

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Escola de Veterinária

Programa de Pós-graduação em Ciência Animal

**CARACTERIZAÇÃO DA POPULAÇÃO CANINA COM DERMATITE ATÓPICA E
CORRELAÇÃO ENTRE A GRAVIDADE DA DOENÇA E NÍVEL SÉRICO DE
INTERLEUCINA-31 ANTES E APÓS APLICAÇÃO DE LOKIVETMAB**

Jéssica Ragazzi Calessio

Belo Horizonte – MG

2021

Jéssica Ragazzi Calessio

**CARACTERIZAÇÃO DA POPULAÇÃO CANINA COM DERMATITE ATÓPICA E
CORRELAÇÃO ENTRE A GRAVIDADE DA DOENÇA E NÍVEL SÉRICO DE
INTERLEUCINA-31 ANTES E APÓS APLICAÇÃO DE LOKIVETMAB**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Orientadora: Prof^a. Dra. Adriane Pimenta da Costa-Val Bicalho.

Belo Horizonte – MG

2021

C149c Calesso, Jéssica Ragazzi, 1993 -
Caracterização da população canina com dermatite atópica e correlação entre a gravidade da doença e nível sérico de interleucina-31 antes e após aplicação de Lokivetmab/Jéssica Ragazzi Calesso. – 2021.

99 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.

Bibliografias: f. 85 – 89.

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

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

JÉSSICA RAGAZZI CALESSO

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 29 de junho de 2021, pela banca constituída pelos membros:

Dr.(a). Adriane Pimenta da Costa Val Bicalho

Presidente - Orientador(a)

Dr.(a). Rodolfo Cordeiro Giunchetti

Dr.(a). Marconi Rodrigues de Farias



Documento assinado eletronicamente por **Adriane Pimenta da Costa Val Bicalho, Cidadã**, em 29/06/2021, às 17:43, 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 **Marconi Rodrigues de Farias, Usuário Externo**, em 30/06/2021, às 23:00, 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 **Rodolfo Cordeiro Giunchetti, Professor do Magistério Superior**, em 02/07/2021, às 08:45, 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 **0799611** e o código CRC **09D70647**.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus pela minha saúde para realizar esse trabalho. À minha família, que apoiou essa etapa desde o início mesmo a quilômetros de distância. Ao Lucas, pela paciência e companheirismo que me proporcionou durante esses anos de estudo.

À professora Adriane (“Tia”), orientadora que me acolheu e guiou meus passos para alcançar esse título com êxito. Além de todos os ensinamentos e exemplo, se tornou uma amiga. Obrigada pelas oportunidades e pelo privilégio de fazer parte da sua equipe. À Vanessa, parceira de caminhada na pós-graduação, por aguentar minha ansiedade nos altos e baixos de nosso experimento e por partilhar conhecimento, obrigada pela amizade e que se perdure por muitos anos. Agradeço também à Marina “Nina”, que esteve presente em todas as etapas deste trabalho.

Agradeço ao professor Mauro Cardoso, que me incentivou desde a graduação ao estudo da dermatologia e da área acadêmica, e se faz um orientador presente até hoje. Agradecimento especial à Dra. Larissa Botoni e Dr. Guilherme Martins, que muito me ensinaram sobre esse mundo fantástico da dermatologia veterinária.

Meu muito obrigada aos membros da banca examinadora por aceitarem o convite, Prof. Dr. Marconi Rodrigues de Farias, que é referência e exemplo para todos que seguem a especialidade, e Prof. Dr. Rodolfo Cordeiro Giunchetti, que apoiou e incentivou a ideia do projeto, com importante contribuição para o trabalho. À professora Fabíola, que abriu as portas do laboratório, além de embarcar com entusiasmo e muito conhecimento nos planos “A”, “B” e “C” durante o desenvolvimento do projeto de pesquisa.

Ao TECSA Laboratórios, principalmente ao Dr. Otávio Valério, que com muito profissionalismo prestou parceria e assistência técnica de excelência, fundamental na etapa final deste trabalho.

Agradeço a toda equipe (médicos veterinários, professores, estagiários e funcionários) do Hospital Veterinário da Escola de Veterinária da UFMG. À CAPES, pelo apoio financeiro e incentivo com a pesquisa brasileira.

E por fim, agradeço aos pacientes, que merecem respeito e qualidade de vida, e seus tutores, que contribuíram com esta pesquisa.

Às vezes surge um cão que verdadeiramente toca a sua vida, e você jamais consegue esquecê-lo.
(Marley & Eu, John Grogan)

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– Distribuição característica das lesões clínicas e do prurido associada com dermatite atópica canina e hipersensibilidade alimentar.....	21
Figura 2	– Distribuição lesional e do prurido na dermatite atópica canina de acordo com a raça acometida. Cada cor representa a frequência de animais afetados na área correspondente.....	22
Figura 3	– Fatores patogênicos responsáveis pela inflamação cutânea e prurido em cães com dermatite atópica e suas inter-relações.....	24
Figura 4	– Ilustração dos papéis da interleucina-31 em doenças de pele pruriginosas. A IL-31 é produzida principalmente por células T helper 2 (Th2), embora outras as células imunes inatas também podem produzi-la. O receptor de IL-31 é amplamente expresso por vários tipos de células, incluindo nervos sensoriais periféricos, epidérmicos queratinócitos e células imunológicas. A ligação da IL-31 ao seu receptor nos neurônios sensoriais estimula o nervo, causando o prurido. IL-31 também está envolvida na disfunção da barreira cutânea e inflamação.....	32
Figura 5	– Esquema estrutural dos anticorpos no modelo “chave-fechadura”.....	41
Figura 6	– O esquema mostra um anticorpo murino exibido em verde, seguido de um anticorpo quimérico no qual apenas as regiões variáveis de ligação do antígeno com o anticorpo, em verde, são de origem murina (25%), enquanto que as restantes, exibidas em azul, são de origem canina (75%). Mais à direita é representado um anticorpo “caninizado” no qual apenas as alças CDR de ligação ao antígeno são de origem murina (10%, em verde), sendo o restante é de origem canina (90%, em azul).....	41
Figura 7	– Esquema representativo do mecanismo de ação do lokivetmab, neutralizando seletivamente a IL-31.....	42
Figura 8	– Padrão de distribuição lesional e sinais clínicos característicos de dermatite atópica nos cães selecionados para o estudo: eritema, liquenificação e hiperpigmentação dos pavilhões auriculares (A e B); eritema, alopecia e liquenificação em região perilabial/queixo (C); eritema e escamação em articulação do metacarpo e interdígitos (D); eritema, alopecia e liquenificação em articulação do metacarpo (E) e face palmar (F).....	62
Figura 9	– Atlas de graduação das lesões CADESI-04 proposto e validado por Olivry et al. (2014).....	64
Figura 10	– Escala analógica visual de prurido, adaptada de Hill et al. (2007), referente a escala de letra A e Rybnicek et al. (2009), referente a escala de letra B.....	66
Figura 11	– Frequência relativa quanto à raça dos cães com dermatite atópica incluídos no estudo.....	69
Figura 12	– Boxplot das pontuações CADESI-04 em cada momento do tratamento (M0, M1, M2). 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%.....	73

Figura 13 – Boxplot da pVAS em cada momento do tratamento (M0, M1, M2). 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%.....	74
Figura 14 – Boxplot dos níveis séricos de IL-31 canina em cada momento do tratamento (M0, M1, M2). 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%.....	77
Figura 15 – Gráfico de dispersão mostrando ausência de correlação entre a gravidade da doença pelas pontuações CADESI-04 e idade dos cães atópicos em todos os momentos do tratamento (M0, M1, M2).....	79
Figura 16 – Gráfico de dispersão da correlação entre níveis séricos de IL-31 e os valores de pVAS em todos os momentos do tratamento (M0, M1, M2).....	80
Figura 17 – Gráfico de dispersão da correlação entre a dose de lokivetmab e os valores de pVAS em todos os momentos do tratamento (M0, M1, M2).....	82
Figura 18 – Gráficos de dispersão da correlação entre a redução (em centímetros) na escala analógica visual de prurido (pVAS) e os níveis séricos basais de IL-31 (pg/mL) em cada cão atópico entre os momentos M0 e M1 (A), e M0 e M2 (B).....	83
Figura 19 – A) cão 9 apresentando otite externa; B) cão 5 apresentando piodermite superficial generalizada.....	84
Figura 20 – Gráfico de dispersão mostrando ausência de correlação entre níveis séricos de IL-31 e idade dos cães atópicos em todos os momentos do tratamento (M0, M1, M2).....	87
Figura 21 – Gráfico de dispersão mostrando ausência de correlação entre níveis séricos de IL-31 e peso corporal dos cães atópicos em todos os momentos do tratamento (M0, M1, M2).....	87

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Características e regiões avaliadas para pontuação do índice de extensão e gravidade da dermatite atópica canina, adaptada de Olivry et al. (2014).....	65
Tabela 2 – Dados demográficos de dez cães com dermatite atópica provenientes da rotina clínica do serviço de dermatologia do Hospital Veterinário da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais.....	68
Tabela 3 – Resultados obtidos de hemograma e bioquímica sérica dos dez cães com dermatite atópica antes do tratamento com lokivetmab.....	69
Tabela 4 – Resultados das pontuações do índice de extensão e gravidade da dermatite atópica canina, da escala analógica visual de prurido e das concentrações séricas da interleucina-31 canina (em pg/mL) nos três momentos avaliados, e a dose utilizada de lokivetmab em cada cão do grupo de dez cães com dermatite atópica canina.....	70
Tabela 5 – Análise estatística descritiva das variáveis quantitativas no momento global e nos três momentos do tratamento com lokivetmab (M0, M1, M2)...	70
Tabela 6 – Redução das pontuações do índice de extensão e gravidade da dermatite atópica canina e da escala analógica visual de prurido entre os momentos (M1 e M2) após aplicações de lokivetmab.....	75
Tabela 7 – Correlação não paramétrica de Spearman para cada dupla de variáveis.....	79

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Principais citocinas que atuam no sistema imune tegumentar, suas células de origem, alvo e efeito biológico.....	27
Quadro 2 – Diagnósticos diferenciais importantes para dermatoses pruriginosas em cães.....	34
Quadro 3 – Critérios de Favrot.....	35
Quadro 4 – Eficácia das modalidades de tratamento utilizadas em cães com dermatite atópica.....	43
Quadro 5 – Intercorrências observadas nos cães atópicos em cada momento do estudo e terapias utilizadas em cada um deles.....	84

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Frequência quanto ao sexo da população canina com dermatite atópica atendida no serviço de dermatologia do Hospital Veterinário da UFMG entre 2015-2020.....	49
Gráfico 2 – Frequência por raça da população canina com dermatite atópica atendida no serviço de dermatologia do Hospital Veterinário da UFMG entre 2015-2020.....	50
Gráfico 3 – Frequência por idade da população canina com dermatite atópica atendida no serviço de dermatologia do Hospital Veterinário da UFMG entre 2015-2020.....	50
Gráfico 4 – Afecções secundárias à dermatite atópica canina na população atendida no serviço de dermatologia do Hospital Veterinário da UFMG entre 2015-2020.....	51
Gráfico 5 – Comorbidades diagnosticadas na população canina com dermatite atópica atendida no serviço de dermatologia do Hospital Veterinário da UFMG entre 2015-2020.....	52
Gráfico 6 – Prevalência e intensidade do prurido da população canina com dermatite atópica atendida no serviço de dermatologia do Hospital Veterinário da UFMG entre 2015-2020.....	53
Gráfico 7 – Frequência relativa do prurido em cães com dermatite atópica antes (momento 0) e após (momento 1 e 2) terapia com lokivetmab.....	73

LISTA DE ANEXOS

Anexo I – Comissão de ética no uso de animais.....	96
Anexo II – Declaração da direção do Hospital Veterinário para desenvolvimento do projeto de pesquisa nas dependências do Hospital Veterinário.....	97
Anexo III – Termo de consentimento livre e esclarecido.....	98

LISTA DE ABREVIACOES

CADESI	Índice de extensão e gravidade da dermatite atópica canina
CDR	Região determinadora de complementaridade
CEUA	Comissão de tica no uso de animais
DAC	Dermatite atópica canina
DAPE	Dermatite alérgica  picada de pulgas
DAPP	Dermatite alérgica  picada de ectoparasitas
ELISA	Ensaio imunoabsorvente ligado a enzima
Fab	Fragmento de ligao ao antígeno
Fc	Fragmento cristalizável
HA	Hipersensibilidade alimentar
HV-UFGM	Hospital Veterinário – Universidade Federal de Minas Gerais
IFN- γ	Interferon-gama
IgE	Imunoglobulina-E
IL-12	Interleucina-12
IL-13	Interleucina-13
IL-17	Interleucina-17
IL-25	Interleucina-25
IL-31	Interleucina-31
IL-31RA	Receptor α da IL-31
IL-33	Interleucina-33
IL-34	Interleucina-34
IL-4	Interleucina-4
IL-5	Interleucina-5
ITAE	Imunoterapia alérgeno específica
JAK	Janus Quinase
LAC	Laboratório de análises clínicas
LECC	Lúpus eritematoso cutâneo crônico
LPS	Lipopolissacareos
M0	Momento 0
M1	Momento 1
M2	Momento 2
mAb	Anticorpo monoclonal
MAPK	Proteína quinase ativada por mitógeno
mg/kg	Miligramas por quilo
MHC-II	Moléculas de histocompatibilidade de classe II
mL	Mililitros
mRNA	ácido ribonucleico mensageiro
nm	Nanmetro
OSMR	Receptor β da oncostatina M
PAMs	Peptídeos antimicrobianos
pg/mL	Picogramas por mililitro
PI3K	Fosfatidilinositol 3-quinase
pVAS	Escala analógica visual de prurido
RAST	Radioalergossorvente
RT-PCR	Reao em cadeia da polimerase em tempo real

SEB	Enterotoxina tipo B
SRD	Sem raça definida
STAT	Transdutores de sinal e ativadores de transcrição
TEWL	Perda de água transepidérmica
Th0	T helper 0
Th1	T helper 1
Th17	T helper 17
Th2	T helper 2
Th22	T helper 22
TNF- α	Fator de necrose tumoral alfa
TSLP	Linfopoetina estromal tímica
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais

SUMÁRIO

RESUMO.....	16
ABSTRACT.....	17
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	18
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	19
2.1. Conceito e prevalência.....	19
2.2. Manifestações clínicas.....	20
2.3. Predisposição racial.....	21
2.4. Mecanismo patofisiológico e imunopatogênese.....	23
2.5. Barreira cutânea.....	28
2.6. O papel da interleucina-31.....	30
2.7. Diagnóstico.....	34
2.8. Tratamento.....	36
2.9. Lokivetmab e os anticorpos monoclonais.....	39
3. OBJETIVO GERAL.....	43
4. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	44
5. PARTE I – CARACTERIZAÇÃO DA POPULAÇÃO CANINA COM DERMATITE ATÓPICA ATENDIDA NO SERVIÇO DE DERMATOLOGIA DO HV-UFGM ENTRE 2015-2020.....	45
RESUMO.....	45
ABSTRACT.....	46
5.1. Introdução.....	47
5.2. Material e Métodos.....	47
5.3. Resultados e Discussão.....	48
5.4. Conclusões.....	57
6. PARTE II – CORRELAÇÃO ENTRE A GRAVIDADE DA DOENÇA E NÍVEL SÉRICO DE INTERLEUCINA-31 EM CÃES COM DERMATITE ATÓPICA ANTES E APÓS APLICAÇÃO DE LOKIVETMAB.....	59
RESUMO.....	59
ABSTRACT.....	60
6.1. Introdução.....	61
6.2. Material e Métodos.....	61
6.2.1. Animais.....	62
6.2.2. Amostras sanguíneas.....	63
6.2.3. Índice de extensão e gravidade da dermatite atópica canina.....	64
6.2.4. Escala analógica visual de prurido.....	65
6.2.5. Mensuração da interleucina-31 canina.....	66
6.2.6. Cronograma do delineamento experimental.....	67
6.3. Análise estatística.....	67
6.4. Resultados e discussão.....	68
6.5. Conclusões.....	88
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	89
ANEXOS.....	96

RESUMO

A dermatite atópica canina é uma doença cutânea pruriginosa, inflamatória e crônica, associada a anticorpos IgE alérgeno-específicos, principalmente contra alérgenos ambientais. O prurido é o principal sinal clínico e afeta diretamente a qualidade de vida dos cães e de seus tutores. Sua patogênese ainda não é totalmente elucidada, mas sabe-se que é bastante complexa, envolvendo fatores genéticos, ambientais, alimentares, defeitos de barreira cutânea e disfunção imunológica. Atualmente tem sido descrito o importante papel da interleucina-31 (IL-31) na indução do prurido, e a terapia mais direcionada para controle deste sinal clínico é o lokivetmab, que objetiva bloquear seletivamente essa citocina, impedindo-a de se ligar ao seu receptor e desencadear a cascata pruriginosa. Por ser uma das dermatopatias mais frequentemente diagnosticadas em cães a nível mundial, dados de literatura sobre os aspectos epidemiológicos e terapêuticos da doença são encontrados facilmente. Entretanto, no âmbito nacional e de acordo com região geográfica, os dados de prevalência e das características na espécie ainda são escassos. Desta forma, o presente estudo foi dividido em duas partes. Na primeira parte, objetivou-se determinar a prevalência da dermatite atópica canina no serviço de dermatologia do Hospital Veterinário da UFMG através de um estudo retrospectivo do período de 2015 a 2020. Para tanto, foram analisados 761 prontuários de cães, em que 34,51% (291) dos casos representaram alergopatias e destas, 73,56% (214) dos casos foram de cães com dermatite atópica, sendo a alergopatia mais prevalente. A raça é a característica mais variável da doença em termos epidemiológicos, sendo que neste estudo as raças Shih Tzu, Lhasa Apso e Buldogue Francês foram as raças puras mais prevalentes. Na segunda parte, objetivou-se selecionar prospectivamente dez cães com dermatite atópica provenientes do serviço de dermatologia do Hospital Veterinário da UFMG para avaliar a gravidade da doença, através das pontuações do índice de extensão e gravidade da dermatite atópica canina (CADESI-04) e escala analógica visual de prurido (pVAS), correlacionando com os níveis séricos de IL-31, antes e após terapia com o anticorpo monoclonal (mAb) lokivetmab. Ainda são escassos os estudos sobre os níveis séricos de IL-31, sua correlação com a gravidade da doença e seus níveis circulantes após aplicação deste imunoterapêutico. Houve redução significativa da pVAS e da IL-31 sérica após duas administrações do mAb, existindo correlação positiva significativa entre as duas variáveis. No entanto, não houve diferença nas pontuações CADESI-04, nem correlação entre a gravidade da doença e níveis séricos desta citocina em cães atópicos de diferentes idades e pesos. Observou-se correlação negativa significativa entre dose de lokivetmab e a pVAS, mostrando que quanto maior a dose utilizada, menor a pVAS. Não houve correlação entre a redução do prurido com o nível sérico basal da IL-31, e, portanto, não foi possível inferir se os cães com níveis séricos mais altos seriam os melhores candidatos à terapia. Os resultados são relevantes e promissores, pois reforçam o papel dessa citocina no envolvimento do prurido em cães com dermatite atópica e permitem abrir portas para novos estudos com populações maiores de cães, para investigar se a IL-31 poderá ser um biomarcador de resposta terapêutica ao lokivetmab.

Palavras-chave: anticorpo monoclonal, atopia, cães, interleucina-31, lokivetmab.

ABSTRACT

Canine atopic dermatitis is a chronic, pruritic and inflammatory skin disease, associated with allergen-specific IgE antibodies primarily against environmental allergens. Pruritus is the main clinical sign and directly affects the quality of life of dogs and their owners. Pathogenesis is not yet fully elucidated, but it is known to be quite complex, involving genetic and environmental factors, food allergens, skin barrier defects and immune dysfunction. Currently, the important role of interleukin-31 (IL-31) in the induction of pruritus has been described, and the most targeted therapy to control this clinical sign is lokivetmab, which aims to selectively block this cytokine, preventing it from binding to its receptors and trigger the pruritic cascade. As it is one of the most frequently diagnosed dermatopathies in dogs worldwide, literature data on the epidemiological and therapeutic aspects of the disease are easily found. However, at the national level and according to geographic region, data on prevalence and characteristics in the species are still scarce. Thus, the present study was divided into two parts. The first part aimed to determine the prevalence of canine atopic dermatitis in the dermatology service of the Veterinary Hospital of UFMG through a retrospective study in the period from 2015 to 2020. Therefore, 761 medical records of dogs were analyzed, in which 34,51% (291) of the cases represented allergies and of these, 73,56% (214) of the cases were from dogs with atopic dermatitis, being the most prevalent allergy. Breed is the most variable characteristic of the disease in epidemiological terms, and in this study Shih Tzu, Lhasa Apso and French Bulldog were the most prevalent pure breeds. In the second part, the objective was to prospectively select ten dogs with atopic dermatitis from the dermatology service of the Veterinary Hospital of UFMG to assess the severity of the disease, through the scores of the canine atopic dermatitis extent and severity index (CADESI-04) and visual analog scale of pruritus (pVAS), correlating with serum levels of IL-31, before and after therapy with the monoclonal antibody (mAb) lokivetmab. Studies about serum levels of IL-31, its correlation with the severity of the disease and its circulating levels after application of the immunotherapeutic are still scarce. There was a significant reduction in pVAS and serum IL-31 after two administrations of the mAb, with a significant correlation between these two variables. However, there was no difference in CADESI-04 scores, neither correlation between severity of the disease and serum levels of this cytokine in atopic dogs of different ages and weights. A significant correlation was also observed between dose of lokivetmab and pVAS, showing that the higher the dose used, the lower the pVAS. There was no correlation between the pruritus reduction and baseline IL-31 level, so, therefore, it was not possible to infer whether dogs with higher serum levels would be the best candidates for this therapy. The results are relevant and promising, as they reinforce the role of this cytokine in the involvement of pruritus in dogs with atopic dermatitis and open doors for new studies with larger populations of dogs to investigate whether IL-31 could be a biomarker of therapeutic response to lokivetmab.

Keywords: monoclonal antibody, atopy, dogs, interleukin-31, lokivetmab.

1. INTRODUÇÃO GERAL

A dermatite atópica canina (DAC) é uma das dermatopatias crônicas mais frequentes na espécie. É caracterizada como doença de origem multifatorial, determinada por uma combinação de fatores genéticos e ambientais que afetam tanto a resposta imunológica como a função de barreira cutânea, que pode ser um fator primário e secundário (Marsella et al., 2012).

Por corresponder a grande parte da casuística em pequenos animais, o estudo dessa dermatopatia se torna cada vez mais importante, pois embora a literatura seja vasta, há pouca informação disponível sobre sua ocorrência de acordo com as diferentes regiões geográficas nacionais. Além disso, os poucos estudos epidemiológicos existentes são na grande maioria internacionais (Hill et al., 2006).

O prurido é o sinal clínico mais característico da DAC, principalmente na fase inicial da doença, podendo apresentar-se alésional, conhecido como “prurito sine materia”. Inicialmente, o quadro lesional mais comum é de eritema, pápulas, seguido de escoriações e outras lesões autoinduzidas. À medida que a doença progride, as lesões por remodelamento tecidual em resposta à inflamação crônica começam a surgir, tais como liquenificação, hiperpigmentação e hiperqueratose (Larsson e Lucas, 2020). Muitas vezes o prurido causa um impacto significativo na qualidade de vida dos cães e de seus tutores, entretanto, sua patofisiologia não está completamente elucidada (Martins, 2018).

Recentemente tem sido descrito o papel da interleucina-31 (IL-31) na patogênese da doença, que é uma citocina produzida principalmente por linfócitos T helper 2 (Th2) ativados, além de mastócitos e queratinócitos, encontrando-se elevada em condições de prurido tanto em humanos como em cães (Gonzales et al., 2013). Na dermatite atópica humana, foi observado que os níveis séricos de IL-31 estão correlacionados com a gravidade da doença, mas em medicina veterinária essa correlação ainda não foi totalmente estabelecida pois existem poucos estudos na literatura acerca dos níveis séricos de IL-31 (Marsella et al., 2018). No entanto, já foi identificado em outros trabalhos que a IL-31 desempenha papel importante na indução de prurido, estando criticamente envolvida na patogênese da DAC (Gonzales et al., 2013; Michels et al., 2016a; Marsella et al., 2018).

Diante disso, surgiu a necessidade de um tratamento mais direcionado para controle da DAC e a terapia sistêmica mais recentemente utilizada é o lokivetmab (Cytoint®, Zoetis), um anticorpo monoclonal (mAb) caninizado que se liga seletivamente e neutraliza a IL-31 (Souza et al., 2018), tornando-a indisponível para ligar-se ao seu receptor e desencadear a cascata pruriginosa (Santoro, 2019). É o primeiro mAb terapêutico aprovado para uso em dermatologia veterinária (Santoro, 2019; Tamamoto-Mochizuki et al., 2019). As vantagens dessa terapia incluem seu rápido início de atividade, dosagem pouco frequente, ausência de restrição de idade para seu uso, segurança (Souza et al., 2018), ausência de interações medicamentosas (Michels et al., 2016b; Souza et al., 2018) e ainda, efeito anti-inflamatório discreto (Michels et al., 2016a; Moyaert et al., 2017).

Atualmente ainda existe a necessidade de mais estudos sobre a relevância específica da IL-31 na DAC e há necessidade de maior investigação da relação entre a gravidade da doença e níveis circulantes dessa citocina em populações de cães com dermatite atópica de diferentes raças, idades e pesos. Além disso, até o momento, não há estudos sobre níveis circulantes de IL-31 antes e após administração do imunoterapêutico anti-IL-31 em cães com dermatite atópica e ainda, se esses níveis se relacionam com as variáveis idade e peso corporal, assim como com a resposta terapêutica do lokivetmab nos pacientes tratados.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Conceito e prevalência

A DAC é uma das dermatopatias crônicas mais frequentes nos cães, que acomete 20 a 30% da população canina (Marsella e De Benedetto, 2017). É conceituada como doença inflamatória cutânea pruriginosa, predisposta geneticamente, com sinais clínicos associados à produção de imunoglobulinas E (IgE) contra alérgenos ambientais (Olivry et al., 2001; Halliwell, 2006). Essa definição ainda é aceita atualmente, no entanto, já é compreendido que a produção de IgE não é pré-requisito para o desenvolvimento dos sinais clínicos em todos os casos (Olivry et al., 2010), pois essa resposta não explica completamente a patogênese da doença (Marsella et al., 2012).

A dermatite atópica s milde (*atopic like dermatitis*) também foi reconhecida e definida como dermatopatia pruriginosa e inflamatória com características clínicas idênticas às observadas na DAC, mas sem a resposta de IgE a alérgenos ambientais (Halliwell, 2006). As denomina es da doença ainda são divididas em: dermatite atópica *sensu stricto*, quando o quadro   responsivo apenas   alérgenos ambientais, e dermatite atópica *sensu lato*, quando os alérgenos alimentares e ambientais são reconhecidos como causadores dos sinais clínicos (Olivry et al., 2007).

2.2. Manifesta es clínicas

A idade de início dos sinais clínicos da DAC pode variar desde os quatro meses até sete anos de idade (Miller et al., 2013), porém, a faixa etária mais reportada varia entre seis meses e três anos de idade (Saridomichelakis e Olivry, 2016). Os sinais clínicos mais relevantes incluem o prurido como sinal inicial, associado a lesões de distribui o perilabial, periocular, pavilhões auriculares, áreas flexurais das articula es r dio- lmero-ulnar e t bio-t rsica, regiões interdigitais, abd men ventral, períneo, região ventral da cauda (Saridomichelakis e Olivry, 2016) e axilar (Marsella e Samuelson, 2009).

O prurido  , geralmente, observado progresso às lesões, o qual se agrava pelo desenvolvimento das infec es secundárias. Este tem caráter intenso a grave, contínuo e perene. As lesões iniciais envolvem a presença de eritema, pápulas, alopecia, escoria es e ulcerac es. Pústulas, crostas e descama o estão presentes nas infec es secundárias e sinais como liquenifica o e hiperpigmenta o estão relacionados   cronicidade da doença (Miller et al., 2013). Ocasionalmente outros sinais clínicos não-dermatológicos podem se manifestar, como rinite, espirros, distúrbios gastrointestinais e altera es no ciclo estral. A conjuntivite   reportada em 20-30% dos casos e a rinite tem incidência de 7% (Wilhem et al., 2011). O prurido e a distribui o lesional de modo geral estão representados na Figura 1.

O comportamento do prurido pode ser facilmente percebido pelos proprietários dos animais acometidos, os quais podem se arranhar, morder, lambem ou friccionar partes do corpo contra objetos. Outras altera es no comportamento podem ser observadas, incluindo diminui o do apetite ou do sono, com conseqüente diminui o da qualidade de vida desses animais (Favrot et al., 2010).

Geralmente ocorre de forma perene, porém, os sinais clínicos dependem dos alérgenos envolvidos, da integridade da barreira epidérmica e das condições climáticas (Favrot et al., 2010), sendo que a intensificação do prurido pode ocorrer nas estações mais quentes (Barbosa, 2015).

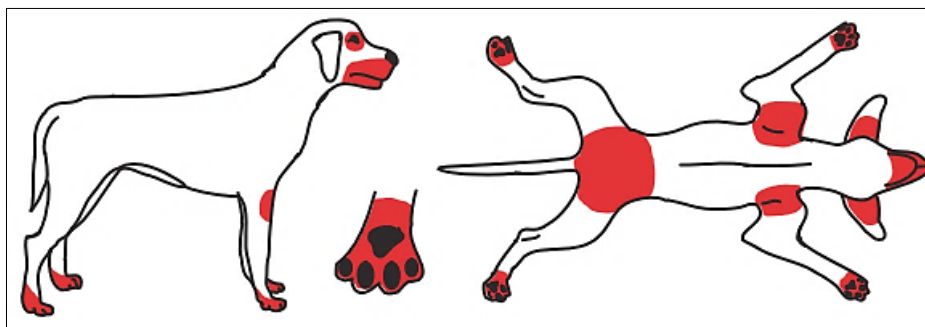


Figura 1 – Distribuição característica das lesões clínicas e do prurido associada com dermatite atópica canina e hipersensibilidade alimentar.

FONTE: Hensel et al. (2015).

2.3.Predisposição racial

A herdabilidade genética é um dos fatores de risco para DAC e a prevalência racial é muito variável geograficamente. Sabe-se que cães de raça definida têm maior predisposição do que os sem raça definida (Amarante et al., 2015; Alves et al., 2018; Larsson e Lucas, 2020; Ribeiro et al., 2020).

Na literatura internacional, algumas raças são consideradas altamente predispostas à DAC, como Buldogue Inglês, Lhasa Apso, Labrador Retriever, Boxer, Pug, Schnauzer Miniatura, Cocker Spaniel, West Highland White Terrier, Yorkshire Terrier, Fox Terrier (Miller et al., 2013), Jack Russell Terrier, Buldogue Francês, Golden Retriever e Pastor Alemão (Wilhem et al., 2011), não existindo na literatura relatos de predisposição sexual (Miller et al., 2013).

Além da predisposição racial citada anteriormente, em um estudo observou-se também, que existe distribuição variada das áreas mais acometidas de acordo com cada raça predisposta (Wilhem et al., 2011), conforme Figura 2.

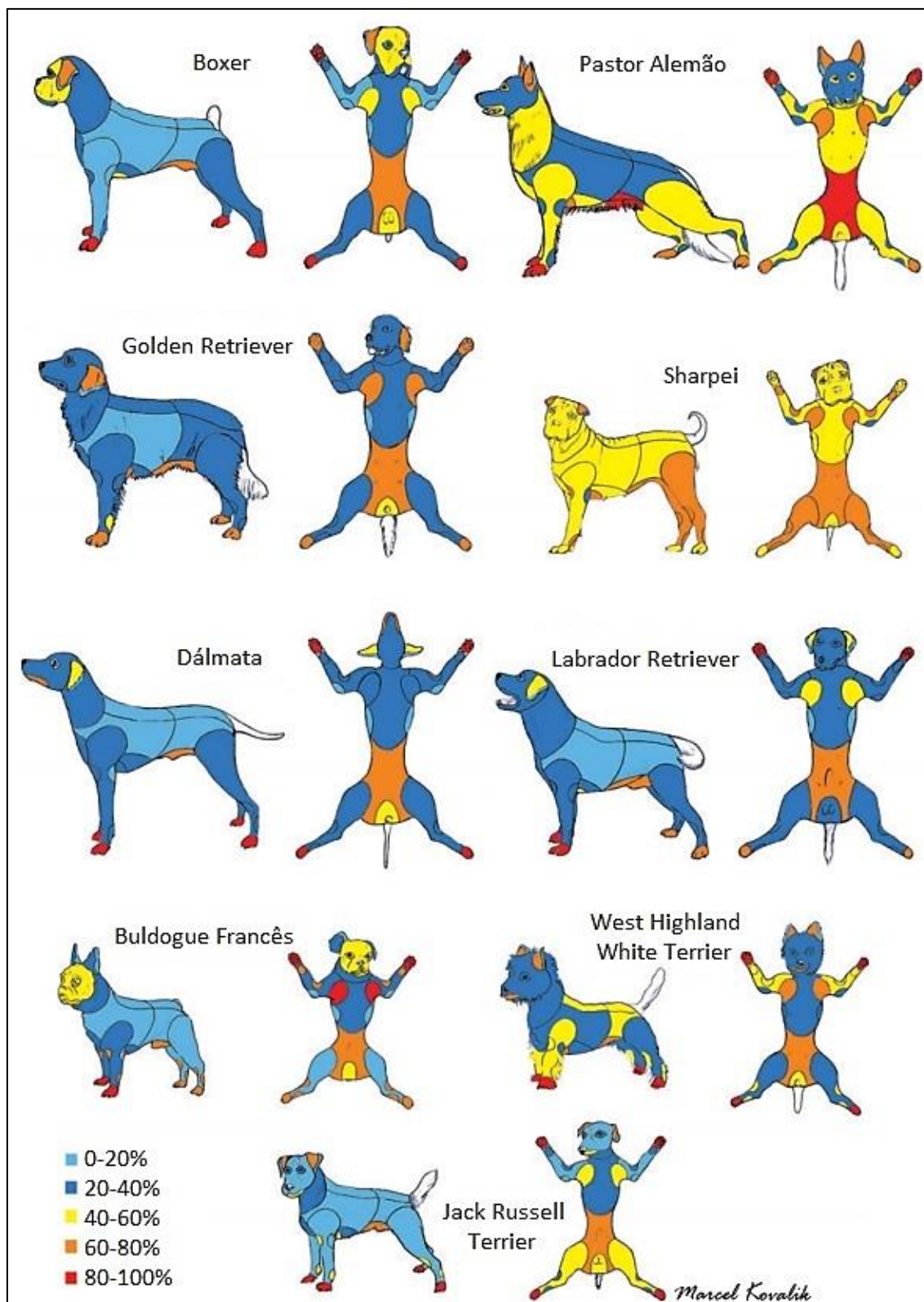


Figura 2 – Distribuição lesional e do prurido na dermatite atópica canina de acordo com a raça acometida. Cada cor representa a frequência de animais afetados na área correspondente.
 FONTE: Wilhem et al. (2011).

Este estudo demonstrou que o Buldogue Francês e o Sharpei são raças afetadas mais cedo do que outras (53,3% dos Buldogues Franceses e 66,7% dos Sharpei foram afetados durante o primeiro ano de vida). Algumas raças, como Pastor Alemão, Dálmata e Sharpei, frequentemente apresentam prurido alésional, enquanto outras raças desenvolvem infecções secundárias, como Boxer (otite), West Highland White Terrier (malasseziose), e distúrbios disqueratóticos (Pastor Alemão e West Highland White Terrier). Algumas raças podem apresentar sinais clínicos em áreas que são menos frequentemente ou raramente afetadas que outras, como o Sharpei, que pode manifestar lesões em região dorsal do corpo e o Pastor Alemão, manifestando lesões em membros pélvicos (Wilhem et al., 2011).

2.4.Mecanismo patofisiológico e imunopatogênese

A patogênese da DAC é muito complexa e ainda não está totalmente elucidada (Saridomichelakis e Olivry, 2016; Andrade, 2018; Martins, 2018; Santoro, 2019). Suas características complexas envolvem diversos fatores que se relacionam entre si, como fatores genéticos e ambientais, que contribuem para a sensibilização alérgica; fatores alimentares; disfunção da barreira epidérmica; infecções bacterianas (geralmente por *Staphylococcus pseudintermedius*) e fúngicas (*Malassezia pachydermatis*); fatores psicogênicos e doenças de pele concomitantes (Gonzales et al., 2013; Nuttall, 2013; Bizikova et al., 2015; Saridomichelakis e Olivry, 2016). Essas correlações estão representadas na Figura 3. Aspectos como a extensão das lesões (localizadas *versus* generalizadas) e estágio da doença (agudo *versus* crônico) também estão envolvidos na complexidade da patogênese (Hensel et al., 2015).

A hereditariedade está melhor caracterizada na dermatite atópica humana. Sabe-se que filhos de progenitores atópicos têm 79% de chance de serem atópicos, enquanto que, se apenas um dos pais for atópico esse percentual passa a ser da ordem de 58%. Como não existem trabalhos em medicina veterinária, permite-se pressupor igual probabilidade em pacientes animais (Larsson e Lucas, 2020).

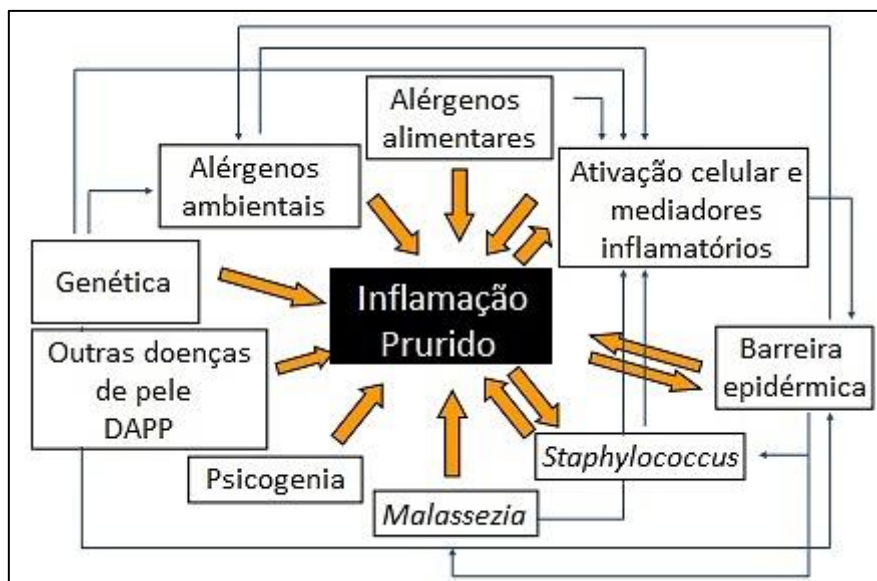


Figura 3 – Fatores patogenéticos responsáveis pela inflamação cutânea e prurido em cães com dermatite atópica e suas inter-relações.

FONTE: Adaptado de Saridomichelakis e Olivry (2016).

As células que participam efetivamente da patogênese na DAC, atuando sobre a resposta imunológica são: as células de Langerhans, responsáveis pelo processamento e apresentação antigênica; os linfócitos B, responsáveis pela produção de anticorpos que reagem com os antígenos invasores; linfócitos T-helper, responsáveis pela produção de citocinas, que levam a ativação de linfócitos B e outras células inflamatórias; e os mastócitos, que produzem mediadores inflamatórios e exacerbam a inflamação (Marsella et al., 2012).

Os principais alérgenos ambientais envolvidos na DAC incluem: ácaros de poeira doméstica (*Dermatophagoides pteronyssinus*, *Dermatophagoides farinae*); ácaros de armazenamento (*Blomia tropicalis*, *Acaro siru*, *Leipdoglyphus destructor*, *Glicipahagus domesticus*); pólenes de árvores, arbustos e gramíneas; fungos anemófilos; toxinas bacterianas e alérgenos alimentares (Larsson e Lucas, 2020).

A hipótese mais aceita para o mecanismo patofisiológico da doença é a existência de predisposição genética em alguns cães para sensibilizarem-se aos alérgenos ambientais (Pucheu-Haston et al., 2008). O processo de sensibilização alérgênica e ativação desordenada do sistema imune inicia-se com a exposição percutânea e absorção dos alérgenos pela epiderme. As células de Langerhans (células dendríticas imaturas) capturam, internalizam, processam e apresentam os alérgenos, além de ativarem

linfócitos T CD4⁺ que se diferenciam em linfócitos T-helper imaturos (Th0) nos linfonodos. Após apresentação desses antígenos, ocorre ativação e polarização para o fenótipo Th2, responsável pela resposta humoral e subsequente recrutamento e ativação de células inflamatórias, onde são secretados múltiplos mediadores inflamatórios, incluindo citocinas e quimiocinas, principalmente a produção de IL-4, IL-5, IL-13 e IL-31. Com essa ativação ocorre o recrutamento dos eosinófilos e, juntamente com as interleucinas produzidas, estimulam linfócitos B a se diferenciarem em plasmócitos produzirem IgE alérgenos específicas que atingem a circulação sanguínea e se ligam aos mastócitos que expressam na sua superfície receptores de alta e baixa afinidade (Marsella et al., 2012).

Na fase mais aguda também predominam subpopulações de linfócitos T do tipo Th22 e Th17 (Larsson e Lucas, 2020). Em um estudo foi identificada a expressão precoce de IL-22, citocina produzida por Th17, em apenas seis horas após desafio epicutâneo por ácaro de poeira doméstica em cães sensibilizados (Olivry et al., 2016). A IL-22 também pode participar da cronicidade da doença, porque é uma citocina que induz hiperplasia epidérmica, inibe proteínas envolvidas em diferenciação epidérmica e função de barreira cutânea, além da regulação de peptídeos antimicrobianos (Olivry et al., 2016). A IL-17, também produzida por células Th17, tem propriedades pró-inflamatórias, induzindo a produção de certas citocinas, quimiocinas e peptídeos antimicrobianos por queratinócitos, além de modular a expressão de citocinas do tipo Th2, afetando assim a barreira cutânea. As células Th17 servem como fonte inicial de citocinas para o desenvolvimento das lesões cutâneas, pois foram encontradas em lesões eczematosas agudas em maior quantidade do que em lesões crônicas (Heo et al., 2015).

Após reexposição alérgica, a polarização do fenótipo Th2 continua, principalmente com a produção de IL-31, que ativa diretamente nervos sensoriais com consequente estímulo ao prurido. Além disso, os alérgenos se ligam aos receptores previamente ligados à IgE em diversas células como os mastócitos, estimulando a produção e liberação de mediadores pró-inflamatórias como histamina, serotonina, e substância P, com consequente quimiotaxia para leucócitos (Marsella et al., 2012).

Recentemente foi descrito o envolvimento da IL-34 em cães com dermatite atópica. Foi observado que cães com DAC tiveram concentrações séricas de IL-34 significativamente

maiores em comparação aos cães saudáveis, e foi detectada uma correlação positiva significativa entre as concentrações desta citocina e os escores do índice de extensão e gravidade da dermatite atópica canina (CADESI-04) e da escala analógica visual de prurido (pVAS). Além disso, nestes cães, as concentrações da IL-34 permaneceram aumentadas mesmo recebendo tratamento com glicocorticoides ou oclacitinib, sugerindo que a IL-34 pode ser um potencial alvo terapêutico para DAC (Gow et al., 2020).

A lesão cutânea provocada pelo prurido, assim como os próprios alérgenos externos, estimulam os queratinócitos e outras células da imunidade inata a produzirem citocinas pró-inflamatórias, como a IL-12, que polarizam a resposta linfocitária para o fenótipo Th1. Como consequência, outras citocinas são produzidas (IFN- γ e TNF- α) com subsequente recrutamento adicional de leucócitos e infiltração dérmica de células inflamatórias. A epiderme fica mais espessa, assim como o estrato córneo e a função de barreira piora, permitindo maior penetração dos alérgenos e então, o ciclo é perpetuado (Marsella et al., 2012). A lesão aos queratinócitos também induz à liberação de linfopoetina estromal tímica (TSLP), que tem potencial pruritogênico e, ainda, com tendência à estimulação da resposta Th2 (Larsson e Lucas, 2020). Além disso, algumas toxinas secretadas por estafilococos, principalmente a enterotoxina tipo B (SEB), podem ativar linfócitos T a produzirem citocinas pró alérgicas e perpetuarem a sintomatologia (Larsson e Lucas, 2020).

É importante ressaltar que as células de Langerhans encontram-se hiperplásicas na epiderme de cães atópicos (Marsella et al., 2006) e expressam moléculas de histocompatibilidade de classe II (MHC II), participando efetivamente da apresentação e processamento dos antígenos para os linfócitos T. Além disso, essas células apresentam IgE de superfície, sugerindo um mecanismo de captura e ativação celular antígeno específico (Olivry et al., 1996).

Sabe-se também, que a IL-4 é a principal citocina reguladora da produção de IgE (Marsella et al., 2012) e que, atualmente, a IL-31 é a citocina mais importante da cascata pruriginosa, participando tanto da fase aguda como da fase crônica, ligando-se diretamente a receptores de nervos sensoriais ocasionando sensibilização e estimulação de células nervosas (McCandless et al., 2014).

Mais especificamente, as citocinas Th2 podem desempenhar um papel mais importante na fase aguda (12 a 24 horas após a exposição ao alérgeno), enquanto as citocinas Th1 podem ser mais relevantes na fase crônica (48 a 96 horas após exposição ao alérgeno) (Marsella et al., 2012). Em cães com DAC normalmente apenas a resposta inicial do tipo Th2 é encontrada e é difícil reconhecer a típica resposta do tipo Th1. No entanto, atualmente considera-se que há uma resposta mista Th1 e Th2 (Schlotter et al., 2011). No geral, células Th1 tendem a promover imunidade celular e as Th2 estão relacionadas à produção de IgE (Miller et al., 2013). Algumas das principais citocinas envolvidas no sistema imune tegumentar e suas respectivas funções estão representadas no Quadro 1.

Citocina	Origem	Alvo principal	Efeitos biológicos
IFN- γ	Th1 e TCD8+	Macrófagos, células (NK), linfócitos T e B, células dendríticas	Ativação de macrófagos, diferenciação de Th0 em Th1, produção de IgG, expressão de MHCI e MHCII
IL-4	Th2, mastócitos e basófilos	Th2, células B, células epiteliais e macrófagos	Desenvolvimento de resposta Th2, estímulo da produção de IgE, reações alérgicas, ativação de macrófagos, peristaltismo, produção de muco
IL-5	Th2, mastócitos	Eosinófilos, células B	Ativação, multiplicação e diferenciação de eosinófilos, produção de IgA
IL-6	Macrófagos, células endoteliais, células T	Fígado, células B, precursores de leucócitos, Th17	Síntese de proteínas de fase aguda, proliferação de células B e produção de anticorpos, diferenciação de neutrófilos, produção de IL-17
IL-12	Células dendríticas, macrófagos	Linfócitos T e células NK	Síntese de IFN- γ e diferenciação de Th0 em Th1
IL-13	Th2, basófilos, eosinófilos, células NK, macrófagos	Células B, monócitos, células dendríticas, eosinófilos, basófilos, células epiteliais e endoteliais, fibroblastos	Aumento da produção de muco, aumento da produção de IgE, reações alérgicas, proliferação de fibroblastos (fibrose)
IL-17	Th17	Leucócitos, células epiteliais	Produção de quimiocinas, peptídeos antimicrobianos, inflamação e respostas de neutrófilos
IL-22	Th17	Células epiteliais	Síntese de peptídeos antimicrobianos

IL-25	Th2	Fagócitos, células T	Produção de IL-4, IL-5, IL-13; aumento da expressão de fatores inibidores de migração de fagócitos, para que estes continuem no local de inflamação
IL-31	Th2	Células dendríticas, epiteliais, eosinófilos, mastócitos	Indução de prurido e inflamação
TNF- α	Macrófagos, células T	Neutrófilos, hipotálamo, células endoteliais	Estimula inflamação, recrutamento de neutrófilos e monócitos, síntese de quimiocinas, síntese de IL-1, apoptose e catabolismo

Quadro 1 – Principais citocinas que atuam no sistema imune tegumentar, suas células de origem, alvo e efeito biológico.

FONTE: Adaptado de Andrade, 2018.

2.5.Barreira cutânea

A pele é um órgão composto por três camadas, conhecidas como epiderme, derme e hipoderme. A epiderme é a camada mais externa da pele e é dividida por múltiplas camadas de células definidas pela posição, forma, polaridade, morfologia e estado de diferenciação dos queratinócitos. As camadas são nomeadas, de externas para internas, em: estrato córneo, estrato lúcido, estrato granuloso, estrato espinhoso e estrato basal. Existem quatro tipos distintos de células na epiderme, os queratinócitos (85% das células epidérmicas), os melanócitos (5%), as células de Langerhans (3-8%) e as células de Merkel (2%) (Miller et al., 2013). A epiderme desempenha um papel fundamental na função de barreira, controlando a perda de água e impedindo a entrada de agentes ambientais potencialmente prejudiciais. Essa barreira é a primeira linha de proteção contra microrganismos e agentes externos e sua integridade depende de vários fatores (Miller et al., 2013).

A função de barreira epidérmica é amplamente atribuída ao estrato córneo e depende de sua integridade estrutural, a qual é mantida por desmossomos modificados (corneodesmossomas), queratinócitos terminalmente diferenciados e lipídeos intercelulares. Sabe-se que nas áreas do corpo predispostas à DAC o estrato córneo é mais fino (Marsella e Samuelson, 2009) e em um estudo de microscopia eletrônica foram encontradas menos camadas de corneócitos e espaços intercelulares mais amplos na epiderme Beagles com dermatite atópica, mesmo em áreas clinicamente normais e sem

qualquer exposição alérgica, quando comparados com a epiderme de cães normais (Marsella et al., 2010).

Na DAC também há diminuição de ceramidas, lipídeos e alterações na filagrina (Marsella e De Benedetto, 2017). A disfunção da barreira epidérmica também está associada a maior penetração de alérgenos através da pele e exacerbação da resposta inflamatória. No entanto, se esse defeito é primário ou secundário, ainda é controverso (Santoro, 2019). O debate sobre a barreira cutânea na patogênese da DAC é se existe um defeito imunológico primário, levando à inflamação da pele e consequente dano à epiderme (hipótese de dentro para fora), ou se a inflamação causada pela doença é resultado de um defeito primário de barreira (hipótese de fora para dentro). Alguns indivíduos podem começar com defeito primário da barreira cutânea, enquanto outros não. Entretanto, no final da cascata, uma vez que a sensibilização alérgica ocorreu e a inflamação desenvolveu-se, ocorre diminuição da função de barreira da pele, levando a um ciclo de auto-perpetuação de sensibilização, inflamação e danos à epiderme (Marsella et al., 2012).

Uma das mais importantes proteínas que tem sido estudada atualmente é a filagrina. Ela é responsável pela diferenciação final da epiderme e, juntamente com a queratina, forma uma matriz lipoproteica, formando o envelope celular cornificado, responsável por proteger o organismo de agressões externas (Palmer et al., 2006). Mutações genéticas nessa proteína podem levar a uma diminuição da mesma, o que levaria a uma barreira epidérmica prejudicada (Barbosa, 2015). A consequência disso, por exemplo, é uma pele mais seca e descamativas que é mais permeável a alérgenos e patógenos (Marsella et al., 2012).

Os peptídeos antimicrobianos (PAMs), particularmente β -defensinas e catelicidinas, desempenham um papel importante na função de barreira da pele e imunidade inata em cães com DAC, representando a primeira linha de defesa contra patógenos (Santoro et al., 2015). Os PAMs têm duas principais funções: atividade antimicrobiana direta contra uma variedade de microrganismos e modulação das respostas imunes inatas e adaptativas, atuando principalmente no recrutamento e ativação celular. Portanto, são capazes de aumentar a fagocitose, estimular a liberação de prostaglandinas, neutralizar os efeitos específicos de lipopolissacarídeos (LPS), promover o recrutamento de várias células imunológicas em locais inflamatórios (por exemplo, monócitos e células T), promover a

angiogênese, induzindo o reparo de feridas, atrair e ativar monócitos, macrófagos, mastócitos, células dendríticas apresentadoras de antígeno e linfócitos (Santoro et al., 2015).

Alterações na expressão de PAMs foram demonstradas em humanos com dermatite atópica, sugerindo uma interação complexa entre PAMs, doença atópica e microflora cutânea. Entretanto, em cães, é um assunto que ainda carece de investigação para esclarecer sua real função e relevância para a DAC (Santoro et al., 2015). O que se sabe, é que eles estão reduzidos na pele lesada de pacientes com DAC, como consequência do aumento da IL-4 e IL-13, citocinas do perfil Th2 (Larsson e Lucas, 2020).

A integridade da barreira cutânea pode ser aferida de forma objetiva e não invasiva pela mensuração de perda transepidérmica de água (TEWL, do inglês, *transepidermal water loss*) e sabe-se que cães atópicos apresentam TEWL duas vezes maior na pele não lesionada e oito vezes maior em regiões de pele lesionadas quando comparados a cães saudáveis (Shimada et al., 2009).

2.6.O papel da interleucina-31

A IL-31 é uma citocina da família da interleucina-6, produzida principalmente por linfócitos Th2 e em menor quantidade, por células dendríticas imaturas (Cevikbas et al., 2014; Gonzales et al., 2016).

O prurido tem sido cada vez mais o foco de estudos recentes na tentativa de bloquear qualquer ramo que o reduza, bem como suas lesões secundárias, tornando o tratamento mais eficaz (Gonzales et al., 2016). Recentemente foi descrito o papel da IL-31 na patogênese da DAC, pois encontra-se elevada em condições de prurido tanto em humanos como em cães (Gonzales et al., 2013). Nos cães atópicos são escassas as informações relativas à concentração sérica da IL-31 (Larsson e Lucas, 2020).

A IL-31 liga-se a um receptor heterodimérico que consiste no receptor α da IL-31 (IL-31RA) e no receptor β da oncostatina M (OSMR). Após sua ligação ao receptor, cascatas de transdução de sinal são ativadas, como a via Janus Quinase-transdutores de sinal e ativadores de transcrição (JAK-STAT), a proteína quinase ativada por mitógeno (MAPK) e o fosfatidilinositol 3-quinase (PI3K). Receptores para IL-31 são encontrados em uma

variedade de células, como queratinócitos, macrófagos e eosinófilos, e participam da regulação das respostas imunes nessas células (Zhang et al., 2008). Esses receptores também estão presentes em um subconjunto de neurônios nociceptivos da raiz dorsal de gânglios de pequeno porte de camundongos e humanos, sugerindo que essa citocina pode ativar diretamente sinais pruritogênicos nos nervos periféricos (Gonzales et al., 2013). Níveis de IL-31RA expressados em queratinócitos de roedores e humanos com dermatite atópica demonstraram ser maiores do que em indivíduos saudáveis, embora nenhuma diferença nos níveis de OSMR tenha sido observada, enfatizando a maior importância do IL-31RA na patogênese da doença (Cevikbas et al., 2014).

Mizuno et al. (2009) utilizaram técnicas de reação em cadeia da polimerase em tempo real (RT-PCR) para avaliar os níveis de RNA mensageiro (mRNA) de IL-31 em uma variedade de tecidos e na pele de cães com DAC. Os autores foram capazes de detectar mRNA de IL-31 canina em diversos tecidos, no entanto, não foram capazes de detectar o mRNA de IL-31 na pele de cães com dermatite atópica espontânea. As hipóteses levantadas foram de que a função biológica da IL-31 pode ser diferente em cães *versus* outras espécies ou, que avaliações da proteína IL-31 podem ser mais representativas do que níveis de mRNA, dado que os níveis de mRNA nem sempre representam relação direta na expressão da proteína.

Isto foi observado em estudo que avaliou a correlação entre a gravidade da doença e imunomarcagem da IL-31 na pele de cães com DAC, em que foi observado que animais com maior gravidade da doença clínica apresentaram maior número de células imunomarcadas para IL-31, e que essa expressão foi maior em biópsias de pele de região axilar, em relação à interdigital, existindo então, correlação significativa da gravidade da doença com a IL-31 na pele de cães atópicos (Gonçalves, 2016).

Em queratinócitos de humanos, foi observado que a IL-31 pode induzir a parada do ciclo celular provocando desenvolvimento cutâneo atípico, resultando na redução da proliferação e inibindo a diferenciação de queratinócitos e, além da indução do prurido, também estimula a liberação de mediadores inflamatórios e reduz a expressão das moléculas envolvidas na barreira da pele, incluindo a filagrina, o que resulta em maior sintomatologia (Cornelissen et al. 2012). Esse mecanismo está ilustrado na Figura 4.

Em estudo com roedores, também foi observado que a IL-31 interfere na expressão de muitos genes associados à formação da barreira cutânea, genes os quais codificam proteínas associadas com corneodesmossomas, como desmogleínas ou desmocolinas, com a formação de corneócitos terminalmente diferenciados e com a produção de fatores hidratantes naturais, principalmente a filagrina (Hänel et al., 2016), como já foi visto em humanos. Em contrapartida, em relação aos efeitos da IL-31 na barreira antimicrobiana, foi identificado que essa citocina estimula a expressão de PAMs, inibindo assim o crescimento bacteriano na pele. Portanto, ficou evidente que baixas doses de IL-31 não são suficientes para interferir na barreira física, possuindo efeito benéfico sobre proteção antimicrobiana da pele (Hänel et al., 2016).

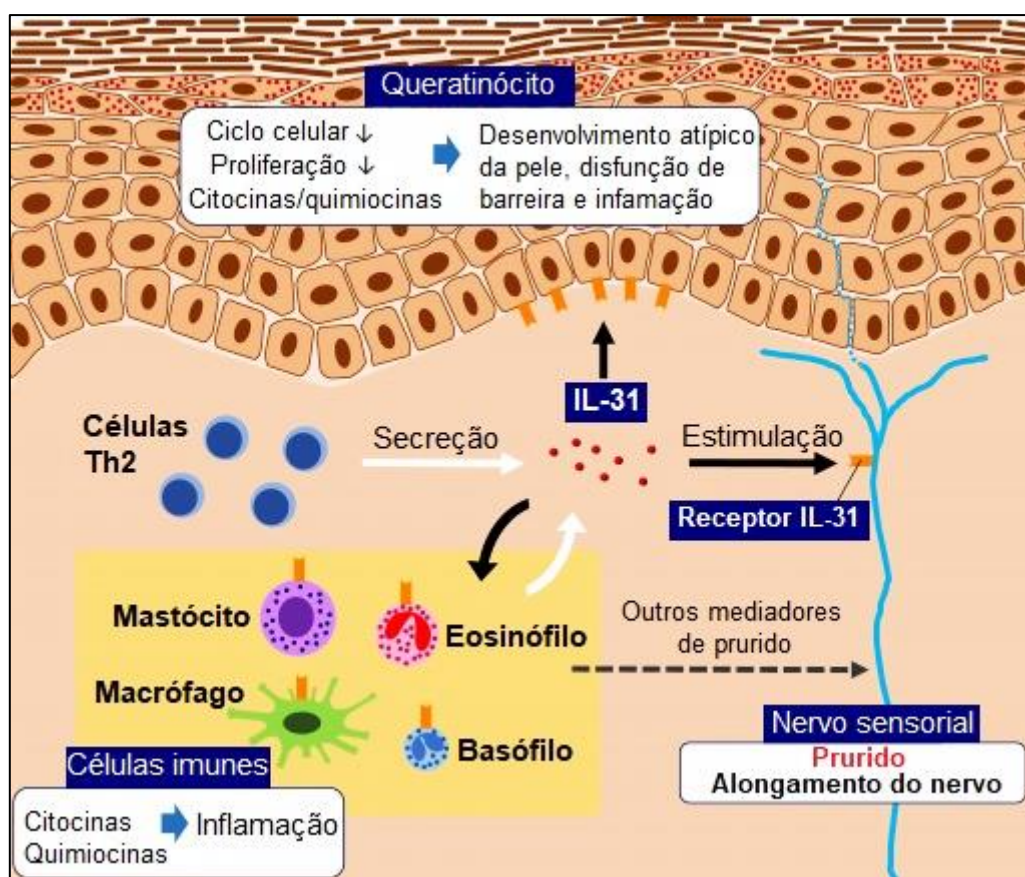


Figura 4 - Ilustração dos papéis da interleucina-31 em doenças de pele pruriginosas. A IL-31 é produzida principalmente por células T helper 2 (Th2), embora outras as células imunes inatas também podem produzi-la. O receptor de IL-31 é amplamente expresso por vários tipos de células, incluindo nervos sensoriais periféricos, epidérmicos queratinócitos e células imunológicas. A ligação da IL-31 ao seu receptor nos neurônios sensoriais estimula o nervo, causando o prurido. IL-31 também está envolvida na disfunção da barreira cutânea e inflamação. FONTE: Kabashima e Irie (2021).

Ainda, quanto à ação da IL-31 na barreira epidérmica, estudo com camundongos demonstrou que após a administração intradérmica de IL-31 recombinante, houve aumento da proliferação de células basais da epiderme e o espessamento desta camada da pele. Além disso, houve aumento progressivo da TEWL com a administração crônica da IL-31, levando ao comprometimento da barreira cutânea (Singh et al., 2016).

No primeiro estudo que descreveu a função biológica da IL-31 em cães, Gonzales et al. (2013) detectaram que seu nível sérico se encontrava aumentado em 57% (127 de 223) dos cães diagnosticados com DAC espontânea e concluíram que esta citocina pode estar desregulada em cães atópicos, contribuindo significativamente para a patogênese da doença e manifestação dos sinais clínicos. Entretanto, 43% dos animais com DAC não apresentaram níveis séricos detectáveis de IL-31, e nenhuma correlação entre esses níveis circulantes e gravidade da doença foi avaliada. Os autores sugerem que alguns cães podem ter níveis circulantes baixos de IL-31 ou, possivelmente, a IL-31 estaria atuando localmente no tecido alvo e não sendo liberadas na circulação sanguínea. Alternativamente, a desregulação da IL-31 pode não ter um papel significativo na patogênese da doença nesses animais com níveis indetectáveis de IL-31. No mesmo estudo, a IL-31 foi administrada por via intradérmica, subcutânea e intravenosa em 13 cães de uma colônia de Beagles, para avaliar a indução ao prurido após administração. O prurido foi exibido pelos atos de coçar, lambe, mastigar, correr, chacoalhar a cabeça e esfregar o corpo, cerca de quatro horas após administração da IL-31 (Gonzales et al., 2013), reforçando que é a citocina-chave que desencadeia o prurido nos cães atópicos.

A correlação entre o peso corporal e os níveis séricos de IL-31 não foi avaliada, mas os autores relatam que seria um importante fator a ser considerado, pois, o cão mais pesado do estudo exacerbou sinais de prurido tanto antes quanto após a administração da IL-31, sugerindo as hipóteses de que o cão em questão pode não ter respondido à aplicação da IL-31 ou poderia já ter níveis circulantes endógenos suficientes da citocina para perpetuar os sinais de prurido (Gonzales et al., 2013).

Em estudo mais recente de Marsella et al. (2018), também com Beagles atópicos, a correlação positiva significativa entre a IL-31 sérica e gravidade da doença foi encontrada apenas quando a crise de DAC foi induzida através de desafio alérgico, sugerindo que a exposição contínua aos alérgenos e a crise ativa são necessárias para detectar uma

correlação entre gravidade da doença e níveis séricos de IL-31. Ribeiro (2019) detectou que, de todas as citocinas Th2 mensuradas a IL-31 foi a mais correlacionada com o prurido, sendo observado um valor importante de IL-31 sérica nos cães avaliados antes de qualquer tratamento.

As variações nos níveis circulantes de IL-31 em cães atópicos é consistente com o conceito de que a DAC é uma doença multifatorial que envolve interações complexas entre genes de suscetibilidade, disfunção da barreira cutânea, disfunção imunológica e interações neuroimunes, que coletivamente produzem uma hipersensibilidade a alérgenos ambientais e uma condição alérgica e pruriginosa na pele desses cães. Devido à complexidade da doença, é esperado que nem todos os cães exibam as mesmas alterações moleculares ou celulares (Gonzales et al., 2013).

2.7. Diagnóstico

É importante enfatizar que, nenhum histórico, característica clínica ou exame complementar isolado e resposta favorável da intervenção terapêutica, vão confirmar o diagnóstico da DAC. (DeBoer e Hillier, 2001). Portanto, seu diagnóstico é presuntivo e baseado na exclusão de dermatoses similares e diagnósticos diferenciais, agrupados no Quadro 2 (DeBoer e Hillier, 2001; Wilhem et al., 2011; Saridomichelakis e Olivry, 2016).

Dermatopatias	Diagnósticos diferenciais
Dermatopatias parasitárias	Puliciose Escabiose Demodicose Queiletielose Pediculose
Dermatopatias infecciosas	Piodermite estafilocócica Malasseziose
Dermatopatias alérgicas	Dermatite alérgica à picada de pulgas (DAPP) Hipersensibilidade alimentar (HA) Hipersensibilidade por picada de inseto Dermatite de contato alérgica
Dermatopatias neoplásicas	Linfoma cutâneo

Quadro 2 – Diagnósticos diferenciais importantes para dermatoses pruriginosas em cães.

FONTE: Adaptado de Hensel et al. (2015).

Favrot et al. (2010), em um estudo com uma grande quantidade de casos de DAC, desenvolveram dois conjuntos de dados clínicos com correlação máxima com a doença,

representados no Quadro 3. No grupo 1 de critérios, a presença de cinco dos oito critérios tem uma sensibilidade de 85,4% e a especificidade é de 79,1%. Já, se preenchidos seis critérios, a sensibilidade reduz para 58,2% e a especificidade vai para 88,5%. No grupo 2 de critérios, com cinco dos sete critérios presentes, a sensibilidade é de 77,2% e a especificidade de 83%. Com seis critérios, a sensibilidade reduz a 42%, mas a especificidade é de 93,7%. Os autores recomendam que na prática de estudos clínicos dermatológicos seja utilizado o grupo 1 de critérios estabelecidos para triagem diagnóstica de pacientes com DAC. Atualmente, esses critérios são uma das ferramentas mais utilizadas para auxiliar na interpretação dos achados clínicos relacionados à DAC e em estudos clínicos.

Critérios	Confiabilidade
Grupo 1 de critérios	
1. Início dos sinais <3 anos	Usado para estudos clínicos 5 critérios: Sensibilidade de 85,4% Especificidade de 79,1%
2. Cães que vivem em ambientes internos	
3. Prurido responsivo ao corticoide	
4. Infecção fúngica crônica e recorrente	
5. Patas de membros torácicos afetadas	
6. Pavilhões auriculares afetados	
7. Margens da orelha não afetadas	
8. Área dorso-lombar não afetada	
Grupo 2 de critérios	
1. Início dos sinais <3 anos	Usado para avaliar a probabilidade de diagnóstico 5 critérios: Sensibilidade de 72,2% Especificidade de 83%
2. Cães que vivem em ambientes internos	
3. Início com prurido alesional	
4. Patas de membros torácicos afetadas	
5. Pavilhões auriculares afetados	
6. Margens da orelha não afetadas	
7. Área dorso-lombar não afetada	
	6 critérios: Sensibilidade de 42% Especificidade de 93,7%

Quadro 3 – Critérios de Favrot.

FONTE: Adaptado de Favrot et al. (2010).

Um dado importante é que aproximadamente 75% dos cães com dermatite atópica apresentam dermatite alérgica à picada de pulgas (DAPP) concomitante e podem apresentar também hipersensibilidade alimentar (Barbosa, 2015). Olivry et al. (2007) defendem a hipótese de que componentes alimentares podem desencadear crises atópicas em animais predispostos a tais alérgenos. No entanto, é importante enfatizar que a dermatite atópica pode ser exacerbada por alérgenos alimentares, mas nem todos os cães com dermatite atópica terão a doença exacerbada pelo alimento. Todo cão com

diagnóstico de dermatite atópica não sazonal deve ser submetido a restrições, provocações e desafios alimentares, ou seja, dietas de eliminação, para em seguida determinar e eliminar qualquer alérgeno alimentar que possa causar as crises atópicas (Olivry et al, 2010).

2.8.Tratamento

O tratamento da DAC é centrado principalmente em quatro fatores: tempo (lesões agudas ou crônicas), presença de prurido, inflamação e infecções secundárias (Santoro, 2019). De acordo com Olivry et al. (2015) as opções terapêuticas mais recomendadas nas diretrizes, definidas pelo Comitê Internacional de Doenças Alérgicas de Animais (ICADA, do inglês *International Committe on Allergic Diseases of Animals*), baseiam-se no tratamento das crises agudas e da DAC crônica.

Para o tratamento da crise aguda a primeira recomendação é a identificação, remoção e prevenção dos fatores desencadeantes, como a exposição recente a alérgenos ambientais, alimentares, presença de pulgas e outros ectoparasitas. Em seguida, é importante a avaliação de infecções secundárias, como piodermite e infecções fúngicas, cujo tratamento pode envolver terapia tópica e/ou sistêmica, assim como a melhoria da higiene cutânea e do pelame através de banhos com xampus emolientes contendo lipídios, açúcares complexos e antissépticos (Olivry et al., 2015).

O tratamento a curto prazo com glicocorticoides orais e tópicos pode ser utilizado para reduzir o prurido e as lesões cutâneas, mas as formas injetáveis de ação prolongada não são recomendadas (Olivry et al., 2015). Os principais efeitos adversos desses fármacos são, geralmente, observados com doses maiores, administração diária e uso prolongado, portanto, sua principal indicação é para o controle da crise aguda ou para episódios esporádicos ou sazonais dos sinais clínicos. Entretanto, mesmo nos dias atuais, os glicocorticoides sistêmicos são frequentemente usados como terapia a longo prazo, quando os tratamentos alternativos não são eficazes ou quando existem restrições financeiras por parte dos tutores (Saridomichelakis e Olivry, 2016).

O maleato de oclacitinib (Apoquel®, Zoetis) é um inibidor da via Janus Quinase (JAK) aprovado para tratamento do prurido alérgico em cães (Santoro, 2019) e seu uso também

é recomendado, a cada 12 horas, na crise aguda, uma vez que reduz rapidamente o prurido e é consideravelmente seguro. É importante ressaltar que o maleato de oclacitinib não é aprovado para uso em cães com menos de doze meses de idade (Olivry et al., 2015).

O uso de inibidores da calcineurina oral (ciclosporina) e tópico (tacrolimus) não é adequado no controle das crises agudas devido ao seu início de ação lento. O uso de anti-histamínicos orais é controverso por proporcionarem um benefício pequeno e limitado. Devido ao seu modo de ação, para garantir benefício ideal, os anti-histamínicos orais tipo 1 devem preferencialmente ser administrados antes que a crise ocorra para bloquear os efeitos da histamina (Olivry et al., 2015).

Na terapia da DAC crônica os pontos importantes envolvem a implementação de um controle efetivo contra ectoparasitas e ácaros domésticos. Xampus antissépticos e antimicrobianos podem ser usados, de forma cautelosa devido ao potencial secativo, naqueles cães que exacerbam infecções secundárias. Dessa forma, o recomendado a longo prazo é o uso de xampus hipoalergênicos e hidratantes após o banho, bem como a observação constante em alterações da pele e do pelame que necessitem intervenção ou troca do xampu. A administração oral de ácidos graxos essenciais, especialmente aqueles ricos em ômega-6, pode influenciar os lipídios superficiais da pele e melhorar o brilho e a qualidade do pelame. Também pode fornecer algum benefício na redução de sinais clínicos da DAC, entretanto, não é recomendada como monoterapia e seu benefício pode não ser perceptível antes de dois meses de suplementação (Olivry et al., 2015).

Os agentes farmacológicos tópicos que atuam reduzindo o prurido e as lesões a longo prazo podem envolver glicocorticoides tópicos, existindo o risco de atrofia cutânea induzida, e o tacrolimus, que pode ser indicado para os cães nos quais a atrofia cutânea é observada (Olivry et al., 2015).

Com relação aos medicamentos orais, os glicocorticoides e o maleato de oclacitinib promovem melhora mais rápida do que a ciclosporina, mas a ciclosporina pode ser combinada com a prednisolona oral durante as primeiras três semanas para acelerar o início da resposta clínica (Olivry et al., 2015).

Os testes alérgicos (cutâneo e sorológico) são utilizados para estabelecer os alérgenos agressores e diante dos resultados obtidos é possível formular e instituir a imunoterapia alérgeno-específica (ITAE). Todos os testes disponíveis ainda carecem de padronização e suspeita-se que resultados falso-positivos e falso-negativos ocorram com frequência (Hensel et al., 2015).

O teste intradérmico (*in vivo*) detecta a presença de IgE alérgeno específica na superfície de mastócitos da pele. Os ácaros comumente relatados como importantes, e que devem estar presentes, são ácaros de poeira doméstica, bolores, sementes, gramíneas e árvores, e essa classificação tende a mudar conforme a região geográfica. Uma reação positiva ao teste cutâneo significa apenas que o animal possui anticorpos sensibilizados na pele, mastócitos que se degranulam à exposição antigênica e tecido alvo que responde aos mediadores liberados, e não necessariamente alergia aos antígenos injetados. Portanto, se torna essencial que reações positivas ao teste sejam interpretadas com base na história do paciente. O mesmo é válido para reações negativas, pois de 10 a 30% dos cães com dermatite atópica podem ser negativos ao teste (Miller et al., 2013).

Outro teste *in vivo* é o teste de puntura (*prick test*), que vem sendo utilizado com mais frequência em medicina veterinária em alternativa ao teste intradérmico citado anteriormente. Ele consiste na aplicação de extratos alergênicos mais concentrados com o auxílio de puntores. Tem como principais vantagens a rapidez de execução, menor desconforto ao paciente, menor custo, alta especificidade e maior segurança (Larsson e Lucas, 2020).

Os testes sorológicos (*in vitro*) mais utilizados são o radioalergossorvente (RAST) e o ensaio imunoabsorvente ligado à enzima (ELISA). A presença de anticorpos contra um alérgeno-específico indica que o animal sofreu exposição anterior a determinado alérgeno, no entanto não fornece provas de que a alergia realmente exista. Isso só pode ser afirmado em conjunto com a história clínica cuidadosa do paciente. Além disso, em alguns pacientes a dermatite atópica pode não ser mediada por IgE (Miller et al., 2013).

Quanto à ITAE, a abordagem terapêutica concentra-se na administração subcutânea e sublingual. Essa terapia é considerada a única em que é possível modificar ou reverter ao menos parte da patogênese da DAC, tanto melhorando os sinais clínicos quanto

prevenindo a progressão da doença, associada a efeitos adversos mínimos e potencial de eficácia duradoura. Entretanto, ainda existem muitas dificuldades na aplicação dessa modalidade, devido ao alto custo, tempo necessário para atingir uma resposta efetiva, escassez de estudos amplos e controlados, falta de padronização entre dosagem, frequência de administração e de extratos alergênicos (DeBoer, 2017). O uso concomitante de ITAE, xampus emolientes, suplementos de ácidos graxos essenciais ou dietas enriquecidas, pode permitir uma redução na dose e na frequência dos glicocorticoides orais, ciclosporina e oclacitinib necessários para manter a remissão dos sinais clínicos da DAC (Olivry et al., 2015).

2.9.Lokivetmab e os anticorpos monoclonais

Nos últimos anos, a literatura sugere o envolvimento da IL-31 como citocina-chave na sintomatologia do prurido em diversas doenças pruriginosas em humanos e em cães, mostrando que ambos os pacientes possuem níveis séricos elevados. Isso fez com que a IL-31 e seus receptores se tornassem alvos terapêuticos. Dois agentes direcionados à IL-31 foram desenvolvidos até agora, um destinado ao uso clínico em humanos e um para uso veterinário. Até o momento, há apenas um único agente em desenvolvimento que visa o receptor IL-31RA, um anticorpo monoclonal humanizado administrado por via subcutânea que, além de seus efeitos sobre o prurido, também foi avaliado para sua eficácia na melhoria do sono, desempenho diário e qualidade de vida em pacientes humanos com dermatite atópica. Embora a modulação do receptor OSMR tenha potencial interesse clínico, até o momento, apenas um medicamento tem como alvo direto esse receptor, avaliado apenas em ensaios clínicos e poucos detalhes publicados estão disponíveis (Kabashima e Irie, 2021).

Como recentemente foi descrito que a IL-31 é a principal citocina que leva ao prurido e provoca a inflamação na pele de cães atópicos, surgiu a necessidade de uma terapia alvo específica (Moyaert et al., 2017). O lokivetmab (Cytoint®, Zoetis) é o primeiro mAb caninizado que se liga seletivamente e neutraliza a IL-31, tornando-a indisponível para ligar-se ao seu receptor e dessa forma, impedindo-a de desencadear a cascata pruriginosa (Souza et al., 2018; Santoro, 2019).

Por ser uma terapia biológica, o lokivetmab tem vantagens distintas em relação à abordagem terapêutica tradicional. Moléculas grandes como as do lokivetmab são transportadas do local da injeção subcutânea para o sangue principalmente através do sistema linfático. O tratamento com um mAb imita os processos celulares naturais do corpo e os complexos de anticorpos são decompostos lentamente com o tempo, da mesma forma que outras proteínas, através da degradação. Os aminoácidos gerados desse processo podem ser incorporados em novas proteínas ou utilizados como fonte de energia. Conseqüentemente, seu efeito terapêutico pode ser mais duradouro e, diferente da terapia medicamentosa tradicional, o metabolismo não depende da função renal ou hepática do paciente, tornando a terapia com anticorpos uma consideração de tratamento para cães independentemente da idade ou de comorbidades (Cytopoint®, Monografia Técnica, Zoetis, 2019).

Apesar da interação entre o lokivetmab e outros medicamentos ser pouco provável, uma vez que as enzimas que metabolizam os xenobióticos, como as do citocromo P450, não estão envolvidas na eliminação de anticorpos monoclonais, pode haver uma alteração nos níveis de outros medicamentos administrados concomitantemente. Os níveis elevados de citocinas nas doenças inflamatórias crônicas levam à supressão das enzimas do citocromo P450. O tratamento com anticorpos monoclonais pode levar à normalização das enzimas pela neutralização das citocinas pró-inflamatórias (Michels et al., 2016b).

Os anticorpos são produzidos para serem estruturalmente específicos à única proteína antigênica que eles neutralizam com pontos de ligação de antígeno que são exclusivos àquele determinado antígeno. Este encaixe é tão específico que é chamado de “chave e fechadura”, ilustrado na Figura 5 (Cytopoint®, Monografia Técnica, Zoetis, 2019). Como os anticorpos estranhos são prontamente reconhecidos e destruídos pelo sistema imunológico do hospedeiro, o lokivetmab foi totalmente caninizado (Figura 6), ou seja, 90% ou mais da estrutura do anticorpo é semelhante ao anticorpo produzido naturalmente em cães e, desse modo, evita seu reconhecimento por redução da imunogenicidade e apresenta duração prolongada (Santoro, 2019).

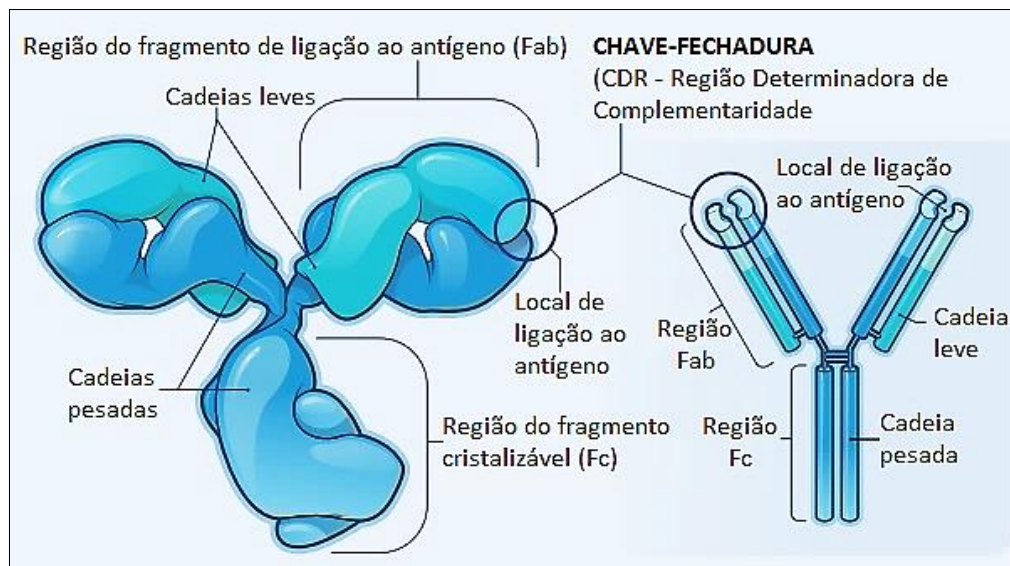


Figura 5 – Esquema estrutural dos anticorpos no modelo “chave-fechadura”.
 FONTE: Adaptado de Cytoint®, Monografia Técnica, Zoetis (2019).

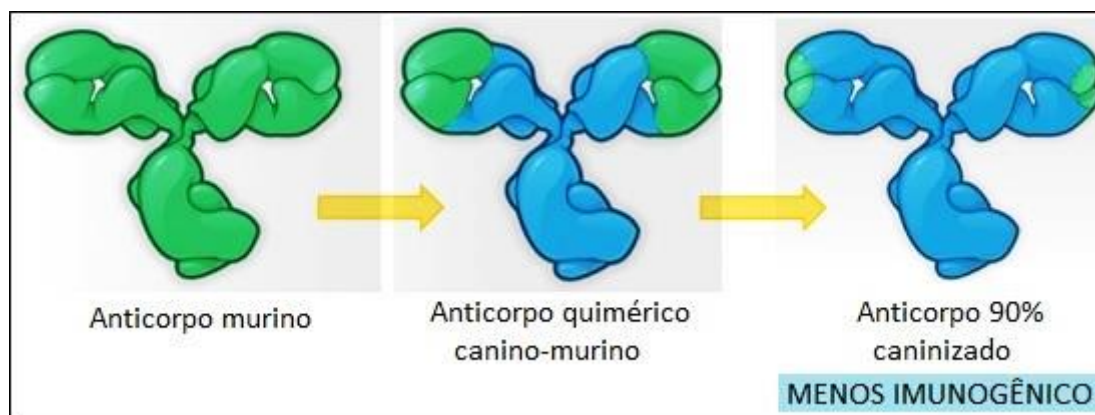


Figura 6 - O esquema mostra um anticorpo murino exibido em verde, seguido de um anticorpo quimérico no qual apenas as regiões variáveis de ligação do antígeno com o anticorpo, em verde, são de origem murina (25%), enquanto que as restantes, exibidas em azul, são de origem canina (75%). Mais à direita é representado um anticorpo “caninizado” no qual apenas as alças CDR de ligação ao antígeno são de origem murina (10%, em verde), sendo o restante de origem canina (90%, em azul).
 FONTE: Adaptado de Cytoint®, Monografia Técnica, Zoetis (2019) e Silva (2019).

Anticorpos direcionados a proteínas específicas envolvidas em um determinado processo patológico podem ser produzidos fora do paciente, e então injetados de volta ao mesmo para complementar sua imunidade natural, ou ainda, utilizados para interromper um processo patológico ao neutralizar proteínas que desempenham um papel fundamental na patogênese de doenças crônicas (Cytoint®, Monografia Técnica, Zoetis, 2019).

Vários estudos já demonstraram a eficácia do lokivetmab na redução do prurido em cães atópicos (Michels et al., 2016a; Moyaert et al., 2017; Souza et al., 2018; Silva, 2019;

Szczepanik et al., 2019; Tamamoto-Mochizuki et al., 2019;) e seu mecanismo de ação está representado na Figura 7.

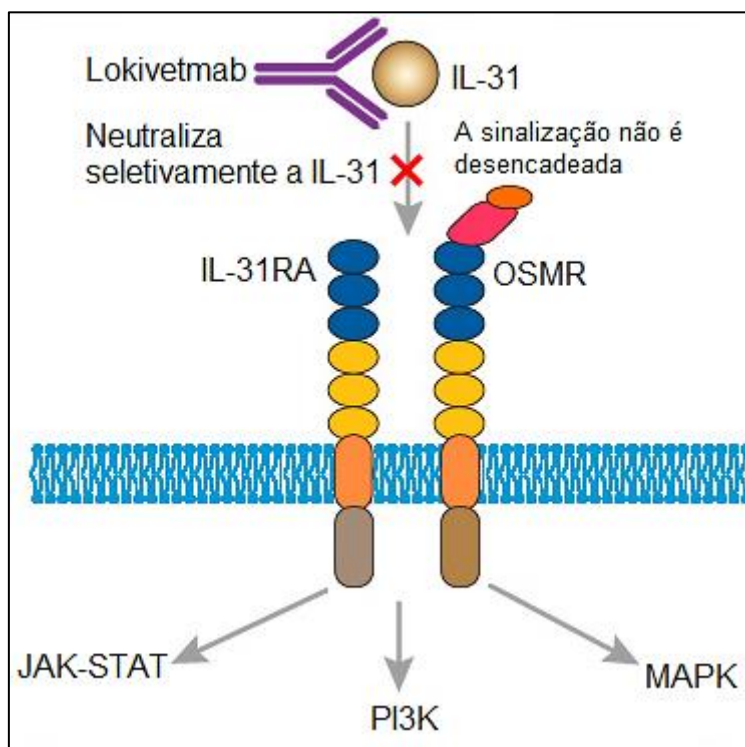


Figura 7 – Esquema representativo do mecanismo de ação do lokivetmab, neutralizando seletivamente a IL-31.

FONTE: Adaptado de Creative Biolabs®, Recombinant Antibodies.

Um estudo comparou a eficácia e segurança da ciclosporina e do lokivetmab no tratamento de cães com dermatite atópica, e foi demonstrado que a resposta ao lokivetmab foi superior a ciclosporina na redução do prurido, mas isso não foi observado na melhora das lesões cutâneas. Porém, os autores relatam que foi detectada melhora contínua tanto do prurido quanto das lesões de pele ao longo do tempo como terapia proativa, indicando o benefício de sua administração repetida a longo prazo. Portanto, em casos de DAC que estão intimamente ligados à sinalização de IL-31 isoladamente, a eficácia do lokivetmab pode ser superior à terapia menos direcionada, reduzindo também a necessidade de terapias adjuvantes (Moyaert et al., 2017).

Souza et al. (2018) observaram redução significativa do prurido após aplicação de lokivetmab em cães atópicos na dose de 2,2, mg/kg, com melhora clínica em 24 horas em 55,9% dos cães, entre um e três dias em 39,7% dos cães e ≥ 3 dias em apenas 4,4% dos cães, mostrando rápido início de ação e boa eficácia.

Tamamoto-Mochizuki et al. (2019), avaliaram a capacidade do mAb na prevenção de sinais clínicos em um modelo experimental de cães com DAC e realizaram um acompanhamento prospectivo por um ano dos cães tratados proativamente com o imunoterapêutico. A aplicação epicutânea de *Dermatophagoides farinae* em cães atópicos sensibilizados levou ao aumento acentuado na duração da manifestação de prurido e induziu lesões cutâneas leves a moderadas. Após aplicação de dose única de lokivetmab, o mAb evitou a maioria das manifestações de prurido, reforçando que a IL-31 é a principal citocina responsável por desencadear o prurido. Entretanto, o bloqueio da IL-31 isoladamente não impediu o desenvolvimento de lesões eritematosas agudas. Já a longo prazo, a terapia de manutenção proativa da DAC com injeções repetidas de lokivetmab levou à remissão de sinais clínicos, e mais de um quarto dos casos acompanhados pelos autores não exibiu manifestação clínica da doença por mais de um ano.

Como a IL-31 é secretada juntamente com vários outros grupos de citocinas e mediadores inflamatórios, mesmo com o mAb bloqueando a ação da IL-31 completamente, existe uma ampla oportunidade para o desenvolvimento da inflamação (Tamamoto-Mochizuki et al., 2019).

O Quadro 4 representa a eficácia das várias modalidades de tratamento mais utilizadas no controle da DAC.

Tratamento	Eficácia
Ácidos graxos essenciais orais	Discreta
Anti-histamínicos	Nula a moderada
Ciclosporina	Elevada
Glicocorticoides sistêmicos	Elevada
Glicocorticoides tópicos	Elevada
Imunoterapia alérgeno-específica	Moderada a elevada
Lokivetmab	Elevada
Oclacitinib	Elevada
Tacrolimus	Elevada

Quadro 4 – Eficácia das modalidades de tratamento utilizadas em cães com dermatite atópica.

FONTE: Adaptado de Saridomichelakis e Olivry (2016).

3. OBJETIVO GERAL

Avaliar a prevalência e caracterizar a população canina com dermatite atópica atendida no serviço de dermatologia do Hospital Veterinário da Escola de Veterinária da UFMG

no período de 2015 a 2020 e avaliar a gravidade da doença nos cães com dermatite atópica do serviço, correlacionando com os níveis séricos de IL-31, antes e após duas aplicações do imunoterapêutico lokivetmab.

4. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a prevalência da doença e caracterizar a população canina com dermatite atópica atendida no serviço de dermatologia do Hospital Veterinário da Escola de Veterinária da UFMG no período de 2015 a 2020;
- Avaliar a gravidade da DAC nos pacientes selecionados do serviço de dermatologia do Hospital Veterinário da Escola de Veterinária da UFMG;
- Avaliar a concentração sérica de IL-31 nos cães com DAC antes e após duas aplicações de lokivetmab;
- Avaliar a correlação dos níveis séricos de IL-31 nos cães com DAC e as variáveis idade e peso corporal;
- Correlacionar a gravidade da doença e os níveis séricos de IL-31 antes e após aplicações de lokivetmab;
- Avaliar se a IL-31 é um possível biomarcador de resposta terapêutica ao lokivetmab.

5. PARTE I

CARACTERIZAÇÃO DA POPULAÇÃO CANINA COM DERMATITE ATÓPICA ATENDIDA NO SERVIÇO DE DERMATOLOGIA DO HV-UFMG ENTRE 2015-2020

RESUMO

A dermatite atópica canina é uma reação de hipersensibilidade do tipo I, mediada por IgE frente à sensibilização aos alérgenos ambientais. Sua patogênese ainda não é totalmente elucidada, mas sabe-se que é bastante complexa, envolvendo fatores genéticos, ambientais, alimentares, defeitos de barreira cutânea, disfunção imunológica, entre outros. Os dados sobre sua prevalência e aspectos epidemiológicos ao nível mundial são encontrados facilmente na literatura. Entretanto, quando se busca por localidades específicas, os trabalhos são mais escassos. Desta forma, objetivou-se determinar a prevalência da dermatite atópica canina no serviço de dermatologia do Hospital Veterinário da UFMG. Para tanto, foram analisados 761 prontuários de cães, que correspondiam a todas as consultas geradas no setor no período de janeiro de 2015 a dezembro de 2020. Os resultados revelaram que 34,51% (291 casos) da casuística dermatológica eram de etiologia alérgica e destas, 73,56% (214 casos) eram de cães com dermatite atópica. De todos os atendimentos dermatológicos do setor, 28,12% dos cães tiveram diagnóstico definitivo de dermatite atópica canina, sendo a alergopatia mais prevalente da espécie no Hospital Veterinário da UFMG atualmente. Tal estudo demonstra que as alergopatias estão entre os principais diagnósticos da rotina dermatológica.

Palavras-chave: Alérgenos, alergia, atopia, cães, dermatite.

ABSTRACT

Canine atopic dermatitis is a type I hypersensitivity reaction, IgE mediated against sensitization to environmental allergens. Its pathogenesis is not yet fully elucidated, but it is known that it is quite complex, involving genetic and environmental factors, food allergens, skin barrier defects, immune dysfunction, among others. Data on prevalence and epidemiological aspects of this allergopathy worldwide are easily found in the literature. However, when searching for specific locations, studies are more scarce. Thus, the objective of this study was to determine the prevalence of canine atopic dermatitis in the dermatology service of the Veterinary Hospital from UFMG. For this purpose, 761 records of dogs were analyzed, which corresponded to all consultations generated in the service, in the corresponding period from January 2015 to December 2020. The results revealed that 34,51% (291 cases) of the dermatological cases were from allergic etiology and of these, 73,56% (214 cases) were from dogs with atopic dermatitis. Of all dermatological consultations at the service, 28,12% of dogs had a definitive diagnosis of canine atopic dermatitis, being the most prevalent allergopathy in the species at Veterinary Hospital of UFMG. Such study demonstrates that allergic conditions are among the main diagnoses of dermatological routine.

Keywords: Allergens, allergy, atopy, dogs, dermatitis.

5.1.Introdução

A DAC é uma dermatopatia pruriginosa, inflamatória e crônica, surgindo normalmente entre os seis meses e três anos de idade, de forma progressiva. Em serviços especializados é a doença mais frequentemente diagnosticada e também é uma das mais desafiadoras devido sua complexidade, variações e intensidade das manifestações clínicas, além da dificuldade em se atingir um controle satisfatório por necessitar de um tratamento multifacetado.

Os sinais clínicos são caracterizados principalmente por prurido intenso, inicialmente alésional, podendo ser acompanhado por eritema, alopecia e lesões autoinduzidas, infecções de pele (bacterianas e fúngicas), além da otite recorrente. Também se observa que grande parte dos cães também são acometidos por DAPP ou dermatite alérgica à picada de ectoparasitas (DAPE) e hipersensibilidade alimentar ou, até mesmo, da dermatite atópica induzida por alimento.

Geralmente cães com dermatite atópica desenvolvem reações IgE dependente ou celulares mediadas aos alérgenos ambientais, alimentares, proteínas de ectoparasitos e antígenos microbianos.

Diante da crescente prevalência da doença e das divergências nas características dos pacientes de acordo com fatores intrínsecos e extrínsecos, inclusive em aspecto geográfico, se faz necessário o reconhecimento da população canina com dermatite atópica local, para melhor abordagem diagnóstica e terapêutica desses pacientes, que deve ser sempre individualizada. A hipótese do presente trabalho considera que a prevalência e os aspectos epidemiológicos da DAC nos pacientes atendidos no Hospital Veterinário da UFMG podem ter diferenças em relação a outros grupos de cães com dermatite atópica em diferentes regiões do país.

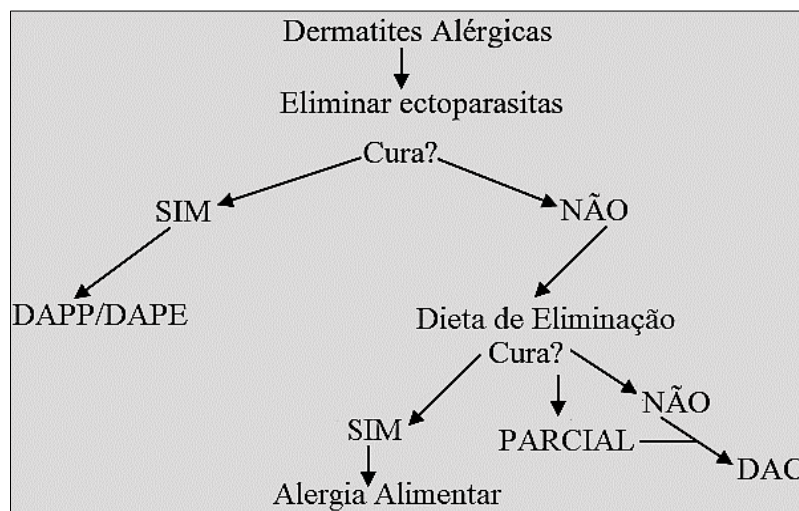
5.2.Material e Métodos

Foi realizado um estudo retrospectivo dos prontuários dos pacientes atendidos no serviço de dermatologia do Hospital Veterinário da Escola de Veterinária da UFMG, analisando as seguintes características dos cães: sexo, raça, idade, sinais clínicos, intensidade do prurido, ocorrência de infecções bacterianas e fúngicas secundárias, frequência de otites

e alergias concomitantes. Também foram incluídas comorbidades, dermatológicas ou não, que os pacientes apresentavam durante o acompanhamento no serviço de dermatologia.

Para a seleção dos prontuários de cães com dermatite atópica, foi gerado um relatório por meio do sistema do Hospital Veterinário, com todos os registros de consultas dermatológicas realizadas entre janeiro de 2015 e dezembro de 2020. A partir desse relatório, foram selecionados os cães que, durante as consultas e retornos de acompanhamento, tiveram o diagnóstico final de DAC. Os cães que apresentavam suspeita clínica, mas não tiveram diagnóstico definitivo, foram excluídos do grupo de atópicos do estudo.

O diagnóstico de DAC foi estabelecido pelo histórico, sinais clínicos e exclusão de outras dermatoses pruriginosas e inflamatórias por meio de exames complementares da rotina dermatológica, além de terem concluído a triagem alérgica com o tratamento das infecções secundárias, eliminação de ectoparasitas e dieta hipoalergênica restritiva, comercial de proteína hidrolisada ou caseira com fonte inédita de proteína, por no mínimo oito semanas, de acordo com o fluxograma abaixo, adaptado de Botoni (2011):



DAPP = dermatite alérgica à picada de pulgas; DAPE = dermatite alérgica à picada de ectoparasitas; DAC = dermatite atópica canina.

5.3. Resultados e Discussão

As análises dos dados foram descritivas e percentuais e o período estudado compreendeu de janeiro de 2015 a dezembro de 2020. Durante esse período, um total de 761 prontuários de pacientes caninos com alguma dermatopatia diagnosticada foram computados no

serviço de dermatologia do Hospital Veterinário da Escola de Veterinária da UFMG. Destes, 214 cães foram diagnosticados clinicamente com DAC, correspondendo à prevalência de 28,12% de todos os atendimentos dermatológicos da espécie no período correspondente a cinco anos.

Entre as dermatopatias mais prevalentes do serviço, destacaram-se as: 1) alergopatias, com 34,51% da casuística; 2) dermatites infecciosas, com 25,86%, incluindo causas bacterianas e fúngicas; e 3) dermatites parasitárias, com 10,79% dos casos. Dos demais casos avaliados as ocorrências foram de otopatias (8,06%), endocrinopatias (5,21%), neoplasias (4,86%), distúrbios de queratinização (3,20%), dermatopatias autoimunes (3,08%) e alopecias não inflamatórias (2,13%). Os 2,25% restantes corresponderam a outras dermatoses, como as de etiologia psicogênica, viral e idiopática. De todas as alergopatias, a DAC compreendeu 73,53% dos casos, sendo a alergia mais prevalente. As frequências quanto ao sexo, raça e idade da população de cães com dermatite atópica estão demonstradas nos Gráficos 1, 2 e 3, respectivamente.

Gráfico 1 - Frequência quanto ao sexo da população canina com dermatite atópica atendida no serviço de dermatologia do Hospital Veterinário da UFMG entre 2015-2020:

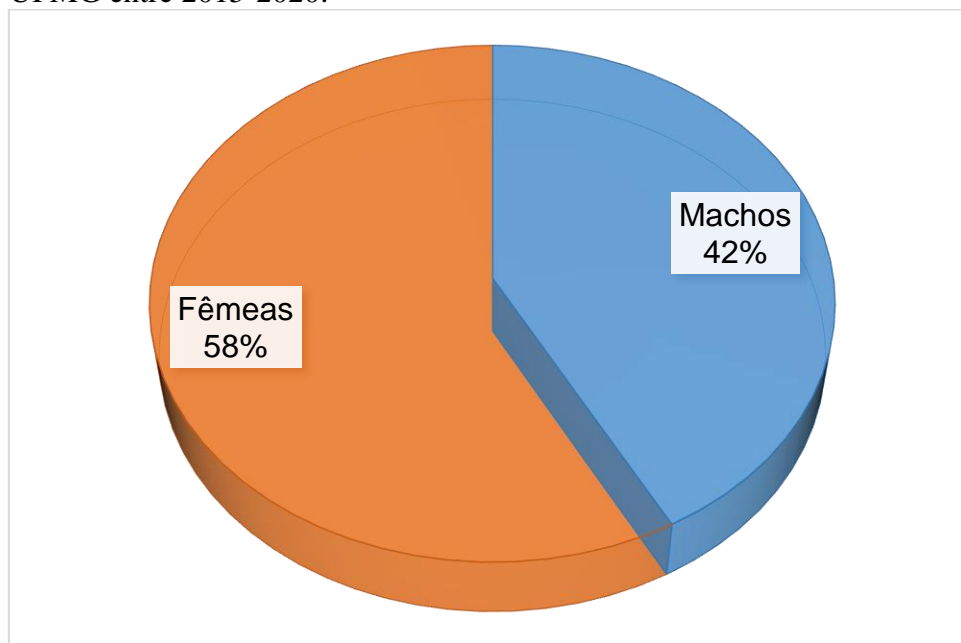
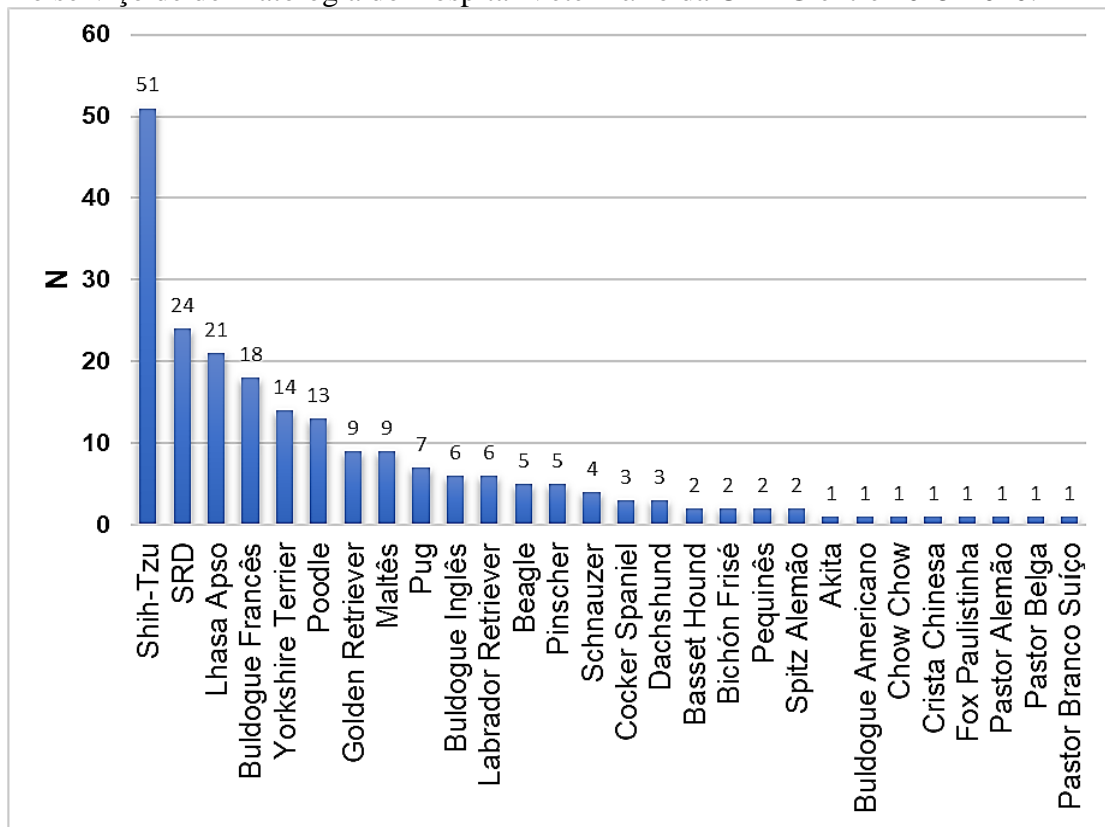
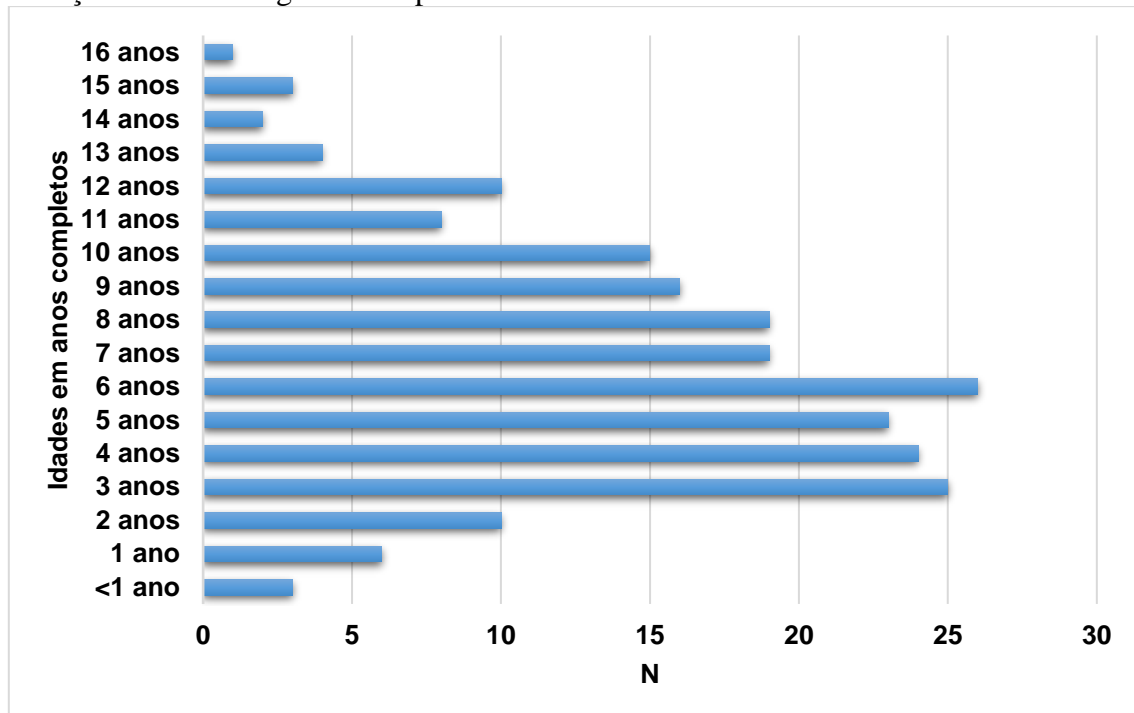


Gráfico 2 - Frequência por raça da população canina com dermatite atópica atendida no serviço de dermatologia do Hospital Veterinário da UFMG entre 2015-2020:



SRD = sem raça definida.

Gráfico 3 - Frequência por idade da população canina com dermatite atópica atendida no serviço de dermatologia do Hospital Veterinário da UFMG entre 2015-2020:



Também foram avaliadas as afecções secundárias comumente associadas à DAC, como as piodermites e otites, e as comorbidades, tegumentares ou não, que estão representadas nos Gráficos 4 e 5, respectivamente. As infecções bacterianas e fúngicas secundárias são bastante frequentes nos pacientes com DAC e além de contribuírem para a piora do prurido e desconforto do animal, também atuam como perpetuantes da cascata inflamatória alérgica e disfunção de barreira cutânea. É importante ressaltar que uma das características mais marcantes da doença é o desenvolvimento de otites externas crônicas e recorrentes com consequente infecção secundária por bactérias e fungos. Esses pacientes normalmente necessitam de cuidados adicionais na manutenção da doença.

Quanto às comorbidades identificadas nos cães atópicos, a hipersensibilidade alimentar (31%) foi a mais prevalente. Em seguida, a DAPP também acometeu grande parte dos pacientes, com 25% dos casos. As neoplasias tiveram posição importante quanto à frequência. Foram diagnosticados casos de tumores de mama (17%) e de mastocitoma canino (9%), provavelmente decorrentes de idade avançada, predisposição racial e inflamação crônica da pele. Um dado importante que ficou ausente no estudo foi quanto ao *status* reprodutivo dos cães. Poucos prontuários continham essa informação, se as fêmeas eram ovariectomizadas e os machos orquiectomizados e, portanto, essa variável não foi compilada no trabalho. Entretanto, sabe-se que fêmeas caninas não castradas ou castradas tardiamente possuem alto índice de tumores de mama malignos.

Gráfico 4 - Afecções secundárias à dermatite atópica canina na população atendida no serviço de dermatologia do Hospital Veterinário da UFMG entre 2015-2020:

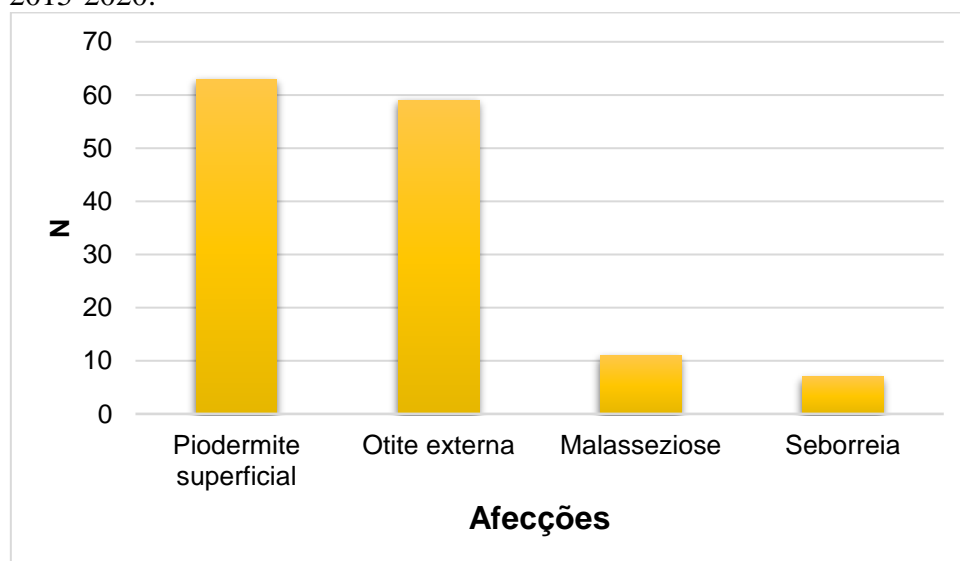
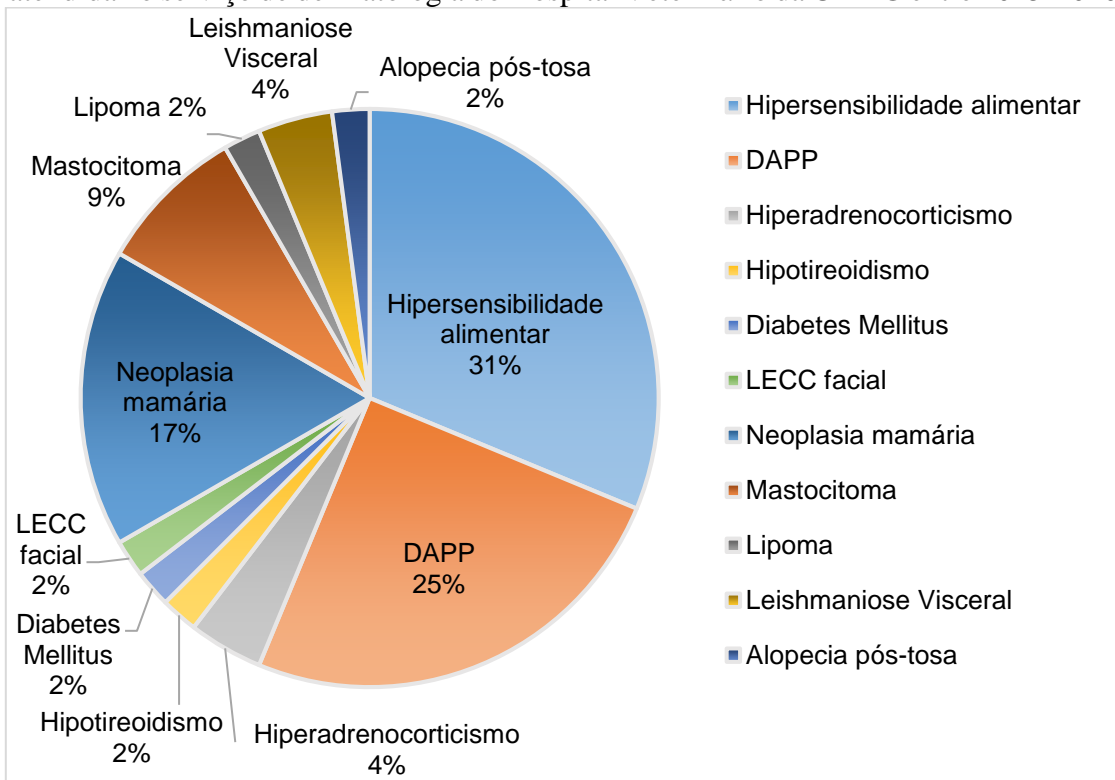


Gráfico 5 - Comorbidades diagnosticadas na população canina com dermatite atópica atendida no serviço de dermatologia do Hospital Veterinário da UFMG entre 2015-2020:



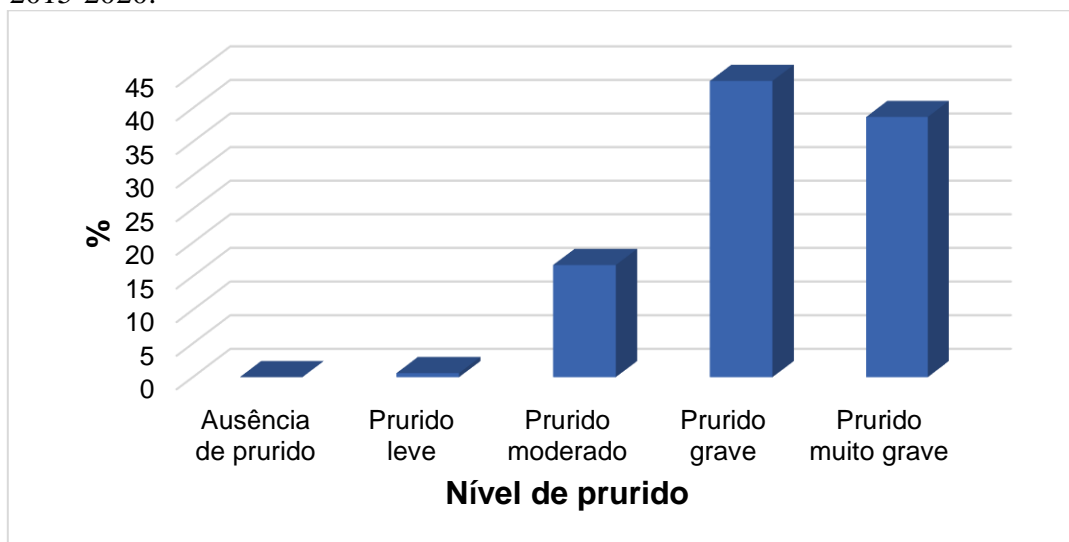
DAPP = dermatite alérgica à picada de pulgas; LECC = Lúpus eritematoso cutâneo crônico.

Para a abordagem do grau de prurido, seguiu-se a escala analógica visual de prurido (pVAS) com intervalo de zero a dez centímetros, proposta por Hill et al. (2007) e Rybnicek et al. (2009). A maioria dos cães com dermatite atópica apresentou prurido grave (44,05%) e muito grave (38,69%), tendo como classificação as seguintes pontuações:

Normal	0-1,9
Prurido leve	2-4
Prurido moderado	>4-6
Prurido grave	>6-8
Prurido muito grave	>8-10

O prurido foi relatado em 78,50% dos casos e em 63,10% se apresentava alesional. Em 36,90% dos casos, o prurido já era acompanhado de lesões primárias como eritema e pápulas. Quanto à localização do prurido e lesões, em 59,90% dos cães as regiões de interdígitos foram as mais afetadas, com relatos de lambedura interdigital intensa e faces palmoplantar; na sequência, a face, com 31,98% dos cães apresentando prurido e eritema facial (periocular e perilabial), muitas vezes acompanhados de hipotricose e alopecia autoinduzidas; e região perineal, com 8,10% dos cães acometidos.

Gráfico 6 - Prevalência e intensidade do prurido da população canina com dermatite atópica atendida no serviço de dermatologia do Hospital Veterinário da UFMG entre 2015-2020:



Como o Brasil é um país tropical, a sazonalidade nos pacientes atópicos é algo difícil de ser observado quando comparado a outros países, principalmente países do hemisfério norte, em que as estações do ano são mais bem definidas. No estudo observou-se presença predominante de DAC perene, porém, com relatos de maior intensidade dos sinais e das crises no período de verão, mas que devido à escassez de casos, não foram compilados no levantamento.

O estudo de Santos e Santos (2016) caracterizou o perfil da DAC em Salvador, na Bahia, e as alergopatias também corresponderam à maioria das dermatopatias na espécie canina. Entretanto, as autoras encontraram a DAC como a segunda doença alérgica mais frequente, tendo a DAPE como a alergia mais prevalente na região. Este achado corrobora ao encontrado por Cardoso et al. (2011), no norte do Paraná, em que a DAPE foi a alergopatias mais prevalente. Entretanto, o estudo de Souza et al. (2009), realizado em Santa Maria, no Rio Grande do Sul, diverge destes achados, pois a DAC foi a hipersensibilidade mais prevalente, corroborando com o observado no presente trabalho, apesar da diferença geográfica importante. Branquinho e Castro (2015), no Distrito Federal, também encontraram a DAC como a alergopatias mais prevalente, correspondendo a 80% dos casos, seguida da DAPE (14%) e alergia alimentar (6%). Já, no trabalho de Gasparetto et al. (2013), as alergias obtiveram o segundo lugar de todas as dermatopatias no estado do Mato Grosso, com as dermatites parasitárias sendo as mais

prevalentes dos casos levantados. Apesar de menos frequente do que nos estudos citados anteriormente, a DAC também foi a dermatite alérgica mais diagnosticada dentre as alergopatias.

A prevalência do diagnóstico de DAC neste estudo (28,12%) foi inferior a encontrada por Amarante et al. (2015), que detectaram DAC em 36,1% dos cães apresentados ao setor de dermatologia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. A porcentagem superior de casos se deve, provavelmente, pelo fato de que o número de prontuários foi significativamente maior, com 1.462 cães estudados no equivalente ao mesmo período (cinco anos). As autoras também encontraram maior prevalência da doença em fêmeas, com frequência quanto ao sexo bastante semelhante a este trabalho, com as fêmeas correspondendo a 56,2% da população canina com dermatite atópica e machos, 43,8%. Em trabalho mais recente, na Universidade Federal Fluminense (Ribeiro et al., 2020), observou-se 57% de fêmeas e 43% de machos. Apesar de ser descrito na literatura que não existe predisposição sexual (Miller et al., 2013), pode-se concluir diante destes trabalhos que as fêmeas têm maior diagnóstico de DAC com relação aos machos. Isso pode ser explicado pelo fato de que grande parte dos tutores optam por fêmeas, uma vez que atualmente os cães têm frequentado mais o interior das residências pois são tidos como membros da família.

A raça é um dado importante, pois já foi determinado que a herança genética é um fator de risco para desenvolvimento de DAC e a prevalência racial é muito variável geograficamente. Foi observado que cães de raça específica têm maior predisposição do que cães sem raça definida (Amarante et al., 2015; Alves et al., 2018; Larsson e Lucas, 2020; Ribeiro et al., 2020), como encontrado neste trabalho, com 88,78% dos cães de raça definida e 11,22% deles sem raça definida. As raças mais predispostas à DAC ao nível mundial, envolvendo dados da Alemanha, Austrália e Estados Unidos, de acordo com estudo multicêntrico de Jaeger et al. (2010), foram Bichón Frisé, Boxer, Bull Terrier, Cavalier King Charles Spaniel, Buldogue Francês e Pastor Alemão. Algumas raças divergem do presente estudo, que teve apenas as raças Bichón Frisé, Buldogue Francês e Pastor Alemão acometidas. Outras raças como Buldogue Inglês, Lhasa Apso, Labrador Retriever, Pug, Schnauzer, Cocker Spaniel, West Highland White Terrier, Yorkshire Terrier, Fox Terrier (Miller et al., 2013), além de Jack Russel Terrier e Golden Retriever

(Wilhem et al., 2011), são raças descritas como predispostas na literatura estrangeira e várias são compatíveis com as identificadas neste estudo.

Em diversos estudos brasileiros a raça pura mais prevalente foi a Poodle (Santos e Santos, 2016; Alves et al., 2018; Ribeiro et al., 2020), diferindo o presente trabalho, ocupando o quinto lugar das raças puras. Foi encontrado um número expressivo de cães atópicos sem raça definida (SRD), concordando com outros autores (Amarante et al., 2015; Santos e Santos, 2016; Alves et al., 2018). As raças predominantes neste estudo corroboram com as encontradas por Branquinho e Castro (2015) no Distrito Federal, que tiveram o Shih-Tzu e Lhasa Apso como as raças mais diagnosticadas com DAC. A prevalência racial aqui descrita também se assemelha a mais comumente observada em São Paulo: Shih-Tzu, Lhasa Apso, Poodle, Buldogue Francês, Buldogue Inglês e Pug (Larsson e Lucas, 2020).

Foi observado que 63,55% dos cães tinham até 7 anos de idade no momento do diagnóstico, corroborando com a faixa etária mais comum de manifestação da DAC na literatura (Miller et al., 2013) e em outros estudos epidemiológicos nacionais (Branquinho e Castro, 2015; Santos e Santos, 2016; Ribeiro et al., 2020). Amarante et al. (2015) observaram que 7,95% dos cães atópicos tinham menos de um ano de idade no momento do diagnóstico e 21,97% tinham menos de três anos. Este último dado concorda com a frequência de cães diagnosticados até três anos de idade deste estudo (20,56%) e no de Ribeiro et al. (2020), que observaram prevalência superior (38,8%). A baixa frequência de cães diagnosticados com menos de um ano de idade pode ser relacionada à probabilidade de os filhotes não terem tido tempo suficiente de exposição aos alérgenos para que a sensibilização ocorresse e dessa forma, desenvolvessem os sinais clínicos. Outra hipótese é que a maioria dos tutores procuram a especialidade com a recorrência e cronicidade dos sinais clínicos, atrasando o momento do diagnóstico definitivo desses pacientes.

Apesar de não existirem sinais clínicos patognomônicos na DAC, o prurido é o sinal mais importante em cães com dermatite atópica, devendo estar presente, pois sua ausência é excludente para o diagnóstico de DAC (Favrot et al., 2010). O prurido foi detectado em 78,50% dos casos, achado inferior ao de Ribeiro et al., (2020), que encontraram prurido em 94,6% dos casos e de Alves et al. (2018), com 81,8%.

Sabe-se que as áreas de interdígitos e faces palmoplantar estão entre as mais frequentemente afetadas em cães com dermatite atópica (Favrot et al., 2010; Wilhem et al., 2011; Larsson e Lucas, 2020). No estudo, o prurido e eritema interdigital foi observado em 59,90%, tendo como sinal clínico a lambedura excessiva, corroborando com Jaeger et al. (2010), que encontraram 62% de acometimento dessa região nos cães incluídos no estudo. A baixa frequência de prurido perineal (8,10%) pode ser pelo fato de que o prurido perineal é mais frequente em cães com alergia alimentar do que nos atópicos propriamente ditos (Loeffler et al., 2006).

Existe uma íntima relação da DAC com o desenvolvimento de otite externa e prurido no pavilhão auricular, e a otite já é considerada parte dos sinais apresentados por estes animais (Meason-Smith et al., 2019), podendo estar presente em mais de 50% dos casos (Larsson e Lucas, 2020). No estudo de Ribeiro et al. (2020) a otite foi a afecção secundárias mais frequente nos cães com DAC, acometendo 73% deles, seguida da piodermite com 30,4% dos casos. Apesar da inversão de valores, no presente estudo também foram as duas afecções secundárias mais identificadas nos pacientes. Já, a prevalência de malasseziose detectada por Ribeiro et al. (2020) foi inferior (1,21%) à encontrada neste estudo (7,85%). A ocorrência da piodermite superficial aqui observada (45%) corrobora com a literatura, que mostra que 40 a 60% dos cães atópicos apresentam infecção bacteriana secundária da pele (Larsson e Lucas, 2020).

Atualmente, já se sabe que alérgenos alimentares são causadores de crises de dermatite atópica em cães com sintomas indistinguíveis dos causados por alérgenos ambientais. Desta forma, a doença chama-se dermatite atópica induzida por alimentos (Olivry et al., 2007). A resposta à dieta de eliminação com proteína inédita ou original (caseira ou hidrolisada) pode ser total, caso seja a única causa do quadro clínico, ou parcial, nos casos em que o alérgeno alimentar participa da patogenia da dermatite atópica, sendo definida por dermatite atópica induzida por alimentos e alérgenos ambientais (Andrade, 2018).

No presente estudo, foi detectado que 31% dos cães atópicos tiveram melhora parcial com a dieta hipoalergênica, tenha sido ela caseira com proteína inédita ou comercial com proteína hidrolisada, representando assim, a prevalência dos cães com dermatite atópica induzida por alimentos e alérgenos ambientais na população estudada. Griffin e DeBoer (2001) relataram que até 30% dos cães com DAC tinham hipersensibilidade alimentar

simultaneamente. Entretanto, Zur et al. (2002) relataram que apenas 7% dos cães com DAC também foram afetados pela hipersensibilidade alimentar. São dados de difícil comparação entre si por serem estudos de diferentes delineamentos, tamanhos variáveis dos grupos avaliados, localização geográfica e período em que os estudos foram feitos.

A DAPP foi observada concomitantemente à DAC em 14,8% dos cães do estudo de Ribeiro et al. (2020), sendo inferior à observada neste trabalho (25%). Um dado importante e muitas vezes ignorado é que aproximadamente 75% dos cães com dermatite atópica podem apresentar DAPP e hipersensibilidade alimentar concomitantes (Barbosa, 2015). Neste trabalho, observou-se que 56% dos cães com dermatite atópica tinham outra alergopatia diagnosticada além da DAC.

O mastocitoma canino é a neoplasia cutânea maligna mais comum na espécie e foi observado em 9% (4) dos cães atópicos. O estudo retrospectivo de Santos (2017), teve como objetivo avaliar a possível associação entre inflamação cutânea crônica com esta neoplasia. Foi detectado que 55% dos cães com diagnóstico de mastocitoma apresentavam histórico de inflamação crônica da pele, sendo que 25% dos pacientes tinham diagnóstico prévio de otite externa crônica, 17,5% de alergia alimentar e 15% de dermatite atópica. Também foi constatado que os cães diagnosticados com mastocitoma e histórico de inflamação cutânea crônica, tiveram idade média inferior aos que não tinham esse histórico. Além disso, histologicamente, esses pacientes tiveram o mastocitoma em grau mais elevado (Santos, 2017).

Suspeita-se que a prevalência da DAC na população canina atendida no setor de dermatologia do Hospital Veterinário da Escola de Veterinária da UFMG seja ainda superior ao detectado (28,12%), uma vez que, dentre todos os diagnósticos das dermatopatias, 20,99% foram de piodermite superficial e 7,71% de otite externa, ou seja, é muito provável que estes cães tivessem estas afecções como sinais clínicos de DAC, mas que no momento ainda não tinham o diagnóstico definitivo para serem incluídos como cães atópicos.

5.4. Conclusões

A partir dos resultados expostos, pode-se concluir que a DAC é a alergopatia mais comum

atualmente. As características da população canina com dermatite atópica no serviço de dermatologia do Hospital Veterinário da Escola de Veterinária da UFMG estão de acordo com a literatura, acometendo principalmente cães de raças específicas, fêmeas, adultos jovens e adultos, que tinham o prurido de caráter grave à muito grave como principal sinal clínico, mormente em regiões interdigitais, impactando diretamente na qualidade de vida dos pacientes e de seus tutores. Ainda, foi possível detectar que grande parte dos cães com dermatite atópica também têm hipersensibilidade alimentar, com os alérgenos alimentares agravando os sinais clínicos da doença e podendo desencadear crises atópicas, o que influencia na abordagem terapêutica para controle da mesma.

6. PARTE II

CORRELAÇÃO ENTRE A GRAVIDADE DA DOENÇA E NÍVEL SÉRICO DE INTERLEUCINA-31 EM CÃES COM DERMATITE ATÓPICA ANTES E APÓS APLICAÇÃO DE LOKIVETMAB

RESUMO

Nos últimos anos tem sido estudado o envolvimento da citocina interleucina-31 (IL-31) na sintomatologia do prurido em diversas doenças, incluindo a dermatite atópica canina. Desde então, a IL-31 e seus receptores tornaram-se potenciais alvos terapêuticos para uma série de doenças pruriginosas. O lokivetmab é um anticorpo monoclonal (mAb) caninizado que se liga seletivamente e inibe a IL-31. Ainda são escassos os estudos sobre os níveis séricos de IL-31, sua correlação com a gravidade da doença e seus níveis após aplicação do imunoterapêutico lokivetmab, que é alvo-específico. O objetivo deste trabalho foi avaliar a gravidade da dermatite atópica canina, sua correlação com a IL-31 e os níveis séricos desta citocina antes e após duas aplicações do mAb. Para tanto, foram selecionados prospectivamente dez cães atópicos provenientes dos atendimentos do serviço de dermatologia do Hospital Veterinário da UFMG, que receberam duas aplicações de lokivetmab com intervalo de quatro semanas. A IL-31 sérica foi detectada em todos os cães do estudo. Houve redução significativa da escala analógica visual de prurido (pVAS) e da IL-31 sérica após administração do mAb, porém, não houve diferença quanto às lesões clínicas avaliadas pelas pontuações do índice de extensão e gravidade da dermatite atópica canina (CADESI-04), não existindo correlação significativa entre a gravidade da doença pelas pontuações CADESI-04 e níveis séricos desta citocina em cães atópicos. No entanto, foi observada correlação positiva significativa entre a pVAS e IL-31 sérica, e correlação negativa significativa entre dose de lokivetmab e pVAS. Contudo, não houve correlação entre a redução do prurido com o nível basal da IL-31, e, portanto, não foi possível inferir que os cães com níveis séricos mais altos foram os melhores candidatos a essa terapia.

Palavras-chave: anticorpo monoclonal, atopia, imunopatogênese, interleucina-31, lokivetmab.

ABSTRACT

Recently, the involvement of the cytokine interleukin-31 (IL-31) in the symptoms of pruritus in several diseases, including canine atopic dermatitis, has been studied. Since then, IL-31 and its receptors have become potential therapeutic targets for a number of pruritic diseases. Lokivetmab is a caninized monoclonal antibody (mAb) that selectively binds to and inhibits IL-31. Studies on the serum levels of IL-31, its correlation with the severity of the disease and its levels after application of the target-specific immunotherapeutic lokivetmab are still scarce. The objective of this study was to evaluate the severity of canine atopic dermatitis, its correlation with IL-31 and serum levels of this cytokine before and after two mAb applications. For this purpose, ten atopic dogs were prospectively selected from the dermatology service of the Veterinary Hospital from UFMG, which received two applications of lokivetmab with an interval of four weeks. Serum IL-31 was detected in all study dogs. There was a significant reduction in the visual analog scale of pruritus (pVAS) and serum IL-31 after administration of the mAb, but there was no difference in clinical lesions by the canine atopic dermatitis extent and severity index (CADESI-04) scores, with no significant correlation between disease severity by the CADESI-04 scores and serum levels of this cytokine in atopic dogs. However, a significant positive correlation was observed between pVAS and serum IL-31, and a significant negative correlation between dose of lokivetmab and pVAS. However, there was no correlation between the reduction of pruritus and baseline IL-31 level, so therefore, it was not possible to infer that dogs with higher serum levels are the best candidates for this therapy.

Keywords: monoclonal antibody, atopy, immunopathogenesis, interleukin-31, lokivetmab.

6.1.Introdução

A DAC é uma dermatopatia inflamatória, pruriginosa, de patogênese complexa e multifatorial, não completamente elucidada. Estudos recentes têm mostrado um importante papel da IL-31 no prurido de cães com dermatite atópica. Entretanto, ainda são escassos os dados acerca de sua concentração sérica e se ela sofre influência de variáveis individuais como idade e peso corporal. Além disso, ainda é questionável se existe correlação entre a gravidade da doença e os níveis séricos da IL-31, existindo poucos trabalhos na literatura.

O lokivetmab é um anticorpo monoclonal 90% caninizado que se liga seletivamente e neutraliza a IL-31, impedindo-a de se ligar aos seus receptores e dessa forma, não ocorre a sinalização e ativação da cascata pruritogênica. A resposta terapêutica do lokivetmab é bastante variável, sendo que alguns cães mostram uma significativa melhora do prurido e das lesões cutâneas secundárias, mas outros não se beneficiam com essa abordagem mais direcionada. Atualmente, não se pode prever quais animais serão bons respondedores desta modalidade de tratamento. Dessa forma, pode ser útil investigar os níveis séricos da IL-31 antes e após terapia biológica e se esta citocina pode ser um biomarcador terapêutico, podendo prever quais pacientes são mais adequados a receberem esta abordagem terapêutica, com a intenção de maximizar o sucesso clínico.

A hipótese deste trabalho considera que as aplicações de lokivetmab podem reduzir os níveis séricos da IL-31, diminuindo o prurido e a gravidade da doença, e que naqueles cães com IL-31 sérica mais elevada, a resposta terapêutica desse mAb seja mais efetiva, com maior redução do prurido, podendo esta citocina ser um potencial biomarcador terapêutico.

6.2.Material e Métodos

O estudo foi conduzido após aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFMG, sob o protocolo de número 147/2019, conforme Anexo I, e mediante declaração da direção do Hospital Veterinário da UFMG para desenvolvimento do projeto de pesquisa nas dependências do hospital, representada pelo Anexo II. Todos os tutores dos animais selecionados para o estudo assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), que se encontra no Anexo III.

6.2.1. Animais

Foram selecionados dez cães com dermatite atópica provenientes do serviço de dermatologia do Hospital Veterinário da Escola de Veterinária da UFMG. O diagnóstico definitivo foi estabelecido pela anamnese, sinais clínicos (Figura 8), Critérios de Favrot e exclusão de outras dermatoses pruriginosas e inflamatórias mediante exames complementares da rotina. Antes do diagnóstico definitivo, todos os cães receberam tratamento das infecções secundárias quando presentes, controle de ectoparasitas e passaram por dieta hipoalergênica restritiva comercial de proteína hidrolisada ou caseira com fonte inédita de proteína por no mínimo oito semanas.



Figura 8 – Padrão de distribuição lesional e sinais clínicos característicos de dermatite atópica nos cães selecionados para o estudo: eritema, liquenificação e hiperpigmentação dos pavilhões auriculares (A e B); eritema, alopecia e liquenificação em região perilabial/queixo (C); eritema e escamação em articulação do metacarpo e interdígitos (D); eritema, alopecia e liquenificação em articulação do metacarpo (E) e face palmar (F).

FONTE: Arquivo pessoal.

Os cães incluídos no estudo não apresentaram benefício com a dieta, e os que apresentaram benefício parcial foram excluídos do estudo. Todos permaneceram com a mesma dieta durante todo o período experimental, assim como foi estabelecido em outros trabalhos (Michels et al., 2016a; Moyaert et al., 2017). Além disso, todos os pacientes receberam pela primeira vez a aplicação de lokivetmab e, para os cinco cães que já recebiam oclacitinib (Apoquel®, Zoetis), o tempo de retirada deste foi o mesmo definido previamente (Moyaert et al., 2017), que correspondeu a duas semanas. Durante o experimento era proibido o uso de glicocorticoides injetáveis, orais e tópicos para não haver influência nas pontuações do CADESI-04 e na pVAS. Nenhum dos cães recebia tratamento com ciclosporina ou ITAE. Além do tratamento com lokivetmab, todos os cães recebiam banhos terapêuticos uma ou duas vezes por semana de acordo com sua necessidade individual, com xampus hipoalergênicos e hidratantes ou antissépticos. Os cães que possuíam outras dermatopatias ou doenças diagnosticadas foram excluídos do estudo.

Os dez cães receberam duas doses de lokivetmab na posologia recomendada pelo fabricante (Zoetis®, Brasil) por via subcutânea no Hospital Veterinário da Escola de Veterinária da UFMG: para cães entre 2,3 a 4,5 kg, administrou-se um frasco de 10 mg; entre 4,6 a 9,1 kg, um frasco de 20 mg; e entre 9,2 a 13,6 kg, um frasco de 30 mg. As aplicações ocorreram em dois momentos: momento 0 (M0), primeira aplicação; momento 1 (M1), 4 semanas após a primeira aplicação. O momento 2 (M2), 8 semanas após a primeira aplicação, foi incluído para avaliação clínica e laboratorial. Todos os frascos de lokivetmab foram armazenados sob refrigeração entre 2 e 8°C até o momento das aplicações, nas dependências do laboratório de hematologia e bioquímica do Multilab, localizado na Escola de Veterinária da UFMG.

6.2.2. Amostras sanguíneas

Todos os cães selecionados para o estudo foram submetidos à punção venosa jugular ou cefálica para colheita de 5 mL de sangue destinados à realização de hemograma (2 mL) e perfil bioquímico (3 mL) para exclusão de outras doenças previamente ao início do tratamento. As análises hematológicas e bioquímicas de todos os pacientes foram realizadas no laboratório de análises clínicas (LAC) do Hospital Veterinário da UFMG. Nos momentos M0, M1 e M2, 4 mL de sangue foram colhidos em frasco com ativador

de coágulo para obtenção de 2 mL de soro utilizados para posterior mensuração da IL-31. Todas as amostras de soro foram congeladas a -20°C no laboratório de Sorologia do Multilab, localizado na Escola de Veterinária da UFMG até o momento da mensuração da IL-31.

6.2.3. Extensão e gravidade da dermatite atópica canina

O índice de extensão e gravidade da dermatite atópica canina (CADESI, do inglês, *Canine Atopic Dermatitis Extent and Severity Index*) é comumente utilizado para quantificar os efeitos clínicos da DAC. Sua última atualização (CADESI-04) foi proposta e validada por Olivry et al. (2014) e está representada na Figura 9 e na Tabela 1, sendo utilizada para a avaliação da gravidade da doença a longo prazo. O CADESI-04 baseia-se na avaliação de eritema (como marcador de inflamação aguda), liquenificação (como marcador de doença crônica) e combinação de escoriação e alopecia como marcadores de prurido em diversas regiões do corpo. Estabeleceu-se escala de gravidade de quatro pontos consistindo em nenhum (escore 0), leve (escore 1), moderado (escore 2) e grave (escore 3) para todas as características em 20 regiões avaliadas. A gravidade da doença com base nestas pontuações foi classificada em: 1). Leve: pontuações entre 10-35; 2). Moderada: >35-60; e 3). Grave: >60-180.



Figura 9 – Atlas de graduação das lesões CADESI-04 proposto e validado por Olivry et al. (2014).

Tabela 1 – Características e regiões avaliadas para pontuações do índice de extensão e gravidade da dermatite atópica canina (CADESI-04), adaptado de Olivry et al. (2014):

CADESI-04		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 de membros torácicos (lado dorsal e palmar combinados)	esquerda	6			
	direita	7			
Patas de membros pélvicos (lado dorsal e plantar combinados)	esquerda	8			
	direita	9			
Flexor cubital (dobras do cotovelo)	esquerdo	10			
	direito	11			
Metacarpo palmar (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)		

Por ser uma avaliação subjetiva, o CADESI-04 foi realizado sempre por três avaliadoras previamente treinadas. Os valores das pontuações individuais foram registrados e somados, sendo o valor final considerado a média dos três registros, a fim de evitar resultados tendenciosos.

6.2.4. Escala analógica visual de prurido

Para avaliação do prurido, os proprietários foram solicitados a marcarem na escala analógica visual de prurido (pVAS), adaptada de Hill et al. (2007), o ponto onde o animal se encontrava naquele momento, de acordo com sua percepção de prurido do mesmo (escala A). Após a marcação, outra escala, agora numerada (escala B), foi sobreposta à assinalada pelo proprietário, conforme mostrado na Figura 10, e o valor encontrado foi registrado. Os escores da pVAS foram avaliados em centímetros e sua classificação foi

baseada empiricamente em: 1). Cão normal: 0-1,9; 2). Prurido leve: 2-4; 3). Prurido moderado: >4-6; 4). Prurido grave: >6-8; e 5). Prurido muito grave: >8-10.

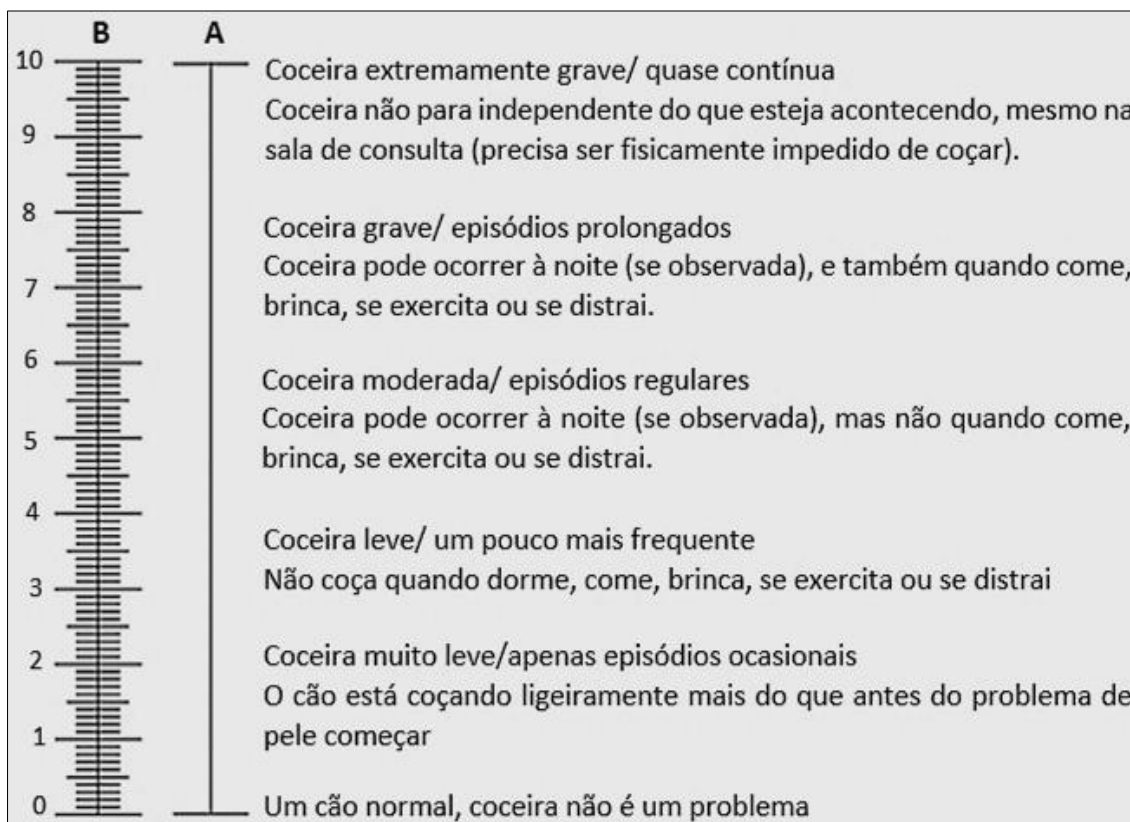


Figura 10 – Escala analógica visual de prurido, adaptada de Hill et al. (2007), referente a escala de letra A e Rybnicek et al. (2009), referente a escala de letra B.

6.2.5. Mensuração da interleucina-31

A mensuração da IL-31 sérica foi realizada em parceria com o TECSA® Laboratórios, Belo Horizonte, Minas Gerais, utilizando um kit disponível comercialmente (Canine Interleukin-31 ELISA Kit, MyBioSource®, San Diego, Califórnia, Estados Unidos da América) para detectar especificamente a IL-31 canina, com sensibilidade de 1 pg/mL.

As mensurações foram realizadas em todos os momentos do tratamento (M0, M1 e M2), seguindo todas as recomendações do fabricante. O ensaio é baseado no princípio da dupla tecnologia de sanduíche de anticorpos, podendo ser utilizado soro, plasma, sobrenadantes de cultura de células, fluido corporal e homogeneizado de tecido.

O kit foi mantido em refrigeração até o momento do processamento das amostras (2-8°C) e as etapas de realização do teste estão listadas a seguir:

- 1) O kit foi retirado de refrigeração e mantido em temperatura ambiente por 30 minutos a uma hora antes do início do teste, assim como as amostras de soro congeladas;
- 2) Os poços de cada *Standard* (A → F, 0 pg/mL, 25 pg/mL, 50 pg/mL, 100 pg/mL, 200 pg/mL, 400 pg/mL, respectivamente), bem como os poços correspondentes de cada amostra foram definidos no mapa do teste;
- 3) 50 µl de cada *Standard* foram adicionados em seus respectivos poços e na sequência, um poço foi definido como controle do teste;
- 4) Foram adicionados 10 µl de cada amostra de soro com 40 µl do diluente disponível no kit;
- 5) Em seguida, foram adicionados 100 µl do conjugado em cada poço;
- 6) A placa foi coberta com a película de vedação, agitada suavemente, e permaneceu por 60 minutos em incubação a 37°C, sendo homogeneizada a cada 10 minutos;
- 7) Após o período de incubação, a película de vedação foi removida, a placa foi secada, e 350 µL da solução de lavagem foram adicionados aos poços, deixando a placa em repouso por um minuto, com repetição de cinco lavagens;
- 8) Após a última lavagem, foram adicionados 50 µl de solução de cromogênica A e, em seguida, 50 µl da solução cromogênica B em cada um dos poços;
- 9) A placa foi incubada por mais 15 minutos a 37°C, protegida da luz para o desenvolvimento de cor;
- 10) Após incubação, foram adicionados 50 µl de solução de parada (*Stop Solution*) para interromper a reação;
- 11) As medidas de absorbância (densidade ótica) de cada poço foram definidas por um comprimento de onda de 450 nm, em até 15 minutos após a etapa da solução de parada;
- 12) Por último, foi gerada a equação de regressão linear da curva padrão de cinco pontos diante das concentrações dos valores de densidade ótica obtidos.

6.2.6. Cronograma do delineamento experimental

M0 (0 dias)	M1 (4 semanas)	M2 (8 semanas)
1ª aplicação do lokivetmab	2ª aplicação do lokivetmab	-
Colheita de sangue para mensuração da IL-31	Colheita de sangue para mensuração da IL-31	Colheita de sangue para mensuração da IL-31
CADESI-04	CADESI-04	CADESI-04
pVAS	pVAS	pVAS

M0 = momento 0; M1 = momento 1; M2 = momento 2; CADESI-04 = índice de extensão e gravidade da dermatite atópica canina; pVAS = escala analógica visual de prurido; IL-31 = interleucina-31.

6.3. Análise Estatística

Todas as análises estatísticas foram realizadas através do software R versão 3.6.1 (R Core Team, 2019). Para testar se existiam diferenças entre os três momentos do tratamento em relação às variáveis quantitativas CADESI-04, pVAS e IL-31, 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. 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. As variáveis CADESI-04 e pVAS apresentaram distribuição normal no teste de normalidade (Shapiro-Wilk), já a variável IL-31 apresentou um *outlier*. Em todo o trabalho assumiu-se o nível de significância de 5%, ou seja, os dados foram considerados significantes quando $p < 0,05$. Além disso, foi calculada a correlação não paramétrica de Spearman para cada dupla de variáveis analisadas.

6.4. Resultados e Discussão

Os dados demográficos dos cães com dermatite atópica encontram-se na Tabela 2. De dez cães, cinco eram machos (quatro orquiectomizados e um não) e cinco fêmeas (quatro ovariectomizadas e uma não). A distribuição quanto à raça está representada na Figura 11. A idade média dos cães foi de 4,7 anos e o peso corporal médio foi de 8,1 kg.

Tabela 2 – Dados demográficos de dez cães com dermatite atópica provenientes da rotina clínica do serviço de dermatologia do Hospital Veterinário da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais:

Cão	Sexo	Status reprodutivo	Raça	Idade (anos)	Peso (kg)
1	F	Castrada	Shih Tzu	2,6	6,6
2	M	Castrado	Pug	3,1	9,25
3	F	Castrada	Yorkshire Terrier	3,2	3,9
4	M	Castrado	SRD	1,3	9,4
5	F	Castrada	Bulldog Francês	4	8,6
6	F	Não castrada	Pug	6,4	8
7	M	Castrado	Shih Tzu	3	8
8	F	Castrada	Lhasa Apso	6,1	9,6
9	M	Não castrado	Shih Tzu	6	8,8
10	M	Castrado	Shih Tzu	11	8,6

SRD = sem raça definida.

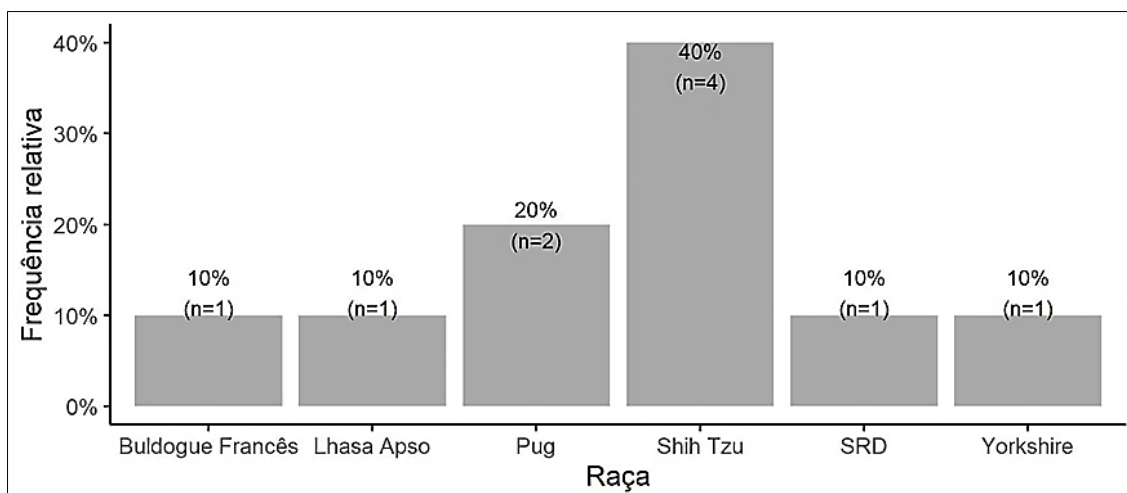


Figura 11 – Frequência relativa quanto à raça dos cães atópicos incluídos no estudo.

A média e valores mínimos e máximos obtidos de hemograma e bioquímica sérica dos cães antes do tratamento encontram-se na Tabela 3. Os resultados das pontuações CADESI-04, pVAS, dos níveis séricos de IL-31 e a dose utilizada do lokivetmab em cada um dos cães nos três momentos avaliados estão descritos na Tabela 4.

Tabela 3 – Resultados obtidos de hemograma e bioquímica sérica dos dez cães atópicos antes do tratamento com lokivetmab:

(Continua)

ERITROGRAMA			
Teste	Média (mín./ máx.)		Referência
Hemácias ($\times 10^6$ céls/ μ l)	6,93 (5,94/ 7,88)		5,5-8,5
Hemoglobina (g/dL)	16,85 (14,6/ 19)		12-18
Volume globular (%)	46,7 (40/ 53)		37-55
VCM (fL)	67,36 (59,35/ 74,4)		60-77
CHCM (g/dL)	36,11 (34,4/ 37,75)		32-36
HCM (g/dL)	24,30 (21,66/ 25,6)		19,5-24,5
RDW	13,84 (11,7/ 15/32)		12-15
LEUCOGRAMA			
Teste	Média (mín./ máx.)		Referência
Leucócitos totais	10.955 (7.280/ 15.500)		6.000-17.000
Leucometria diferencial	Relativa (%)	Absoluta (céls/mL)	Referência
Mielócito	0	0	0
Metamielócito	0	0	0
Bastonetes	0,3 (0/ 3)	43,8 (0/ 438)	0-300
Segmentados	73,5 (63/ 83)	7.216,68 (4.659,2/ 12.090)	3.000-11.500
Linfócitos	19 (9/ 30)	1.930,38 (990/ 3.720)	1.000-4.800
Monócitos	3,9 (1/ 7)	422,25 (124/ 770)	150-1.350
Eosinófilos	2,3 (0/ 6)	266,41 (0/ 744)	100-1.250
Basófilos	0	0	Raros
PLAQUETOGRAMA			
Teste	Média (mín./ máx.)		Referência
Plaquetas (céls/ μ l)	326.800 (240.000/ 495.000)		175.000-500.000
BIOQUÍMICA SÉRICA			
Teste	Média (mín./ máx.)		Referência
Ureia (mg/dL)	36,57 (20,72/ 54)		20-56

Tabela 3 – Resultados obtidos de hemograma e bioquímica sérica dos dez cães atópicos antes do tratamento com lokivetmab:

(Conclusão)

BIOQUÍMICA SÉRICA		
Teste	Média (mín./ máx.)	Referência
ALT (U/L)	42 (24,6/ 87,5)	0-110
AST (U/L)	31,11 (19,1/ 48,1)	0-100
GGT (U/L)	3,99 (0/ 9,6)	0-25
FA (U/L)	49,99 (10,42/ 127,64)	20-156
Glicose (mg/dL)	103,33 (83,71/ 117,92)	76-119
Proteínas totais (g/dL)	6,09 (5,43/ 7,06)	5,4-7,5
Albumina (g/dL)	3,48 (2,88/ 4,26)	2,3-3,1
Globulinas (mg/dL)	2,60 (1,27/ 3,42)	2,7-4,4

Tabela 4 – Resultados das pontuações do índice de extensão e gravidade da dermatite atópica canina, da escala analógica visual de prurido e das concentrações séricas da interleucina-31 canina (em pg/mL) nos três momentos avaliados, e a dose utilizada de lokivetmab em cada cão do grupo de dez cães com dermatite atópica canina:

Cão	CADESI-04			pVAS			IL-31 sérica			Dose mg/kg
	M0	M1	M2	M0	M1	M2	M0	M1	M2	
1	28,33	55	34,33	7,6	5,5	4,8	544,83	129	277,33	3
2	32,33	32,66	33,66	8,2	6,1	5,9	188,16	169,83	159	2,1
3	21,66	14,66	15,33	6,7	4	5,8	188,16	135,66	121,5	2,5
4	17,33	5	6,66	6,2	2,8	2,9	268,16	169	126,5	3,1
5	30	29,33	29,33	9,8	5,5	6,2	182,33	156,5	196,5	2,3
6	15,33	19,66	16,66	9,6	6,6	5,8	279	144	137,33	2,5
7	14,33	12,33	26	5,9	2	3,8	188,16	245,66	237,33	2,5
8	31,66	32	40	5,7	3,8	5,8	261,5	146,16	192,33	3,1
9	16,33	24,33	24,66	7,8	7,5	5,5	249	251,5	229,83	2,2
10	25,33	32	29,66	6,8	3,5	3,7	209,83	164	175,66	2,3

CADESI-04 = índice de extensão e gravidade da dermatite atópica canina; pVAS = escala analógica visual de prurido; IL-31 = interleucina-31; M0 = momento 0; M1 = momento 1; M2 = momento 2.

A análise estatística descritiva das variáveis quantitativas, calculando os principais índices como média, mediana, desvio-padrão, coeficiente de variação e quartis, considerando valores globais e em cada momento, está representada na Tabela 5.

Tabela 5 – Análise estatística descritiva das variáveis quantitativas no momento global e nos três momentos do tratamento com lokivetmab:

(Continua)

Variável	Momento	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	Coeficiente de Variação
Idade (anos)	GERAL	4,7	2,7	1,3	3	3,6	6,1	11	58%
Peso (kg)	GERAL	8,1	1,6	3,9	8	8,6	9,25	9,6	20%
Dose (mg/kg) lokivetmab	GERAL	2,6	0,4	2,1	2,3	2,5	3	3,1	14%
CADESI-04	GERAL	24,9	10,5	5	16,33	25,665	32	55	42%
CADESI-04	M0	23,3	7,1	14,33	16,33	23,495	30	32,33	31%

Tabela 5 – Análise estatística descritiva das variáveis quantitativas no momento global e nos três momentos do tratamento com lokivetmab:

Variável	Momento	(Conclusão)							
		Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	Coefficiente de Variação
CADESI-04	M1	25,7	14,0	5	14,66	26,83	32	55	55%
CADESI-04	M2	25,6	10,1	6,66	16,66	27,665	33,66	40	40%
pVAS (cm)	GERAL	5,7	1,9	2	4	5,8	6,7	9,8	33%
pVAS (cm)	M0	7,4	1,4	5,7	6,2	7,2	8,2	9,8	19%
pVAS (cm)	M1	4,7	1,8	2	3,5	4,75	6,1	7,5	38%
pVAS (cm)	M2	5,0	1,2	2,9	3,8	5,65	5,8	6,2	23%
IL-31 (pg/mL)	GERAL	204,1	80,4	121,5	156,5	188,16	245,66	544,83	39%
IL-31 (pg/mL)	M0	255,9	108,3	182,33	188,16	229,415	268,16	544,83	42%
IL-31 (pg/mL)	M1	171,1	43,0	129	144	160,25	169,83	251,5	25%
IL-31 (pg/mL)	M2	185,3	51,6	121,5	137,33	183,995	229,83	277,33	28%

CADESI-04 = Índice de extensão e gravidade da dermatite atópica canina; pVAS = escala analógica visual de prurido; IL-31 = interleucina-31; M0 = momento 0; M1 = momento 1; M2 = momento 2.

O número amostral do experimento corrobora com outros trabalhos relacionados à resposta inflamatória de cães com DAC por avaliação de citocinas e à influência do lokivetmab na patogênese da doença (Ribeiro, 2019; Szczepanik et al., 2019). A escolha de soro como material biológico para mensuração da IL-31 canina se baseou em outros artigos já publicados (Gonzales et al., 2013; Michels et al., 2016a; Marsella et al., 2018; Ribeiro, 2019) e devido à escassez de dados disponíveis, uma vez que, alguns autores sugeriram que investigações contínuas de IL-31 na população canina atópica seriam necessárias para determinar se os níveis séricos se correlacionam com parâmetros variáveis individuais como sexo, idade e peso corporal, além da gravidade da doença, para melhorar a compreensão do papel da IL-31 (Gonzales et al., 2013; Marsella et al., 2018).

Gonzales et al. (2013) estabeleceram em seu estudo os seguintes critérios de inclusão: DAC crônica não sazonal há pelo menos 1 ano; exclusão de DAPP e hipersensibilidade alimentar; exclusão de infecções bacterianas ou fúngicas, otites, parasitismo interno e externo; e doenças metabólicas. Critérios semelhantes foram implementados por Michels et al. (2016a) e Szczepanik et al. (2019). Para o presente estudo, os critérios de inclusão foram similares a estudos progressos, uma vez que Gonzales et al. (2013) avaliaram o papel da IL-31 no prurido de cães naturalmente atópicos, Michels et al. (2016a) determinaram a dose de maior eficácia do lokivetmab na redução do prurido, e

Szczepanik et al. (2019) também avaliaram a influência do lokivetmab na patogênese da DAC, porém, com foco na avaliação da barreira cutânea.

Apesar de não terem sido realizados exames hormonais nos dez pacientes atópicos, o hemograma e bioquímica sérica foram realizados previamente em todos os cães, não sendo observada alteração digna de nota nos valores encontrados. Além disso, nenhum dos cães apresentava sinais clínicos sugestivos ou diagnóstico de endocrinopatias e outras morbidades de quaisquer sistemas.

Quanto às pontuações CADESI-04 todos os cães do estudo encontravam-se na gravidade leve da doença no momento inicial. Entretanto, durante o tratamento, um cão atingiu pontuação de gravidade moderada no M1 e um cão no M2 (1 e 8, respectivamente). O cão 4 apresentou-se em remissão da doença, atingindo pontuação abaixo de 10 no CADESI-04 nos momentos M1 e M2 (Tabela 6).

Não houve diferença estatística significativa ($p = 0,515$) nas pontuações CADESI-04 entre os três momentos avaliados (Figura 12), corroborando com o achado de que o lokivetmab não previne o desenvolvimento de lesões cutâneas (Olivry e Banovic, 2019). Entretanto, difere dos resultados publicados em outros trabalhos (Moyaert et al., 2017; Szczepanik et al., 2020), cujos autores observaram queda significativa das pontuações após quatro semanas da aplicação do lokivetmab. Michels et al. (2016a) detectaram que a maioria dos cães tratados com lokivetmab em maior dose, obtiveram redução mais significativa das pontuações em comparação aos tratados com doses menores. Isso sugere que quanto maior a dose administrada do mAb, mais significativa pode ser a redução da gravidade da doença.

A ausência da melhora clínica significativa das lesões pode ser explicada pela ampla ação da resposta Th2, em que mesmo com o mAb bloqueando a ação da IL-31 completamente, existem diversas citocinas e outros mediadores inflamatórios participando do desenvolvimento da inflamação, como IL-4, IL-5 e IL-13, além da IL-25, IL-17 e TSLP (Tamamoto-Mochizuki et al., 2019).

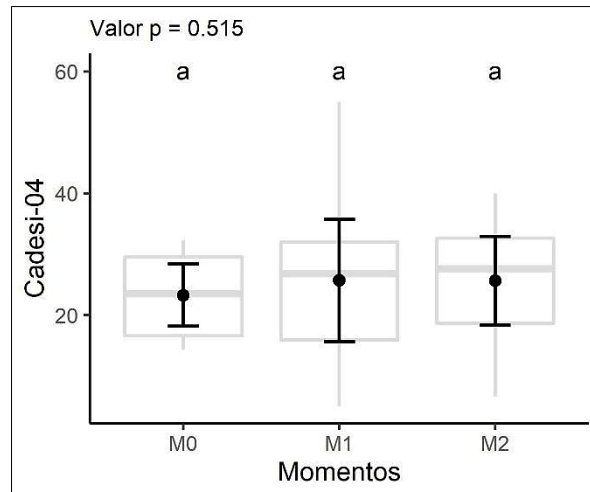
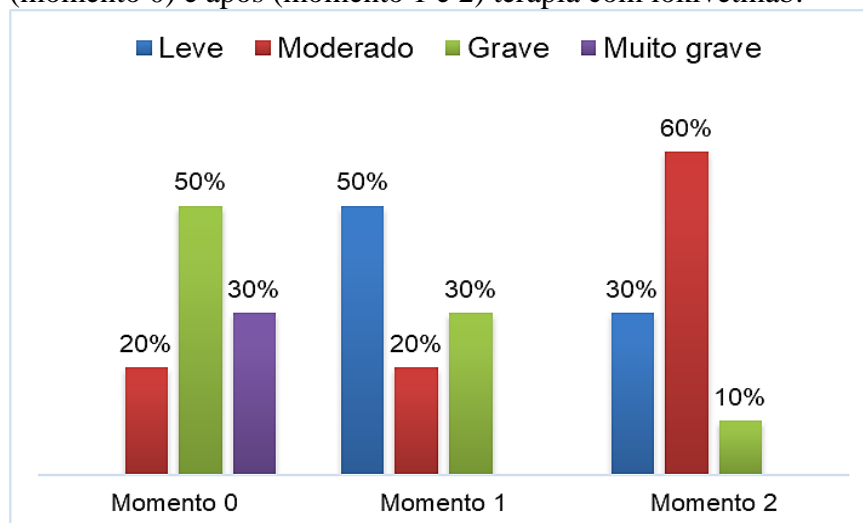


Figura 12 – Boxplot das pontuações CADESI-04 em cada momento do tratamento (M0, M1, M2). As letras acima de cada grupo representam as comparações múltiplas. Grupos que compartilham pelo menos uma mesma letra, não possuem diferenças significativas entre si a um nível de significância de 5%.

Com relação ao prurido, avaliado pela pVAS, foi observado que a maioria dos cães do estudo (80%) apresentou prurido muito grave ou grave antes da terapia (M0), 30% e 50%, respectivamente. Após a primeira aplicação do mAb (M1), nenhum cão apresentou prurido muito grave, e a quantidade de cães que apresentaram prurido grave reduziu em 30%, sendo que 70% dos cães apresentaram prurido moderado ou leve, 20% e 50%, respectivamente. Após as duas aplicações (M2), nenhum cão apresentou prurido muito grave e os cães que foram classificados com prurido grave reduziram, novamente, para 10%, com 60% dos cães apresentando prurido moderado e 30% leve (Gráfico 7).

Gráfico 7: Frequência relativa do prurido em cães atópicos antes (momento 0) e após (momento 1 e 2) terapia com lokivetmab:



Houve diferença estatística significativa ($p < 0,001$) nos valores da pVAS entre os momentos M0 e M1 e M0 e M2 do tratamento. Não houve diferença estatística significativa entre os momentos M1 e M2 do tratamento (Figura 13), mostrando que a maior redução do prurido ocorre de fato, quatro semanas após a primeira aplicação, com 36,4% de redução da pVAS, como também foi observado por outros autores (Moyaert et al., 2017; Szczepanik et al., 2020). Este achado reforça a hipótese que a partir da segunda aplicação do mAb o prurido se mantém leve a moderado e que o lokivetmab é uma terapia de manutenção desse sinal clínico nos cães com DAC.

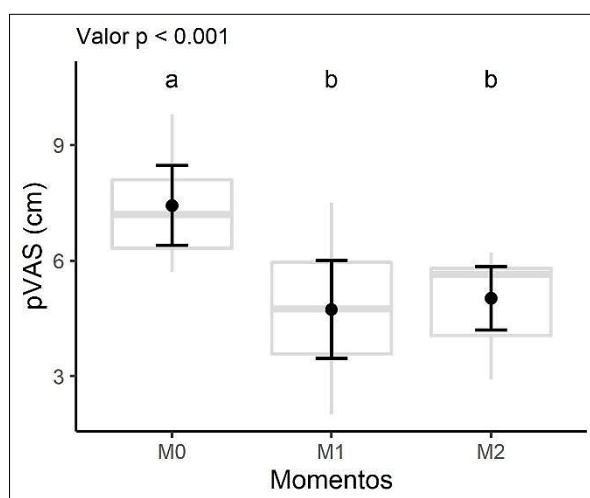


Figura 13 – Boxplot da pVAS em cada momento do tratamento (M0, M1, M2). As letras acima de cada grupo representam as comparações múltiplas. Grupos que compartilham pelo menos uma mesma letra, não possuem diferenças significativas entre si a um nível de significância de 5%.

A resposta satisfatória do lokivetmab no prurido foi avaliada por uma redução ≥ 2 cm na pVAS (Souza et al., 2018) e uma resposta muito satisfatória foi definida por redução $\geq 50\%$, que também foi detectada (Tabela 7). Nenhum cão atingiu valores de prurido considerados normais (0-1,9 cm), ou seja, nível em que os tutores não procurariam o atendimento veterinário (Rybnicek et al., 2009). Porém, houve redução de 2,7 cm na média da pVAS entre M0 e M1 e de 2,4 cm entre M0 e M2. A melhora do prurido foi alcançada em oito dos dez cães (80%), após a administração de lokivetmab, resultados similares aos encontrados por Souza et al. (2018), onde a melhora foi de 87,8%. Porém, a redução da pVAS $\geq 50\%$ foi encontrada apenas em 20% e 10% após a primeira e segunda aplicação do lokivetmab, respectivamente, resultados muito inferiores aos de Souza et al. (2018), que observaram essa melhora em 77% dos cães tratados. A diferença

pode ser explicada pela alta população de cães avaliados (135 cães) se tratando de estudo retrospectivo, comparada aos dez cães aqui acompanhados.

Souza et al., (2018) observaram ainda pVAS média dos cães equivalente a 6,5 (1 a 10) antes da terapia com lokivetmab, e, após a administração do mAb quase todos os cães (132/135) apresentaram pVAS média de 1,5 (0 a 8,5). No presente estudo, antes da terapia, o pVAS médio antes da terapia foi de 7,42 (5,7 a 9,8); entre o M0 e M1, foi de 4,73 (2 a 7,5); e entre o M1 e M2 foi de 5,02 (2,9 a 6,2). Neste trabalho, apenas um cão (cão 8) foi considerado falha terapêutica, pois não obteve melhora satisfatória no prurido (≥ 2 cm na pVAS) tanto em M1 como M2.

Dois cães reduziram $\geq 50\%$ a pVAS entre M0 e M1 e apenas um cão entre M1 e M2 (Tabela 6), o que contrasta com os resultados obtidos por Szczepanik et al. (2020), que observaram melhora $\geq 50\%$ em 67,4% dos cães quatro semanas após aplicação de lokivetmab e em 84,26% após oito semanas, semelhante aos achados de Silva (2019), que após quatro semanas da primeira aplicação observou essa melhora em 64,71% dos cães e após duas aplicações, em 76,47%.

No presente trabalho, nenhum dos dez cães tratados obteve pVAS inferior a 2 cm ao final do acompanhamento, o que contrasta com achados de Moyaert et al. (2017), onde 76,3% dos cães foram avaliados como "normais" em termos de prurido ao final do estudo. Entretanto, esses cães receberam aplicações de lokivetmab mensalmente por seis meses, período superior ao do presente experimento.

Tabela 6 – Redução das pontuações do índice de extensão e gravidade da dermatite atópica canina (CADESI-04) e da escala analógica visual de prurido (pVAS) entre os momentos (M1 e M2) após aplicações de lokivetmab:

	4 semanas		8 semanas	
	N (10)	%	N (10)	%
Prurido (pVAS)				
Redução na pVAS $\geq 2,0$ cm	8	80	8	80
pVAS < 2,0cm (normal)	-	-	-	-
Redução na pVAS $\geq 50\%$	2	20	1	10
Gravidade das lesões (CADESI-04)				
CADESI-04 <10 (remissão)	1	10	1	10
CADESI-04 redução $\geq 50\%$	1	10	1	10

Szczepanik et al. (2019) avaliaram a influência do lokivetmab sobre a TEWL, a qual foi mensurada em seis regiões diferentes. A diminuição na média da TEWL observada durante tratamento com lokivetmab foi explicada pela redução na inflamação na maioria das áreas examinadas, a qual levou à normalização da função da barreira epidérmica. O autotrauma decorrente do prurido na DAC danifica o estrato córneo, sendo assim, a redução do prurido associada ao tratamento com lokivetmab pode ajudar a normalizar a barreira epidérmica (Szczepanik et al. (2019).

Comparando-se o mAb com outros fármacos, como a ciclosporina, foi visto que a aplicação de lokivetmab foi superior quanto à redução do prurido (51,9 *versus* 43,72%), porém quanto às lesões clínicas (CADESI) não houve diferença significativa (54,17 *versus* 56,86%) após quatro semanas de tratamento (Moyaert et al., 2017).

A variável IL-31 foi detectada em todos os cães com dermatite atópica e apresentou-se com média de 255,91 pg/mL, variando entre 182,33 e 544,83 pg/mL (cães 5 e 1, respectivamente) antes do tratamento com lokivetmab. Após a primeira aplicação de lokivetmab, ou seja, quatro semanas após, oito dos dez cães apresentaram redução no nível sérico dessa citocina. Apenas os cães 7 e 9 apresentaram aumento da IL-31 em quatro semanas. Após oito semanas do início do tratamento, ou seja, quatro semanas após a segunda dose do mAb, também oito cães apresentaram redução da variável comparada ao momento inicial. Os cães 5 e 7 apresentaram aumento em relação ao M0. Entre os momentos (M0, M1 e M2), quatro cães apresentaram redução gradativa da IL-31 sérica, enquanto quatro apresentam redução entre M0 e M1, mas aumentando novamente em M2 e apenas um cão (7) apresentou aumento tanto no M1 e M2 em relação ao momento zero. Houve diferença estatística significativa ($p = 0,031$) nos níveis séricos de IL-31 entre os momentos M0 e M2 do tratamento. Entretanto, essa diferença não existiu entre os momentos M0 e M1 e M1 e M2 do tratamento (Figura 14).

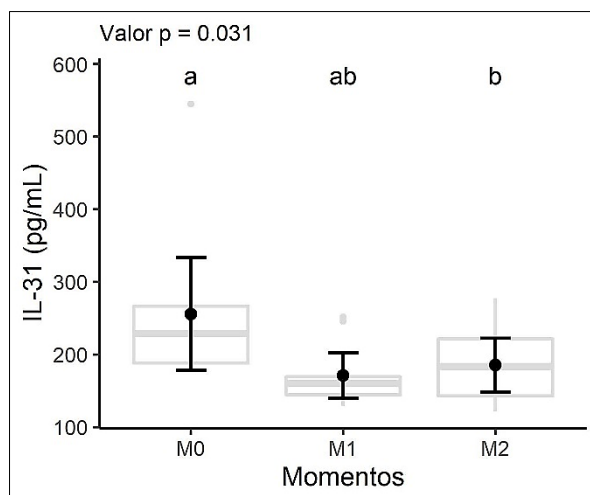


Figura 14 – Boxplot dos níveis séricos de IL-31 canina em cada momento do tratamento (M0, M1, M2). As letras acima de cada grupo representam as comparações múltiplas. Grupos que compartilham pelo menos uma mesma letra, não possuem diferenças significativas entre si a um nível de significância de 5%.

Gonzales et al. (2013) detectaram que os níveis séricos da IL-31 se encontravam aumentados em 57% (127/223) dos cães diagnosticados com DAC espontânea, concluindo que a citocina está desregulada nestes cães, o que contribui significativamente para a patogênese da doença e manifestação dos sinais clínicos, principalmente do prurido. No entanto, 43% dos animais com DAC não apresentaram níveis séricos detectáveis de IL-31 (<13 pg/mL). Os autores sugerem que alguns cães podem ter níveis circulantes baixos de IL-31 ou, possivelmente, a IL-31 estaria atuando localmente nos tecidos alvo e não sendo liberada na circulação sanguínea.

Alternativamente, a desregulação de IL-31 pode não ter um papel significativo na patogênese da DAC nesses animais com níveis indetectáveis de IL-31. Outra hipótese é o fato de que a DAC é uma doença multifatorial que envolve interações complexas entre genes de suscetibilidade, disfunção da barreira cutânea, disfunção imunológica e interações neuroimunes que coletivamente produzem hipersensibilidade a alérgenos ambientais e a condição de prurido. Devido à complexidade da doença, compreende-se que nem todos os cães exibem as mesmas alterações moleculares ou celulares (Gonzales et al., 2013).

Ainda, Gonzales et al. (2013), observaram que 52% dos cães (117/223) apresentaram níveis séricos de IL-31 entre 13 e 1.000 pg/mL e 4% (10/223) apresentaram níveis acima

de 1000 pg/mL, porém, nenhuma correlação entre os níveis séricos de IL-31 e gravidade da doença foi avaliada.

Marsella et al. (2018) investigaram a correlação da IL-31 sérica com a gravidade da DAC em um modelo experimental de cães da raça Beagle sensibilizados epicutâneamente com *Dermatophagoides farinae*. Os cães foram sensibilizados duas vezes por semana durante quatro semanas e a avaliação da gravidade da doença foi realizada através do CADESI-03 antes e após quatro semanas. Nos mesmos momentos da avaliação clínica, amostras de soro foram colhidas para mensuração da IL-31 canina. Não foi encontrada correlação positiva entre o CADESI-03 e IL-31 sérica no momento inicial, entretanto, essa correlação foi observada após quatro semanas, sendo que em 50% dos cães o CADESI-03 aumentou de leve para moderado ou grave. As autoras levantaram a hipótese que a exposição contínua aos alérgenos (doença crônica) e a crise ativa podem ser necessárias para detectar maior correlação entre gravidade da doença e os níveis de IL-31.

A sensibilidade do ensaio para mensuração da IL-31 canina foi de 1 pg/mL, corroborando com Marsella et al. (2018), porém, os níveis de IL-31 variaram entre 182,33 e 544,83 pg/mL, diferindo dos níveis observados pelas autoras, os quais foram inferiores, atingindo de 8 a 121 pg/mL, e por Ribeiro (2019) cujo intervalo de detecção variou entre 8,6 e 430 pg/mL. Apesar disso, esses resultados citados anteriormente não tiveram tantas variações nos níveis e nem níveis tão altos quanto os relatados inicialmente por Gonzales et al. (2013). Michels et al. (2016a) também observaram concentrações séricas de IL-31 discrepantes, porém, seus níveis foram detectáveis em apenas 17,5% (37/211) dos cães, sendo a média basal de IL-31 de 270 pg/mL, o que corrobora com a média do presente trabalho antes de qualquer aplicação de lokivetmab (255,91 pg/mL).

Ribeiro (2019) também trabalhou com dez cães atópicos, porém, tratados com oclacitinib durante 30 dias consecutivos e avaliando CADESI-04, pVAS e concentrações séricas de diversas citocinas envolvidas na patogênese da DAC, incluindo a IL-31, também mensurada pelo método ELISA. Ao fim do tratamento, o oclacitinib reduziu todas as citocinas estudadas, principalmente a IL-31, além da redução no CADESI-04 e na pVAS. A concentração sérica mediana de IL-31 antes do oclacitinib foi de 59,2 pg/mL e 30 dias depois, 40,9 pg/mL, valores muito inferiores aos detectados no presente trabalho, onde foi observada mediana de 229,415 pg/mL no M0, 160,25 pg/mL no M1 e 183,995 pg/mL

no M2. No entanto, Ribeiro (2019) não observou correlação estatisticamente significativa entre as concentrações das citocinas com as variáveis CADESI-04 e pVAS.

Os resultados das correlações entre as variáveis CADESI-04, pVAS, níveis séricos de IL-31 e dose de lokivetmab, em duas diferentes associações entre elas, estão demonstradas na Tabela 7.

Tabela 7 – Correlação não paramétrica de Spearman para cada dupla de variáveis:

Variável 1	Variável 2	Correlação	Valor p
Cadesi-04	pVAS (cm)	0,08	0,661
Cadesi-04	IL-31(pg/mL)	0,03	0,856
Cadesi-04	Dose lokivetmab (mg/kg)	-0,18	0,338
pVAS (cm)	IL-31(pg/mL)	0,37*	0,047*
pVAS (cm)	Dose lokivetmab (mg/kg)	-0,38*	0,040*
IL-31(pg/mL)	Dose lokivetmab (mg/kg)	0,00	0,989

*Diferença estatística significativa.

No presente estudo, não foi observada correlação estatisticamente significativa entre a gravidade da doença, através do CADESI-04, e os níveis séricos de IL-31 ($p = 0,03$ e correlação = 0,856). Também não houve correlação estatisticamente significativa ($p = 0,41$ e correlação = 0,16) entre CADESI-04 e a idade dos cães com dermatite atópica, demonstrando que mesmo cães mais velhos, com doença mais crônica, não apresentam maior gravidade da doença, como representado na Figura 15.

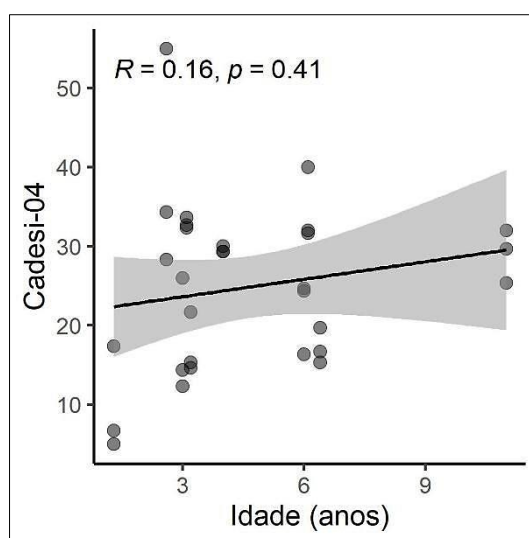


Figura 15 - Gráfico de dispersão mostrando ausência de correlação entre a gravidade da doença pelas pontuações CADESI-04 e idade dos cães atópicos em todos os momentos do tratamento (M0, M1, M2).

No entanto, no presente trabalho, apesar de considerada estatisticamente fraca, houve correlação positiva significativa ($p = 0,047$ e correlação = 0,37) entre a pVAS e nível sérico de IL-31, ou seja, quanto maior o nível circulante de IL-31, maior a pVAS, conforme ilustrado na Figura 16. Este achado reforça o papel da IL-31 na patogênese do prurido em cães com DAC. Além disso, o fato de que o lokivetmab atua seletivamente nesta citocina, permite que seja proposta que a gravidade da doença nos cães tratados com essa terapia biológica, seja avaliada através dos escores da pVAS e não através das pontuações CADESI-04, uma vez que este índice inclui marcador de doença crônica (liquenificação) e sinais clínicos de citocinas do fenótipo Th2, que são secretadas juntamente com a IL-31, contribuindo para o surgimento de lesões clínicas primárias.

É importante ressaltar também, que os cães deste trabalho foram incluídos com pontuações CADESI-04 leve, pois o lokivetmab é uma terapia indicada em fase proativa ou de manutenção, quando os sinais de inflamação já estão controlados (Olivry e Banovic, 2019). Para aqueles cães com alterações crônicas significativas da pele, o lokivetmab não é uma monoterapia ideal devido à falta de ação anti-inflamatória do agente (Jackson e Forsythe, 2020).

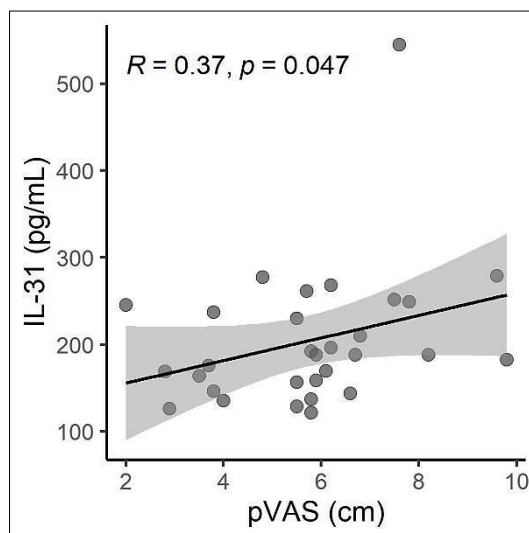


Figura 16 - Gráfico de dispersão da correlação entre níveis séricos de IL-31 e os valores de pVAS em todos os momentos do tratamento (M0, M1, M2).

Com os achados observados, também é permitido propor que o lokivetmab seja utilizado em fase reativa da doença como parte de uma terapia integrativa, com a finalidade de

reduzir o prurido de forma mais significativa nos pacientes em crise atópica, além de diminuir a necessidade de outros fármacos de ação mais ampla.

Quanto à posologia utilizada de lokivetmab seguiu-se a orientação do fabricante (1 a 3,3 mg/kg), variando entre 2,1 a 3,1 mg/kg de peso corporal, com média de 2,6 mg/kg. Intervalo de dose semelhante foi observado também em outro trabalho (Souza et al., 2018). No entanto, a dose média aqui administrada foi superior às utilizadas por outros autores: 1,26 mg/kg (Szczepanik et al., 2020), 1,3mg/kg (Moyaert et al., 2017) e 2mg/kg (Michels et al., 2016a). Em alguns estudos (Michels et al., 2016a; Silva, 2019) os cães permaneceram durante 30 minutos após cada dose para observação de sinais de reações de hipersensibilidade imediata, como pápulas e vômitos, porém, não houve relatos da ocorrência de reações de hipersensibilidade imediatamente após a administração, assim como foi observado por outros autores (Moyaert et al., 2017) e neste estudo.

O intervalo de quatro semanas entre as aplicações também seguiu a orientação do fabricante e do observado em outros trabalhos (Silva, 2019; Szczepanik et al., 2019). Além disso, com base nos resultados de Michels et al. (2016a), a administração de 2 mg/kg de lokivetmab resulta em boa eficácia na maioria dos cães atópicos por pelo menos um mês. A determinação de duas aplicações de lokivetmab também se deve ao fato de que alguns cães podem apresentar boa resposta terapêutica no controle do prurido a partir da segunda aplicação, enquanto outros podem deixar de responder ao mAb nas aplicações subsequentes. Silva (2019) observou que 33,33% dos cães tratados melhoraram apenas nas quatro semanas seguintes após a segunda administração do mAb. No entanto, Souza et al. (2018), observaram que um dos cães do estudo apresentou melhora do prurido após primeira dose de lokivetmab, mas não foi observado benefício após a segunda dose e dois cães pararam de responder à terapia após a segunda dose. Um deles recebeu ainda uma terceira dose seis semanas após a segunda aplicação, e novamente, nenhuma redução do prurido foi observada.

Ainda com relação à posologia, foram observadas divergências entre os estudos publicados. Silva (2019) classificou os cães de seu estudo em três categorias de acordo com a dose utilizada de lokivetmab em: baixa (1-1,2 mg/kg), média (1,2-1,3 mg/kg) e alta (>1,3 mg/kg). Nas quatro semanas após a primeira aplicação, os cães que receberam dose mais baixa atingiram melhora em primeiro lugar, seguidos dos cães de dose média e, por

fim, de dose alta. Já, com oito semanas, ou seja, quatro semanas após a segunda aplicação, os cães que receberam doses mais altas tiveram melhores resultados no controle do prurido.

Michels et al. (2016a) observaram que cães tratados com doses mais altas tiveram redução do prurido mais significativa em relação aos tratados com doses mais baixas. Após quatro semanas da aplicação, os autores detectaram sucesso terapêutico em 57% dos cães com a dose de 2 mg/kg, em comparação aos 32% com dose de 0,5 mg/kg e 21% com dose de 0,125 mg/kg. Os dados mostraram que quanto maior a dose administrada do mAb, maior o tempo em que os cães permaneceram com redução de prurido. Porém, Souza et al. (2018) não encontraram nenhuma associação significativa entre o sucesso do tratamento e dosagem de lokivetmab, com dose média de 2,2 mg/kg em cães que apresentaram sucesso no tratamento e de 2,3 mg/kg em cães que apresentaram falhas de tratamento.

No presente trabalho, apesar de considerada estatisticamente fraca, houve correlação negativa significativa ($p = 0,04$ e correlação = $-0,38$) entre a dose de lokivetmab e a pVAS, ou seja, a correlação entre as duas variáveis foi inversamente proporcional, sendo observado que, quanto maior a dose administrada de lokivetmab, menor a pVAS detectada, conforme Figura 17.

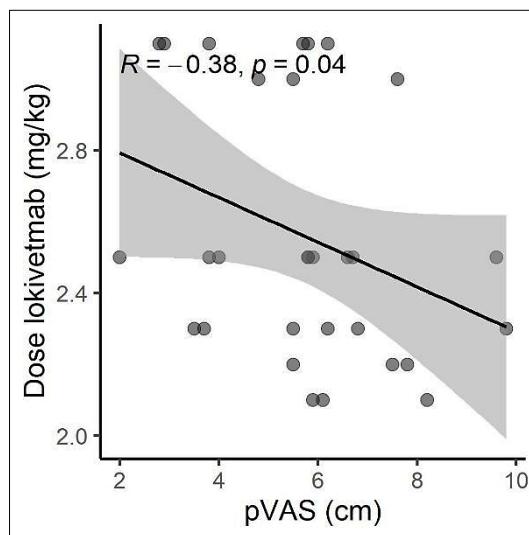


Figura 17 – Gráfico de dispersão da correlação entre a dose de lokivetmab e os valores de pVAS em todos os momentos do tratamento (M0, M1, M2).

Como o lokivetmab é um mAb caninizado, há diminuição do risco de imunogenicidade na espécie-alvo, mesmo que todos os mAbs terapêuticos sejam imunogênicos até certo ponto. Anticorpos antidrogas podem se ligar a anticorpos monoclonais terapêuticos levando à neutralização ou aumento da depuração e potencialmente resultar em eficácia diminuída, além de também ter associação com maior risco de reações de hipersensibilidade (Moyaert et al., 2017). No presente trabalho, não foram mensurados títulos de anticorpos contra o mAb lokivetmab, mas seria uma explicação plausível para cães que param de responder à terapia em aplicações subsequentes, pois alguns autores detectaram desenvolvimento de imunogenicidade em 2,5% (Michels et al., 2016b) e em 2,1% (Moyaert et al., 2017) dos cães recebendo lokivetmab.

Neste estudo, não foi possível considerar a IL-31 como biomarcador preditivo de resposta terapêutica ao lokivetmab, visto que não houve correlação entre os valores basais desta citocina com os valores de redução na pVAS (em centímetros) tanto entre os momentos M0-M1 ($p = 0,26$ e correlação = $-0,39$) como M0-M2 ($p = 0,506$ e correlação = $0,24$), conforme representado na Figura 18. No entanto, é preciso considerar que o número amostral de cães deste trabalho foi pequeno (10), existindo a possibilidade de observar-se correlação em grupos maiores de cães tratados com lokivetmab.

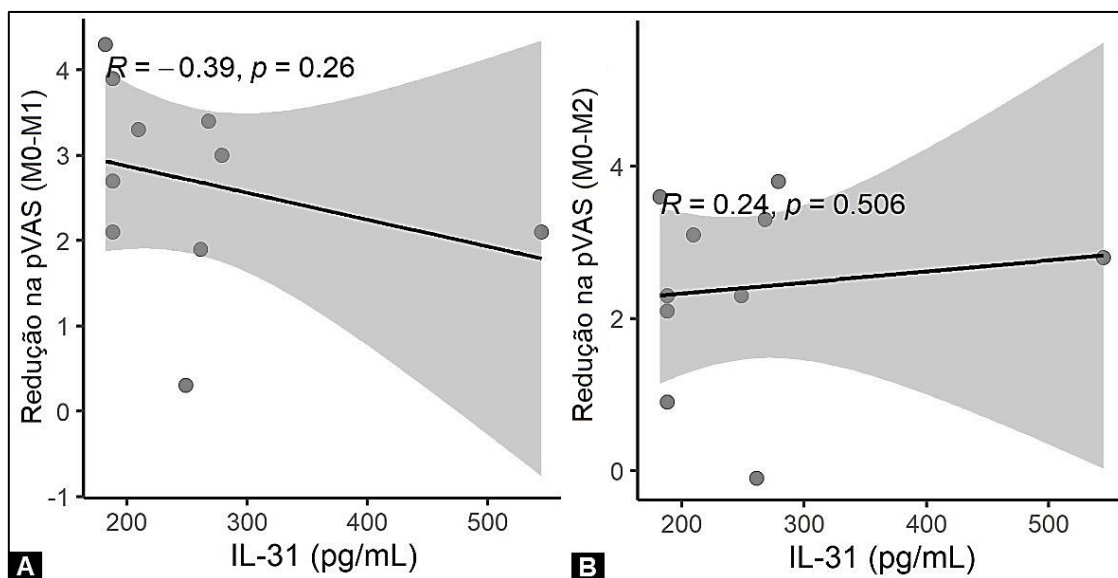


Figura 18 – Gráficos de dispersão da correlação entre a redução (em centímetros) na escala analógica visual de prurido (pVAS) e os níveis séricos basais de IL-31 (pg/mL) em cada cão atópico entre os momentos M0 e M1 (A), e M0 e M2 (B).

Dos dez cães atópicos, um desenvolveu otomalasseziose (cão 1); dois apresentaram otite externa com infecção bacteriana por bacilos ao exame citológico (cães 9 e 10); um

apresentou intertrigo ou dermatite de dobras cutâneas (cão 2); e um desenvolveu piодermite superficial (cão 5). Todos receberam apenas terapia tópicа, a qual consistia em produtos comerciais ou manipulados sem glicocorticoide na composição, exceto o cão 5 que necessitou de terapia antibacteriana sistêmica. Como a piодermite deste último ocorreu após o período experimental, não houve influência da terapia sistêmica sobre as variáveis estudadas.

As intercorrências estão descritas no Quadro 5, assim como as terapias instituídas em cada caso. Foram observadas: otite externa em 30% dos casos (3/10) e piодermite superficial em 20% (2/10), representadas na Figura 19, ambas afecções secundárias comuns de pacientes com DAC.

Cão	Momento	Intercorrência	Terapia utilizada
1	M2	Otomalasseziose	Solução otológica de miconazol 2%
2	Entre M0 e M1	Intertrigo	Lenços umedecidos terapêuticos (clorexidine 2%)
5	Quatro semanas após M2	Piодermite superficial generalizada	Antibiótico sistêmico e xampu a base de clorexidine 3%
9	Entre M0 e M1	Otite externa bacteriana (bacilos)	Solução otológica de ciprofloxacina 0,35%
10	Entre M0 e M1	Otite externa bacteriana (bacilos)	Solução otológica de ciprofloxacina 0,35%

Quadro 5 – Intercorrências observadas nos cães atópicos em cada momento do estudo e terapias utilizadas em cada um deles. M0: momento 0; M1: momento 1; M2: momento 2.



Figura 19 – A) cão 9 apresentando otite externa; B) cão 5 apresentando piодermite superficial generalizada.

FONTE: Arquivo pessoal.

Moyaert et al. (2017) detectaram que 5,6% dos cães tratados com lokivetmab tiveram otite externa e 7% tiveram piодermite bacteriana, prevalência inferior à de Michels et al. (2016b) que observaram otite externa em 13% dos cães tratados com lokivetmab e piодermite bacteriana em 9,3%. Todos os relatos de piодermite e otite externa foram classificados como "leves" ou "moderados" em gravidade pelos autores, o que diverge do presente estudo, em que os dois cães tiveram otite externa grave e necessitaram de terapia tópica para resolução da infecção.

Efeitos gastrintestinais incluindo vômito, anorexia e diarreia foram detectados em 17,3% dos cães e letargia em 5,6% (Michels et al., 2016b). Efeitos semelhantes foram observados em outro estudo dos mesmos autores (Michels et al., 2016a), sendo que o vômito, a diarreia, letargia e anorexia tiveram resolução espontânea em 87% dos casos. Nenhum dos dez cães do experimento apresentou efeitos adversos gastrintestinais ou letargia. Michels et al. (2016b) também observou complicações de infecção do trato urinário em um dos cães do estudo, o qual precisou ser retirado antes do término do acompanhamento. Além de exames hematológicos e bioquímicos, os autores também realizaram urinálise, a qual não foi feita em nenhum momento do presente estudo com dez cães atópicos. Entretanto, nenhum deles apresentou complicações relacionadas ao trato urinário durante o período experimental com lokivetmab.

Estudo comparativo de lokivetmab com a ciclosporina (Moyaert et al., 2017) mostrou que a porcentagem de cães tratados com fármacos antibacterianos sistêmicos em até três meses de terapia foi inferior no grupo tratado com ciclosporina em relação ao grupo com lokivetmab (8,3 *versus* 19%). Isso pode ser explicado pelo efeito anti-inflamatório mais amplo da ciclosporina, que resulta em melhora mais efetiva das lesões cutâneas em comparação com o efeito mais direcionado do lokivetmab, fazendo com o que os cães permaneçam mais disbióticos. Além disso, o lokivetmab interfere pouco na resposta Th2, somente bloqueia a IL31, tendo pouco efeito anti-inflamatório. Os autores concluem ser improvável que a maior necessidade de antibióticos sistêmicos no tratamento com lokivetmab seja causada por maior ocorrência de infecções secundárias, pois o número de cães que necessitaram de antibióticos foi diminuindo gradualmente com as aplicações repetidas do mAb, sugerindo que a terapia proativa com lokivetmab pode reduzir a necessidade de uso de antibacterianos em cães atópicos.

Como a IL-31 também modula a expressão de genes que codificam diferentes PAMs, uma inibição completa da sinalização dessa interleucina pode ser indesejável, pois concentrações baixas de IL-31 promovem barreira antibacteriana sem comprometer a barreira física da epiderme, sugerindo que existe um papel fisiológico potencialmente importante da IL-31 (Hänel et al., 2016).

No entanto, as diferenças entre raças e fenótipos, além dos fatores ambientais, têm potencial para influenciar no nível de eficácia do tratamento. A falta de resposta, parcial ou total também é observada com outras terapias disponíveis com mecanismo de ação mais amplo (Moyaert et al., 2017).

Para Souza et al. (2018) não houve correlação entre o sucesso do tratamento com o mAb e a idade de aparecimento de sinais clínicos, cronicidade da doença, dosagem de lokivetmab ou idade na administração inicial. Porém, quanto às variáveis grau de prurido e peso corporal, foi observado que cães com nível de prurido grave/muito grave antes do tratamento e raças de porte grande/gigante, tiveram 2,7 e 2,8 vezes mais chances de sucesso na terapia, respectivamente.

Quanto à variável idade e expressão da IL-31 sérica há escassez de informação. Em trabalho de Marsella et al., 2018 as autoras relataram que os cães estudados eram atópicos jovens e seria interessante conhecer a expressão da IL-31 em cães que apresentam a doença há anos. Neste trabalho não foi observada correlação estatística significativa (p valor = 0,858 e correlação = -0,03) entre níveis séricos de IL-31 e idade dos cães com DAC, conforme Figura 20.

Quanto ao peso corporal, Gonzales et al. (2013) não avaliaram a correlação entre essa variável e os níveis séricos de IL-31, mas os autores relataram que seria um importante fator a ser considerado, uma vez que o cão mais pesado do estudo em questão mostrou sinais de prurido tanto antes quanto após indução ao prurido com a administração da IL-31, levantando as hipóteses de que este cão poderia não ter respondido à estimulação da IL-31 ou poderia já ter níveis circulantes endógenos suficientes de IL-31 para perpetuar os sinais de prurido. Neste trabalho não foi observada correlação estatisticamente significativa (p valor = 0,686 e correlação = 0,08) entre níveis séricos de IL-31 e peso corporal dos cães com DAC, conforme Figura 21.

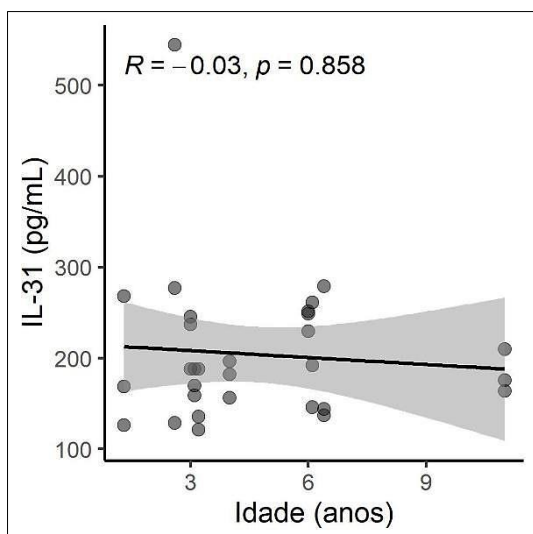


Figura 20 - Gráfico de dispersão mostrando ausência de correlação entre níveis séricos de IL-31 e idade dos cães atópicos em todos os momentos do tratamento (M0, M1, M2).

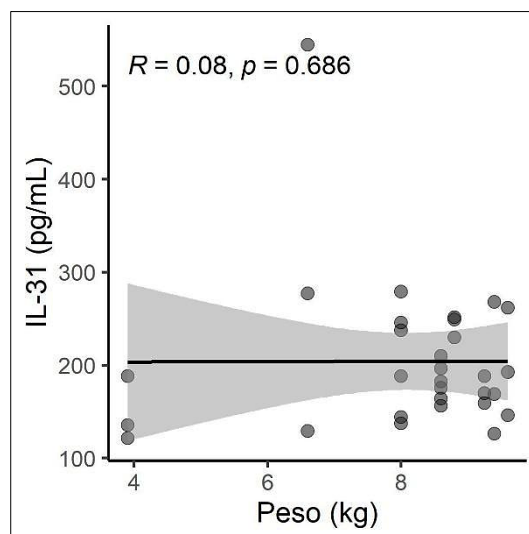


Figura 21 - Gráfico de dispersão mostrando ausência de correlação entre níveis séricos de IL-31 e peso corporal dos cães atópicos em todos os momentos do tratamento (M0, M1, M2).

Souza et al. (2018) observaram que cães que não responderam favoravelmente à terapia prévia com oclacitinib na frequência de dose a cada 12 horas, foram estatisticamente menos prováveis de responderem ao lokivetmab. Dois dos três cães com histórico de resposta completa ao oclacitinib em intervalo de dose a cada 24 horas não mostraram resposta positiva ao lokivetmab. Contudo, também ocorre o inverso: muitos cães alérgicos que respondem mal ao oclacitinib têm melhora clínica satisfatória após a administração de lokivetmab. A razão porque isso acontece ainda é desconhecida (Souza et al., 2018). Ao término do presente experimento, sete cães continuaram com as aplicações de lokivetmab, e apenas três retornaram com administração oral do oclacitinib (cães 2, 5 e 9). Os tutores dos três cães notavam melhor controle da doença com a administração de dose diária de oclacitinib.

Em estudo prospectivo de Tamamoto-Mochizuki et al. (2019) 21 cães foram acompanhados por até um ano, ou até apresentarem crises, recebendo aplicações do lokivetmab proativamente a cada quatro ou oito semanas. Apesar dos autores terem observado crises em 50% dos cães do estudo nos primeiros dois meses de monoterapia com o mAb, mais de um quarto dos casos acompanhados não apresentaram crise da doença por mais de um ano. Isso pode ser explicado porque a DAC é uma doença multifatorial que demanda uma abordagem terapêutica multifacetada e não apenas uma terapia única. Além disso, variações na patogênese da doença podem potencialmente

levar a uma heterogeneidade na eficácia da terapia proativa com lokivetmab (Tamamoto-Mochizuki et al., 2019).

Devido à complexidade e natureza multifatorial da DAC, é bem aceito que um tratamento único provavelmente não controlará satisfatoriamente a doença. Dessa forma, alguns cães podem se beneficiar mais com fármacos com maior amplitude de ação, como o oclacitinib, ciclosporina ou glicocorticoides. Em contrapartida, naqueles em que a doença pode estar intimamente ligada à sinalização de IL-31 sozinha, a eficácia do lokivetmab pode ser superior à terapia menos direcionada e associada a menos paraefeitos.

6.5. Conclusões

A redução significativa da pVAS e dos níveis séricos de IL-31 durante o tratamento com o imunobiológico lokivetmab, associada à correlação positiva detectada entre as duas variáveis, fornecem mais evidências de que o bloqueio dessa citocina tem efeitos antipruríticos importantes e que a IL-31 está diretamente envolvida na patogênese do prurido em cães com DAC. Variáveis individuais como idade e peso corporal não tiveram correlação com CADESI-04, pVAS e IL-31 sérica. A correlação observada entre a dose administrada do mAb e a pVAS sugere que alguns cães podem se beneficiar com doses mais elevadas. Apesar disso, ainda são necessários mais estudos acerca dos níveis séricos desta citocina e, mais ainda, se seus níveis poderão prever quais pacientes serão bons respondedores à terapia específica anti-IL-31, uma vez que não houve correlação entre a redução na pVAS com o nível sérico basal da IL-31, e, portanto, não foi possível inferir que os cães com níveis mais altos foram os melhores candidatos dessa modalidade terapêutica.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALVES, B. H.; VIANA, J. A.; LEIRA, M. F. et al. Dermatite atópica canina: Estudo de caso. *PUBVET*, v.12, n.8, a154, p1–6, 2018.
2. AMARANTE, C. F.; RAMADINHA, R. R.; PEREIRA, M. J. S. Atopic dermatitis: a retrospective study of associated factors in a dermatopathic canine population. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, v.37, n.1, p.13–17, 2015.
3. ANDRADE, L. S. B. Aspectos clínicos e epidemiológicos e avaliação da disbiose cutânea em cães com dermatite atópica. Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária, 116p, 2018.
4. BARBOSA, L. C. Análise imunohistoquímica da proteína interleucina-31 e filagrina e sua relação com o grau de prurido e restauração da barreira cutânea, antes e após uso de solução repositora de lipídios na epiderme de cães com dermatite atópica. Dissertação de Mestrado apresentada junto ao programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista – UNESP, campus Botucatu, 2015.
5. BIZIKOVA, P.; PUCHEU-HASTON, C. M.; EISENSCHENK, M. C. et al. Review: Role of genetics and the environment in the pathogenesis of canine atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology*, v.26, n.2, p.95-e26, 2015.
6. BOTONI, L. S. Prevalência de alérgenos causadores de dermatite atópica em cães na região metropolitana de Belo Horizonte. Monografia apresentada à UFMG como requisito parcial do Curso de Especialização em Residência em Medicina Veterinária, 2011.
7. BRANQUINHO, R.; CASTRO, T. B. Levantamento das alergopatias caninas atendidas no Distrito Federal, Brasil, no período de 2013 a 2015. *Anais do 1º Congresso Brasileiro de Dermatologia Veterinária*, Campos do Jordão, 2015.
8. CARDOSO, M. J. L.; MACHADO, L. H. A.; MELUSSI, M. et al. Dermatopatias em cães: revisão de 257 casos. *Archives of Veterinary Science*, v.16, p.66–74, 2011.
9. CEVIKBAS, F.; WANG, X.; AKIYAMA, T. et al. A Sensory Neuron-expressed Interleukin-31 Receptor Mediates T helper Cell-dependent Itch: Involvement of TRPV1 and TRPA1. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, v.133, n.2, p.448–460, 2014.
10. CORNELISSEN, C.; MARQUARDT, Y.; CZAJA, K. et al. IL-31 regulates differentiation and filaggrin expression in human organotypic skin models. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, v.129, n.12, p.126 – 433, 2012.
11. Cytopoint® Monografia Técnica, 34 páginas, Zoetis Indústria de Produtos Veterinários Ltda, Brasil, 03/2019.
12. DEBOER, D. J. The future of immunotherapy for canine atopic dermatitis: a review. *Veterinary Dermatology*, v.28, n.1, p.25-e6, 2017.

13. DEBOER, D. J.; HILLIER, A. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XV): Fundamental concepts in clinical diagnosis. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, v.81, n.3–4, p.271–276, 2001.
14. FAVROT, C.; STEFFAN, J.; SEEWALD, W. et al. A prospective study on the clinical features of chronic canine atopic dermatitis and its diagnosis. *Veterinary Dermatology*, v.21, n.1, p.23–30, 2010.
15. GASPARETTO, N. D.; TREVISAN, Y. P. A.; ALMEIDA, N. B. et al. Prevalência das doenças de pele não neoplásicas em cães no município de Cuiabá, Mato Grosso. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.33, n.3, p.359–362, 2013.
16. GONÇALVES, B. H. R. Correlação entre achados clínicos, histopatológicos e imunomarcção de interleucina 31 na pele de cães com dermatite atópica. Dissertação de mestrado, Escola de Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Goiás, 2016.
17. GONZALES, A. J.; FLECK, T.; HUMPHREY, W. R. et al. IL-31-induced pruritus in dogs: a novel experimental model to evaluate anti-pruritic effects of canine therapeutics. *Veterinary Dermatology*, v.27, p.34–e10, 2016.
18. GONZALES, A. J.; HUMPHREY, W. R.; MESSAMORE, J. E. et al. Interleukin31: its role in canine pruritus and naturally occurring canine atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology*, v.24, p.48–53, e11-42, 2013.
19. GOW, D. J.; JACKSON, H.; FORSYTHE, P. et al. Measurement of serum Interleukin 34 (IL-34) and correlation with severity and pruritus scores in client-owned dogs with atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology*, v.31, n.5, p. 359–e94, 2020.
20. GRIFFIN, C. E.; DEBOER, D. J. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XIV): clinical manifestations of canine atopic dermatitis. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, v.81, p.255–269, 2001.
21. HALLIWELL, R. Revised nomenclature for veterinary allergy. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, v.114, n.3–4, p.207–208, 2006.
22. 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. *The Journal of Immunology*, v.196, n.8, p.3233–3244, 2016.
23. HENSEL, P.; SANTORO, D.; FAVROT, C. et al. Canine atopic dermatitis: Detailed guidelines for diagnosis and allergen identification. *BMC Veterinary Research*, v.11, n.1, p.1–13, 2015.
24. HEO, W. I.; LEE, K. E.; HONG, J. Y. et al. The role of interleukin-17 in mouse models of atopic dermatitis and contact dermatitis. *Clinical and Experimental Dermatology*, v.40, p.665–671, 2015.

25. HILL, P. B.; LAU, P.; RYBNÍČEK, J. Development of an owner-assessed scale to measure the severity of pruritus in dogs. *Veterinary Dermatology*, v.18, n.5, p.301–308, 2007.
26. HILL, P. B.; LO, A.; EDEN, C. A. N. et al. Survey of the prevalence, diagnosis and treatment of dermatological conditions in small animals in general practice. *Veterinary Record*, v.158, n.16, p.533–539, 2006.
27. JACKSON, H.; FORSYTHE, P. New therapies for canine atopic dermatitis. *In Practice*, v.42, n.2, p.82-90, 2020.
28. JAEGER, K.; LINEK, M.; POWER, H. T. et al. Breed and site predispositions of dogs with atopic dermatitis: a comparison of five locations in three continents. *Veterinary Dermatology*, v.21, p.119–123, 2010.
29. KABASHIMA, K.; IRIE, H. Interleukin-31 as a clinical target for pruritus treatment. *Frontiers in Medicine*, v.8, p.1–10, 2021.
30. LARSSON, C. E.; LUCAS, R. Tratado de medicina externa: dermatologia veterinária. 2. ed. São Caetano do Sul: Interbook, 2020.
31. LOEFFLER, A.; SOARES-MAGALHÃES, R.; BOND, R.; LLOYD, D. H. A retrospective analysis of case series using home-prepared and chicken hydrolysate diets in the diagnosis of adverse food reactions in 181 pruritic dogs. *Veterinary Dermatology*, v.17, p.273–279, 2006.
32. MARSELLA, R.; AHRENS, K.; SANFORD, R. Investigation of the correlation of serum IL-31 with severity of dermatitis in an experimental model of canine atopic dermatitis using Beagle dogs. *Veterinary Dermatology*, v. 29, p.69–e28, 2018.
33. MARSELLA, R.; DE BENEDETTO, A. Atopic Dermatitis in Animals and People: An Update and Comparative Review. *Veterinary Sciences*, v.4, n.37, p.1–19, 2017.
34. MARSELLA, R.; NICKIN, C.; LOPEZ J. Studies on the role of routes of allergen exposure in high IgE-producing Beagle dogs sensitized to house dust mites. *Veterinary Dermatology*, v.17, p.306–312, 2006.
35. MARSELLA, R.; SAMUELSON, D. Unravelling the skin barrier: A new paradigm for atopic dermatitis and house dust mites. *Veterinary Dermatology*, v.20, n.5–6, p.533–540, 2009.
36. MARSELLA, R.; SAMUELSON, D.; DOERR, K. Transmission electron microscopy studies in an experimental model of canine atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology*, v.21, n.1, p.81–88, 2010.
37. MARSELLA, R.; SOUZA, C. A.; GONZALES, A. J.; FADOK, V. A. Current understanding of the pathophysiologic mechanisms of canine atopic dermatitis. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v.241, n.2, p.194–207, 2012.

38. MARTINS, G. C. Análise de biomarcadores na dermatite atópica em cães antes e durante o tratamento com maleato de oclacitinib. Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária, 116p, 2018.
39. MCCANDLESS, E. E.; RUGG, C. A.; FICI, G. J. et al. Allergen-induced production of IL-31 by canine Th2 cells and identification of immune, skin, and neuronal target cells. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, v.157, n.1–2, p.42–48, 2014.
40. MEASON-SMITH, C., OLIVRY, T., LAWHON, S.D. Malassezia species dysbiosis in natural and allergen-induced atopic dermatitis in dogs. *Medical Mycology*, v.0, p.1-10, 2019.
41. 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. *Veterinary Dermatology*, v.27, p.478–e129, 2016a.
42. MICHELS, G. M.; WALSH, K. F.; KRYDA, K. A. et al. A blinded, randomized, placebo-controlled trial of the safety of lokivetmab (ZTS-00103289), a caninized anti-canine IL-31 monoclonal antibody in client-owned dogs with atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology*, v.27, p. 505–e136, 2016b.
43. MILLER, W. H.; GRIFFIN, C. E.; CAMPBELL, K. L. *Small Animal Dermatology*. [s.l.] Elsevier, 2013.
44. MIZUNO, T.; KANBAYASHI, S.; OKAWA, T. et al. Molecular cloning of canine interleukin-31 and its expression in various tissues. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, v.131, p.140–143, 2009.
45. MOYAERT, H.; BRUSSEL, L. V.; 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. *Veterinary Dermatology*, v.28, p.593–e145, 2017.
46. NUTTALL, T. The genomics revolution: Will canine atopic dermatitis be predictable and preventable? *Veterinary Dermatology*, v.24, n.1, 2013.
47. OLIVRY, T.; BANOVIC F. Treatment of canine atopic dermatites: time to revise our strategy? *Vet Dermatol*, v.30, n.2, p.87–90, 2019.
48. 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 Veterinary Research*, v.11, n.1, p.1–15, 2015.
49. OLIVRY, T.; DEBOER, D. J.; FAVROT, C. et al. Treatment of canine atopic dermatitis: 2010 clinical practice guidelines from the International Task Force on Canine Atopic Dermatitis. *Veterinary Dermatology*, v. 21, n. 3, p. 233–248, 2010.

50. OLIVRY, T.; DEBOER, D. J.; GRIFFIN, C. E. et al. The ACVD task force on canine atopic dermatitis. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, v.81, p.143–383, 2001.
51. OLIVRY, T.; DEBOER, D.; PRÉLAUD, P. Food for thought: pondering the relationship between canine atopic dermatitis and cutaneous adverse food reactions. *Veterinary Dermatology*, v.18, p.390–391, 2007.
52. 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. *Journal of Investigative Dermatology*, v.136, p. 1961–1969, 2016.
53. OLIVRY, T.; MOORE, P. F.; AFFOLTER, V. K. et al. Langerhans cell hyperplasia and IgE expression in canine atopic dermatitis. *Archives of Dermatological Research*, v.288, p.579–585, 1996.
54. OLIVRY, T.; SARIDOMICHELAKIS, M. N.; NUTTALL, T. et al. Validation of the Canine Atopic Dermatitis Extent and Severity Index (CADESI-04, a simplified severity scale for assessing skin lesions of atopic dermatitis in dogs. *Veterinary Dermatology*, v.25, n.2, p.77-86, 2014.
55. PALMER, C. N. A.; IRVINE, A. D.; TERRON-KWIATKOWSKI, A. et al. Common loss-of function variants of the epidermal barrier protein filaggrin are a major predisposing factor for atopic dermatitis. *Nature Genetics*, v.38, n.4, p. 441–446, 2006.
56. PUCHEU-HASTON, C. M.; JACKSON, H. A.; OLIVRY, T. et al. Epicutaneous sensitization with *Dermatophagoides farinae* induces generalized allergic dermatitis and elevated mite-specific immunoglobulin E levels in a canine model of atopic dermatitis. *Clinical and Experimental Allergy*, v.38, n.4, p.667–679, 2008.
57. RIBEIRO, J. Z. M.; MARTINS, B. O.; HOTZ, M. R. et al. Análise da ocorrência dos critérios de Favrot e das comorbidades apresentadas por cães com dermatite atópica atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Federal Fluminense. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, v.27, n.3, p.104–109, 2020.
58. RIBEIRO, J.F.A. Avaliação da resposta inflamatória dermatológica em cães atópicos com a utilização de maleato de oclacitinib. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2019.
59. RYBNÍČEK, J.; LAU-GILLARD, P. J.; HARVEY, R.; HILL, P. B. Further validation of a pruritus severity scale for use in dogs. *Veterinary Dermatology*, v.20, n.2, p.115–122, 2009.
60. SANTORO, D. Therapies in Canine Atopic Dermatitis: An update. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, v.49, p.9–26, 2019.

61. SANTORO, D.; MARSELLA, R.; PUCHEU-HASTON, C. M. et al. Review: Pathogenesis of canine atopic dermatitis: skin barrier and host–micro-organism interaction. *Veterinary Dermatology*, v.26, p.855–e25, 2015.
62. SANTOS, J. P. M. F. Mastocitoma cutâneo canino: Inflamação cutânea crônica VS desenvolvimento de mastocitomas. Dissertação apresentada para a obtenção do Grau de Mestre em Medicina Veterinária, Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, Lisboa, 2017.
63. SANTOS, M. G. O.; SANTOS, M. M. Perfil da dermatite atópica canina em Salvador – Brasil. *PUBVET*, v.10, n.11, p.839–843, 2016.
64. SARIDOMICHELAKIS, M. N.; OLIVRY, T. An update on the treatment of canine atopic dermatitis. *Veterinary Journal*, v.207, p.29–37, 2016.
65. SCHLOTTER, Y. M.; RUTTEN, V. P. M. G.; RIEMERS, F. M. et al. Lesional skin in atopic dogs shows a mixed Type-1 and Type-2 immune responsiveness. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, v. 43, n.1–2, p.20–26, 2011.
66. SHIMADA, K.; JI-SEON, Y.; YOSHIHARA, T. et al. Increased transepidermal water loss and decreased ceramides content in lesional and non-lesional skin of dogs with atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology*, v.20, p.541–546, 2009.
67. SILVA, M. A. B. M. Avaliação do uso de lokivetmab (Cytopoint) na dermatite atópica canina. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária, Universidade de Lisboa, 2019.
68. 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.24, p.1–15, 2016.
69. 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. *Veterinary Dermatology*, v.29, p.489–e164, 2018.
70. SOUZA, T. M.; FIGHERA, R. A.; SCHMIDT, C. et al. Prevalência das dermatopatias não-tumorais em cães do município de Santa Maria, Rio Grande do Sul (2005-2008). *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.29, n.2, p.157–162, 2009.
71. SZCZEPANIK, M.; WILKOLEK, P.; GOLYNSKI, M. et al. The influence of treatment with lokivetmab on transepidermal water loss (TEWL) in dogs with spontaneously occurring atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology*, v.30, p.330–e93, 2019.
72. TAMAMOTO-MOCHIZUKI, C.; PAPS, J. S.; OLIVRY, T. Proactive maintenance therapy of canine atopic dermatitis with the anti-IL-31 lokivetmab. Can a monoclonal antibody blocking a single cytokine prevent allergy flares? *Veterinary Dermatology*, v.30, p.98–e26, 2019.

73. WILHEM, S.; KOVALIK, M.; FAVROT, C. Breed-associated phenotypes in canine atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology*, v.22, n.2, p.143–149, 2011.
74. ZHANG, Q.; PUHETI, P., ZHOU, Q. et al. Structures and biological functions of IL-31 and IL-31 receptors. *Cytokine Growth Factor Reviews*, v.19, p.347–356, 2008.
75. ZUR, G.; IHRKE, P. J.; WHITE, S. D. KASS, P. H. Canine atopic dermatitis: a retrospective study of 266 cases examined at the University of California, Davis, 1992–1998. Part I: Clinical features and allergy testing results. *Veterinary Dermatology*, v.13, p.89–102, 2002.

ANEXO I**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS****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: 147/2019

Título do projeto: Correlação entre a gravidade da doença, perda transepidermica de água e interleucina-31 em cães com Dermatite Atópica antes e depois do tratamento com lokivetmab

Finalidade: Pesquisa

Pesquisador responsável: Adriane Pimenta da Costa Val Bicalho

Unidade: Escola de Veterinaria

Departamento: Departamento de Clinica e Cirurgia Veterinaria

Situação atual: Decisão Final - Aprovado

Aprovado na reunião do dia 02/09/2019. Validade: 02/09/2019 à 01/09/2024
Belo Horizonte, 18/09/2019.

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



DECLARAÇÃO

Belo Horizonte, 07 de agosto de 2019.

A Direção do Hospital Veterinário declara estar ciente da realização de projeto de pesquisa “**Correlação entre a gravidade da doença, perda transepidérmica de água e inerleucina 31 em cães com dermatite atópica antes e depois do tratamento com Lokivetmab**”, sob a responsabilidade da Profa. Adriane Pimenta dacosta Val Bicalho.

Ressaltamos que essa autorização se faz verdadeira desde que a execução do referido projeto não determine qualquer alteração e/ou prejuízo da rotina hospitalar, que seja obedecido o cronograma de execução previamente estabelecido, que esteja em consonância com as exigências e certificado pelo CEUA e que tenha registro prévio de 45 a 60 dias antes do início do experimento.

O Hospital Veterinário dá ciência de que não se responsabilizará por qualquer eventualidade ocorrida com possíveis animais do experimento, não arcará com custos de materiais de consumo, de equipamentos e de alimentação, bem como não fornecerá recursos humanos para a realização do projeto em tela. Outrossim, as publicações científicas resultantes do projeto de pesquisa deverão obrigatoriamente conter a informação de que o desenvolvimento da pesquisa ocorreu nas dependências do Hospital Veterinário da Escola de Veterinária da UFMG.

Membros da Equipe:

Nome	Categoria
Profa. Adriane Pimenta dacosta Val Bicalho	Coordenador
Jéssica Ragazzi Calessio	Aluna de mestrado
Raphael Rocha Wenceslau	Colaborador
Vanessa Stuart Marques	Colaboradora
	Data
Recebimento do Projeto pela Direção do HV	08/07/19
Ciência da Direção do Hospital Veterinário	07/08/19

Éliane Gonçalves de Melo

Profa. Éliane Gonçalves de Melo

Diretora do Hospital Veterinário

ANEXO III

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título do projeto: Correlação entre a gravidade da doença, perda transepidermica de água e interleucina-31 em cães com dermatite atópica antes e depois do tratamento com lokivetmab.

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

Razão social e CIAEP instituição da CEUA que aprovou: Universidade Federal de Minas Gerais – CIAEP: 01.044.2013/ projeto sob protocolo número 147/19 da CEUA.

Objetivos do estudo: Nesta pesquisa pretendemos avaliar a hidratação da pele dos cães atópicos através da mensuração da perda transepidermica de água em diferentes regiões do corpo antes e depois do tratamento com lokivetmab, correlacionando com a gravidade da doença e níveis séricos de interleucina-31 (IL-31).

Procedimentos a serem realizados com os animais: Os cães serão submetidos a coletas de sangue através de punção venosa (jugular ou cefálica) para realizações de exames laboratoriais e mensuração da hidratação da pele através de termo-higrômetro digital portátil.

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

Cronograma do trabalho com o (s) animal (is):

Consulta inicial	1º Retorno	2º Retorno
Dia 0 (início do projeto e primeira aplicação do lokivetmab)	28 dias após consulta inicial e início do tratamento (2ª aplicação do lokivetmab)	56 dias após consulta inicial e início do tratamento

Benefícios: A pesquisa contribuirá para o melhor entendimento da patogenia da Dermatite Atópica Canina, o papel da interleucina-31 e comprovação da eficácia e segurança do lokivetmab. O Sr. (a) se beneficiará diretamente com os resultados do projeto, a partir da melhora clínica do prurido de seu cão e conseqüentemente do bem-estar e melhora da qualidade de vida de ambos. 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. O Médico Veterinário responsável pelo (s) seu (s) animal (is) será o (a) Dr (a) Adriane Pimenta da Costa-Val Bicalho, inscrito (a) 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) 34092000

E-mail: adriane@ufmg.br

Assinatura do pesquisador responsável

Data

Jéssica Ragazzi Calessio

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

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

Telefone: (31) 34092000

E-mail: jessicacalessio@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.

Belo Horizonte, ___/___/_____

Nome completo: _____

Assinatura do Responsável: _____

Documento de Identidade: _____

Identificação do (s) animal (is):

Nome: _____

Número de identificação: _____

Espécie: _____

Raça: _____