (eritema), secundárias (hiperpigmentação e liquenificação), ou provocadas pelo auto traumatismo para aliviar o prurido, como escoriações e alopecia auto induzida (Griffin e DeBoer, 2001) (figura 2).



Figura 2. Lesões cutâneas características da dermatite atópica canina. A: eritema interdigital; B: eritema, hiperpigmentação, liquenificação e alopecia em região ventral; C: hiperpigmentação e liquenificação em pavilhão auricular; D: eritema e alopecia auto induzida em região dorsal. Fonte: arquivo pessoal.

Um estudo prospectivo realizado por Favrot et al. (2010a) demonstrou que cães atópicos são frequentemente afetados por infecções bacterianas ou fúngicas secundárias (66% e 33%, respectivamente) e otite externa (50%). Além disso, naquele estudo, as áreas do corpo mais comumente envolvidas em cães com DAC incluíam regiões distais dos membros, axilas, abdômen e orelhas, podendo também acometer face (região perilabial e periocular), patas dianteiras e flexor cubital (figura 3).

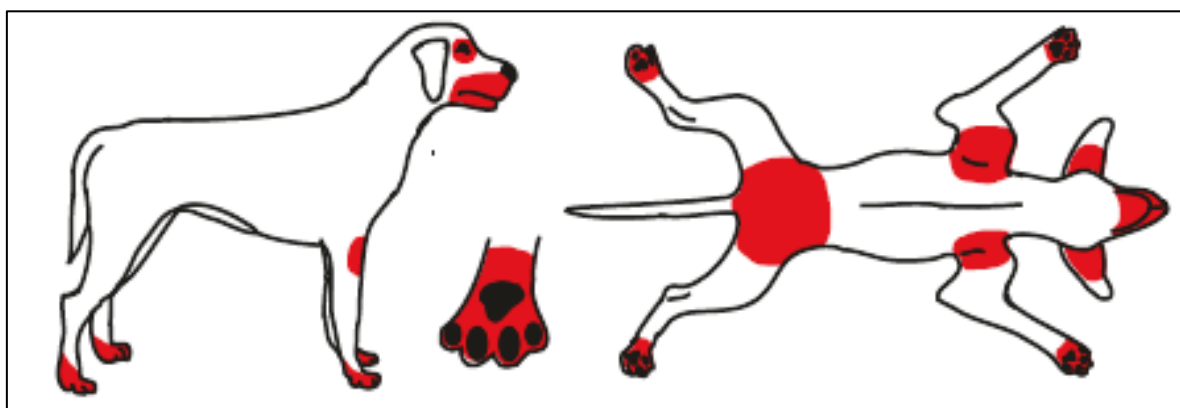


Figura 3. Distribuição comum das lesões e prurido associados à dermatite atópica canina. Fonte: adaptado de Hensel et al., 2015.

Para classificar as lesões da pele em ensaios clínicos no tratamento de cães com DA, escalas de gravidade são utilizadas. A mais atual, denominada índice de extensão e gravidade da dermatite atópica canina (CADESI)-04, foi proposta e validada por Olivry et al. (2014). Nessa escala de gravidade são avaliadas três lesões (eritema, liquenificação e alopecia/escoriação) em vinte sítios corporais tipicamente afetados em cães atópicos, onde são pontuadas de acordo com a severidade (0-nenhuma, 1-leve, 2-moderada e 3-severa). A pontuação máxima ao final da avaliação é de 180 e os pontos de referência propostos para lesões cutâneas leves, moderadas e graves da DAC são 10, 35 e 60, respectivamente.

Para avaliação do prurido em cães com DA, vários métodos subjetivos têm sido relatados na literatura nas últimas décadas (Hill et al., 2007). A escala visual analógica de prurido (pVAS), desenvolvida por Hill et al. (2007) e validada por Rybníček et al. (2009), combinou várias características favoráveis de escalas que tinham sido usadas anteriormente para marcar o prurido em cães. Nessa escala de gravidade do prurido, uma pontuação entre 0 e 1,9 é considerada a melhor aproximação de um "intervalo normal" (Rybníček et al., 2009).

2.1.5 Diagnóstico

O diagnóstico depende da anamnese, dos sinais clínicos e da exclusão de outras possíveis causas de prurido (Hensel et al., 2015). O conjunto mais recente de critérios diagnósticos para DAC inclui coceira inicial sem lesões em cães jovens (≤ 3 anos de idade), infecções fúngicas crônicas ou recorrentes, estilo de vida intradomiciliar, patas frontais e regiões côncavas de pavilhões auriculares afetadas, e prurido responsivo à administração de glicocorticóides (Favrot et al., 2010a). A menos que o cão tenha dermatite alérgica à picada de pulgas (DAPP) ou escabiose concomitantes, a região dorso-lombar e as margens das orelhas não são afetadas (Nuttall et al., 2019).

Alguns aspectos da DAC podem se assemelhar a outras dermatopatias e, para auxiliar no diagnóstico desta condição clínica, um subgrupo do Comitê Internacional de Doenças Alérgicas em Animais (ICADA) desenvolveu um conjunto de diretrizes que envolvem três abordagens distintas, mas complementares: 1 - eliminação de outras condições de pele com sinais clínicos que podem se assemelhar ou se sobrepor à DAC; 2 - interpretação detalhada das características históricas e clínicas da condição, onde podem ser utilizados como auxílio os critérios clínicos conhecidos como “critérios de Favrot” (Favrot et al., 2010a); e 3 - avaliação da reatividade cutânea pelo teste intradérmico (IDT) ou detecção de IgE pelo teste de sorologia para IgE específica para alérgeno (ASIS), tradicionalmente chamado de “teste de alergia” (Olivry et al., 2015). O objetivo principal desses testes é identificar os potenciais alérgenos que podem ser evitados ou formular uma imunoterapia específica para alérgenos (ASIT), não sendo recomendados como triagem para o diagnóstico de DAC (Hensel et al., 2015).

As três principais condições de pele que causam prurido e precisam ser eliminadas para o diagnóstico correto de DAC são infestações por ectoparasitas, piodermite/ infecções fúngicas e alergia alimentar. As doenças causadas por ectoparasitas e infecções cutâneas são facilmente tratadas e geralmente remitem. Na maior parte do mundo, as infestações por pulgas e *Sarcoptes scabiei* são as mais importantes; no entanto, as infestações por outros insetos, como ácaros e piolhos também devem ser consideradas. A piodermite estafilocócica e as infecções por fungos causadas por *Malassezia spp* são as mais comuns da pele e das orelhas. O tratamento e o controle de infestações ectoparasitárias e infecções de pele permitirão avaliar qualquer coceira não resolvida. A alergia alimentar deve ser considerada em cães com prurido não sazonal na presença ou ausência de sinais do trato gastrointestinal. Tendo excluído ou eliminado essas causas potenciais, um diagnóstico de DA pode ser realizado (Nuttall et al., 2019).

2.1.6 Tratamento

A DAC é progressiva e a intervenção e o controle precoces são necessários para retardar o processo da doença. O objetivo do tratamento é melhorar a qualidade de vida do paciente e de seus tutores, apoiar e proteger o vínculo humano-animal e diminuir as crises de alergia, minimizando o custo e os efeitos adversos da medicação e a complexidade dos regimes de tratamento (Nuttall et al., 2019). É necessário avaliar e discutir com os tutores o benefício de cada intervenção recomendada, seus efeitos colaterais, sua facilidade de administração e o custo como modalidade única ou combinada.

Para que haja o controle da DA, é importante o manejo do ambiente, evitando fatores desencadeantes conhecidos: alérgenos ambientais e/ou alimentares, mordidas, infecções e exposições a ectoparasitas. Glicocorticóides orais, ciclosporina e maleato de oclacitinib são eficazes para o tratamento da DAC crônica, concomitantemente ou após o controle de fatores desencadeantes conhecidos. Devem ser prescritos banhos semanais com xampus emolientes e suplementação ou dietas enriquecidas com ácidos graxos essenciais (EFAs), especialmente aqueles ricos em ômega-6. ASIT, terapia com interferons recombinantes e corticóides ou tracolimus tópicos para lesões localizadas e em curto período, também podem ser utilizados (Olivry et al., 2015).

A DAC é uma síndrome com diferentes endotipos/ fenótipos clínicos e moleculares. Além disso, os cães atópicos podem exibir, ao mesmo tempo, lesões agudas (por exemplo, máculas/manchas eritematosas) e lesões cutâneas crônicas (por exemplo, placas, liquenificação, hiperpigmentação) em diferentes locais do corpo (Olivry e Banovic, 2019). É necessário avaliar cada paciente para escolha do melhor protocolo de tratamento, que deverá ser personalizado para cada um deles.

2.1.6.1 Lokivetmab – uma nova terapia biológica

Em 2017, foi aprovado para uso em casos de DAC o primeiro mAb caninizado, o anti IL-31, denominado lokivetmab (Olivry e Banovic, 2019). Essa nova terapia tem como alvo a IL-31, e atua extracelularmente ao direcionar e neutralizar essa interleucina antes dela se ligar ao seu receptor celular e desencadear a cascata pruriginosa (Santoro, 2019) (figura 4).

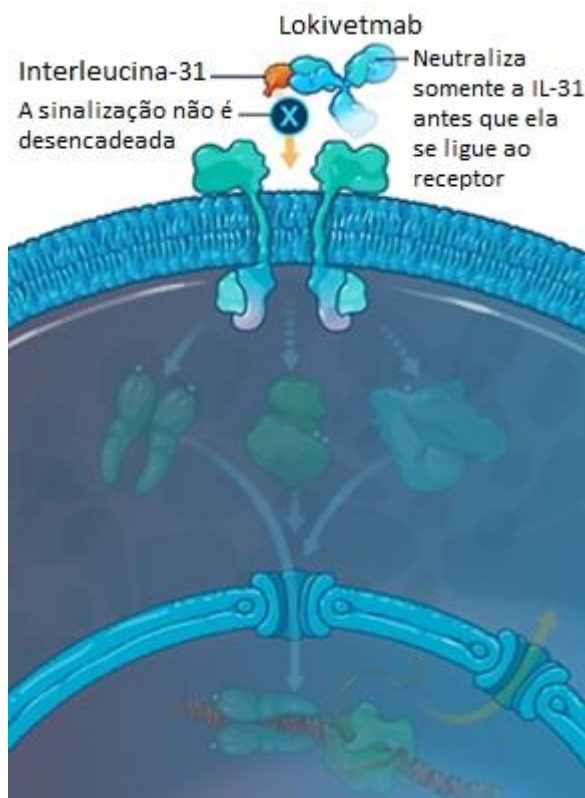


Figura 4. Mecanismo de ação do Cytopoint®. O lokivetmab bloqueia a interleucina 31 (IL-31) no meio extracelular, impedindo que a sinalização mediada por ela nos neurônios periféricos da pele cause prurido. Fonte: adaptado de Cytopoint®, Monografia Técnica, Zoetis, 2019.

Essa terapia tem se mostrado eficaz para o controle de prurido na DAC, com o início de ação muitas vezes dentro de vinte e quatro horas (Moyaert et al., 2017). Um estudo demonstrou que a administração de lokivetmab resultou em redução do prurido induzido por IL-31 em cães por até oito semanas após uma única dose (Walters et al., 2015). Em outro estudo realizado por Szczepanik et al. (2020), a redução significativa do prurido e CADESI-04 foi encontrada após quatro semanas da aplicação do lokivetmab. Após doze semanas, a diminuição desses parâmetros não foi significativa, o que sugere que o efeito máximo dessa medicação seja obtido após a segunda aplicação. Portanto, é indicado tentar uma segunda dose caso haja uma má resposta inicial ao tratamento, e descontinuar o uso dessa terapia caso essa segunda aplicação não resulte em uma resposta satisfatória.

Por agir apenas na IL-31, o lokivetmab não tem efeitos diretos sobre outras citocinas, e por isso é considerada uma terapia com maior segurança (Jackson e Forsythe, 2020). Um estudo demonstrou que duas doses mensais consecutivas de lokivetmab (1,0-3,3mg/kg) eram seguras

em uma população de 162 cães diagnosticados com DA, com base em efeitos adversos observados e resultados de patologia clínica (Michels et al., 2016). Essa medicação também foi administrada em cães atópicos com doenças concomitantes, como demodicose, hiperadrenocorticismo, hipotireoidismo, diabetes mellitus, pancreatite, nefropatias e neoplasias, sem aparente interferência ou exacerbação do curso das doenças. Os efeitos adversos são incomuns, podendo incluir vômitos, diarreia, letargia, incontinência urinária e dor no local da aplicação (Souza et al., 2018). Outro ponto favorável é que, como é realizada de forma subcutânea e a cada quatro a oito semanas, a aplicação dessa medicação é particularmente útil para tutores que têm dificuldade em administrar medicação oral em seu animal.

Entre os fármacos atualmente disponíveis, glicocorticóides e ciclosporina são aquelas com maior amplitude de ação, enquanto o lokivetmab têm como alvo um único mediador (Olivry e Banovic, 2019). Para aqueles cães com alterações crônicas significativas da pele e/ ou canais auditivos, o lokivetmab não é uma monoterapia ideal devido à falta de ação anti-inflamatória (Jackson e Forsythe, 2020). Por outro lado, esta medicação preveniu crises quando administrada antes de um desafio alérgico e mostrou ter efeitos positivos nos parâmetros de barreira cutânea, destacando a importância da IL-31 nas fases iniciais da cascata pruriginosa (Marsella, 2020). Portanto, o uso do lokivetmab é mais aconselhado na fase de manutenção, quando os sinais de inflamação já estão controlados, e para a prevenção da recorrência dos sinais clínicos (Olivry e Banovic, 2019).

2.3 Impacto na qualidade de vida

QV é o termo usado para avaliar o bem-estar geral e é definido como “o grau em que um indivíduo desfruta de sua vida” (Noli, 2019). A avaliação da QV é considerada um dos resultados mais importantes em ensaios clínicos em humanos (Freeman et al., 2005) e é usada com frequência na prática de cuidados primários (Calvert e Freemantle, 2003). Condições pruriginosas nesses pacientes, incluindo DAC, têm demonstrado repetidamente um impacto negativo na QV daqueles afetados (Reich et al., 2010; Tey et al., 2013; Reich et al., 2016).

Em medicina veterinária, QV foi um conceito desenvolvido inicialmente para medir alguns aspectos não físicos da vida do animal, e para orientar decisões sobre tratamento agressivo ou eutanásia (Wojciechowska e Hewson, 2005). Pesquisas de QV já foram realizadas para várias doenças em cães, como dor crônica (Wiseman-Orr et al., 2004), doença renal (Yearley et al.,

2004), cardiopatias (Freeman et al., 2005), osteoartrite (Hielm-Björkman, 2009) e câncer (Lynch et al., 2011).

A característica crônica e muitas vezes severa da DAC, a investigação diagnóstica dispendiosa, crises clínicas frequentes e o tratamento ao longo da vida, é um desafio para os veterinários (Gedon e Mueller, 2018) e influencia profunda e negativamente a QV dos cães afetados e de seus tutores (Linek e Favrot, 2010). No entanto, apesar do prurido ser uma das condições dermatológicas que causam maior impacto na QV dos animais afetados, até pouco tempo havia apenas dois estudos avaliando a QV em cães com doenças de pele (Yazbek e Fantoni, 2005; Ahlstrom et al., 2010). No estudo realizado por Ahlstrom et al. (2010) foram avaliados QV, lesões e prurido antes e após intervenção com budesonida 0,025% tópica em cães atópicos. Curiosamente, a melhoria da QV foi significativa, embora quantitativamente inferior à de lesões e prurido, destacando a necessidade de avaliação da QV como ferramenta extra na avaliação das intervenções terapêuticas.

Posteriormente, baseando-se em testes validados para medir QV em dermatologia humana (Finlay e Khan, 1994; Chren et al., 1996), dois grupos de pesquisadores desenvolveram e validaram questionários para avaliação da QV em cães com afecções dermatológicas: o primeiro limitado à DAC (Favrot et al., 2010b) e o segundo aplicável a todas as alterações de pele (Noli et al., 2011a). O questionário de Favrot et al. (2010b) utilizou como referência o teste humano Skindex (Chren et al. 1996), que se baseia em declarações em que os pacientes concordam ou discordam (seis opções de “discordo totalmente” a “concordo totalmente”). Já o questionário desenvolvido e validado por Noli et al. (2011a), utilizou como modelo o teste DLQI (Finlay e Khan, 1994), composto por perguntas com quatro respostas possíveis (de “nenhum(a)” a “muito”). Pareceu mais fácil para os tutores responder perguntas do que concordar ou discordar das afirmações (Noli et al., 2011a).

Utilizando o questionário de QV desenvolvido por Favrot et al. (2010b), um estudo verificou que 48% dos tutores consideraram que a DAC de seus animais teve impacto na sua própria QV, e quanto maior a severidade das lesões e mais próxima sua relação com os animais, maior o impacto. Além disso, 73% dos tutores consideraram que a DAC impacta na QV relacionada à saúde de seus animais, e quanto maior a severidade das lesões e o prurido, maior esse impacto (Linek e Fravot, 2010).

Em outro estudo, foram avaliadas a QV de cães e seus tutores em diversas doenças dermatológicas, através do questionário anteriormente validado por Noli et al. (2011a). A DAC complicada com piodermite esteve colocada em terceiro lugar entre as que causam pior QV, ficando atrás apenas da escabiose e da pododermatite. Os principais aspectos da vida do cão afetados por doenças dermatológicas foram: sono, alimentação, humor, brincadeiras ou trabalho, hábitos, relacionamento com os tutores e outros cães, e distúrbios causados pela administração de terapias. Além disso, os tutores também tiveram baixa QV devido a problemas práticos como limpeza excessiva; perda de tempo; aspectos psicológicos: sentimento de culpa, frustração ou vergonha; perturbação da vida familiar normal e das relações interpessoais dentro ou fora da família; distúrbios do sono; distúrbios no relacionamento com o cão; gastos financeiros e desempenho reduzido do cão no trabalho (Noli et al., 2011b).

Mais recentemente, um novo questionário sobre QV e sucesso de tratamento (TS) foi usado para avaliar a associação entre prurido e QV dos cães e seus tutores, antes e após a terapia com maleato de oclacitinib (Wright et al., 2018a; 2018b). O estudo realizado por Wright et al. (2018b) observou uma significativa associação entre prurido e QV, em que a QV, tanto dos animais quanto dos tutores, diminuiu com o aumento do prurido. No entanto, outro estudo realizado no mesmo ano, utilizando como terapia antipruriginosa o lokivetmab (Nguyen et al., 2018), não obteve resultados semelhantes. Nesse estudo, apenas a QV dos tutores melhorou, e a QV dos cães permaneceu essencialmente a mesma. Esta descoberta é incomum e contrasta com todos os trabalhos relatados anteriormente. Mais investigações são necessárias para a validação desta nova ferramenta de avaliação da QV e do TS (Noli et al., 2019).

Atualmente, há vários estudos em dermatologia veterinária que utilizaram QV como parâmetro para a avaliação de intervenção terapêutica em cães com DA (Ahlstrom et al., 2010; Noli et al., 2011b; Litzlbauer et al., 2014; Cosgrove et al., 2015; Noli et al., 2015; Muller et al., 2016); e diversos artigos foram publicados desde a validação do questionário de Noli et al. (2011a), utilizando-o para avaliação do sucesso de algumas terapias paralelamente aos escores clínicos (Noli et al., 2015; Maina e Cox, 2016; Muller et al., 2016; Noli et al., 2017; Matricoti e Noli, 2018). Na maioria dos estudos, seguindo um tratamento, a QV costuma apresentar uma melhora quantitativamente menor que o prurido e as lesões cutâneas. Esta observação pode representar a consequência do ônus do tratamento e enfatiza a importância de medir a QV junto com os parâmetros clínicos (Noli, 2019). Acredita-se que medidas de QV são capazes de fornecer

informações extras úteis sobre o estado da doença, e que estas também devem ser usadas na prática clínica, pesquisas e ensaios clínicos (Ben-Gashir et al., 2004).

2.4 Cortisol piloso

O estresse (ambiental e psicológico) é um fator que afeta a homeostase, provocando mudanças comportamentais e no sistema imunológico. Um estudo realizado por Harvey et al. (2019), demonstrou que prurido e gravidade da doença em cães com DA estavam associados ao aumento da frequência de comportamentos problemáticas, como: montagem, mastigação, hiperatividade, coprofagia, implorar e roubar comida, busca de atenção, excitabilidade, higiene excessiva e capacidade de treinamento reduzida. Esses comportamentos foram considerados por biólogos comportamentais como um indicativo de estresse (Harvey et al., 2019).

O estresse crônico interage com a saúde de forma bidirecional (Duric et al., 2016). Estudos com modelos murinos mostraram que a função de barreira cutânea anormal pode ser induzida por estresse emocional e pode ser revertida pela administração de ansiolíticos (Denda et al., 1998; Denda et al., 2000). A ligação entre sofrimento psicológico e a função de barreira cutânea também foi evidenciada em humanos, apoiando o paradigma fisiopatológico de estresse como um indutor de função epidérmica prejudicada (Garg et al., 2001). Logo, o estresse psicológico induzido por prurido alérgico perturbava ainda mais a função de barreira da pele promovendo, portanto, o agravamento das dermatopatias inflamatórias. É necessária uma investigação mais aprofundada, e a redução do estresse pode ser útil no tratamento de cães com DAC (Harvey et al., 2019).

As respostas de defesa ao estresse estão relacionadas a alterações autonômicas, cognitivas, emocionais e comportamentais. Em condições normais, quando um desafio ou uma ameaça são percebidos, o eixo hipotálamo-hipófise-adrenais (HHA) é ativado, resultando no aumento dos hormônios glicocorticóides, sendo o cortisol o de maior importância. Este é sintetizado nas células do córtex das glândulas suprarrenais, sendo controlado pelo hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), o qual é, por sua vez, sintetizado na adenohipófise. Após o desafio ser resolvido, os níveis de cortisol retornam aos padrões basais; caso sua secreção não estabilize, o nível de cortisol se torna prejudicial (Hodgson et al., 2004). Essas respostas fisiológicas, especialmente em condições de estresse crônico, são difíceis de medir.

Nos cães, o aumento do nível de cortisol pode indicar estresse agudo devido a estímulos repentinos e temerários, e é possível determinar em tempo real suas variações através de mensurações no sangue e na saliva (Hydbring-Sandberg et al., 2004). Nessas amostras, os níveis de glicocorticóides são "pontuais" e altamente variáveis, ainda que no mesmo indivíduo, sendo fortemente afetados pelo período do dia, ingestão de alimentos e qualquer perturbação ambiental que possa ter ocorrido pouco antes da amostragem. Por outro lado, valores de cortisol obtidos na urina ou amostras fecais refletem períodos um pouco mais longos da atividade HHA como, por exemplo, até vinte e quatro horas para a urina (Davenport et al., 2006). Deste modo, o cortisol sanguíneo, salivar, urinário e fecal refletem medidas momentâneas, e para medir a secreção de cortisol em longo prazo, indicando possível estresse crônico, são necessárias múltiplas coletas de amostras. Um método não invasivo, atualmente considerado um indicador promissor da atividade do eixo HHA em longo prazo, é a mensuração do cortisol incorporado ao folículo piloso (Roth et al., 2016).

O cortisol piloso tem sido extensivamente estudado nos últimos anos e correlaciona-se positivamente com os níveis de cortisol nas fezes (Accorsi et al., 2008) e na saliva dos cães (Bennett e Hayssen, 2010). Um estudo demonstrou também que a imunorreatividade do cortisol piloso foi menos variável em relação à saliva e fezes de cães alojados em condições constantes ao longo de 3 meses (Bryan et al., 2013).

A mensuração de cortisol no pelo tem algumas vantagens quando comparada a de outros tipos de amostras. Sua mensuração no soro ou plasma sanguíneo não só envolve punção venosa, que pode representar estresse adicional com a contenção, o que pode facilmente confundir a confiabilidade da avaliação (Davenport et al., 2006). Já a amostragem de pelo é não invasiva, indolor, fácil de armazenar, mesmo que por longos períodos, e pode refletir a resposta ao estresse crônico durante meses, pois não é influenciada pela variação circadiana (Sauvé et al., 2007; Gow et al., 2010). E, ainda que a amostragem de pelo possa exigir a contenção do animal em certos casos, o estresse potencialmente experimentado durante essa situação não afetará a concentração de cortisol na amostra coletada (Mastromonaco et al., 2014).

O mecanismo de como o cortisol se incorpora ao pelo ainda não é claro (Park et al., 2016). Sabe-se que substâncias carregadas pelo sangue são capazes de difundir dos capilares para as células do folículo piloso e, subsequentemente, tornam-se depositados na haste do pelo (Cone, 1996). Tal difusão é ampliada pela alta solubilidade a lipídios e baixa ligação às proteínas, sugerindo deposição preferencial de não ligadas em comparação com moléculas de

analito ligadas a proteínas. Por este motivo, as concentrações de esteróides medidas no pelo devem, assim como as concentrações medidas na saliva, refletir a fração “livre” ou não ligada de esteróide presentes na circulação. Outro ponto, é que praticamente todas as substâncias que podem ser encontradas no sangue também podem ser secretadas no suor e sebo, o que normalmente acabam na superfície do pelo (Davenport et al., 2006). Portanto, atualmente é aceito que o cortisol penetra nos folículos através da difusão passiva do sangue que os alimenta e, potencialmente, das glândulas écrinas e sebáceas circundantes (Meyer e Novak, 2012). Outra possibilidade é que os próprios folículos pilosos possam produzir cortisol localmente (Mesacorva et al., 2017).

Para a coleta de amostras, os pelos devem ser cortados ou raspados próximo da pele ao invés de serem arrancados, de modo a evitar a inclusão de folículos inteiros na amostra e uma possível contaminação através do sangue (Mesacorva et al., 2017). Para evitar a contaminação de fatores externos durante a análise, é necessário realizar a lavagem dos pelos antes da extração do cortisol. Em um estudo pioneiro em animais, Davenport et al. (2006) validaram o método mais apropriado de lavagem e extração do cortisol piloso de macacos-rhesus, e adotaram um procedimento padrão de lavar todas as amostras de pelo duas vezes com isopropanol antes da extração. Nesse mesmo trabalho, os autores mostraram que as concentrações de cortisol não diferiram entre as porções proximal e distal da haste do pelo, e que o cortisol piloso é sensível a um estressor prolongado.

Em um estudo mais recente, Park et al. (2016) investigaram os níveis de cortisol piloso em cães como um marcador biológico para estresse crônico e encontraram correlação significativa entre gravidade clínica da DAC e cortisol no pelo. O nível de cortisol piloso do grupo com DAC apresentou aumento significativo ($16,25 \pm 2,86$ pg/mg) em comparação ao grupo controle saudável ($5,65 \pm 1,28$ pg/mg). O grupo de atópicos também foi subdividido em categorias, de acordo com severidade das lesões (pontuação do CADESI-03), e os níveis médios de cortisol piloso foram $8,56 \pm 1,1$, $14,76 \pm 4,32$ e $19,85 \pm 4,74$ pg/mg nos grupos leve, moderado e grave de DAC, respectivamente. Uma correlação positiva significativa foi identificada entre os níveis de cortisol piloso e escore CADESI-03 nos pacientes com DA, concluindo que o desconforto físico ocasionado pela doença pode afetar a QV dos indivíduos acometidos. A partir disso, os autores sugeriram a análise do cortisol piloso como um método objetivo para dimensionar a QV dos pacientes com DAC.

A maioria dos estudos existentes avalia o impacto dos sinais e tratamentos da DAC na QV dos cães e de seus tutores. No entanto, não há trabalhos que associam o nível de cortisol piloso à gravidade dos sintomas (CADESI-04 e pVAS) e à QV de cães atópicos, por meio de questionários validados, e após terapia com lokivetmab. A mensuração de um biomarcador eficaz na avaliação de estresse de longo prazo em pacientes com DAC, aliado à percepção da sua QV através de questionários respondidos por seus tutores, torna a estimativa da QV mais fidedigna. Dessa forma, espera-se que o médico veterinário possa utilizá-la como uma ferramenta de medição adicional para averiguar o sucesso terapêutico de suas intervenções em pacientes atópicos. Investigações são necessárias para elucidar a possibilidade da inter-relação entre a farmacoterapia usada para controlar os fatores desencadeantes da DAC e os níveis de cortisol piloso.

3 OBJETIVO GERAL

Avaliar e comparar a gravidade da doença, qualidade de vida e níveis de cortisol piloso em cães portadores de dermatite atópica após terapia com lokivetmab.

4 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar e comparar a associação da gravidade da doença e qualidade de vida do animal e seu tutor após o tratamento com lokivetmab.
- Avaliar e correlacionar a associação da concentração de cortisol piloso do cão atópico e sua qualidade de vida.
- Avaliar a associação da concentração de cortisol piloso do cão atópico e a gravidade da doença.
- Avaliar e comparar a concentração de cortisol piloso do cão atópico antes e após o uso de lokivetmab.

5 MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi conduzido após a aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) e da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP), sob o protocolo 175/2019 e Certificado de Apresentação de Apreciação Ética (CAAE) de número 89680318.6.0000.5149, respectivamente (anexo I e II). Além disso, todos os tutores dos animais selecionados para o estudo assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE), conforme anexo III.

5.1 Animais

Foram avaliados 10 cães com dermatite atópica (5 machos e 5 fêmeas) provenientes da rotina clínica do serviço de dermatologia do Hospital Veterinário da Escola de Veterinária da UFMG. O diagnóstico da DAC foi realizado por meio da anamnese (histórico), dos critérios de Favrot (Favrot et al., 2010a; figura 5), e por exclusão de outras doenças pruriginosas. Antes do diagnóstico definitivo de DAC, todos os cães receberam controle de ectoparasitas e passaram por dieta hipoalergênica restritiva com proteína hidrolisada por no mínimo oito semanas. Alterações clínicas secundárias, como infecções bacterianas e fúngicas, foram previamente tratadas para que não influenciassem na graduação das lesões (CADESI-04) e prurido (pVAS).

Critérios de Favrot
(5 critérios: 85,4% de sensibilidade; 79,1% de especificidade. 6 critérios: 58,2% de sensibilidade; 88,5% de especificidade)
<ul style="list-style-type: none"> ⇒ Início dos sinais clínicos antes dos 3 anos de idade <ul style="list-style-type: none"> ⇒ Cães que vivem no interior da casa ⇒ Prurido responsivo à glicocorticoides ⇒ Infecções crônicas ou recorrentes por leveduras ⇒ Extremidades dos membros anteriores afetadas <ul style="list-style-type: none"> ⇒ Pavilhões auriculares afetados ⇒ Margem dos pavilhões auriculares não afetadas <ul style="list-style-type: none"> ⇒ Região dorso lombar não afetada

Figura 5. Critérios propostos por Favrot et al. (2010a) para auxílio no diagnóstico da dermatite atópica canina.

O critério de exclusão foi a identificação de doenças sistêmicas ou graves, além da dermatite atópica. Animais em uso ou que usaram corticóides orais ou tópicos a menos de três meses do estudo também foram excluídos (Park et al., 2016). Pacientes em tratamento prévio com maleato de oclacitinib, antibióticos, antifúngicos e produtos tópicos livres de glicocorticóides foram incluídos no estudo.

Todos os pacientes receberam pela primeira vez a aplicação de lokivetmab e, aqueles em terapia prévia com maleato de oclacitinib (Apoquel; Zoetis), ficaram duas semanas sem o fármaco

antes da primeira aplicação. Além do tratamento com lokivetmab, todos os cães receberam banhos terapêuticos semanais de acordo com sua necessidade individual, com xampu antisséptico ou hidratante. Os tutores foram orientados a manter a dieta habitual, manejo e ambiente sem alterações durante o estudo.

5.2 Procedimentos

Todos os cães portadores de DA foram submetidos previamente a avaliação constituída por exame clínico, seguido por exames complementares de sangue (hemograma, perfil renal, hepático e proteinograma). Os pacientes atópicos selecionados para o estudo receberam, então, duas doses de lokivetmab por via subcutânea nos seguintes momentos: momento 0 (M0) – início do tratamento, e momento 1 (M1) – 28 dias após o início do tratamento. Cães pesando 2,3 a 4,5kg receberam 10mg de lokivetmab, 4,6-9,1 kg – 20 mg, 9,2-13,6 kg – 30 mg, conforme indicação do fabricante. A dose mínima administrada foi de 2,2mg/kg de peso corporal (média de 2,6 mg/kg de peso corporal).

No M0, M1 e momento 2 (M2) – 56 dias após o início do tratamento, foram realizadas avaliações da gravidade da doença através da intensidade das lesões e prurido, pelo CADESI-04 (Olivry et al., 2014) e pVAS (Hill et al., 2007), respectivamente. Em todos os momentos, os tutores responsáveis também foram solicitados a responder um questionário de QV, adaptado de Noli et al. (2011a), e foram realizadas coletas de pelo dos cães para posterior mensuração do cortisol piloso. No M2, alguns cães permaneceram com a terapia com lokivetmab, e os que tiveram resposta insatisfatória ou inferior à resposta ao maleato de oclacitinib, de acordo com a percepção do tutor, mudaram de tratamento (quadro 1).

Quadro 1. Momentos em que os animais receberam as aplicações do lokivetmab e onde foram realizadas as avaliações da gravidade da doença (CADESI-04 e escala visual analógica de prurido), aplicação do questionário de qualidade de vida e coleta de pelos.

M0 (0 dias)	M1 (28 dias)	M2 (56 dias)
1ª aplicação do lokivetmab	2ª aplicação do lokivetmab	-
CADESI-04 e escala visual anaógica de prurido	CADESI-04 e escala visual analógica de prurido	CADESI-04 e escala visual analógica de prurido
Aplicação do questionário de qualidade de vida	Aplicação do questionário de qualidade de vida	Aplicação do questionário de qualidade de vida
Coleta de pelo	Coleta de pelo	Coleta de pelo

CADESI-04, índice de extensão e gravidade da dermatite atópica.

5.2.1 Gravidade das lesões

O CADESI-04 foi realizado sempre por três avaliadoras experientes e previamente treinadas. Três lesões - eritema, liquenificação e alopecia/escoriações - foram avaliadas em vinte sítios corporais tipicamente afetados em cães atópicos, e pontuadas de acordo com a gravidade: 0-nenhuma, 1-leve, 2-moderada e 3-severa; conforme ilustrado na figura 6.



Figura 6. Classificação de lesões pelo índice de extensão e gravidade da dermatite atópica (CADESI)-04. Fonte: adaptado de Olivry et al., 2014.

Os valores foram, então, registrados em uma ficha (figura 7) e somados. O valor final considerado foi a média das somas dos registros das três avaliadoras. A pontuação poderia chegar a 180 e os pontos de referência para lesões cutâneas leves, moderadas e graves da DAC foram: 10, 35 e 60, respectivamente (Olivry et al., 2014).

CADESI-04 (ICADA)		Eritema	Liquenificação	Escoriação e/ou alopecia	TOTAL
Área perilabial (esquerda e direita combinadas)		1			
Pavilhão medial (região côncava)	esquerdo	2			
	direito	3			
Axila	esquerda	4			
	direita	5			
Patas dianteiras (lado dorsal e palmar combinados)	esquerda	6			
	direita	7			
Patas traseiras (lado dorsal e plantar combinados)	esquerda	8			
	direita	9			
Flexor cubital (dobras do cotovelo)	esquerdo	10			
	direito	11			
Metacarpo palmar (do carpo ao metacarpo)	esquerdo	12			
	direito	13			
Flanco	esquerdo	14			
	direito	15			
Área inguinal (virilha)	esquerda	16			
	direita	17			
Abdômen		18			
Períneo (da vulva/escroto ao ânus)		19			
Cauda ventral (proximal)		20			
Graduar cada lado e cada tipo de lesão (nenhuma: 0; leve: 1; moderada: 2; severa:3.			Escore total (20x3x3=180)		

Figura 7. Ficha de graduação de lesões pelo índice de extensão e gravidade da dermatite atópica (CADESI)-04. Fonte: adaptada de Olivry et al., 2014.

5.2.2 Prurido

Para avaliação do prurido, os tutores foram solicitados a marcar na pVAS (figura 8), o ponto que mais representasse seu animal naquele momento, de acordo com sua percepção.

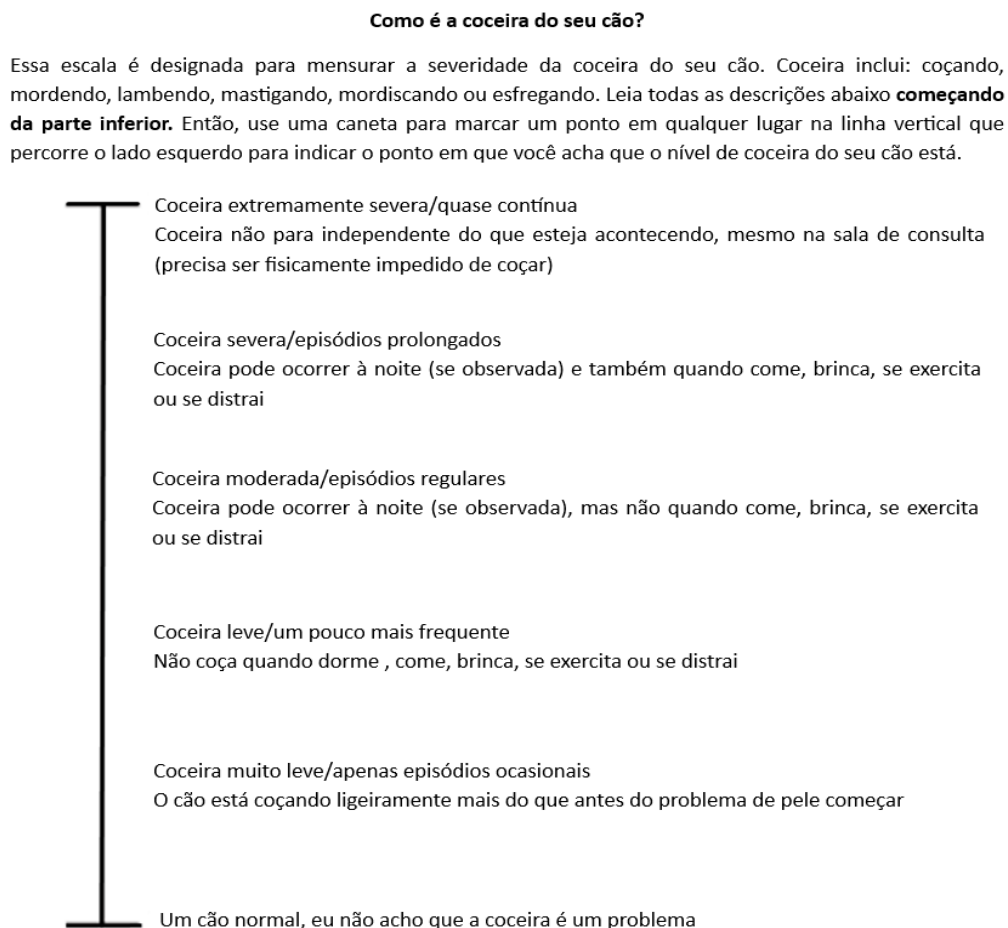


Figura 8. Escala analógica visual de prurido. Fonte: adaptada de Hill et al., 2007.

Após a marcação, outra escala, agora numerada (B), foi sobreposta à assinalada pelo tutor (A), conforme demonstrado na figura 9, e o valor encontrado foi registrado. Todos os indivíduos foram subsequentemente agrupados empiricamente, com base na gravidade do prurido, em muito graves (>8-10), graves (>6-8), moderados (>4-6) e leves (\geq 2-4). Foi considerado intervalo normal uma pontuação entre 0 e 1,9 (Rybníček et al., 2009).

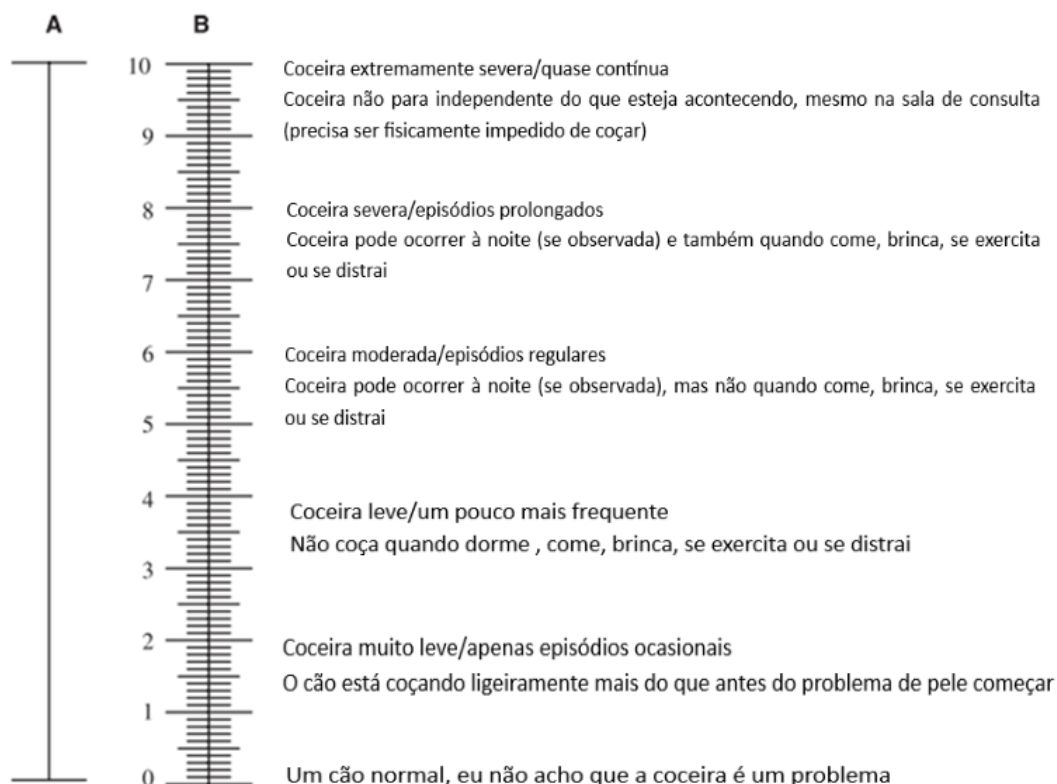


Figura 9. Escala analógica visual de prurido. Fonte: adaptada de Rybníček et al., 2009.

5.2.3 Questionário de qualidade de vida

Os responsáveis pelos animais foram solicitados a preencher, em todos os momentos, um questionário fechado qualitativo com perguntas escalonadas (figura 10), no intuito de avaliar o impacto da DA na vida dos cães, dos próprios tutores e de suas famílias, o qual foi adaptado de Noli et al. (2011a). As respostas foram pontuadas em: 0, nenhum(a); 1, um pouco; 2, moderado; e 3, muito. Os questionários foram respondidos por apenas um tutor de cada cão, priorizando sempre o mesmo. As 15 questões foram subdivididas da seguinte forma: uma questão sobre a severidade geral da doença (S), escore 0 a 3; sete questões sobre a QV do cão (QoL1), escore total de 0 a 21; e sete questões sobre a QV do tutor (QoL2), escore total de pontuação de 0 a 21. Os pontos foram então somados (total de 0 a 45), e quanto maior a pontuação menor a QV dos animais e de seus tutores. Os limites de pontos para QoL1 e QoL2 considerados para cães saudáveis foram 2 e 5 pontos, respectivamente (Noli et al., 2015).

Questionário sobre a qualidade de vida de cães com doença de pele e seus tutores				
Este questionário lida com o impacto da doença de pele do seu cão na qualidade de vida dele e na de seus tutores e sua família na última semana. Por favor, leia atentamente as perguntas e assinale apenas uma resposta.				
1. Qual a gravidade e perturbação da doença do seu cão?	<input type="checkbox"/> Nenhuma	<input type="checkbox"/> Um pouco	<input type="checkbox"/> Moderada	<input type="checkbox"/> Muito
2. Qual foi o impacto da doença do seu cão em seu comportamento e humor? (mais preguiçoso, mais nervoso, mais agressivo, etc.)	<input type="checkbox"/> Nenhum	<input type="checkbox"/> Um pouco	<input type="checkbox"/> Moderado	<input type="checkbox"/> Muito
3. Quanto o sono do seu cão foi perturbado pela doença?	<input type="checkbox"/> Nenhum	<input type="checkbox"/> Um pouco	<input type="checkbox"/> Moderado	<input type="checkbox"/> Muito
4. Quanto as refeições do seu cão foram perturbadas pela doença? (não tem apetite, coça durante as refeições, não gosta de comida especial, etc.)	<input type="checkbox"/> Nenhum	<input type="checkbox"/> Um pouco	<input type="checkbox"/> Moderado	<input type="checkbox"/> Muito
5. Quanto as atividades de brincar ou de trabalho do seu cão foram perturbadas pela doença? (é mais preguiçoso, nervoso, com coceira, etc.)	<input type="checkbox"/> Nenhum	<input type="checkbox"/> Um pouco	<input type="checkbox"/> Moderado	<input type="checkbox"/> Muito
6. Qual foi o impacto da doença do seu cão em seu relacionamento com você, os outros membros da família ou outros cães? (devido a alterações de humor, presença de lesões na pele, etc.)	<input type="checkbox"/> Nenhum	<input type="checkbox"/> Um pouco	<input type="checkbox"/> Moderado	<input type="checkbox"/> Muito
7. Quanto a doença do seu cão mudou seus hábitos? (mudança de lugar onde é permitido dormir, viver, comer, modo que caminha, etc.)	<input type="checkbox"/> Nenhum	<input type="checkbox"/> Um pouco	<input type="checkbox"/> Moderado	<input type="checkbox"/> Muito
8. Quanto o cão foi perturbado pela administração de terapias (xampus, sprays, comprimidos, gotas, injeções, limpeza de ouvido, etc.)	<input type="checkbox"/> Nenhum	<input type="checkbox"/> Um pouco	<input type="checkbox"/> Moderado	<input type="checkbox"/> Muito
9. Quanto tempo você perdeu pela doença do seu cão? (administração de terapias, lavagem, limpeza doméstica, cozinha, consultas veterinárias, etc.)	<input type="checkbox"/> Nenhum	<input type="checkbox"/> Um pouco	<input type="checkbox"/> Moderado	<input type="checkbox"/> Muito
10. Qual o efeito da doença do seu cão no cansaço? (limpeza extra, cozinhar, lavar, etc.)	<input type="checkbox"/> Nenhum	<input type="checkbox"/> Um pouco	<input type="checkbox"/> Moderado	<input type="checkbox"/> Muito
11. Quanto as suas atividades habituais e / ou as da sua família foram perturbadas pela doença do seu cão? (lazer, férias, passeios, trabalho, etc.)	<input type="checkbox"/> Nenhum	<input type="checkbox"/> Um pouco	<input type="checkbox"/> Moderado	<input type="checkbox"/> Muito
12. Qual foi o impacto da doença do seu cão nas suas despesas? (custo do tratamento, veterinário, etc.)	<input type="checkbox"/> Nenhum	<input type="checkbox"/> Um pouco	<input type="checkbox"/> Moderado	<input type="checkbox"/> Muito
13. Quanto efeito a doença do seu cão teve em causar sofrimento emocional (sensação de culpa, impotência, tristeza, arrependimento, ansiedade, incômodo, desgosto, raiva, frustração, etc.)	<input type="checkbox"/> Nenhum	<input type="checkbox"/> Um pouco	<input type="checkbox"/> Moderado	<input type="checkbox"/> Muito
14. Quanto desconforto físico/inquietação você sentiu devido à doença do seu cão? (odor ofensivo, sensação de sujeira em casa, incômodo estético, etc.)	<input type="checkbox"/> Nenhum	<input type="checkbox"/> Um pouco	<input type="checkbox"/> Moderado	<input type="checkbox"/> Muito
15. Qual foi o impacto da doença do seu cão na relação entre os membros da família? (entre cônjuges, pais e filhos, parentes e amigos, etc.)	<input type="checkbox"/> Nenhum	<input type="checkbox"/> Um pouco	<input type="checkbox"/> Moderado	<input type="checkbox"/> Muito

Figura 10. Questionário sobre a qualidade de vida de cães com doença de pele e seus tutores. Fonte: adaptado de Noli et al., 2011a.

5.2.4 Cortisol piloso

Foram realizadas coletas de pelo dos cães em todos os momentos, e mensuração do cortisol de todas essas amostras. Os pelos foram colhidos da região isquiática esquerda (área quadrada com lados de 5 cm) a partir de cerca de 0,5 mm da pele com máquinas de tosa Oster® e lâminas de numeração 40 (figura 11). Após coleta, as amostras foram armazenadas em frascos de plástico hermeticamente fechados, devidamente identificados, em ambiente seco, escuro, à temperatura ambiente e sem contato com a luz solar até a análise, seguindo as recomendações da *Society of Hair Testing* (Cooper et al., 2012).



Figura 11. Coleta de pelo da região isquiática esquerda para posterior mensuração de cortisol piloso em um cão com dermatite atópica. Fonte: arquivo pessoal.

5.2.4.1 Extração e mensuração do cortisol piloso

A lavagem dos pelos e a extração de cortisol foram baseadas no protocolo de Davenport et al. (2006) e Kirschbaum et al. (2009). As amostras foram pesadas (140-50 mg) e colocadas em tubos Falcon de 15 ml, onde foram adicionados 2,5 ml de isopropanol e misturados suavemente por 3 minutos. Os sobrenadantes foram, então, retirados e a lavagem repetida por mais uma vez, totalizando duas lavagens com isopropanol. As amostras foram mantidas em

temperatura ambiente para secagem por cinco dias. Após secos, os pelos foram picados com uma lâmina de bisturi em pequenos fragmentos (+-1mm). Então, foram transferidos 50mg de cada amostra para microtubos de 2ml e adicionados 1,5 ml de metanol absoluto. Em seguida, os microtubos foram girados por vinte e quatro horas para a extração de esteróides. Após, as amostras foram centrifugadas a 2.000 rpm/10 min e, então, foram transferidos 1 ml dos sobrenadantes transparentes para novos microtubos. O álcool foi evaporado a 60°C em uma estufa, até as amostras estarem completamente secas (+-3h). Uma amostra controle contendo 1 ml de metanol foi colocada em um microtubo sem pelo e também analisada. As amostras de extratos secos e controle foram, posteriormente, enviadas ao laboratório comercial para dosagem de cortisol (Tecs Laboratórios SA- Belo Horizonte/ Brasil). No laboratório, foram adicionados 400µl de tampão fosfato aos extratos secos e as amostras foram homogeneizadas em vórtice por 20seg. Então, foram retirados 20µl da amostra para determinação do cortisol pelo método de quimioluminescência através do sistema IMMULITE2000 (Siemens), previamente validado para espécie canina (Tecs Laboratórios SA- Belo Horizonte/ Brasil). Os resultados foram convertidos de ng/mL a pg/mg para análise estatística.



Figura 12. Etapas de extração e mensuração do cortisol piloso. 1– lavagem dos pelos duas vezes com 2,5ml de isopropanol; 2– secagem em temperatura ambiente por cinco dias; 3- pelos secos picados em pequenos fragmentos (+-1mm) e, em seguida, adicionados a 1,5ml de metanol absoluto para extração do cortisol por vinte e quatro horas; 4- secagem do metanol a 60°C em uma estufa; 5- mensuração do cortisol piloso do extrato seco pelo método de quimioluminescência.

6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para testar as diferenças entre os três momentos das variáveis: índice CADESI-04, pVAS, cortisol piloso e perguntas do questionário de QV; foram ajustados modelos de equações de estimativas generalizadas para cada variável resposta. Estes modelos de regressão são adequados a dados com realização de medidas repetidas no mesmo indivíduo ao longo do tempo, sendo bastante flexíveis quanto à distribuição de probabilidade da variável resposta (Guimarães e Hirakata, 2012). Foi ajustado um modelo separado para cada variável resposta mensurada, sendo que o momento foi utilizado como preditor (variável independente). Para todas as variáveis foi utilizada uma estrutura de autocorrelação temporal de simetria composta.

Após o ajuste do modelo, testaram-se as diferenças entre os momentos de forma global e calcularam-se os valores médios e seus respectivos intervalos de 95% de confiança para cada momento. Também foram aplicados testes de comparações múltiplas (*pairwise*). Para estes testes aplicou-se a correção de Tukey. Foram consideradas diferenças significativas quando ambos os testes foram concordantes, isto é, apenas quando o teste global reportou um valor p significativo e o teste de comparações múltiplas evidenciou pelo menos uma dupla diferente entre si.

Para a avaliação das correlações entre as respostas dos questionários de QV e as concentrações do cortisol piloso, foi calculada a correlação não paramétrica de Spearman para cada dupla de variáveis cuja relação deveria ser avaliada. Também foram avaliadas as diferenças entre os dois grupos de tipos de pelos. Para isso, a estrutura temporal foi desconsiderada e aplicou-se um teste t de Student com a variável cortisol piloso logaritmizada.

Todas as análises estatísticas foram realizadas por meio do software R versão 3.6.1 (R Core Team, 2019). Em todo trabalho assumiu-se o nível de significância de 5%.

7 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Um total de 10 cães (5 fêmeas e 5 machos) preencheram os critérios de inclusão (quadro 2), sendo 8 castrados (4 fêmeas e 4 machos) e 2 não castrados (1 fêmea e 1 macho). A idade e o peso dos animais variaram de 6,15+- 4,85 anos e 6,75± 2,85 kg, respectivamente. As raças avaliadas foram: Shih Tzu (4), Pug (2), Bulldog francês (1), Lhasa Apso (1), Sem Raça Definida (1) e Yorkshire terrier (1). O comprimento dos pelos foi classificado como curto (3/10) ou longo (7/10), e as cores de prevalência da pelagem foram agrupadas em clara (9/10) e escura

(1/10). Todos os cães atópicos selecionados se encontravam com lesões cutâneas leves, com pontuações entre 10 e 35 no CADESI-04 (Olivry et al., 2014), no momento da primeira aplicação do lokivetmab (M0).

Quadro 2. Dados demográficos de 10 cães com dermatite atópica canina, provenientes da rotina clínica do serviço de dermatologia do Hospital Veterinário da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais

Raça	Shih Tzu	Pug	Bulldog francês	Lhasa Apso	SRD	Yorkshire terrier	Total
Nº	4	2	1	1	1	1	10
Idade (anos)	6,8+- 4,2	4,75+- 1,75	4	6,1	1,3	3,2	6,15+- 4,85
Peso (kg)	7,7+-1,1	8,625+- 0,625	8,6	9,6	9,4	3,9	6,75+- 2,85
Sexo (F/M)	1/3	1/1	1/0	1/0	0/1	1/0	5/5
Castrado (N/S)	1/3	1/1	0/1	0/1	0/1	0/1	2/8
Comprimento do pelo (Nº)	Longo (4)	Curto (2)	Curto (1)	Longo (1)	Longo (1)	Longo (1)	Longo (7) Curto (3)
Cor prevalente da pelagem (Nº)	Clara (4)	Clara (2)	Clara (1)	Clara (1)	Clara (1)	Escura (1)	Clara (9) Escura (1)

SRD, Sem Raça Definida; F, fêmea; M, macho; N, não; S, sim.

O tratamento com glicocorticóides foi proibido durante o estudo; entretanto, outros medicamentos, como: antibióticos e antifúngicos orais e tópicos, e anti sépticos e anti-inflamatórios tópicos, foram permitidos (quadro 3). Alguns dos cães incluídos no estudo não o teriam concluído sem uso dessas outras terapias. A explicação mais plausível seria uma melhora limitada dos sinais clínicos, devido a intercorrências secundárias à DAC, o que não seria suficiente para conduzir a uma melhora nos escores de prurido e QV proeminentes o suficiente para ser notada pelos tutores.

Quadro 3. Intercorrências observadas nos cães com dermatite atópica em cada momento e terapias utilizadas.

Cão	Raça	Sexo	Momento	Intercorrência	Terapia utilizada
1	Shih tzu	F	M2	Otite externa por levedura	Solução otológica de miconazol 2%
2	Pug	M	Entre M0 e M1	Dermatite de dobras faciais	Lenços umedecidos de clorexidina 2%
4	SRD	M	M1	Piodermite superficial	Cloresten® xampu
5	Bulldog Francês	F	M2	Piodermite superficial	Hexadene® xampu + antibioticoterapia
9	Shih Tzu	M	M1	Otite externa por bacilos	Solução otológica de ciprofloxacina 0,35% + óleo de melaleuca 1%
10	Shih Tzu	M	M0	Otite externa por bacilos	Solução otológica de ciprofloxacina 0,35%

F, fêmea; M, macho; M0, momento 0; M1, momento 1; M2, momento 2.

As intercorrências mais comuns relatadas nos cães ao longo o estudo foram: otite externa (3/10), duas por bactéria e uma por levedura, e piodermite superficial (2/10) (figura 13), ambas comuns em DA (Griffin e DeBoer, 2001).



Figura 13. Intercorrências mais frequentes relatadas nos cães com dermatite atópica ao longo do estudo. A- otite externa; B- piodermite superficial. Fonte: arquivo pessoal.

Com relação a melhora dos sinais clínicos dos pacientes, as pontuações do CADESI-04 pré-terapia (M0), em um intervalo de 0-180, variaram de 14,33 a 32,33 (média de 23,3, DP 7,1), enquanto as pontuações após primeira aplicação (M1) do lokivetmab variaram de 5 a 55 (média 25,7, DP 14,0), e de 6,66 a 40 (média 25,6, DP 10,1) após segunda aplicação (M2). Um paciente entrou em remissão, apresentando CADESI-04 menor que 10 nos dois momentos subsequentes à primeira e segunda aplicação do lokivetmab (tabela 1).

Tabela 1. Valores do CADESI-04 (0 a 180) e pVAS (0 a 10) encontrados antes (momento 0), 28 dias (momento 1) e 56 dias (momento 2) após início da terapia com lokivetmab em 10 cães com dermatite atópica. Em destaque, cão que apresentou remissão da doença após o uso da medicação.

Cão	Raça	Sexo	Idade (ano)	Peso (kg)	Momento 0		Momento 1		Momento 2	
					CADESI-04	pVAS	CADESI-04	pVAS	CADESI-04	pVAS
1	Shih tzu	F	2,6	6,6	28,33	7,6	55,00	5,5	34,33	4,8
2	Pug	M	3,1	9,3	32,33	8,2	32,66	6,1	33,66	5,9
3	Yorkshire	F	3,2	3,9	21,66	6,7	14,66	4,0	15,33	5,8
4	SRD	M	1,3	9,4	17,33	6,2	5,00	2,8	6,66	2,9
5	Bulldog Francês	F	4,0	8,6	30,00	9,8	29,33	5,5	29,33	6,2
6	Pug	F	6,4	8,0	15,33	9,6	19,66	6,6	16,66	5,8
7	Shih tzu	M	3,0	8,0	14,33	5,9	12,33	2,0	26,00	3,8
8	Lhasa Apso	F	6,1	9,6	31,66	5,7	32,00	3,8	40,00	5,8
9	Shih tzu	M	6,0	8,8	16,33	7,8	24,33	7,5	24,66	5,5
10	Shih tzu	M	11,0	8,6	25,33	6,8	32,00	3,5	29,66	3,7

CADESI-04, índice de extensão e gravidade da dermatite atópica canina; pVAS, escala visual analógica de prurido.

De acordo com os valores encontrados, não houve diferença significativa da variável CADESI-04 entre os três momentos ($p=0,515$; figura 14), o que difere dos resultados publicados em outros trabalhos (Michels et al., 2016; Moyaert et al., 2017; Szczepanik et al., 2020). Essa diferença pode ser explicada pela dose média da medicação administrada no presente trabalho (2,6 mg/kg), superior às utilizadas nos outros: 1,26 mg/kg (Szczepanik et al., 2020), 1,3 mg/kg (Moyaert et al., 2017) e 2 mg/kg (Michels et al., 2016). Isso sugere que as lesões cutâneas causadas pela DAC respondem melhor a doses mais baixas de lokivetmab. Segundo Hänel et al. (2016), a IL-31 em doses baixas promove a barreira antimicrobiana e, portanto, uma inibição completa da sinalização dessa interleucina poderia ser indesejável, causando disbioses e agravando os sinais clínicos da DAC. Por outro lado, o resultado encontrado no presente estudo

corrobora com a afirmação de que o lokivetmab não previne o desenvolvimento de lesões cutâneas (Olivry e Banovic, 2019).

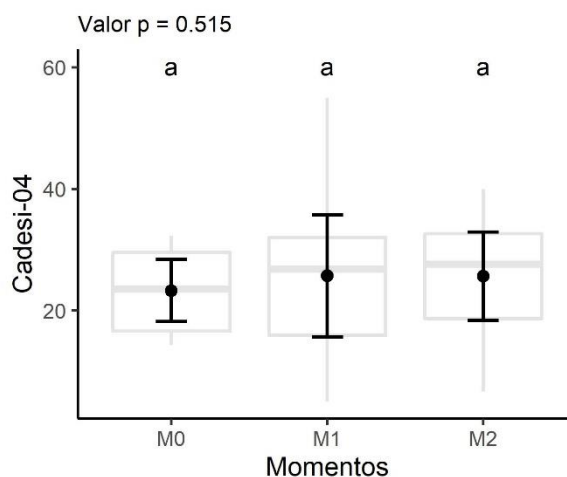


Figura 14. Gravidade das lesões (CADESI-04) nos cães com dermatite atópica, antes (M0) e após (M1 e M2) terapia com lokivetmab. As letras acima de cada grupo representam as comparações múltiplas. Grupos que compartilham pelo menos uma mesma letra, não possuem diferenças significativas entre si a um nível de significância de 5%.

Com relação ao prurido, representado por pVAS (tabela 1), a maioria dos cães (80%) apresentou coceira muito grave (> 8-10cm) ou grave (> 6-8cm) antes da terapia (M0), 30% e 50%, respectivamente. Após a primeira aplicação, nenhum cão apresentou prurido muito grave, e a quantidade de cães que apresentaram prurido grave caiu para 30%, sendo que os outros 70% apresentaram prurido moderado (> 4-6cm) ou leve (\geq 2-4cm), 20% e 50%, respectivamente. Em M2 nenhum cão apresentou prurido muito grave e os casos graves foram para 10%, sendo que 90% dos cães apresentaram prurido moderado (60%) ou leve (30%) (figura 15).

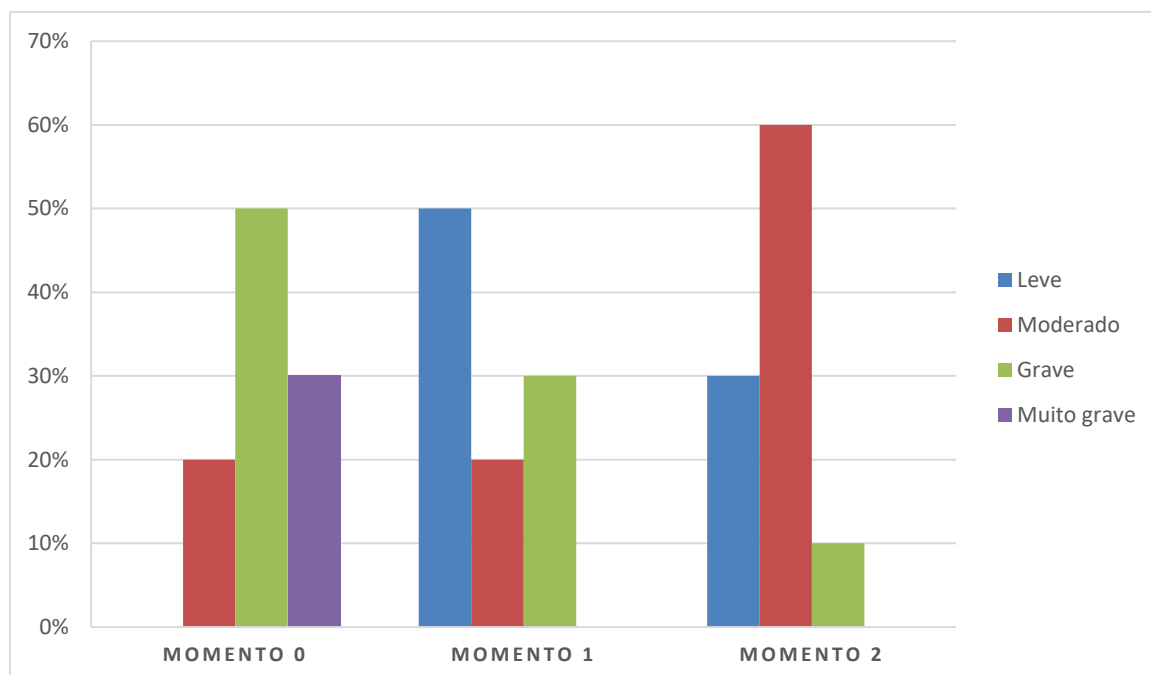


Figura 15. Frequência relativa da gravidade do prurido em cães com dermatite atópica antes (momento 0) e após (momento 1 e 2) terapia com lokivetmab. Gravidade do prurido classificada conforme pontuação na pVAS (0 a 10): leve ($\geq 2-4$ cm), moderado ($>4-6$ cm), grave ($>6-8$ cm) e muito grave ($>8-10$ cm).

Nenhum cão atingiu valores de prurido considerados como normais (< 2 cm), ou seja, nível que os tutores não procurariam o atendimento veterinário (Rybníček et al., 2009). Porém, houve redução significativa entre os momentos M0 e M1 e M0 e M2 ($p < 0,001$; $a \neq b$), sem diferença estatística entre M1 e M2 ($p < 0,001$; $b = b$) (figura 16); ressaltando que a maior redução do prurido foi observada após quatro semanas da primeira aplicação do lokivetmab, ocorrendo menor redução nas administrações subsequentes (Moyaert et al., 2017; Szczepanik et al., 2020).

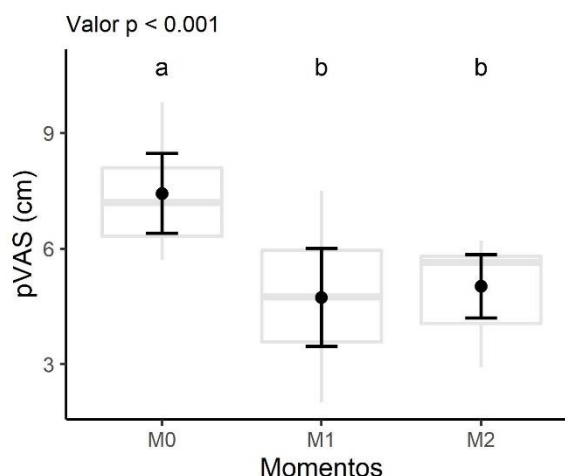


Figura 16. Pontuações de prurido (pVAS) dos cães com dermatite atópica antes (M0) e após (M1 e M2) terapia com lokivetmab. As letras acima de cada grupo representam as comparações múltiplas. Grupos que compartilham pelo menos uma mesma letra, não possuem diferenças significativas entre si a um nível de significância de 5%.

O sucesso do tratamento para o prurido avaliado pelo tutor foi definido como uma redução ≥ 2 cm na pVAS da linha de base, e foi alcançado, no presente estudo, em 80% dos cães após a administração inicial de lokivetmab. Esse resultado corrobora com o encontrado por Souza et al. (2018), onde o sucesso do tratamento com essa medicação foi de 87,8%. Uma razão para a resposta insatisfatória de alguns cães à terapia com Cytopoint® é que, neste trabalho, não foram avaliados grupos com lesões prevalentes crônicas ou agudas. Para aqueles cães com alterações crônicas significativas da pele e/ou canais auditivos, o lokivetmab não é uma monoterapia ideal devido à falta de ação anti-inflamatória do agente (Jackson e Forsythe, 2020).

Por outro lado, uma redução pVAS $\geq 50\%$ foi encontrada apenas em 20% e 10% dos cães após primeira e segunda aplicação do lokivetmab, respectivamente (quadro 4); resultados muito inferiores aos publicados em outros trabalhos (Souza et al., 2018; Szczepanik et al., 2020). A diferença pode ser explicada pelas populações de animais utilizadas naqueles estudos (132 e 89 cães, respectivamente), muito superiores ao presente trabalho.

Quadro 4. Número de animais e porcentagem relativa do sucesso reportado 28 (D28) e 56 (D56) dias após o início da terapia com lokivetmab em cães com dermatite atópica. Dados em destaque representam a taxa de sucesso do tratamento para prurido.

	<u>D28</u>		<u>D56</u>	
	N (10)	%	N (10)	%
Redução de pVAS \geq 2,0cm	8	80	8	80
pVAS < 2,0cm (normal)	-	-	-	-
Redução de pVAS \geq 50%	2	20	1	10

N, número de animais; pVAS, escala visual analógica de prurido.

No dia 56 (M2), alguns tutores (3/10) preferiram voltar com a terapia oral de maleato de oclacitinib (Apoquel; Zoetis) em seus cães. Para estes animais, a aplicação do lokivetmab foi suspensa. Destes cães, todos manifestaram alguma intercorrência ao longo do estudo. Isso poderia justificar a resposta insatisfatória ao lokivetmab pela percepção prejudicada dos tutores, já que mesmo seus cães apresentando sucesso ao final do tratamento (redução na pVAS \geq 2cm entre M0 e M2), preferiram alterar a medicação.

No presente trabalho, também foi notado que, apesar de diferença estatisticamente fraca, houve correlação negativa ($p = 0,04$, $R = -0,38$) entre a dose de lokivetmab e pVAS, ou seja, a correlação entre as variáveis foi inversamente proporcional, sendo que quanto maior a dose de lokivetmab, menor o prurido observado (figura 17). Esse resultado corrobora com o encontrado em outro estudo (Michels et al., 2016), no qual cães tratados com doses mais altas de lokivetmab tiveram redução do prurido mais significativa em relação aos tratados com doses mais baixas. Por outro lado, Souza et al. (2018) não encontraram nenhuma associação significativa entre o sucesso do tratamento e dosagem de lokivetmab.

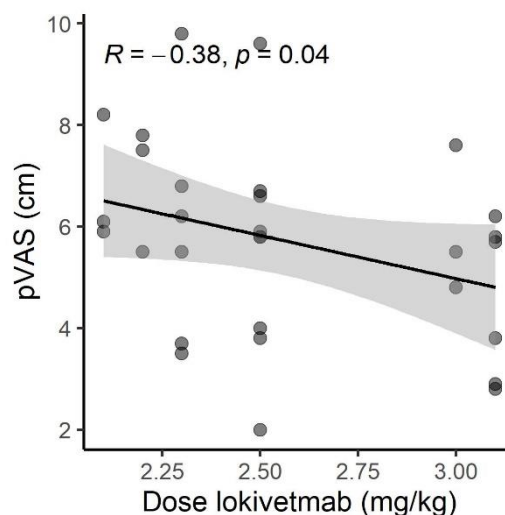


Figura 17. Correlação entre a dose de lokivetmab administrada e os valores de pVAS em cães com dermatite atópica.

Com relação à QV dos cães atópicos antes da terapia com lokivetmab (M0), pontuações de QoL1 (0-21) variaram de 6 a 18 (mediana 9) e pontuações de QoL2 (0-21) de 8 a 21 (mediana 13,5), indicando que o questionário indicou uma gama de impactos na QV. Severidade geral da doença percebida pelo tutor (intervalo possível 0-3) variou de 2 a 3 (mediana 2,5) (tabela 2).

Tabela 2. Pontuações do questionário de qualidade de vida aplicado em 10 cães com dermatite atópica, antes (momento 0) e após (momento 1 e 2) terapia com lokivetmab.

Cão	Momento 0			Momento 1			Momento 2		
	S	QoL1	QoL2	S	QoL1	QoL2	S	QoL1	QoL2
1	3	8	11	2	4	4	2	1	4
2	2	12	10	2	6	6	1	3	7
3	3	8	15	3	8	11	2	3	15
4	2	6	8	1	3	5	1	3	6
5	3	18	21	2	8	12	2	11	19
6	3	16	14	2	9	10	2	5	6
7	2	10	18	0	1	2	1	8	7
8	2	7	13	1	3	9	2	9	12
9	3	6	10	2	15	13	2	8	12
10	2	10	14	1	4	13	1	4	9

S, severidade da doença; QoL1, qualidade de vida do animal; QoL2, qualidade de vida do tutor.

Ao avaliar frequência relativa, 60% dos cães reduziram a pontuação de QoL1 em pelo menos 50% entre M0 e M2, sendo que dois apresentaram redução acima de 90%. Destes, um atingiu pontuação abaixo do limiar para cães saudáveis ($QoL1 < 2$) em M1 e outro em M2, resultado inferior ao encontrado em outro estudo (Noli et al., 2015). Enquanto no presente trabalho foram selecionados cães com sinais leves de DA, no estudo de Noli et al. (2015) foram utilizados cães com DA moderada, o que pode ter contribuído para maior redução relativa na pontuação de QoL1 após a terapia nestes pacientes. Desse modo, a diferença encontrada entre os dois trabalhos pode ser justificada pela distinta população de cães utilizada.

No M1 e M2, 80% dos tutores observaram um impacto positivo na QV dos seus animais, em comparação ao momento antes da terapia (M0). Resultados similares foram encontrados no trabalho de Cosgrove et al. (2015), onde os tutores observaram um impacto positivo na QV em mais de 91% de todos os cães, após terapia com maleato de oclacitinib. Logo, os resultados encontrados no presente trabalho sugerem que o uso do lokivetmab gera um impacto positivo na QV dos pacientes similar ao impacto ocasionado pela terapia com maleato de oclacitinib. Um estudo controlado comparando grupos de cães atópicos em terapias distintas (Cytopoint® e Apoquel®) é necessário para comprovar essa hipótese.

Usando a pontuação média individual das perguntas (intervalo 0-3), os itens de maior pontuação na QoL1 foram os seguintes: perturbações causadas por terapias, seguida por distúrbios do sono e no comportamento/humor do animal. Já na QoL2, as maiores pontuações foram relacionadas a: preocupações com despesas, tempo perdido e sofrimento emocional. Resultados compatíveis com outros estudos (Favrot et al., 2010b; Linek et al., 2010; Noli et al., 2011a).

Quando as respostas para as perguntas individuais foram comparadas antes (M0) e após a segunda aplicação do lokivetmab (M2), todas as perguntas mostraram uma diminuição nas pontuações médias, embora de magnitudes diferentes (tabela 3). Isso sugere que, de certa forma, tanto a QV dos cães quanto a de seus tutores foram influenciadas positivamente após terapia com lokivetmab.

Tabela 3. Melhoria média e relativa observada nas pontuações de cada pergunta do questionário de qualidade de vida, aplicado a tutores de cães com dermatite atópica, antes (dia 0) e após (dia 56) terapia com lokivetmab.

Questão		Média			Respostas positivas (%)		
		Dia 0	Dia 56	Melhoria (%)	Dia 0	Dia 56	Redução de respostas positivas (%)
S							
1	Severidade da doença	2,5	1,6	36	100	100	-
QoL1							
2	Comportamento/humor	1,7	0,8	52	80	80	-
3	Sono	1,7	1,0	41	80	70	10
4	Refeições	0,9	0,5	55	70	40	30
5	Brincadeira/trabalho	1,0	0,6	40	70	50	20
6	Interação social	1,5	0,6	60	80	50	30
7	Mudanças de hábitos	1,2	0,6	50	70	50	20
8	Terapias	2,1	1,4	33	90	100	-10
QoL2							
9	Tempo perdido	2,4	1,7	29	100	100	-
10	Exaustão física	1,6	1,2	25	100	80	20
11	Atividades habituais	1,3	0,7	46	80	40	20
12	Despesas	2,7	2,3	14	100	100	-
13	Sufrimento emocional	2,3	2,0	13	100	100	-
14	Inquietação física	1,6	1,0	37	80	70	10
15	Relação entre os familiares	1,5	0,8	46	70	50	20

A porcentagem de melhoria média entre M0 e M2 foi de 36% para severidade da doença (S), 45% para QoL1 e 27% para QoL2. Resultados similares foram encontrados no estudo de Noli et al. (2011b); porém, as terapias utilizadas nos cães não foram especificadas naquele trabalho, o que sugere que outras medicações administradas no tratamento da DAC provocam impactos de magnitudes similares na QV dos pacientes. Em contrapartida, outro estudo notou melhora apenas na QoL2 após o uso do lokivetmab em cães atópicos (Nguyen et al., 2018). Esta observação pode ser explicada pelo alto nível de QV que os pacientes já tinham no início do estudo ou pela população de pacientes utilizada.

Ao considerar a QoL1, a perturbação causada pela administração da terapia obteve a menor média de melhoria (33%), além de um aumento de 10% nas respostas positivas. Já na QV dos tutores, questões relacionadas à perda de tempo, exaustão física, despesas e sofrimento emocional foram as que tiveram menos melhoria (figura 18). Observações semelhantes foram feitas no trabalho de Noli et al. (2011b) e em um estudo em humanos, onde esforços relacionados ao cuidado da criança e preocupações financeiras sobre o tratamento causavam maior impacto (Balkrishnan et al., 2003). Em outro estudo (Noli et al., 2017), onde a QV foi avaliada em cães com otite externa antes e após o tratamento, curiosamente, enquanto a QoL1 parecia melhorar com tempo, QoL2 não ocorreu até o último dia da medicação, possivelmente

refletindo a carga sobre os tutores da terapia administrada em casa. Uma discrepância semelhante entre melhorias nos valores para QoL1 e QoL2, após terapias clinicamente bem-sucedidas, foi descrito em cães e gatos tratados para dermatite alérgica (Noli et al., 2011b; Noli et al., 2015; Noli et al., 2016). Portanto, apesar do lokivetmab reduzir a carga de medicações administradas pelo tutor, o valor do tratamento e o fardo da terapia de manutenção, como banhos e outras medicações, é, provavelmente, responsável pela menor melhoria na QoL2 quando comparada à QoL1.

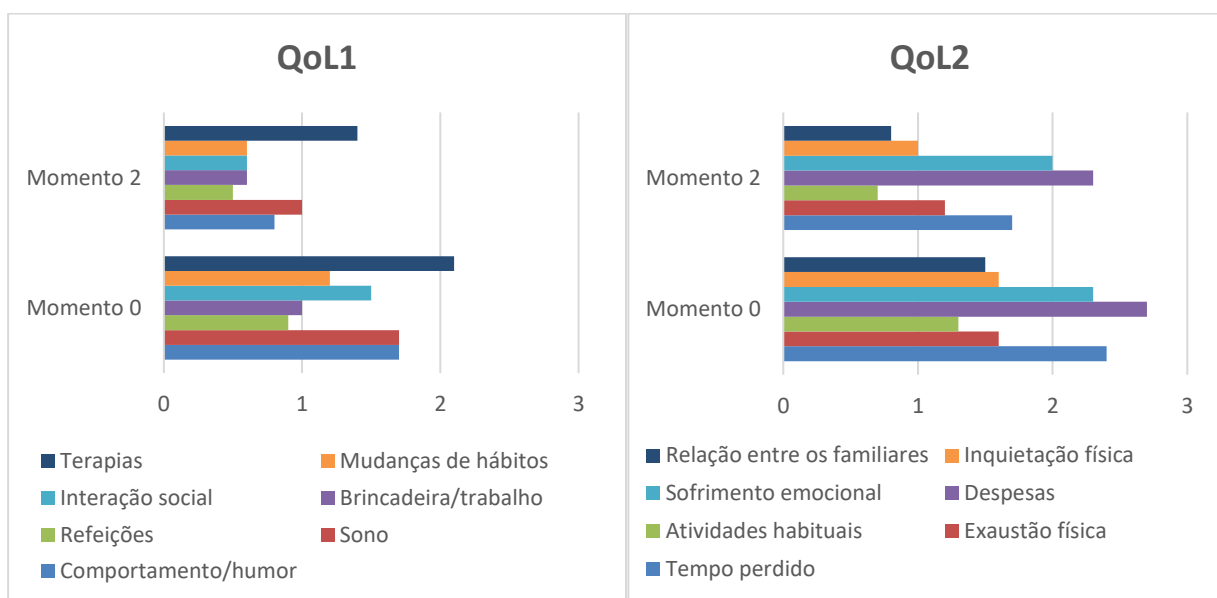


Figura 18. Pontuações de cada pergunta referente a qualidade de vida dos cães com dermatite atópica (QoL1) e seus tutores (QoL2), antes (momento 0) e após (momento 2) terapia com lokivetmab.

Assim como encontrado em outros trabalhos (Favrot et al., 2010b; Noli et al., 2011b), CADESI-04 não se correlacionou fortemente com QoL1 e QoL2 ($R= 0,01$ e $-0,06$, respectivamente), confirmando que a avaliação isolada da melhora da lesão em ensaios não é suficiente, e que o sucesso de uma intervenção terapêutica, conforme experimentado pelos tutores e animais de estimação, é determinada por outros fatores além da melhora clínica (Noli et al., 2018). Ademais, vários estudos em medicina têm demonstrado que nem sempre existe uma relação simples entre a extensão das lesões cutâneas e a QV (Holm et al., 2006). Logo, a correlação pobre encontrada justifica o uso de medidas de QV, pois elas agregam informações extras úteis.

Por outro lado, as correlações da severidade geral da doença percebida pelo tutor (S) com QoL1, QoL2 e prurido foram significativas ($R = 0,59$, $0,5$ e $0,78$, respectivamente), embora com CADESI-04 não tenha alcançado significância ($R = -0,06$, $p = 0,765$) (figura 19). Resultados similares foram encontrados por Noli et al. (2011a).

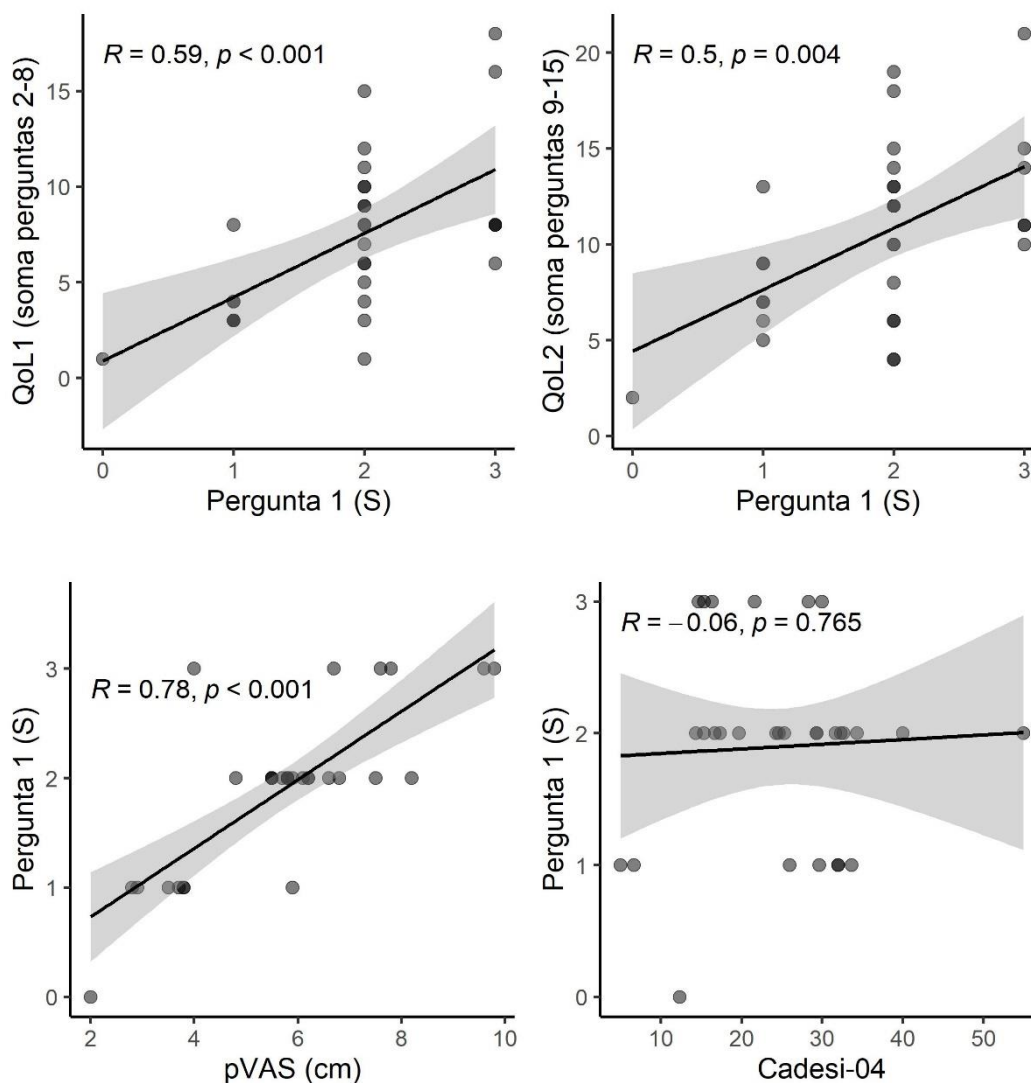


Figura 19. Correlações entre gravidade da doença percebida (pergunta 1, S) e: qualidade de vida dos cães (QoL1) e seus tutores (QoL2), prurido (pVAS), e extensão das lesões (CADESI-04), em pacientes com dermatite atópica.

A pontuação pVAS também se correlacionou fortemente e moderadamente com QoL1 e QoL2 ($R = 0,71$ e $0,52$), respectivamente; diferente do resultado encontrado por Noli et al. (2011b), mas corroborando com resultados de outros trabalhos (Favrot et al., 2010b; Noli et al., 2011a). Isso mostra que o prurido tem um impacto importante na QV de cães com DA e de seus tutores,

e a avaliação das pontuações de QV no pré e pós-tratamento é uma ferramenta valiosa para monitorar o sucesso terapêutico em estudos sobre intervenções na doença.

Outra variável analisada no presente estudo foi o cortisol piloso, que obteve alta variabilidade relativa. Níveis médios de cortisol nos pelos dos cães atópicos foram: 1,40+-2,3, 1,60+-1,2 e 0,60+-0,5 pg/mg, no M0, M1 e M2, respectivamente (tabela 4). Essas concentrações encontradas foram menores que as relatadas em outros trabalhos (Bennett e Hayssen, 2010; Park et al., 2016; Sundman et al., 2019; Bowland et al., 2020). No entanto, os valores se aproximaram mais dos encontrados por Accorsi et al. (2008), onde a concentração média de cortisol piloso foi 2,10 pg/mg.

Tabela 4. Características da população e níveis de cortisol piloso encontrados em 10 cães com dermatite atópica, antes (M0) e após primeira (M1) e segunda (M2) aplicação de lokivetmab.

Cão	Raça	Sexo	Idade (ano)	Peso (kg)	Cor prevalente da pelagem	Comprimento do pelo	Cortisol piloso (pg/mg)		
							M0	M1	M2
1	Shih tzu	F	2,6	6,6	Clara	Longo	0,90	1,87	0,25
2	Pug	M	3,1	9,3	Clara	Curto	0,50	0,25	0,25
3	Yorkshire	F	3,2	3,9	Escura	Longo	0,25	3,20	1,60
4	SRD	M	1,3	9,4	Clara	Longo	0,67	1,21	0,73
5	Bulldog Francês	F	4,0	8,6	Clara	Curto	0,80	0,25	0,25
6	Pug	F	6,4	8,0	Clara	Curto	0,25	0,25	0,25
7	Shih tzu	M	3,0	8,0	Clara	Longo	7,76	2,60	0,90
8	Lhasa Apso	F	6,1	9,6	Clara	Longo	0,54	2,40	0,25
9	Shih tzu	M	6,0	8,8	Clara	Longo	0,25	3,00	0,90
10	Shih tzu	M	11,0	8,6	Clara	Longo	1,62	1,09	0,25

Essas diferenças nas concentrações podem ser explicadas pela técnica de extração utilizada no presente estudo. Pelos moídos resultaram em um aumento de 3,5 vezes na recuperação de cortisol piloso em cães (Bennett e Hayssen, 2010), quando comparado ao método de corte (Accorsi et al., 2008). A maior concentração de cortisol também foi encontrada em pelos moídos de humanos, quando comparado aos picados (Xiang et al., 2016). No entanto, outras diferenças podem ter sido responsáveis por essas discrepâncias, como os métodos de ensaio utilizados (imunoensaios enzimáticos, radioimunoensaio versus quimioluminescência) e diferenças nas populações estudadas, como: raça, tamanho e idade.

Em um estudo recente, um efeito significativo do sexo, com fêmeas exibindo cortisol piloso moderadamente maior do que os machos ($p < 0,05$), foi observado. Além disso, os autores encontraram concentrações aproximadas de cortisol nos pelos de cães jovens e adultos (Bowland et al., 2020). Em outro estudo, não foi notada nenhuma diferença nos níveis de cortisol salivar entre cães fêmeas e machos não castrados. Porém, machos e fêmeas castradas mostraram níveis de cortisol significativamente mais baixos do que suas contrapartes intactas (Sandri et al., 2015). No presente trabalho, variáveis como: peso, idade, sexo e status sexual (castrado/não castrado), não tiveram efeito significativo nos níveis de cortisol piloso nos cães avaliados (figura 20).

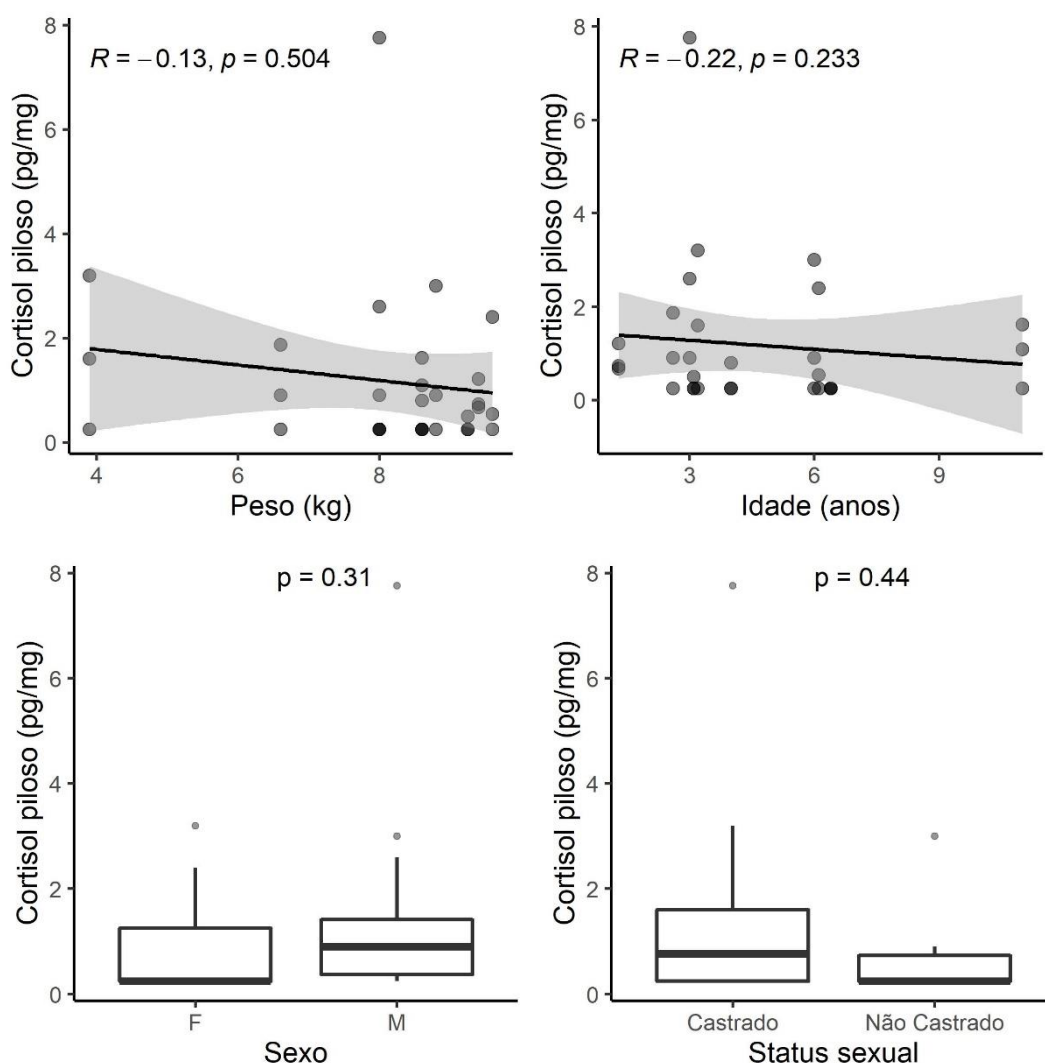


Figura 20. Concentrações de cortisol piloso em função do peso, idade, sexo e status sexual.

Com relação à pelagem dos cães, foram observadas diferenças significativas entre o tamanho dos pelos ($p < 0,001$), com maiores valores de cortisol encontrados em pelos longos. Já a cor da pelagem não diferiu significativamente na concentração de cortisol piloso ($p = 0,411$) (figura 21); o que vai de encontro aos resultados encontrados em outros trabalhos, onde cães pretos tiveram menores níveis de cortisol piloso do que os cães com pelagem de outras cores (Bennett e Hayssen, 2010; Bowland et al., 2020). Entretanto, ambos os resultados encontrados no presente estudo devem ser avaliados com cautela, pois há um grande desbalanço entre os grupos, considerando o número de animais avaliados em cada um ($n = 3$ e $n = 7$, no grupo de pelos curtos e longos, e $n = 1$ e $n = 9$, no grupo de pelagem preta e clara, respectivamente). Portanto, é sugerido que variações como cor e tamanho da pelagem sejam levadas em consideração em análises que usam amostras de pelo para mensurar a concentração de cortisol em cães.

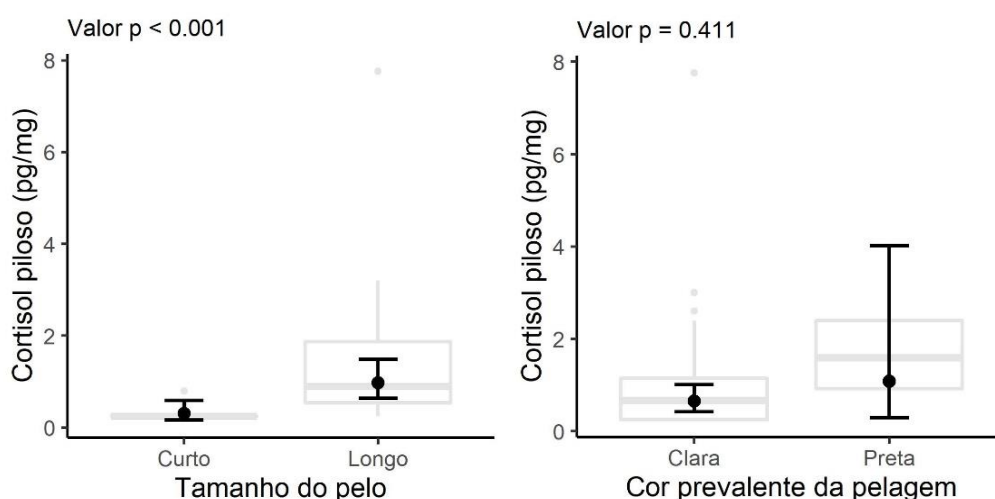


Figura 21. Concentrações de cortisol piloso em função do tamanho e cor prevalente da pelagem.

Quando comparado o M0 com os demais momentos, não foram encontradas diferenças significativas nas concentrações de cortisol piloso (figura 22). A ausência da raspagem prévia em M0, conforme realizado antes dos momentos 1 e 2, pode ter contribuído para obtenção de valores inferiores aos esperados nessas concentrações. Uma explicação para isso seria a de que fatores como: ambiente quente, lavagem com água quente e exposição aos raios ultravioletas, reduzem significativamente as concentrações de cortisol ao longo do tempo (Li et al., 2012). Estas, portanto, seriam razões limitantes a esse método, o que poderia comprometer a validade desta medida. Outra questão a ser considerada, é que amostras obtidas sem tricotomia prévia contêm uma mistura de pelos que incorporaram cortisol em diferentes períodos de tempo. Este

problema pode ser resolvido usando a abordagem tricotomizar-remodelar que estabelece uma linha do tempo conhecida de incorporação do cortisol (Meyer e Novak, 2012).

Por outro lado, diferenças significativas foram observadas entre valores de cortisol piloso nos momentos M1 e M2 ($p < 0,001$, $a \neq b$) (figura 22). Isso sugere que a redução do prurido e aumento da QV possam ter influenciado os níveis desse hormônio no pelo dos animais após o tratamento com lokivetmab, apesar de correlações significativas entre essas variáveis não terem sido encontradas.



Figura 22. Concentrações de cortisol piloso nos cães com dermatite atópica antes (M0), e após primeira (M1) e segunda (M2) aplicação do lokivetmab. As letras acima de cada grupo representam as comparações múltiplas. Grupos que compartilham pelo menos uma mesma letra, não possuem diferenças significativas entre si a um nível de significância de 5%.

No presente estudo, correlações significativas entre cortisol piloso de cães atópicos e gravidade das lesões (CADESI-04) também não foram observadas, o que difere dos resultados encontrados em outro estudo (Park et al., 2016). No entanto, os cães neste trabalho apresentaram apenas lesões leves ao início do estudo. Embora o CADESI-04 não pareceu influenciar a QV e o cortisol piloso, é necessário um estudo de cães mais gravemente afetados e seus tutores. Correlações significativas também não foram observadas entre cortisol piloso e a dose de lokivetmab administrada aos cães atópicos, assim como ocorreu com a severidade da doença percebida pelos tutores (quadro 5).

Quadro 5. Correlação não paramétrica de Spearman entre cortisol piloso e outras variáveis avaliadas em 10 cães com dermatite atópica.

Variável 1	Variável 2	Correlação	Valor p
Cortisol piloso (pg/mg)	pVAS (cm)	-0,28	0,134
Cortisol piloso (pg/mg)	S	-0,19	0,323
Cortisol piloso (pg/mg)	QoL1	-0,06	0,766
Cortisol piloso (pg/mg)	QoL2	0,05	0,775
Cortisol piloso (pg/mg)	CADESI-04	-0,30	0,103
Cortisol piloso (pg/mg)	Dose lokivetmab	0,19	0,317

pVAS, escala visual analógica de prurido; S, severidade da doença percebida pelo tutor; QoL1, qualidade de vida do cão; QoL2, qualidade de vida do tutor; CADESI-04, índice de extensão e gravidade da dermatite atópica canina.

Outras variáveis como grau de proximidade entre o tutor e seu animal e a idade dos tutores não foram avaliadas. Alguns estudos demonstraram que quanto mais próxima a relação tutor-animal de estimação, maior será o impacto da doença do animal na QoL2 (Linek e Favrot, 2010), e diferenças significativas foram encontradas entre tutores jovens e mais velhos na percepção da doença do cão (Favrot et al., 2010b). Assim, é sugerido que trabalhos futuros considerem também a idade dos tutores e o grau de proximidade com seu animal ao utilizarem questionários para avaliar QV.

No geral, os resultados do presente estudo reforçam a afirmação de que os tratamentos utilizados na DAC têm impacto nos sinais da doença e, conseqüentemente, na QV dos cães e de seus tutores. Portanto, medidas de QV devem ser consideradas como ferramenta de medição adicional para averiguar o sucesso terapêutico de intervenções em pacientes atópicos. Mais investigações são necessárias para elucidar a relação entre o uso do lokivetmab e redução do cortisol piloso.

8 CONCLUSÕES

De acordo com os dados obtidos pode-se concluir que o tratamento com lokivetmab não foi capaz de reduzir a extensão e gravidade das lesões dos pacientes atópicos, mas melhorou de forma significativa o prurido e a QV dos cães e de seus tutores; e que o impacto na QV de ambos é pior quanto maior o prurido observado no paciente.

O estudo mostra claramente que a QV de cães atópicos e seus tutores é afetada profunda e negativamente pela doença e demonstra a importância de medir QoL1 e QoL2 não apenas no contexto de ensaios clínicos, mas também na prática diária. Elas poderiam fornecer um meio para melhor suporte ao tutor e melhor avaliação das opções de tratamento.

Não houve correlação observada entre níveis de cortisol piloso, gravidade da doença e QV dos cães atópicos após uso do lokivetmab. No entanto, concentrações menores de cortisol foram encontradas após a segunda aplicação da medicação. Mais estudos são necessários acerca dos níveis de cortisol piloso nesses pacientes, seu papel como biomarcador de estresse e QV, e, mais ainda, sua contribuição para a perpetuação da doença.

9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACCORSI, P.A.; CARLONI, E.; VALSECCHI, P. et al. Cortisol determination in hair and faeces from domestic cats and dogs. *Gen Comp Endocrinol*, v.155, n.2, p.398-402, 2008.

AHLSTROM, L.A.; MASON, K.V.; MILLS, P.C. Barazone decreases skin lesions and pruritus and increases quality of life in dogs with atopic dermatitis: a randomized, blinded, placebo-controlled trial. *J Vet Pharmacol Ther*, v.33, n.6, p.573-582, 2010.

ARDESJÖ-LUNDGREN, B.; TENGVALL, K.; BERGVALL, K. et al. Comparison of cellular location and expression of Plakophilin- 2 in epidermal cells from nonlesional atopic skin and healthy skin in German shepherd dogs. *Vet Dermatol*, v.28, n.4, p.377-e88, 2017.

BAGCI, I.S.; RUZICKA, T. IL-31: a new key player in dermatology and beyond. *J Allergy Clin Immunol*, v.141, n.3, p.858-866, 2018.

BALKRISHNAN, R.; HOUSMAN, T.S.; CARROLL, C. et al. Disease severity and associated family impact in childhood atopic dermatitis. *Archives of Disease in Childhood*, v.88, n.5, p.423-427, 2003.

BEN-GASHIR, M.A.; SEED, P.T.; HAY R.J. Quality of life and disease severity are correlated in children with atopic dermatitis. *Br J Dermatol*, v.150, n.2, p.284-290, 2004.

BENNETT, A.; HAYSSEN, V. Measuring cortisol in hair and saliva from dogs: coat color and pigment differences. *Domest Anim Endocrinol*, v.39, n.3, p.171-180, 2010.

BOWLAND, G.B.; BERNSTEIN, R.M.; KOSTER, J. et al. Fur Color and Nutritional Status Predict Hair Cortisol Concentrations of Dogs in Nicaragua. *Front Vet Sci*, v.7, n. 565346, p. 1-10, 2020.

BRUET, V.; BOURDEAU, P.; ROUSSEL, A. et al. Characterization of pruritus in canine atopic dermatitis, flea bite hypersensitivity and flea infestation and its role in diagnosis. *Vet Dermatol*, v.23, n.6, p.487-493, 2012.

BRYAN, H. M.; ADAMS, A. G.; INVIK, R. M. et al. Hair as a Meaningful Measure of Baseline Cortisol Levels over Time in Dogs. *J Am Assoc Lab Anim Sci*, v.52, n.2, p.189-196, 2013.

CALVERT, M.J.; FREEMANTLE, N. Use of health-related quality of life in prescribing research. Part 1: why evaluate health-related quality of life? *J Clin Pharm Ther*, v.28, n.6, p.513-521, 2003.

CHAMLIN, S.L.; LAI, J.S.; CELLA, D. et al. Childhood atopic dermatitis impact scale: reliability, discriminative and concurrent validity, and responsiveness. *Archives of Dermatology*, v.143, n.6, p.768-772, 2007.

CHEMPPRAPI, S.; BROERE, F.; GOORIS, G. et al. Altered lipid properties of the stratum corneum in Canine Atopic Dermatitis. *Biochim Biophys Acta Biomembr*, v.1860, n.2, p.526-533, 2018.

CHERVET, L.; GALICHET, A.; MCLEAN, W.H. et al. Missing C-terminal filaggrin expression, NFkappaB activation and hyperproliferation identify the dog as a putative model to study epidermal dysfunction in atopic dermatitis. *Exp Dermatol*, v.19, n.8, p. e343-e6, 2010.

CHREN, M.M.; LASEK, R.J.; QUINN, L.M. et al. Skindex, a quality-of-life measure for patients with skin disease: reliability, validity, and responsiveness. *J Invest Dermatol*, v. 107, n. 5, p.707-713, 1996.

CONE, E.J. Mechanisms of drug incorporation into hair. *Ther Drug Monit*, v. 18, n.4, p. 438–443, 1996.

COOPER, G. A.; KRONSTRAND, R.; KINTZ, P. Society of Hair Testing guidelines for drug testing in hair. *Forensic sci int*, v. 218, n.1-3, p. 20-24, 2012.

CORNELISSEN, C.; MARQUARDT, Y.; CZAJA, K. et al. IL-31 regulates differentiation and filaggrin expression in human organotypic skin models. *J Allergy Clin Immunol*, v.129, n. 2, p.426-433, 2012.

COSGROVE, S.B.; CLEAVER, D.M.; KING, V.L. et al. Long-term compassionate use of oclacitinib in dogs with atopic and allergic skin disease: safety, efficacy and quality of life. *Vet Dermatol*, v.26, n.3, p.171-179, 2015.

Cytopoint[®] Monografia Técnica, 34 páginas, Zoetis Indústria de Produtos Veterinários Ltda, Brasil, 03/2019.

DAVENPORT, M.D.; TIEFENBACHER, S., LUTZ, C.K. et al. Analysis of endogenous cortisol concentrations in the hair of rhesus macaques. *Gen Comp Endocrinol*, v.147, n.3, p.255-261, 2006.

DENDA, M.; TSUCHIYA, T.; HOSOI, J. et al. Immobilization-induced and crowded environment-induced stress delay barrier recovery in murine skin. *Br J Dermatol*, v. 138, n.5, p. 780-785, 1998.

DENDA, M.; TSUCHIYA, T.; ELIAS, P.M. et al. Stress alters cutaneous permeability barrier homeostasis. *Am J Physiol*, v. 278, p.R367-R372, 2000.

DILLON, S.R.; SPRECHER, C.; HAMMOND, A. et al. Interleukin 31, a cytokine produced by activated T cells, induces dermatitis in mice. *Nat Immunol*, v.5, p.752-760, 2004.

DURIC, V.; CLAYTON, S.; LEONG, M.L. et al. Comorbidity Factors and Brain Mechanisms Linking Chronic Stress and Systemic Illness. *Neural Plast*, v. 2016, p.1-16, 2016.

ELIAS, P.M.; HATANO, Y.; WILLIAMS, M.L. Basis for the barrier abnormality in atopic dermatitis: outside-inside-outside pathogenic mechanisms. *J Allergy Clin Immunol*, v.121, n.6, p.1337-1343, 2008.

FANTON, N.; SANTORO, D.; CORNEGLIANI, L. et al. Increased filaggrinmetabolizing enzyme activity in atopic skin: a pilot study using a canine model of atopic dermatitis. *Vet Dermatol*, v.28, n.5, p.479-e111, 2017.

FAVROT, C. Clinical signs and diagnosis of canine atopic dermatitis. *Eur J Companion Anim Pract*, v. 19, p. 219-222, 2009.

FAVROT, C.; STEFFAN, J.; SEEWALD, W.; PICCO, F. A prospective study on the clinical features of chronic canine atopic dermatitis and its diagnosis. *Vet Dermatol*, v.21, n.1, p.23-31, 2010a.

FAVROT, C.; LINEK, M.; MUELLER, R. et al. Development of a questionnaire to assess the impact of atopic dermatitis on health-related quality of life of affected dogs and their owners. *Vet Dermatol*, v.21, n.1, p.63-69, 2010b.

FELD, M.; GARCIA, R.; BUDDENKOTTE, J. et al. The pruritus- and TH2-associated cytokine IL-31 promotes growth of sensory nerves. *J Allergy Clin Immunol*, v.138, n.2, p.500-508, 2016.

FINLAY, A.Y; KHAN G.K. Dermatology Life Quality Index (DLQI): a simple practical measure for routine clinical use. *Clin Exp Dermatol*, v.19, n.3, p. 210-216, 1994.

FREEMAN, L.M.; RUSH, J.E.; FARABAUGH, A.E. Development and evaluation of a questionnaire for assessing health-related quality of life in dogs with cardiac disease. *J Am Vet Med Assoc*, v.226, n.11, p. 1864-1868, 2005.

FURUE, M.; CHIBA, T.; TSUJI, G. et al. Atopic dermatitis: immune deviation, barrier dysfunction, IgE autoreactivity and new therapies. *Allergol Int*, v.66, n.3, p. 398-403, 2017.

FURUE, M.; YAMAMURA, K.; KIDO-NAKAHARA, M. et al. Emerging role of interleukin-31 and interleukin-31 receptor in pruritus in atopic dermatitis. *Allergy*, v.73, p. 29-36, 2018.

FURUE, M.; ULZII, D.; VU, Y.H. et al. Pathogenesis of atopic dermatitis: current paradigm. *Iran J Immunol*, v.16, n.2, p.97-107, 2019.

GARG, A.; CHREN, M.M.; SANDS, L.P. et al. Psychological stress perturbs epidermal permeability barrier homeostasis: Implications for the pathogenesis of stress-associated skin disorders. *Arch. Dermatol*, v. 137, n.1, p. 53-59, 2001.

GEDON, N. K. Y.; MUELLER, R. S. Atopic dermatitis in cats and dogs: a difficult disease for animals and owners. *Clin Transl Allergy*, v.8, n.1, p. 1-12, 2018.

GOW, R.; THOMSON, S.; RIEDER, M. et al. An assessment of cortisol analysis in hair and its clinical applications. *Forensic Sci Int*, v.196, n.1-3, p.32-37, 2010.

GRIFFIN, C.E.; DEBOER, D.J. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XIV): clinical manifestations of canine atopic dermatitis. *Vet Immunol Immunopathol*, v.81, n.3-4, p.255-269, 2001.

GUIMARÃES, L. S. P.; HIRAKATA, V. N. Uso do Modelo de Equações de Estimativas Generalizadas na análise de dados longitudinais. *Rev HCPA*, v. 32, n. 4, p. 503-511, 2012.

HALLIWELL, R. Revised nomenclature for veterinary allergy. *Vet Immunol Immunopathol*, v.114, n.3–4, p.207–208, 2006.

HÄNEL, H.K.; PFAFF, M.C.; CORNELISSEN, C. et al. Control of the Physical and Antimicrobial Skin Barrier by an IL-31-IL-1 Signaling Network. *J Immunol*, v. 196, n. 8, p. 3233-3244, 2016.

HARVEY, N.D.; CREIGON, P.J.; SHAW, S.C. et al. Behavioural Differences in Dogs with Atopic Dermatitis Suggest Stress Could Be a Significant Problem Associated with Chronic Pruritus. *Animals*, v.9, n.10, p. 813, 2019.

HENSEL, P.; SANTORO, D.; FAVROT, C. et al. Canine atopic dermatitis: detailed guidelines for diagnosis and allergen identification. *BMC Vet Res*, v.11, p. 196-209, 2015.

HIELM-BJÖRKMAN, A.K.; RITA, H.; TULAMO, R.M. Psychometric testing of the Helsinki chronic pain index by completion of a questionnaire in Finnish by owners of dogs with chronic signs of pain caused by osteoarthritis. *Am J Vet Res*, v.70, n.6, p.727-734, 2009.

HILL, P.B.; LAU, P.; RYBNÍČEK, J. Development of an owner-assessed scale to measure the severity of pruritus in dogs. *Vet Dermatol*, v.18, n.5, p.301-308, 2007.

HODGSON, N.; FREEDMAN, V. A.; GRANGER, D. A.; ERNO A. Behavioral correlates of relocation in the frail elderly: Salivary cortisol, affect, and cognitive function. *J Am Geriatr Soc*, v.52, n.11, p.1856-1862, 2004.

HOLM, E.A.; WULF, H.C.; STEGMANN, H. et al. Life quality assessment among patients with atopic eczema. *Br J Dermatol*, v. 154, n.4, p. 719–725, 2006.

HYDBRING-SANDBERG, E.; VON WALTER, L.W.; HÖGLUND, K. et al. Physiological reactions to fear provocation in dogs. *J Endocrinol*, v.180, n.3, p.439-448, 2004.

JACKSON, H.; FORSYTHE, P. New therapies for canine atopic dermatitis. *Clin Pract*, v.42, n.2, p.82-90, 2020.

JASSIES-VAN DER LEE, A.; RUTTEN, V.P.; BRUIJN, J. et al. CD4+ and CD8+ skin-associated T lymphocytes in canine atopic dermatitis produce interleukin-13, interleukin-22 and interferon-gamma and contain a CD25+ FoxP3+ subset. *Vet Dermatol*, v.25, n.5, p.456-e72, 2014.

KABASHIMA, K.; IRIE, H. Interleukin-31 as a Clinical Target for Pruritus Treatment. *Front Med*, v.8, p.1-10, 2021.

KIRSCHBAUM, C.; TIETZE, A.; SKOLUDA, N. et al. Hair as a retrospective calendar of cortisol production – Increased cortisol incorporation into hair in the third trimester of pregnancy. *Psychoneuroendocrinology*, v. 34, p. 32-37, 2009.

LI, J.; XIE, Q.; GAO, W. et al. Time course of cortisol loss in hair segments under immersion in hot water. *Clin Chim Acta*, v. 413, n.3-4, p. 434-440, 2012.

- LINEK, M.; FAVROT, C. Impact of canine atopic dermatitis on the health-related quality of life of affected dogs and quality of life of their owners. *Vet Dermatol*, v.21, n.5, p. 456-462, 2010.
- LITZLBAUER, P.; WEBER, K.; MUELLER, R.S. Oral and subcutaneous therapy of canine atopic dermatitis with recombinant feline interferon omega. *Cytokine*, v.66, p.54-59, 2014.
- LYNCH, S.; SAVARY-BATAILLE, K.; LEEUW, B. et al. Development of a questionnaire assessing health-related quality-of-life in dogs and cats with cancer. *Vet Comp Oncol*, v.9, n.3, p.172-182, 2011.
- MAINA, E.; COX, E. A double blind, randomized, placebo controlled trial of the efficacy, quality of life and safety of food allergen-specific sublingual immunotherapy in client owned dogs with adverse food reactions: a small pilot study. *Vet Dermatol*, v.27, n.5, p.361-e91, 2016.
- MARSELLA, R.; DE BENEDETTO A. Atopic Dermatitis in Animals and People: An Update and Comparative Review. *Vet Sci*, v.4, n.3, p.1-19, 2017.
- MARSELLA, R.; SOUSA, C.A.; GONZALES, A.J. et al. Current understanding of the pathophysiologic mechanisms of canine atopic dermatitis. *J Am Vet Med Assoc*, v.241, n. 2, p.194-207, 2012.
- MARSELLA, R. Comparison of various treatment options for canine atopic dermatitis: a blinded, randomized, controlled study in a colony of research atopic beagle dogs. *Vet Dermatol*, v.31, n.4, p.284-e69, 2020.
- MASTROMONACO, G.F.; GUNN, K.; MCCURDY-ADAMS, H. Validation and use of hair cortisol as a measure of chronic stress in eastern chipmunks (*Tamias striatus*). *Conserv Physiol*, v.2, n.1, p.1-12, 2014.
- MATRICOTI, I.; NOLI, C. An open label clinical trial to evaluate the utility of a hydrolysed fish and rice starch elimination diet for the diagnosis of adverse food reactions in dogs. *Vet Dermatol*, v.29, n.5, p.408-e134, 2018.
- MEDEIROS, V.B. Canine atopic dermatitis. *J Surg Cl Res*, v. 8, n.1, p. 106-117, 2017.
- MESACORVA, L.; KOTTFFEROVA, J.; SKURKOVA, L. et al. Analysis of cortisol in dog hair – a potential biomarker of chronic stress: a review. *Vet Med*, v.62, n.7, p.363-376, 2017.
- MEYER, J. S.; NOVAK, M. A. Minireview: hair cortisol: a novel biomarker of hypothalamic-pituitary-adrenocortical activity. *Endocrinology*, v.153, n.9, p. 4120-4127, 2012.
- MICHELS, G.M.; RAMSEY, D.S.; WALSH, K.F. et al. A blinded, randomized, placebo-controlled, dose determination trial of lokivetmab (ZTS-00103289), a caninized, anti-canine IL-31 monoclonal antibody in client owned dogs with atopic dermatitis. *Vet Dermatol*, v.27, n.6, p.505-e136, 2016.
- MOYAERT, H.; VAN BRUSSEL, L.; BOROWSKI, S. et al. A blinded, randomized clinical trial evaluating the efficacy and safety of lokivetmab compared to ciclosporin in client owned dogs with atopic dermatitis. *Vet Dermatol*, v.28, n. 6, p.593–e145, 2017.

MULLER, R.M.; LINEK, M.; LÖWENSTEIN, C. et al. Evaluation of cyclosporine-sparing effects of polyunsaturated fatty acids in the treatment of canine atopic dermatitis. *Vet J*, v.210, p. 77-81, 2016.

NGUYEN, T.S.; SIMPSON, B.; L'ESTRANGE, R. et al. Progress report from an early experience program involving atopic dogs treated with lokivetmab reaching 30 days post injection using a mobile application monitoring pruritus and dog and owner quality of life (QoL). In: AUSTRALIAN VET ASSOCIATION ANNUAL CONFERENCE BRISBANE, 2018, Queensland. Anais: Proceedings from the Australian Small Animal Veterinarians Innovation, Research and Development Symposium. 2018. p.9–10. (Resumo).

NOLI, C.; MINAFÒ, G.; GALZERANO, M. Quality of life of dogs with skin disease and their owners - part 1: development and validation of a questionnaire. *Vet Dermatol*, v.22, n.4, p.335-343, 2011a.

NOLI, C.; COLOMBO, S.; CORNEGLIANI, L. et al. Quality of life of dogs with skin disease and of their owners - part 2: administration of a questionnaire in various skin diseases and correlation to efficacy of therapy. *Vet Dermatol*, v.22, n.4, p. 344-351, 2011b.

NOLI, C.; DELLA VALLE, M.F.; MIOLO, A. et al. Efficacy of ultra-micronized palmitoylethanolamide in canine atopic dermatitis: an open-label multi-centre study. *Vet Dermatol*, v. 26, n.6, p.432-440, 2015.

NOLI, C.; BORIO, S.; VARINA, A. et al. Development and validation of a questionnaire to evaluate the quality of life of cats with skin disease and their owners and its use in 185 cats with skin disease. *Vet Dermatol*, v.27, n. 4, p. 247-e58, 2016.

NOLI, C.; SARTORI, R.; CENA, T. Impact of a terbinafine–florfenicol–betamethasone acetate otic gel on the quality of life of dogs with acute otitis externa and their owners. *Vet Dermatol*, v.28, n.4, p. 386-e90, 2017.

NOLI, C. Assessing Quality of Life for Pets with Dermatologic Disease and Their Owners. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, v.49, n.1, p.83-93, 2019.

NUTTALL, T.J.; KNIGHT, P.A.; MCALEESE, S.M. et al. Expression of TH1, TH2 and immunosuppressive cytokine gene transcripts in canine atopic dermatitis. *Clin Exp Allergy*, v.32, n.5, p.789-795, 2002a.

NUTTALL, T.J.; LAMB, J.R.; HILL, P.B. Peripheral blood mononuclear cell responses to major and minor Dermatophagoides allergens in canine atopic dermatitis. *Vet Immunol Immunopathol*, v.84, n.3-4, p.143-150, 2002b.

NUTTALL, T.; URI, M.; HALLIWELL, R. Canine atopic dermatitis—what have we learned? *Vet Rec*, v.172, n. 8, p.201-207, 2013.

NUTTALL, T.; MARSELLA, R.; ROSENBAUM M. et al. Update on pathogenesis, diagnosis, and treatment of atopic dermatitis in dogs. *J Am Vet Med Assoc*, v.254, n.11, p. 1291-1300, 2019.

OLIVRY, T.; NAYDAN, D.K.; MOORE, P.F. Characterization of the cutaneous inflammatory infiltrate in canine atopic dermatitis. *Am J Dermatopath*, v.19, n.5, p.477-486, 1997.

OLIVRY, T.; DEBOER, D.J.; FRAVOT, C. et al. Treatment of canine atopic dermatitis: 2010 clinical practice guidelines from the International Task Force on Canine Atopic Dermatitis. *Vet Dermatol*, v.21, n.3, p.233-248, 2010.

OLIVRY, T.; SARIDOMICHELAKIS, M.; NUTTALL, T. et al. Validation of the Canine Atopic 20 Dermatitis Extent and Severity Index (CADESI)-4, a simplified severity scale for assessing skin lesions of atopic dermatitis in dogs. *Vet Dermatol*, v.25, n.2, p.77-86, 2014.

OLIVRY, T.; DEBOER, D.J.; FAVROT, C. et al. Treatment of canine atopic dermatitis: 2015 updated guidelines from the International Committee on Allergic Diseases of Animals (ICADA). *BMC Vet Res*, v.11, n.1, p.1-15, 2015.

OLIVRY, T.; DUNSTON S.M. Expression patterns of superficial epidermal adhesion molecules in an experimental dog model of acute atopic dermatitis skin lesions. *Vet Dermatol*, v.26, n.1, p.53-e18, 2015.

OLIVRY, T.; MAYHEW, D.; PAPS, J.S. et al. Early activation of Th2/Th22 inflammatory and pruritogenic pathways in acute canine atopic dermatitis skin lesions. *J Invest Dermatol*, v.136, n.10, p.1961-1969, 2016.

OLIVRY, T.; BANOVIC F. Treatment of canine atopic dermatitis: time to revise our strategy? *Vet Dermatol*, v.30, n.2, p.87-90, 2019.

ONG, P.Y.; LEUNG, D.Y. Immune dysregulation in atopic dermatitis. *Allergy Asthma Proc*, v.27, n.6, p. 451-455, 2006.

OGG, G. Role of T cells in the pathogenesis of atopic dermatitis. *Clin Exp Allergy*, v. 39, n.3, p. 310-316, 2009.

PARK, S.H.; KIM, S.A.; SHIN, N.S.; HWANG Y.C. Elevated cortisol content in dog hair with atopic dermatitis. *Jpn J Vet Res*, v.62, n.2, p.123-129, 2016.

R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. *R Foundation for Statistical Computing*. Vienna, Austria, 2019. Disponível em: <<https://www.R-project.org/>>. Acessado em: 30 mai. 2021.

REICH, A.; HREHOROW, E.; SZEPIETOWSKI, J.C. Pruritus is an important factor negatively influencing the well-being of psoriatic patients. *Acta Derm Venereol*, v.90, n.3, p.257-263, 2010.

REICH, A.; MEDREK, K.; SZEPIETOWSKI, J.C. Interplay of itch and psyche in psoriasis: An update. *Acta Derm Venereol*, v.96, n.217, p. 55-57, 2016.

REITER, L.V.; TORRES, S.M.; WERTZ, P.W. Characterization and quantification of ceramides in the nonlesional skin of canine patients with atopic dermatitis compared with controls. *Vet Dermatol*, v.20, n.6, p.260-266, 2009.

ROTH, L.S.; FARESJÖ, A.; THEODORSSON, E.; JENSEN P. Hair cortisol varies with season and lifestyle and relates to human interactions in German shepherd dogs. *Sci Rep*, v.6, p. 1-7, 2016.

RYBNÍČEK, J.; LAU-GILLARD, P.J.; HARVEY, R. HILL P. B. Further validation of a pruritus severity scale for use in dogs. *Vet Dermatol*, v.20, n.2, p.115-122, 2009.

SALEEM, M.D.; OUSSEDIK, E.; D'AMBER, V. et al. Interleukin-31 pathway and its role in atopic dermatitis: a systematic review. *J Dermatol Treat*, v.28, n.7, p.591-599, 2017.

SANDRI, M.; COLUSSI, A.; PERROTTA, M.G. et al. Salivary cortisol concentration in healthy dogs is affected by size, sex, and housing context. *J Vet Behav*, v.10, n.4, p.302-306, 2015.

SANTORO, D.; MARSELLA, R.; PUCHEU-HASTON, C.M. et al. Review: pathogenesis of canine atopic dermatitis: skin barrier and host-micro-organism interaction. *Vet Dermatol*, v.26, n.2, p.84-e25, 2015.

SANTORO, D. Therapies in Canine Atopic Dermatitis: An Update. *Vet Clin North Am Small. Anim Pract*, v.49, n.1, p. 9-26, 2019.

SAUVÉ, B.; KOREN, G.; WALSH, G. et al. Measurement of cortisol in human hair as a biomarker of systemic exposure. *Clin Invest Med*, v.30, n.5, p.E183-191, 2007.

SCOTT, D. W.; MILLER JUNIOR, W. H.; GRIFFIN, G. E. Small animal dermatology. 6. ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 2001, 1528p.

SHIMADA, K.; YOON, J.S.; YOSHIHARA, T. Increased transepidermal water loss and decreased ceramide content in lesional and non-lesional skin of dogs with atopic dermatitis. *Vet Dermatol*, v.20, n. 5-6, p.541-546, 2009.

SINGH, B.; JEGGA, A.G.; SHANMUKHAPPA, K.S. et al. IL-31-driven skin remodeling involves epidermal cell proliferation and thickening that lead to impaired skin-barrier function. *PLoS ONE*, v.11, n.8, p.e0161877, 2016.

SOUSA, C. A.; MARSELLA, R. The ACVD task force o canine atopic dermatitis (II): genetic factors. *Vet Immunol Immunopathol*, v. 81, n.3-4, p. 153-157, 2001.

SOUZA, C. P.; ROSYCHUK, R. A. W.; CONTRERAS, E. T. et al. A retrospective analysis of the use of lokivetmab in the management of allergic pruritus in a referral population of 135 dogs in the western USA. *Vet Dermatol*, v. 9, n.5, p.489-e164, 2018.

SUNDMAN, A.S; POUCKE, E.V; HOLM, A.C.S. Long-term stress levels are synchronized in dogs and their owners. *Sci Rep*, v.10, n. 17112, p. 1-7, 2019.

SZCZEPANIK, M.P.; POPIEL, J.; CEKIERA, A. et al. Evaluation of the clinical efficiency of lokivetmab in client privately owned atopic dogs - multicenter study. *Pol J Vet Sci*, v. 23, n.2, p. 191-195, 2020.

TENGVALL, K.; KIERCZAK, M.; BERGVALL, K. et al. Genome-wide analysis in German shepherd dogs reveals association of a locus on CFA 27 with atopic dermatitis. *PLoS Genet*, v.9, n.5, p.e1003475, 2013.

TEY, H.L.; WALLENGREN, J.; YOSIPOVITCH, G. Psychosomatic factors in pruritus. *Clin Dermatol*, v.31, n.1, p. 31–40, 2013.

XIANG, L.; SUNESARA, I.; REHM, K.E. et al. A modified and cost-effective method for hair cortisol analysis. *Biomarkers*, v.21, n.3, p. 200-203, 2016.

WALTERS, R.R.; BOUCHER, J.P.; PAQUETTE, J.A. et al. Laboratory dose titration efficacy study of ZTS-00103289, a caninized anti-IL-31 monoclonal antibody, in a canine model of IL-31-induced pruritus (abstract). *Vet Dermatol*, v.26, p.145, 2015.

WILHEM, S.; KOVALIK, M.; FAVROT, C. Breed-associated phenotypes in canine atopic dermatitis. *Vet Dermatol*, v.22, n.2, p.143-149, 2011.

WISEMAN-ORR, M.L.; NOLAN, A.M.; REID, J. et al. Development of a questionnaire to measure the effects of chronic pain on health-related quality of life in dogs. *Am J Vet Res*, v.65, n.8, p.1077-1084, 2004.

WOJCIECHOWSKA, J.I.; HEWSON, C.J. Quality-of-life assessment in pet dogs. *J Am Vet Med Assoc*, v.226, n.5, p.722-728, 2005.

WRIGHT, A.; ALAMAN, C.; HOLLAND, R. Preliminary results from a mobile app monitoring canine pruritus and quality of life in dogs prescribed oclacitinib (abstract). *Vet Dermatol*, v.29, n.4, p.270-271, 2018a.

WRIGHT, A.; COOPER, S.; PAVLOCK, A. Association of administration of oclacitinib with improvement of quality of life of acutely pruritic dogs and their owners in 7 days (abstract). *Vet Dermatol*, v.29, p.273, 2018b.

YEARLEY, J.H.; HANCOCK, D.D.; MEALEY, K.L. Survival time, lifespan, and quality of life in dogs with idiopathic Fanconi syndrome. *J Am Vet Med Assoc*, v.225, n.3, p.377-383, 2004.

YAZBEK, K.V.B.; FANTONI, T. Validity of a health-related quality-of-life scale for dogs with signs of pain secondary to cancer. *J Am Vet Med Assoc*, v.226, n.8, p.1354-1358, 2005.

YOON, J.S.; NISHIFUJI, K.; SASAKI, A. et al. Alteration of stratum corneum ceramide profiles in spontaneous canine model of atopic dermatitis. *Exp Dermatol*, v.20, n.9, p.732-736, 2011.

ZHANG, Q.; PUTHETI, P.; ZHOU, Q. Structures and biological functions of IL-31 and IL-31 receptors. *Cytokine Growth Factor Rev*, v.19, n.5-6, p.347-356, 2008.

ANEXO I – Protocolo de aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

<ufmg-
brasao.png>CEUA
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

Prezado(a):

Esta é uma mensagem automática do sistema Solicite CEUA que indica mudança na situação de uma solicitação.

Protocolo CEUA: 175/2019**Título do projeto:** Associação do cortisol piloso, gravidade da doença e qualidade de vida em cães atópicos após terapia com lokivetmab.**Finalidade:** Pesquisa**Pesquisador responsável:** Adriane Pimenta da Costa Val Bicalho**Unidade:** Escola de Veterinária**Departamento:** Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária**Situação atual:** [Decisão Final - Aprovado](#)

Aprovado na reunião do dia 02/09/2019. Validade: 02/09/2019 à 01/09/2020

Belo Horizonte, 02/09/2019.

Atenciosamente,

Sistema Solicite CEUA UFMG

https://aplicativos.ufmg.br/solicite_ceua/Universidade Federal de [Minas Gerais](#)
[Avenida Antônio Carlos, 6627](#) – Campus Pampulha
Unidade Administrativa II – 2º Andar, Sala 2005
31270-901 – Belo Horizonte, MG – Brasil
Telefone: (31) 3409-4516
www.ufmg.br/bioetica/ceua - cetea@prpq.ufmg.br

ANEXO II – Certificado de Apresentação de Apreciação Ética

CONFIRMAR APROVAÇÃO PELO CAAE OU PARECER

Informe o número do CAAE ou do Parecer:

Número do CAAE:

89680318.6.0000.5149

Número do Parecer:

Pesquisar

Esta consulta retorna somente pareceres aprovados. Caso não apresente nenhum resultado, o número do parecer informado não é válido ou não corresponde a um parecer aprovado.

DETALHAMENTO

Título do Projeto de Pesquisa:

Percepção de Bem Estar por diferentes faixas populacionais brasileiras

Número do CAAE:

89680318.6.0000.5149

Número do Parecer:

2751258

Quem Assinou o Parecer:

Vivian Resende

Pesquisador Responsável:

ADRIANE PIMENTA DA COSTA VAL BICALHO

Data Início do Cronograma:

16/07/2018

Data Fim do Cronograma:

01/11/2018

Contato Público:

ADRIANE PIMENTA DA COSTA VAL BICALHO

ANEXO III – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título do projeto: Associação do cortisol piloso, gravidade da doença e qualidade de vida em cães atópicos após terapia com lokivetmab.

Nome do pesquisador responsável: Adriane Pimenta da Costa-Val Bicalho.

Razão social e Ciae instituição da CEUA que aprovou: Universidade Federal de Minas Gerais – Ciae: 01.044.2013

Objetivos do estudo: Nesta pesquisa pretendemos avaliar e comparar os níveis de cortisol no pelo de cães atópicos com a gravidade dos sintomas da dermatite alérgica e a qualidade de vida dos mesmos, antes e após a terapia com lokivetmab.

Procedimentos a serem realizados com os animais: Os cães serão submetidos a três coletas de pelo por meio de tricotomia com máquina de tosa e lâmina de numeração 30, da região isquiática esquerda (quadrado com lados de 5 cm), com o intervalo de 30 dias entre cada coleta.

Potenciais riscos para os animais: O risco envolvido na pesquisa consiste na ausência de resposta terapêutica eficiente do paciente submetido ao tratamento com lokivetmab (Cytoint®).

Cronograma:

Atividades							
A n o	Se mes tre	Cur sar disc ipli nas	Elab oraç ão do Proj eto	Colhe ita de Amos tras	Process amento das Amostr as	Aná lise de Res ulta dos	Redação da Dissertaçã o e Conclusão do Projeto
20	1º	X	X				
19	2º			X	X		
20	1º			X	X		
19	2º					X	X
20	Fev erei ro						X
20							
20							
21							

Benefícios: A pesquisa contribuirá para o melhor entendimento da patogenia da Dermatite Atópica Canina, relação do nível de cortisol piloso e qualidade de vida dos cães atópicos, assim como comprovação da eficácia e segurança do lokivetmab (Cytoint®). Para participar deste estudo o Sr. (a) não terá nenhum custo.

Sua autorização para a inclusão do (s) seu (s) animal (is) nesse estudo é voluntária. Seu (s) animal (is) poderá (ão) ser retirado (s) do estudo, a qualquer momento, sem que isso cause qualquer prejuízo a ele (s).

A confidencialidade dos seus dados pessoais será preservada. Os membros da CEUA ou as autoridades regulatórias poderão solicitar suas informações, e nesse caso, elas serão dirigidas especificamente para fins de inspeções regulares. A Médica Veterinária responsável pelo (s) seu (s) animal (is) será a Dra. Adriane Pimenta da Costa-Val Bicalho, inscrita no CRMV sob o nº 4331. Além dela, sua equipe também se responsabilizará pelo bem-estar do (s) seu (s) animal (is) durante todo o estudo e ao final dele. Quando for necessário, durante ou após o período do estudo, você poderá entrar em contato pelos contatos:

Adriane Pimenta da Costa Val Bicalho

Endereço: Escola de Veterinária da UFMG – Av. Antônio Carlos, 6627, *Campus Pampulha*

CEP: 31270-901/ São Luiz, Belo Horizonte – MG.

Telefone: (31) 3409-2000

E-mail: adriane@ufmg.br

Assinatura do pesquisador responsável

Data

Vanessa Stuart Marques

Endereço: Escola de Veterinária da UFMG – Av. Antônio Carlos, 6627, *Campus Pampulha*

CEP: 31270-901/ São Luiz, Belo Horizonte – MG.

Telefone: (31) 3409-2000

E-mail: vanessastuart.vet@gmail.com

Assinatura do pesquisador (mestranda)

Data

Declaração de consentimento

Fui devidamente esclarecido (a) sobre todos os procedimentos deste estudo, seus riscos e benefícios ao (s) animal (is) pelo (s) qual (is) sou responsável. Fui também informado que posso retirar meu (s) animal (is) do estudo a qualquer momento. Ao assinar este Termo de Consentimento, declaro que autorizo a participação do (s) meu (s) animal (is) identificado (s), a seguir, neste projeto.

Este documento será assinado em duas vias, sendo que uma via ficará comigo e outra com o pesquisador.

_____, ____/____/____
(cidade) (data)

Nome completo: _____

Assinatura do Responsável: _____

Documento de Identidade: _____

Identificação do (s) animal (is):

Nome: _____

Número de identificação: _____

Espécie: _____

Raça: _____