



UNIVERSIDADE DE LISBOA
Faculdade de Medicina Veterinária

AVALIAÇÃO DO USO DE LOKIVETMAB (CYTOPOINT®) NA DERMATITE ATÓPICA
CANINA

MARIA ALICE BARREIROS MARTINS DA SILVA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutor José Henrique Duarte Correia
Doutora Ana Mafalda Gonçalves Xavier
Félix Lourenço
Doutora Solange Judite Roque Coelho
Alves Gil

ORIENTADORA

Doutora Ana Mafalda Gonçalves
Xavier Félix Lourenço

2019

LISBOA



UNIVERSIDADE DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

AVALIAÇÃO DO USO DE LOKIVETMAB (CYTOPOINT®) NA DERMATITE ATÓPICA
CANINA

MARIA ALICE BARREIROS MARTINS DA SILVA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutor José Henrique Duarte Correia
Doutora Ana Mafalda Gonçalves Xavier
Félix Lourenço
Doutora Solange Judite Roque Coelho
Alves Gil

ORIENTADORA

Doutora Ana Mafalda Gonçalves
Xavier Félix Lourenço

2019

LISBOA

Para o meu avô, que é agora a minha luzinha.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar quero agradecer à minha orientadora, Professora Mafalda Lourenço por tudo o que me ensinou, por todo o apoio, motivação e amizade. Não podia ter escolhido melhor orientadora.

Ao Dr. Hugo Pereira que dedicou tanto do seu tempo a este projeto e que me ajudou sempre a resolver os obstáculos que foram surgindo no dia a dia.

Ao Professor Telmo por toda a ajuda preciosa na análise estatística, sem a qual não teria sido possível terminar este trabalho.

À Professora Berta São Braz que se disponibilizou sempre para ajudar na construção e desenvolvimento deste projeto.

A toda a equipa do HEV-FMV-ULisboa por me terem recebido tão bem, por tudo o que me ensinaram a nível profissional e pessoal.

À Zoetis por gentilmente ter disponibilizado exemplares de Cytopoint[®], imagens que contribuíram para o enriquecimento da dissertação e pela disponibilidade na partilha de informação.

Aos cuidadores e aos respetivos animais que participaram neste projeto, pela cooperação e simpatia. Pela amizade enorme, por me fazerem sentir sempre em casa e por me animarem tanto, agradeço aos meus amigos do Sagrado, Álvaro, Filipe, Gonçalo, Inês (a minha primeira Inês!), João, Leonor, Martim, Renato (obrigada por todas as palavras de motivação, tão necessárias, nesta fase final), Ricardo e Sérgio.

Ao Siesta, Barritos, Carolina (amigas mesmo após o Interrail!), Carvalho, Chico, Lobinha (eternamente grata pela amizade e paciência durante as 10 épocas de exames, sem ti teria sido insuportável), João, Laura, Nesinha (obrigada por nunca desistires de mim e por nunca me julgares, porque mereces isto e muito mais: coceira), Pedro (obrigada por todas as palavras de confiança), Raquel e Rodrigo, a todos quero agradecer pela amizade e por tudo o que passámos juntos que recordo com tanto carinho.

À Inês Quintas por me ter aberto os olhos e por todas as palavras de motivação.

Ao Diogo por estar sempre ao meu lado e por todo o carinho com que sempre me tenta animar e distrair nos momentos mais difíceis.

Aos meus pais por todo o esforço, que reconheço e agradeço do fundo do coração, para me proporcionarem a melhor vida possível e por me apoiarem e incentivarem sempre a seguir os meus sonhos. À minha irmã pela paciência, cumplicidade e acima de tudo pelos mimos espontâneos. À Stefi e à Ginja pelo amor incondicional.

Aos meus tios e primos, por estarem sempre disponíveis para ajudar, por sermos tão unidos e uma família tão alegre. À Teté por todos os mimos e comida maravilhosa.

À minha avó Rose por me compreender tão bem e por ter despertado em mim o amor pelos animais. E por fim, mas não menos importante, quero agradecer ao meu avô Ramiro, a quem dedico esta dissertação, que é para mim (a sua colega de São Francisco de Assis) o maior exemplo de coragem e de força.

RESUMO

AVALIAÇÃO DO USO DE LOKIVETMAB (CYTOPOINT®) NA DERMATITE ATÓPICA CANINA

A dermatite atópica canina (DAC) é uma doença extremamente prevalente, com uma fisiopatologia complexa que pode levar a manifestações clínicas diversas e respostas diferentes às opções terapêuticas disponíveis. O prurido é o sinal clínico mais comum desta doença, promovendo uma diminuição significativa na qualidade de vida tanto dos animais como das famílias onde estão inseridos. A IL-31 é uma citocina com um papel importante na fisiopatologia da DAC, em particular na indução do prurido. O lokivetmab é um anticorpo monoclonal caninizado contra a IL-31, cuja utilização está indicada para o tratamento das manifestações clínicas da DAC.

O presente estudo teve como objetivos a avaliação da eficácia do lokivetmab no tratamento da DAC e da segurança associada à sua utilização. Os 18 animais incluídos na amostra foram sujeitos a duas administrações de lokivetmab, com um intervalo de quatro semanas. Realizaram-se avaliações repetidas do grau de prurido (obtidas pelos cuidadores com recurso a uma escala visual) e das lesões cutâneas (classificadas por um médico veterinário com base no CADESI-4) dos animais ao longo de dois meses. A segurança do lokivetmab foi investigada por comparação dos resultados das análises sanguíneas realizadas no início e no fim do tratamento e pela análise dos efeitos adversos. Considerou-se como melhoria clinicamente significativa, tanto no grau de prurido como para o CADESI-4, uma redução dos valores em pelo menos 50%. O tratamento com lokivetmab levou à melhoria do grau de prurido em 76,47% dos cães da amostra. A sua ação na diminuição do grau de prurido pôde ser observada ao fim de 24 horas e manteve-se durante pelo menos quatro semanas na maioria dos animais. A melhoria clinicamente significativa nos valores de CADESI-4 verificou-se em 77,78% dos animais. Ao fim de duas semanas de tratamento, o efeito do lokivetmab já era evidente na redução dos valores do CADESI-4, que se mantiveram baixos até ao final dos dois meses. Tanto para o grau de prurido como para o CADESI-4, apesar de não se ter verificado uma redução de pelo menos 50% nos valores destes parâmetros na totalidade da amostra, observou-se a diminuição dos valores em todos os cães à exceção de um em cada uma das avaliações. Contudo, estes dois animais mantiveram-se controlados com valores baixos durante os dois meses. Não se verificaram alterações com significado clínico nas análises sanguíneas e registaram-se apenas três casos de vômito, sendo que um foi acompanhado de diarreia, que se resolveram sem necessidade de intervenção por parte do médico veterinário.

As reduções estatisticamente significativas que se observaram tanto no grau de prurido como no valor do CADESI-4 ao longo de dois meses comprovam a eficácia do lokivetmab nesta doença. Do mesmo modo, a ausência de efeitos secundários com significado clínico dá ênfase à segurança desta opção terapêutica e promovem confiança na sua utilização. O lokivetmab apresenta-se, assim, como uma excelente opção terapêutica dada a sua elevada eficácia e segurança.

Palavras-chave: dermatite atópica canina; IL-31; lokivetmab; Cytoint®; prurido; CADESI-4.

ABSTRACT

EVALUATION OF THE USE OF LOKIVETMAB (CYTOPOINT®) IN CANINE ATOPIC DERMATITIS

Canine atopic dermatitis (cAD) is an extremely prevalent disease, with a complex pathogenesis that can lead to diverse clinical manifestations and different response to the available therapeutic options. Pruritus is the most common clinical sign of this condition, significantly diminishing the animals' and their owners' quality of life. IL-31 is a cytokine with an important role in the pathogenesis of cAD, particularly in inducing pruritus. Lokivetmab is a caninized monoclonal antibody against IL-31, with its usage recommended for the treatment of the clinical manifestations of cAD.

This study aims to evaluate the efficacy of lokivetmab in the treatment of cAD and the safety of its usage. The 18 animals enrolled were subjected to two injections of lokivetmab, within a four-week interval. The level of pruritus was continuously assessed (by the animals' owners using a validated visual scale) and skin lesions (classified by veterinary clinicians using CADESI-4) over a period of two months. The safety of lokivetmab was investigated comparing the blood test results performed at the beginning and ending of the treatment and by evaluating adverse effects.

A significant clinical improvement was defined as a 50% reduction of both pruritus and the CADESI-4 values. The treatment with lokivetmab led to the improvement of the level of pruritus by 76.47% of the sample's dogs. Its role in diminishing the pruritus could be observed after 24 h and continued throughout at least four weeks in most animals. The significant clinical improvement of the CADESI-4 levels was registered in 77.78% of the animals. After two weeks of treatment, the effect of lokivetmab was already evident in the reduction of CADESI-4 values, that were kept low until the end of the two-month period. Even though a reduction of at least 50% in the whole sample was not registered for both the pruritus level and the CADESI-4, a reduction of values was observed in all but one dog in each evaluation. However, these two animals maintained low levels throughout the two months. No significant clinical alterations were noticed in the blood tests, and only three cases of vomiting were registered, one of them followed by diarrhea, which resolved without clinical intervention.

The statistically significant reductions that were observed, of both the level of pruritus and the value of the CADESI-4 throughout the two months, prove lokivetmab's efficacy when treating this condition. At the same time, the absence of side effects with significant clinical importance, highlight the safety of this therapeutic option and promote trust in its use. Therefore, lokivetmab presents itself as an excellent therapeutic option due to its high efficacy and safety.

Key-words: canine atopic dermatitis; IL-31; lokivetmab; Cytopoint®; pruritus; CADESI-4.

ÍNDICE

AGRADECIMENTOS.....	i
RESUMO.....	ii
ABSTRACT.....	iii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	vi
ÍNDICE DE TABELAS.....	vi
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	vi
LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS.....	viii
CAPÍTULO I – RELATÓRIO DO ESTÁGIO CURRICULAR.....	1
CAPÍTULO II – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
1. Introdução à dermatite atópica.....	3
2. Fisiopatologia da DAc.....	4
3. Manifestações clínicas da DAc.....	7
4. Diagnóstico da DAc.....	11
5. Introdução e classificação do prurido.....	11
5.1. Fisiopatologia do prurido.....	12
5.1.1. Mediadores do prurido.....	15
5.2. Limiar de prurido.....	17
6. Impacto da DAc na qualidade de vida dos cães e dos cuidadores.....	18
7. Tratamento da DAc.....	19
7.1. Oclacitinib.....	20
7.2. Lokivetmab.....	22
CAPÍTULO III – AVALIAÇÃO DA RESPOSTA AO TRATAMENTO DA DAC COM LOKIVETMAB.....	25
1. Objetivos.....	25
2. Materiais e métodos.....	25
2.1. Seleção da amostra.....	25
2.2. Protocolo e procedimentos.....	26
2.2.1. Avaliação da resposta ao tratamento.....	28
2.3. Análise estatística.....	28
3. Resultados.....	28
3.1. Caracterização da amostra.....	28
3.2. Evolução do grau de prurido.....	29
3.3. Evolução do CADESI-4.....	33
3.4. Efeitos adversos e análises laboratoriais.....	35
3.5. Seguimento após conclusão do projeto.....	35
4. Discussão.....	35
4.1. Evolução do grau de prurido.....	35
4.2. Evolução do CADESI-4.....	39

4.3. Satisfação dos cuidadores e continuação do tratamento.....	40
4.4. Efeitos adversos e análises laboratoriais	41
4.5. Limitações do estudo	42
5. Conclusão	43
BIBLIOGRAFIA.....	44
Anexo 1 – Termo de responsabilidade apresentado aos cuidadores para o consentimento da participação do seu animal no estudo	51
Anexo 2 – Escala CADESI-4	52
Anexo 3 – Escala de gravidade do prurido.....	53
Anexo 4 – Valores do grau de prurido.....	54
Anexo 5 – Gráficos de comparação da melhoria no grau de prurido entre idades e presença de infecção secundária, pelo método de Kaplan-Meier	55
Anexo 6 – Valores do CADESI-4.....	55

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Lesões características da DAC: A – Eritema; B – Eritema e Alopecia autoinduzida; C – Hiperpigmentação e Liqueficação; D – Conjuntivite. (Fotografias originais obtidas com autorização dos cuidadores).....	8
Figura 2 - Representação do padrão lesional de um exemplar de Cão de Água Português com DAC. As cores correspondem à percentagem de animais afetados na área em causa, na amostra estudada por Casimiro em 2017. (Desenho original de Mariana Machado realizado para a dissertação de Casimiro (2017). Reproduzido com autorização dos autores.).....	10
Figura 3 - Representação esquemática da interação entre o sistema imunitário e o sistema nervoso na transmissão do prurido. (Imagem adaptada e reproduzida com autorização da Zoetis).	14
Figura 4 - Representação esquemática do limiar de prurido de três indivíduos (A, B e C) face a três estímulos (pulgas, infeção bacteriana e hipersensibilidade). (Figura original).	17
Figura 5 - Representação esquemática do processo de caninização de um anticorpo. (Imagem adaptada e reproduzida com autorização da Zoetis).....	22
Figura 6 – Embalagens de Cytopoint® contendo dois frascos de 1 ml cada, nas concentrações crescentes de 10 mg, 20 mg, 30 mg e 40 mg. (Fotografia original).	26
Figura 7 - Escala para classificação do grau de prurido tal como foi entregue aos cuidadores.	53

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 - Comparação das lesões/sinais clínicos e da sua distribuição de acordo com a raça, com base no estudo de Wilhem et al. (2011).	9
Tabela 2 – Critérios sugeridos por Favrot e colaboradores (2010) para auxílio no diagnóstico da DAC.	11
Tabela 3 – Tabela informativa da dose de Cytopoint® a administrar em função do peso corporal do cão. (Imagem adaptada do RCM (EMA, 2018b)).	27
Tabela 4 - Tabela de Classificação CADESI – 4	52
Tabela 5 - Classificação do grau de prurido dos animais ao longo do tempo (dias)	54
Tabela 6 - Classificação do CADESI-4 dos animais ao longo do tempo (dias).	56

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Distribuição das horas de estágio pelos vários serviços do HEV-FMV-ULisboa... 1	
Gráfico 2 - Distribuição das raças na amostra em estudo.	28
Gráfico 3 - Valores do grau de prurido na amostra ao longo do tempo.....	29
Gráfico 4 – Curva da proporção de animais sem melhoria, pelo método de Kaplan-Meier, durante as oito semanas.....	30
Gráfico 5 – Curva da proporção de animais sem melhoria, pelo método de Kaplan-Meier, considerando apenas as últimas 4 semanas.....	30
Gráfico 6 - Curva da proporção de animais sem melhoria nas últimas 4 semanas, pelo método de Kaplan-Meier, considerando uma sub-amostra que inclui apenas os animais que não melhoraram nas primeiras 4 semanas.....	31
Gráfico 7 - Curva da proporção de animais sem pioria numa sub-amostra que inclui apenas os animais que apresentaram melhoria clínica, pelo método de Kaplan-Meier, durante as oito semanas. Considerou-se como pioria um aumento de dois valores no grau de prurido.....	31
Gráfico 8 – Curvas da proporção de animais sem melhoria durante as primeiras 4 semanas, pelo método de Kaplan-Meier, tendo em conta as doses administradas na primeira injeção. Para este gráfico consideraram-se apenas os animais que atingiram melhoria clinicamente significativa nas primeiras 4 semanas.	32
Gráfico 9 – Curvas da proporção de animais sem melhoria durante as últimas 4 semanas, pelo método de Kaplan-Meier, tendo em conta as doses administradas na segunda injeção. Para este gráfico consideraram-se apenas animais que atingiram melhoria clinicamente significativa nas últimas 4 semanas.....	33
Gráfico 10 – Valores de CADESI-4 na amostra ao longo do tempo.....	34

Gráfico 11 - Curvas da proporção de animais sem melhoria ao longo das 8 semanas, pelo método de Kaplan-Meier, tendo em conta a presença, ou não, de infecção secundária.	55
Gráfico 12 - Curvas da proporção de animais sem melhoria ao longo das 8 semanas, pelo método de Kaplan-Meier, tendo em conta a idade dos animais.	55

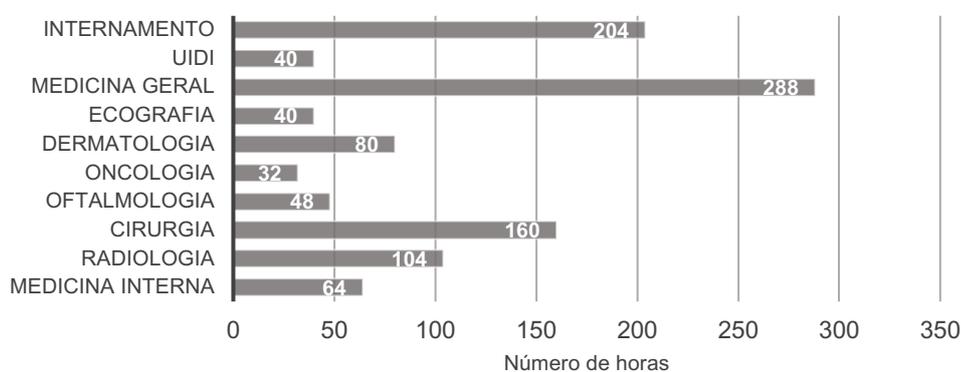
LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

ADN	Ácido desoxirribonucleico
ALT	Alanina aminotransferase
CADESI	<i>Canine Atopic Dermatitis Extent and Severity Index</i>
DA	Dermatite Atópica
DAC	Dermatite Atópica Canina
DAh	Dermatite Atópica Humana
EMA	Agência Europeia do Medicamento
FAS	Fosfatase Alcalina Sérica
HEV-FMV-ULisboa	Hospital Escolar Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa
IC	Intervalo de confiança
ICADA	<i>International Committee on Allergic Diseases of Animals</i>
IFN	Interferão
IFSI	<i>International Forum for the Study of Itch</i>
IgE	Imunoglobulina E
IL	Interleucina
ITFCAD	<i>International Task Force on Canine Atopic Dermatitis</i>
JAK	Janus quinase (<i>Janus kinase</i>)
JAK-STAT	Janus quinase - transdutor de sinal e ativador de transcrição (<i>Janus kinase–signal transducer and activator of transcription</i>)
mAbs	Anticorpos monoclonais (<i>Monoclonal Antibodies</i>)
MAPK	Proteína-cinase ativada por mitogénio (<i>Mitogen-activated protein kinase</i>)
PAR2	Recetor ativado por proteases 2 (<i>Protease-activated receptor-2</i>)
RCAA	Reações cutâneas adversas ao alimento
RCM	Resumo das características do medicamento
STAT	Transdutor de sinal e ativador de transcrição (<i>Signal transducer and activator of transcription</i>)
TGF	Fator de transformação do crescimento (<i>Transforming growth factor</i>)
Th	Linfócitos T <i>helper</i>
Treg	Linfócitos T reguladores
TRP	Recetor de potencial transitório (<i>Transient receptor potential</i>)
TYK2	Tirosina quinase 2 (<i>Tyrosine kinase 2</i>)
UIDI	Unidade de Isolamento de Doenças Infeciosas
VAS	<i>Visual Analogue Scale</i>
α	Alfa
β	Beta
γ	Gama
δ	Delta
®	Marca registada

CAPÍTULO I – RELATÓRIO DO ESTÁGIO CURRICULAR

O estágio curricular do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária foi realizado no Hospital Escolar Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa (HEV-FMV-ULisboa) de 4 de Setembro de 2017 a 4 de Março de 2018, correspondendo a um total aproximado de 1060 horas. A distribuição deste tempo pelos vários serviços do hospital, através de um sistema rotativo, encontra-se representada no gráfico 1. As atividades desenvolvidas no decorrer do estágio foram orientadas e acompanhadas pela equipa do hospital, constituída por médicos, enfermeiros e auxiliares.

Gráfico 1 - Distribuição das horas de estágio pelos vários serviços do HEV-FMV-ULisboa.



Legenda: Unidade de Isolamento de Doenças Infecciosas, UIDI.

No serviço de Medicina Interna foi possível acompanhar e discutir casos clínicos complexos, por norma referenciados, incentivando o desenvolvimento de raciocínio clínico e posteriormente a elaboração de relatórios médicos. Neste serviço houve também a possibilidade de assistir a procedimentos como rinoscopias e endoscopias.

O serviço de Imagiologia foi dividido nas rotações de Radiologia e Ecografia. No serviço de Radiologia foi possível observar e auxiliar na realização de radiografias e tomografias computadorizadas, permitindo consolidar e aprofundar os conhecimentos relativos a estas técnicas e à respetiva interpretação das imagens obtidas por estes exames, participando ainda na elaboração dos relatórios. Outras atividades incluídas neste serviço foram a receção e preparação dos animais para a realização destes exames, bem como a monitorização anestésica quando necessário. Na rotação pelo serviço de Ecografia houve oportunidade para aprender a técnica de realização de um exame ultrassonográfico e a interpretação das imagens obtidas. Foi possível, ainda, acompanhar procedimentos como cistocenteses, citologias aspirativas eco-guiadas e discutir casos clínicos.

A rotação no serviço de Cirurgia iniciava-se, diariamente, pela receção e preparação pré-cirúrgica dos animais, que incluía a colocação de cateter endovenoso, preparação e administração de medicação pré-anestésica, indução e monitorização anestésica, intubação endotraqueal e tricotomia, lavagem e desinfeção da região a intervencionar. Neste serviço foi possível assistir e participar (como circulante, anestesista ou ajudante de cirurgião) em

diversas intervenções cirúrgicas como por exemplo cirurgia de tecidos moles, ortopedia, dentisteria, entre outros. A monitorização pós-cirúrgica e a elaboração de notas de alta também foram praticadas neste serviço.

As atividades desenvolvidas no serviço de Oftalmologia incluíram a recolha de uma anamnese detalhada e a realização de exame físico e oftalmológico. Esta rotação permitiu assistir e participar em consultas de referência e seguimento, e em procedimentos como eletrorretinografias, cirurgias e ecografias oculares.

O serviço de Oncologia, tal como outros serviços já referidos, incluiu a receção e preparação dos animais. O cálculo, a preparação e a administração de quimioterápicos, permitiram a aprendizagem sobre cuidados necessários à sua manipulação. Houve ainda espaço para a discussão de protocolos quimioterápicos e para acompanhar consultas de doentes oncológicos.

No serviço de Dermatologia foram adquiridos conhecimentos relativos à recolha de uma anamnese detalhada e direcionada para os problemas dermatológicos, bem como a um exame físico mais específico. Foram, também, postas em prática técnicas de colheita e diagnóstico como tricogramas e citologias cutâneas e auriculares. Foi possível, ainda, participar noutros procedimentos como biópsias cutâneas, videotoscopias e provas alergológicas cutâneas. Tal como noutros serviços, também houve discussão de casos clínicos e elaboração de relatórios médicos. Foi neste serviço que foram acompanhados os animais que integram a amostra do estudo da presente dissertação.

A rotação pelo serviço de Medicina Geral permitiu assistir a várias consultas, tanto de primeira opinião como de seguimento, em diversas áreas da clínica de animais de companhia e de espécies exóticas. Neste serviço houve oportunidade de iniciar consultas, permitindo a aquisição de competências relativas à colheita da anamnese e ao exame físico geral. Foram ainda postos em prática diversos procedimentos como colheita de sangue, vacinações, administração de fármacos, entre outros. À semelhança de outros serviços foram, também neste, discutidos casos clínicos.

No Internamento foram realizados turnos diurnos (84 horas) e turnos noturnos (120 horas) em que as principais atividades desenvolvidas foram a monitorização dos animais, a preparação e administração de fluidoterapia e medicação, a colocação de cateteres endovenosos, as algaliações, a realização de pensos, as colheitas de sangue, entre outros. Para além dos procedimentos enumerados foi ainda possível auxiliar em casos de emergência através de suporte básico e avançado de vida. Na Unidade de Isolamento de Doenças Infeciosas (UIDI) foram desempenhadas atividades semelhantes, no entanto, com as medidas de proteção adequadas.

Durante todo o período de estágio foi possível desenvolver um raciocínio clínico através da discussão de casos clínicos, bem como a aquisição de competências relativas à comunicação pelo contacto diário com a equipa do hospital e com os cuidadores dos animais.

CAPÍTULO II – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. Introdução à dermatite atópica

A dermatite atópica canina (DAc) é uma doença extremamente prevalente, estimando-se que cerca de 15% dos cães sejam afetados. Este valor pode mesmo ser muito mais elevado em determinadas raças, por vezes até muito populares como os Bouledogues Franceses, os Retriever do Labrador ou os Shar-Pei (Jaeger et al., 2010; Miller, Griffin, Campbell, & Marsella, 2013; Wilhem, Kovalik, & Favrot, 2011). De facto, a DAc está entre as duas primeiras causas de prurido no cão, sendo que alguns estudos lhe conferem o primeiro lugar, enquanto outros, a colocam em segundo lugar, logo após a dermatite alérgica à picada da pulga, e apenas em países onde este parasita é relevante. No entanto, devido às variáveis de cada estudo e aos casos de DAc moderados ou com manifestações menos comuns que não são diagnosticados, é difícil chegar a um valor real de prevalência (Hillier & Grif, 2001). O aumento da incidência da dermatite atópica humana (DAh) ao longo dos anos foi influenciada pela mudança nos hábitos da população. Tal como no Homem, pensa-se que a incidência da DAc pode aumentar através da contribuição de alterações no estilo de vida, como por exemplo o aumento do tempo que os animais passam dentro de casa e conseqüentemente uma maior exposição a alérgenos como por exemplo ácaros do pó doméstico (Hillier & Grif, 2001; Miller et al., 2013). O forte paralelismo que existe entre a dermatite atópica (DA) no cão e no Homem torna possível, tendo em conta as semelhanças entre as duas formas da doença, utilizar a DAc como modelo para o estudo da DA humana, sendo que já foram até utilizados cães no passado para o estudo desta última (Marsella & Olivry, 2003). Por outro lado, também é possível auxiliar e melhorar o conhecimento e o manejo relativo à DAc através dos avanços alcançados na Medicina Humana (Lourenço et al., 2016). Tal como no Homem, está demonstrado que esta doença pode acarretar uma significativa perda da qualidade de vida, tanto para os animais que dela padecem como para a família onde estão inseridos. Isto deve-se essencialmente ao facto do prurido ser a principal manifestação desta doença, por vezes levando a que os animais tenham inclusive dificuldade em dormir (Favrot, Linek, Mueller, & Zini, 2010). De facto, o prurido é tão incómodo e fatigante que até na literatura é considerado como uma das sensações mais angustiantes, sendo até utilizado por Dante, na sua obra “A Divina Comédia”, como uma punição aos falsários no Inferno (Pomar, 2006).

A etiologia da DAc é complexa e multifatorial, uma vez que a sua manifestação é determinada pela combinação “certa” de fatores genéticos e ambientais que vão afetar a resposta imunológica face a agentes inócuos e a função da barreira cutânea (Marsella, Sousa, Gonzales, & Fadok, 2012). A importância da doença em Medicina Veterinária levou à criação de um grupo internacional de peritos, *International Task Force on Canine Atopic Dermatitis* (ITFCAD), atualmente designado por *International Committee on Allergic Diseases of Animals* (ICADA), que visa o seu melhor manejo e compreensão. O ITFCAD definiu a DAc como uma

doença cutânea inflamatória e pruriginosa, com predisposição genética, cujas características clínicas estão associadas a imunoglobulinas E (IgE) direcionadas contra alérgenos ambientais (Halliwell, 2006). Atualmente, é reconhecida uma doença semelhante à DAC, a dermatite de tipo atópico, cujos sinais clínicos são semelhantes, no entanto, não é possível identificar uma resposta aos alérgenos por parte de anticorpos IgE. Em Medicina Humana esta doença é designada por dermatite atópica intrínseca e pensa-se que a ausência de IgE específicas para os alérgenos possa representar os estádios iniciais da DA em que ainda não ocorreu sensibilização. Noutros casos, pensa-se que a DA possa ocorrer por outras vias, independentes das IgE, ou que se possa tratar de uma reatividade a um grupo de alérgenos *minor* e, por isso, muitas vezes não testados (Halliwell, 2006; Marsella et al., 2012; Olivry et al., 2010).

A complexidade da etiologia e da fisiopatologia da DAC, ainda não totalmente compreendida, reflete-se também em manifestações clínicas diversas que podem variar de doente para doente e em respostas também individuais face aos diferentes tratamentos disponíveis (DeBoer, 2014b). Não existe ainda maneira de prever a resposta de cada indivíduo sendo uma questão de tentativa e erro.

Esta é, então, uma doença cujo manejo beneficia de várias ferramentas terapêuticas disponíveis, de forma a personalizar o tratamento dos pacientes e otimizar a sua resposta ao mesmo (DeBoer, 2014a). Com esse intuito, o ICADA publicou, recentemente, orientações (*guidelines*), *Treatment of canine atopic dermatitis: 2015 updated guidelines from the International Committee on Allergic Diseases of Animals (ICADA)* que serão abordadas no ponto 7 do presente trabalho.

2. Fisiopatologia da DAC

A DAC é uma doença multifatorial cuja fisiopatologia ainda não é totalmente compreendida; contudo sabe-se que há alterações no sistema imunitário, com consequente inflamação da pele, defeitos genéticos e da barreira cutânea (Gedon & Mueller, 2018).

Já foram descritas várias sobre e sob expressões de genes envolvidos na função da barreira cutânea e da inflamação da pele. Num estudo recente, foram até demonstradas a sobre expressão de 361 genes com um papel importante na inflamação, na cicatrização e na resposta imunitária, e a sob expressão de 226 genes envolvidos na diferenciação celular e na função da barreira cutânea (Schamber, Schwab-Richards, Bauersachs, & Mueller, 2014).

A importância do papel da barreira cutânea na DAC foi recentemente reconhecida e, embora estejam descritas alterações na barreira cutânea nesta doença, não é certo se estas são primárias ou secundárias à inflamação. De facto, pensa-se até que um defeito primário na barreira cutânea pode contribuir para uma estimulação exagerada do sistema imunitário que, por sua vez, vai agravar a disfunção da barreira cutânea (Marsella et al., 2012; Santoro et al., 2015).

A apreciação da integridade e função da barreira cutânea pode ser feita através da medição da perda transepidérmica de água, que nos cães com DA pode ser elevada, conferindo maior permeabilidade à pele (Marsella et al., 2012; Santoro et al., 2015).

Para além da perda de água referida, foram também identificadas outras alterações respeitantes a constituintes fundamentais da barreira cutânea, as ceramidas e a filagrina. As ceramidas são moléculas lipídicas que participam na composição da camada bilipídica da membrana celular e que, para além da sua função estrutural, estão também envolvidas na sinalização celular. Nos seres humanos com DA está registada uma deficiência nestas moléculas que é considerada tanto um defeito primário como uma consequência do processo inflamatório. Tal como nos seres humanos, os cães com DA têm níveis de ceramidas inferiores quando comparados com outros animais da mesma espécie que não sofrem desta doença (Marsella, Olivry & Carlotti, 2011; Santoro et al., 2015). Esta redução nos níveis de ceramidas pode estar implicada no aumento da perda transepidérmica de água (Shimada, Yoon, Yoshihara, Iwasaki, & Nishifuji, 2009). Além das ceramidas, há outros lípidos que entram na constituição da pele que podem sofrer alterações e modificar a ultraestrutura das suas camadas superiores. Nos cães com DA podem ser observados maiores espaços intercelulares, com lamelas lipídicas mais finas e desorganizadas quando comparado com o estrato córneo de animais saudáveis (Marsella, Samuelson & Doerr, 2010).

A filagrina é uma proteína produzida pelos queratinócitos cujos produtos de degradação, durante a maturação celular, são essenciais para a hidratação da camada externa da pele. As mutações nesta proteína representam um dos maiores fatores de risco para o desenvolvimento de DA no Homem. No entanto, a influência da filagrina e das suas mutações na DAC ainda não está comprovada (Marsella et al., 2012; Santoro et al., 2015).

Os defeitos na barreira cutânea podem facilitar a penetração de alérgenos e, desta forma, aumentar a exposição das células do sistema imunitário presentes na pele a estes agentes (Gedon & Mueller, 2018). De facto, a via de apresentação dos alérgenos, com maior influência na DAC, é através da pele. Ao entrarem em contacto com esta, os alérgenos são captados pelas células de Langerhans nela presentes, onde são posteriormente processados e expressos à sua superfície. Estas células migram até ao linfonodo regional onde vão apresentar os antígenos aos linfócitos T *helper* (Th) do tipo 0, desencadeando a diferenciação e ativação de linfócitos Th2. Estes linfócitos Th2 ativados, migram até à pele e produzem citocinas como a interleucina (IL)- 4 e a IL-13 que, por sua vez, promovem a diferenciação dos linfócitos B em plasmócitos que iniciam a produção de IgE alérgeno-específicas. As IgE produzidas entram em circulação e difundem-se por vários tecidos onde se ligam a células que expressem, à sua superfície, recetores para estas imunoglobulinas, como por exemplo os mastócitos (Marsella et al., 2012).

Para além das células já referidas, são também recrutados para os locais de lesão neutrófilos, eosinófilos e células dendríticas. Quando o animal é exposto aos alérgenos, os mastócitos e

os eosinófilos sofrem desgranulação e libertam mediadores pró-inflamatórios com capacidade para causar lesões tanto na derme como na epiderme. Aquando da reexposição, os alérgenos ligam-se às IgE específicas presentes à superfície das células de Langerhans, levando-as a migrar para a derme para apresentar estes alérgenos novamente a linfócitos Th, perpetuando a resposta Th2. Estes linfócitos, além das citocinas mencionadas, podem libertar também IL-31 que ativa os neurónios sensitivos e induz prurido. As lesões provocadas pelo animal quando se coça, juntamente com toxinas de microrganismos promovem a ativação dos queratinócitos e de outras células do sistema imunitário com libertação de citocinas pró-inflamatórias que vão estimular uma resposta por parte de linfócitos Th1. Os linfócitos Th1 produzem citocinas como IL-2 e interferão (IFN) γ que contribuem para a resposta inflamatória. Deste modo, agravado pela falha na supressão dos mecanismos pró-inflamatórios, cria-se um ciclo que perpetua o processo inflamatório e as lesões cutâneas (Marsella et al., 2012; Olivry et al., 2010). Os linfócitos T reguladores (Treg) têm um papel fundamental na resposta imunológica saudável e equilibrada aos alérgenos. Estes linfócitos têm a capacidade de alterar e controlar o desenvolvimento das doenças alérgicas por diversas vias como por exemplo pela supressão dos linfócitos Th1 e Th2 e de outras células como mastócitos ou eosinófilos (Palomares et al., 2010). Os resultados apresentados por diversos estudos relativos aos linfócitos Treg na DAC são controversos, no entanto já foi relatado um valor superior destes linfócitos em circulação em cães com DA. Quanto às citocinas reguladoras, parece haver uma diminuição do fator de transformação do crescimento (TGF)- β em cães com DAC, contudo, os resultados relativos à IL-10 são inconsistentes. Estudos adicionais poderão ajudar a desenvolver a hipótese que atribui um papel chave a estes linfócitos no desenvolvimento da DAC (Rostaher, Fischer, Urwyler & Favrot, 2018).

É importante referir, ainda, as infeções secundárias, frequentemente associadas a esta doença e que agravam os sinais clínicos. A sobre expressão de citocinas dos linfócitos Th2, como a IL-4, e a deficiência em péptidos antimicrobianos facilitam a aderência de *Staphylococcus* spp e a sua colonização da pele. Por sua vez, esta colonização estimula a resposta inflamatória e contribui para os defeitos da barreira cutânea, uma vez que estas bactérias produzem ceramidases e proteases (Marsella et al., 2012). Para além das infeções bacterianas, também é comum na DAC o sobre crescimento de *Malassezia* spp tanto na pele como nos ouvidos (Santoro et al., 2015).

A DA resulta da combinação de múltiplos mediadores que contribuem para o processo inflamatório e não pode ser explicada apenas por um anticorpo, uma citocina ou um mediador. A DAC pode ser considerada uma síndrome clínica em vez de uma simples doença, dada a sua variação individual e os múltiplos mecanismos de desenvolvimento (Marsella et al., 2012; Santoro et al., 2015). No ponto 5.1.1 da presente dissertação encontra-se uma descrição mais detalhada de alguns dos mediadores envolvidos na DAC.

3. Manifestações clínicas da DAc

As manifestações clínicas da DA bem como a sua especificidade para a obtenção de um diagnóstico têm sido alvo de muitos estudos desde as primeiras descrições desta doença, há cerca de 70 anos. Os primeiros casos de atopia descritos no cão são invulgares, com alusão a sinais respiratórios em primazia face aos dermatológicos, diferindo bastante da maioria dos casos relatados atualmente (Griffin & DeBoer, 2001). Possivelmente tal deve-se, mesmo que inconscientemente, a uma aproximação à doença no Homem. De facto, o primeiro caso de DAc foi registado não por um médico veterinário, mas por Wittich, um imunoalergologista (Wittich, 1941). Só no final dos anos 60 e início dos anos 70 é que as manifestações dermatológicas foram estabelecidas como sinal clínico de doença atópica em cães (Griffin & DeBoer, 2001).

Atualmente o prurido é considerado o sinal clínico mais comum da DAc, precedendo normalmente outros sinais, podendo mesmo haver um prurido *sine matéria*, ou seja, na ausência de lesões visíveis. O prurido manifesta-se sobretudo na região distal dos membros, na face, nos pavilhões auriculares e na região ventral e pode variar, na sua intensidade, entre ligeiro a extremamente grave, levando este último a que o animal não consiga parar de se coçar independentemente da situação. (Bizikova et al., 2015; Rybníček, Lau-Gillard, Harvey & Hill, 2009).

Para além do prurido, podem estar presentes outros sinais clínicos, como lesões primárias ou secundárias da pele. Os cães podem apresentar eritema, máculas e/ou pápulas como lesões primárias e alopecia autoinduzida, escoriações, hiperpigmentação e liquenificação como lesões secundárias. Apesar de menos comuns, outras manifestações clínicas como urticária, *hot spots* (dermatite húmida piotraumática), hiperhidrose, fístulas interdigitais e seborreia oleosa podem estar presentes na DAc (Bizikova et al., 2015; Favrot, Steffan, Seewald, & Picco, 2010; Griffin & DeBoer, 2001).

A DAc também se pode manifestar através de sinais não dermatológicos como rinite ou conjuntivite, sendo este último o mais frequente e com uma prevalência de cerca de 60% em cães com DA (Bizikova et al., 2015). A expressão da conjuntivite alérgica pode variar desde ligeira a extremamente grave, o que pode prejudicar a visão e a qualidade de vida destes animais. O facto de os cães alérgicos apresentarem prurido facial e também muitas vezes auricular, faz com que o prurido ocular passe frequentemente despercebido aos cuidadores, ou seja, de difícil identificação e/ou quantificação. De forma concreta, em alguns pacientes quando eles esfregam, por exemplo, a face por prurido é difícil perceber a que zona ou zonas devemos atribuir o desconforto (Lourenço-Martins et al., 2011). Também está já provada a dificuldade que médicos veterinários não especialistas em oftalmologia têm em realizar o diagnóstico de conjuntivite alérgica principalmente nos casos mais discretos (Lourenço-Martins, 2010).

Na figura 1 são apresentadas algumas lesões manifestadas nesta doença.

Figura 1 - Lesões características da DAC: A – Eritema; B – Eritema e Alopecia autoinduzida; C – Hiperpigmentação e Liquenificação; D – Conjuntivite. (Fotografias originais obtidas com autorização dos cuidadores).



Sabemos hoje que diferentes raças podem apresentar quadros clínicos distintos e característicos. Para além da variação na distribuição das lesões, também a frequência de certas manifestações é variável entre raças (tabela 1) (Wilhem et al., 2011).

Tabela 1 - Comparação das lesões/sinais clínicos e da sua distribuição de acordo com a raça, com base no estudo de Wilhem et al. (2011).

Raça	Distribuição das lesões/ sinais clínicos	Lesões/ Sinais Clínicos
Bouledogue Francês	Axilas, pálpebras, regiões flexoras	-
Boxer	-	Otite e urticária
Dálmata	Perilabial	Baixa percentagem de prurido sem lesões
Golden Retriever	Extremidades distais dos membros anteriores	Lesões de dermatite piotraumática
Pastor Alemão	Cotovelos, membros posteriores, tórax e generalizado	Baixa percentagem de prurido sem lesões e alta percentagem de seborreia oleosa e lesões de dermatite piotraumática
Retriever do Labrador	Regiões flexoras, perilabial, pálpebras	Fístula interdigital, pele seca e lesões de dermatite piotraumática
Shar-pei	Tórax, membros posteriores, regiões flexoras, dorsolombar	Baixa percentagem de prurido sem lesões e alta percentagem de otites
West Highland White Terrier	Dorsolombar, extremidades distais dos membros, regiões flexoras, perilabial, face, órgãos genitais e generalizado	Seborreia oleosa, infeções secundárias por leveduras e baixa percentagem de conjuntivites

Em 2017, Casimiro, no âmbito da sua dissertação de mestrado, estudou e caracterizou o fenótipo do Cão de Água Português para esta doença. Segundo este estudo, esta raça apresenta lesões maioritariamente nas extremidades distais dos membros, anteriores (96,15%) e posteriores (80,77%), no pavilhão auricular (92,31%), na região periocular (69,23%) e no abdómen e flancos (61,54%), enquanto as áreas menos afetadas são a margem das orelhas (0%) e a perilabial (7,69%). Na figura 2 estão representadas estas distribuições, bem como as respetivas frequências. Para além da distribuição das lesões, a frequência dos sinais clínicos também é característica nesta raça, sendo os mais frequentes a pele seca (69,23%), as otites (92,31%) e as conjuntivites (57,69%). As infeções bacterianas (80,77%) e as fúngicas (57,69%) concomitantes também são frequentes nesta raça (Casimiro, 2017).

Figura 2 - Representação do padrão lesional de um exemplar de Cão de Água Português com DAC. As cores correspondem à percentagem de animais afetados na área em causa, na amostra estudada por Casimiro em 2017. (Desenho original de Mariana Machado realizado para a dissertação de Casimiro (2017). Reproduzido com autorização dos autores.)



A DAC normalmente começa a manifestar-se antes dos três anos, sendo que algumas raças podem desenvolver sinais clínicos mais cedo do que outras, como é o caso dos Bouledogues Franceses e dos Shar-pei (Bizikova et al., 2015; Wilhem et al., 2011). De facto, muito recentemente foi realizado um estudo que coloca a hipótese de alguns sinais clínicos em cachorros muito jovens poderem prever o desenvolvimento desta doença (Pennamen, Briand, & Cochet-Faivre, 2018). Neste estudo foram avaliados cachorros entre os dois e os quatro meses de idade e novamente seis meses após a primeira avaliação. Na primeira observação dos animais foi avaliada a presença de sinais como eritema, alteração de cor do pelo, queratose folicular, descamação no tronco, hiperqueratose das almofadas plantares e otites. Quando nenhum destes sinais era registado, o diagnóstico era considerado negativo; quando estava presente um destes sinais, o diagnóstico era considerado duvidoso e considerou-se positivo quando estava presente mais do que um destes sinais. Todos os animais que na primeira avaliação foram considerados positivos ou duvidosos foram diagnosticados com DAC na reavaliação (Pennamen et al., 2018). Apesar de se tratar de um estudo piloto, este trabalho indica a possibilidade de uma deteção precoce da doença, o que pode vir a ser útil para a melhor compreensão e manejo da mesma.

A DAC não apresenta predisposição de género, contudo, em certas raças como o Boxer ou o Golden Retriever, já foi identificada uma tendência para as fêmeas e para os machos, respetivamente (Bizikova et al., 2015; Wilhem et al., 2011).

A apresentação clínica desta doença pode ser complicada pelo desenvolvimento de infeções secundárias por leveduras ou bactérias. Estudos recentes mostraram que cerca de 33% dos cães têm infeções concomitantes por leveduras, enquanto cerca 66% têm infeções bacterianas secundárias (Bizikova et al., 2015; Favrot, Steffan, et al., 2010; Wilhem et al., 2011).

4. Diagnóstico da DAc

A diversidade na apresentação clínica da DAc bem como a ausência de sinais patognomónicos para esta doença tornam o diagnóstico complexo (Favrot, Steffan, et al., 2010). Com o intuito de ajudar os clínicos na obtenção de um diagnóstico de DAc, o ICADA desenvolveu, com base em diversos estudos e encontros internacionais, um guia prático que assenta em três abordagens complementares (Hensel, Santoro, Favrot, Hill & Griffin, 2015). Em primeiro lugar, devem ser excluídas outras doenças dermatológicas com apresentações clínicas semelhantes, como dermatite alérgica à picada da pulga ou a presença de outros ectoparasitas (por exemplo sarna sarcóptica, demodicose ou pediculose), dermatite por *Malassezia* spp ou piodermite, reações cutâneas adversas ao alimento (RCAA), dermatite de contacto. Em alguns casos o linfoma cutâneo pode ter uma apresentação clínica também similar à DA e poderá ter de ser excluído. Em segundo lugar, deve ser feita uma interpretação cuidada e detalhada de toda a história e sinais clínicos, sendo recomendada a utilização dos critérios de Favrot, listados na tabela 2, nesta fase. Por último, após ter sido estabelecido o diagnóstico clínico de DAc, deve fazer-se a identificação dos alérgenos responsáveis, através da realização de testes alérgicos (principalmente nos casos em que se pretenda recorrer a imunoterapia alérgico-específica), por testes intradérmicos, para avaliação da reatividade da pele, ou serológicos, para deteção de IgE específicas (Favrot, Steffan, et al., 2010; Hensel et al., 2015).

Tabela 2 – Critérios sugeridos por Favrot e colaboradores (2010) para auxílio no diagnóstico da DAc.

Critérios de Favrot
(5 critérios: 85,4% de sensibilidade; 79,1% de especificidade. 6 critérios: 58,2% de sensibilidade; 88,5% de especificidade)
⇒ Início dos sinais clínicos antes dos 3 anos
⇒ Cães de interior
⇒ Prurido responde favoravelmente aos glucocorticóides
⇒ Infeções crónicas ou recorrentes por leveduras
⇒ Extremidades dos membros anteriores afetados
⇒ Pavilhões auriculares afetados
⇒ Margens dos pavilhões auriculares não afetadas
⇒ Região dorsolombar não afetada

5. Introdução e classificação do prurido

O prurido é o sinal clínico mais comum exibido pelos cães que se apresentam à consulta por problemas dermatológicos e foi definido em 1660, pelo médico alemão Samuel Hafenreffer,

como a “sensação desagradável que provoca o desejo de coçar” (Hill et al., 2006; Ikoma, Steinhoff, Ständer, Yosipovitch & Schmelz, 2006; Leader, Carr & Chen, 2015; Metz, Grundmann & Ständer, 2011). O prurido pode ser agudo ou crónico, sendo este último definido por uma duração igual ou superior a seis semanas (Ständer et al., 2007). Na sua forma aguda o prurido é uma sensação fisiológica que, tal como a dor, apresenta um papel protetor. Na presença de estímulos mecânicos, químicos, térmicos ou elétricos, o animal pode sentir dor, afastando-se da origem do estímulo, ou prurido, coçando e/ou mordendo para remover substâncias ou parasitas que possam estar presentes na superfície da pele. Por outro lado, o prurido crónico é uma condição patológica que afeta significativamente a qualidade de vida dos animais, bem como dos seres humanos (Metz et al., 2011; Sousa, 2015).

A classificação do prurido crónico ainda não foi estabelecida em cães, contudo, alguns autores (Olivry & Bäumer, 2015) sugerem a utilização da classificação proposta pelo *International Forum for the Study of Itch* (IFSI) para Medicina Humana. Esta classificação divide o prurido crónico com base na sua etiologia em seis categorias, dermatológico, sistémico, neurológico, psicogénico/psicossomático, misto e outros (Olivry & Bäumer, 2015; Ständer et al., 2007). Na primeira categoria, prurido dermatológico (ou pruritogénico), encontram-se a maioria dos casos de prurido em cães e surgem de doenças da pele como ectoparasitas, alergias (por exemplo DA ou dermatite alérgica à picada da pulga), infeções ou neoplasias (De Lucia, 2018; Olivry & Bäumer, 2015). O prurido sistémico ainda não foi demonstrado em cães, no entanto é comum nos seres humanos e pode ter diversas origens como neoplasia (por exemplo linfoma ou carcinoma prostático), doença renal ou hepática (colestase), hipovitaminoses, tiroidite e diabetes *mellitus* (Olivry & Bäumer, 2015; Sommer et al., 2007). Na terceira categoria estão os animais cujo prurido tem origem em alterações do sistema nervoso central ou periférico. Cães da raça Cavalier King Charles Spaniel com siringomielia grave são um bom exemplo de prurido neurológico. Estes animais podem coçar-se de forma intensa e podem apresentar “*phantom scratching*”, tendência a coçar a região do pescoço e ombro sem que haja contacto com a pele. O prurido psicogénico tem origem no cérebro sem que haja qualquer problema a nível dermatológico e tem sido colocada a hipótese de que certos comportamentos como o perseguir da cauda ou a dermatite acral por lambadura possam representar esta categoria. No entanto, não é possível ter a certeza se é o prurido que está na origem destes comportamentos repetitivos. Por fim, na quinta e na sexta categorias estão, respetivamente, cães que apresentam mais do que uma doença, por exemplo DA e infeção bacteriana secundária, e cães com prurido de causa desconhecida (De Lucia, 2018; Olivry & Bäumer, 2015).

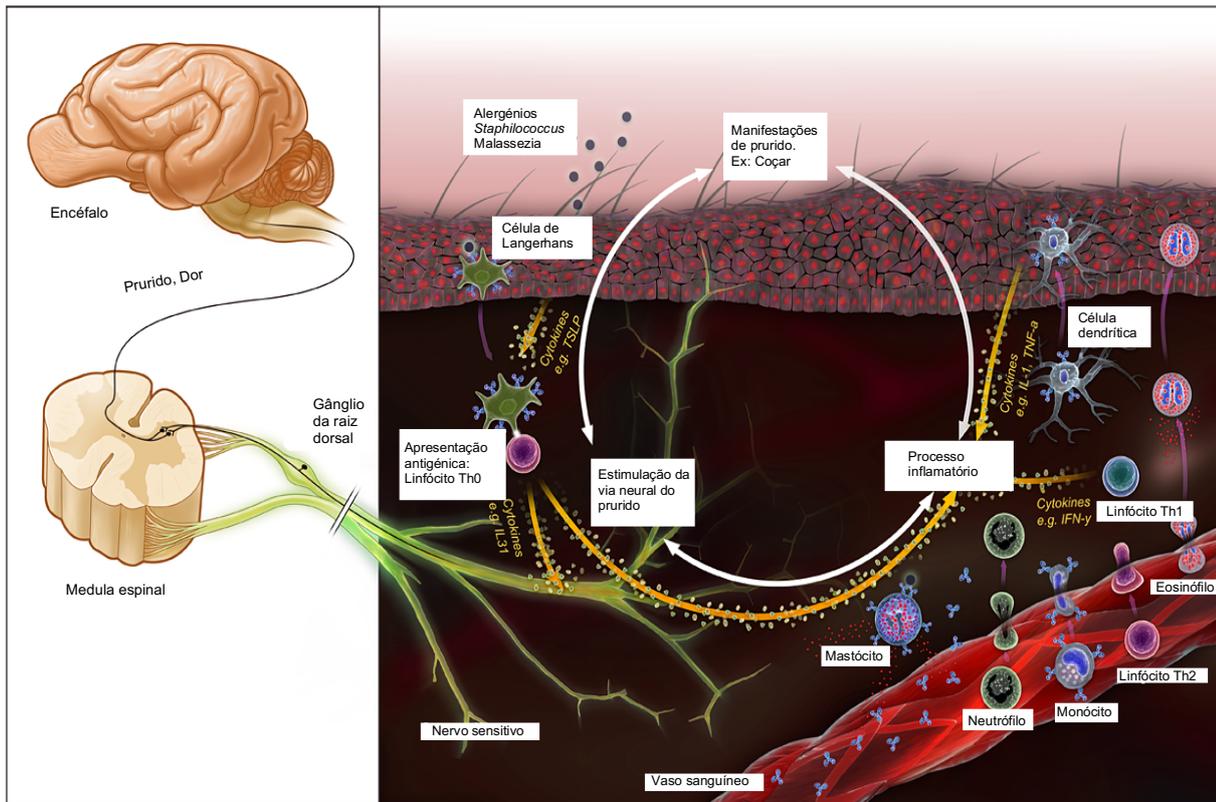
5.1. Fisiopatologia do prurido

Nos últimos anos tem surgido um grande interesse na comunidade médico veterinária pelo estudo dos diferentes aspetos do prurido como as causas, a fisiopatologia e o tratamento.

Este interesse nasceu do facto de se tratar de um sinal clínico extremamente prevalente e do impacto que representa na vida dos cães e dos seus cuidadores. Apesar das importantes descobertas realizadas nos últimos tempos, ainda há pouca informação sobre esta sensação em Medicina Veterinária quando comparada com Medicina Humana. Atualmente a maioria dos estudos realizados com o intuito de conhecer os mecanismos na base do prurido, ou para desenvolver terapêuticas mais específicas e direcionadas são feitos em cães atópicos, havendo ainda pouca informação para outras doenças. Assim, a DA muitas vezes serve como modelo para a fisiopatologia do prurido e para a elaboração de novas terapias (De Lucia, 2018).

O percurso do sinal pruriginoso inicia-se com uma variedade de mediadores endógenos ou exógenos, como por exemplo alergénios, que interagem com recetores presentes nas terminações nervosas e células residentes ou transitórias (queratinócitos, mastócitos, linfócitos e eosinófilos) na superfície da pele. Estas interações levam à libertação de mediadores, por parte das células referidas, que estimulam as fibras nervosas cutâneas e ativam o percurso periférico do prurido (De Lucia, 2018; Dhand & Aminoff, 2014; Kido-Nakahara, Furue, Ulzii & Nakahara, 2017; Sousa, 2015). Após a indução na pele, fibras nervosas aferentes especializadas são responsáveis pela transmissão do impulso até ao sistema nervoso central. O prurido, tal como a dor, é recebido por terminações nervosas de fibras não mielinizadas presentes na junção dermo-epidérmica (Metz et al., 2011; Sousa, 2015). A transmissão do sinal do prurido é feita por fibras A δ , finamente mielinizadas e sensíveis a estímulos mecânicos, e por fibras C não mielinizadas que se dividem em dois grupos, as fibras insensíveis a estímulos mecânicos e ativadas pela histamina (expressam recetores H1 e H4) e as fibras sensíveis a estímulos mecânicos e a temperaturas elevadas. Estas últimas não são ativadas pela histamina, mas são sensíveis às espículas de feijão-da-florida (*mucuna pruriens*), uma planta tropical utilizada para o estudo das vias independentes da histamina, e representam a maioria das fibras C, sendo as principais responsáveis pela transmissão do impulso pruriginoso (Papoiu, Tey, Coghill, Wang & Yosipovitch, 2011; Pereira & Ständer, 2017; Sousa, 2015). Estas fibras nervosas prolongam-se até aos gânglios das raízes dorsais, onde se localizam os seus corpos celulares, e daí até ao corno dorsal da medula espinal onde estabelecem sinapses com neurónios secundários. O sinal pruriginoso é então dirigido para o trato espinotalâmico contralateral e ascende até ao tálamo. Por fim, o impulso nervoso chega ao córtex cerebral sensorial, através de neurónios terciários e é processado originando a sensação de prurido (Potenzieri & Udem, 2012; Sousa, 2015). O percurso do prurido está representado na figura 3.

Figura 3 - Representação esquemática da interação entre o sistema imunitário e o sistema nervoso na transmissão do prurido. (Imagem adaptada e reproduzida com autorização da Zoetis).



A fisiopatologia do prurido (dermatológico) está relacionada com a dor, ambos partilham vias sensitivas ascendentes, como o trato espinotalâmico. Atualmente existem duas teorias relativamente à transmissão do prurido e da dor desde a pele até ao cérebro, a teoria da seletividade e a teoria *labelled line*. A primeira defende que certos neurónios são relativamente seletivos para a dor e para o prurido, sendo que a maioria responde apenas ao estímulo doloroso, mas alguns respondem a ambos os estímulos. Contudo, se um estímulo ativar ambas as vias, a da dor sobrepõe-se à do prurido devido à grande quantidade de fibras C que transportam o sinal doloroso. A supressão do prurido pela dor ligeira causada pelo ato de coçar apoia esta teoria. A segunda teoria defende que existem fibras nervosas específicas responsáveis pela transmissão do impulso pruriginoso, no entanto não há evidências suficientes que comprovem a existência de neurónios periféricos que respondam apenas aos estímulos do prurido (De Lucia, 2018; Sousa, 2015).

A dor provocada quando um animal se coça diminui temporariamente o prurido, levando o animal a coçar novamente (Metz et al., 2011). Este comportamento repetido lesiona a pele, perpetuando e aumentando o processo inflamatório, que por sua vez induz mais prurido, estabelecendo-se deste modo um ciclo vicioso (De Lucia, 2018; Metz et al., 2011).

A presença de um estímulo pruriginoso permanente e a constante estimulação dos neuroreceptores por mediadores podem diminuir o limiar de estimulação dos neuroreceptores

do prurido e aumentam, desta forma, a percepção do mesmo. Este processo é conhecido por sensibilização periférica (Metz et al., 2011). Os mediadores inflamatórios que ativam as fibras nervosas responsáveis pela transmissão do prurido podem, a longo prazo, induzir alterações na pele. As células da pele como os mastócitos e os queratinócitos libertam fator de crescimento neuronal que, em conjunto com a substância P, contribuem para o aumento do número de fibras sensitivas intra-epidérmicas, perpetuando e intensificando a sensação de prurido (De Lucia, 2018; Ikoma et al., 2006; Metz et al., 2011). A IL-31 também está envolvida no aumento do comprimento e do número das terminações nervosas sensíveis ao prurido (De Lucia, 2018; Feld et al., 2016). Para além da sensibilização periférica, pode ocorrer também sensibilização a nível central. A sensibilização central pode apresentar duas formas, *Allokinesis* ou *Hyperkinesis*: na primeira, um estímulo não pruriginoso, como por exemplo um toque, despoleta prurido; na segunda há um aumento na sensação do prurido após um estímulo normalmente pruriginoso (De Lucia, 2018; Metz et al., 2011; Yosipovitch & Papoiu, 2008).

5.1.1. Mediadores do prurido

A sensação do prurido pode ser induzida por vários mediadores endógenos como a histamina, substância P, interleucinas e proteases. Estes são detetados por recetores ou canais iónicos específicos presentes nas células. O conhecimento destes mediadores pruritogénicos, dos respetivos recetores e da sua ação é fundamental para o desenvolvimento de tratamentos mais específicos e direcionados (De Lucia, 2018).

A histamina está presente nos grânulos dos mastócitos, sendo libertada para os tecidos envolventes após a sua desgranulação e pode ser reconhecida por quatro recetores, H1R, H2R, H3R, H4R. O H1R está presente no músculo liso, células endoteliais e células do sistema imunitário. O H2R participa na produção de ácido gástrico. O H3R encontra-se principalmente no sistema nervoso central e em neurónios periféricos. Por sua vez o H4R é expresso por células hematopoiéticas, fibroblastos, células endócrinas e neurónios (Sousa, 2015; Zampeli & Tiligada, 2009). A histamina tem sido o padrão para o modelo *in vivo* do prurido, contudo existem outros mediadores com um papel crítico nas doenças pruriginosas da pele. Para além disso, os anti-histaminínicos apresentam um efeito muito limitado ou nenhum na redução de prurido em humanos, cães e gatos (De Lucia, 2018). Apesar de vários estudos indicarem a importância da histamina no desenvolvimento de lesões e prurido em cães com DA, bem como a sua presença em concentrações mais elevadas na pele destes animais, outros vieram refutar o seu papel na fisiopatologia do prurido (Nimmo Wilkie, Yager, Eyre & Parker, 1990; Sousa, 2015). Um exemplo é o estudo de Carr e seus colaboradores, que não conseguiu demonstrar uma relação significativa entre o prurido e a histamina, após a injeção intradérmica da mesma (Carr, Torres, Koch & Reiter, 2009).

A indução do prurido pela substância P, um neuropéptido, já foi demonstrada nos seres humanos e ratos, contudo o seu papel na fisiopatologia do prurido em cães ainda é incerto. Após ser libertada das terminações nervosas sensoriais, a substância P liga-se ao recetor da neuroquinina-1 nos queratinócitos, células endoteliais e mastócitos o que pode levar à libertação de histamina e a atrair células pro-inflamatórias com consequente libertação de citocinas pruritogénicas (Sousa, 2015).

As interleucinas fazem parte de um grupo de pequenas moléculas proteicas, as citocinas, que são secretadas pelas células e influenciam o comportamento, as interações e a comunicação entre estas (Sousa, 2015). Em 2004 Dillon e colaboradores identificaram a interleucina-31 e a sua ação no desenvolvimento de prurido, alopecia e lesões na pele em ratos (Dillon et al., 2004). Desde então, a IL-31 já foi utilizada para induzir prurido experimentalmente em cães (Gonzales et al., 2013). Esta interleucina é secretada principalmente por linfócitos Th2, após a sua ativação, e por linfócitos T de memória, mas também por mastócitos, monócitos, macrófagos e células dendríticas. A IL-31 liga-se a um recetor heterodimérico, constituído por dois recetores, α e β , da IL-31 e da oncostatina M respetivamente, e exerce o seu efeito pruritogénico através da ativação de várias vias de sinalização como Janus cinase-transdutor de sinal e ativador de transcrição (JAK-STAT) e proteína-cinase ativada por mitogénio (MAPK). Este recetor está presente na pele nas fibras C sensitivas e nos queratinócitos e nos gânglios das raízes dorsais. A IL-31 contribui para a patogénese da DA e os seus níveis séricos podem estar elevados em cães com esta doença (De Lucia, 2018; Dillon et al., 2004; Gonzales et al., 2013; Sousa, 2015). Esta interleucina pertence à família da IL-6, uma família de citocinas com papéis importantes na inflamação, na imunidade, na hematopoiese, no desenvolvimento e metabolismo (Jones & Jenkins, 2018). Enquanto a IL-6 é extremamente importante no desenvolvimento da inflamação, o papel da IL-31 no processo inflamatório tem vindo a ser questionado. De facto, num estudo em 2018 foi demonstrada a ação da IL-31 no prurido e a ausência de efeito da mesma na inflamação da pele em casos de hipersensibilidade de contacto (Jones & Jenkins, 2018; Takamori et al., 2018).

Para além dos mediadores, certos recetores também podem originar prurido, como o recetor ativado por proteases 2 (PAR2). Este recetor está presente nas terminações nervosas aferentes, nos fibroblastos, em células endoteliais e nos queratinócitos e pode ser ativado por proteases endógenas ou exógenas, como por exemplo triptase ou proteases dos ácaros, respetivamente. A sua expressão está aumentada nas terminações nervosas da pele de pacientes humanos com DA, o que pode indicar a sua relevância na fisiopatologia desta doença (De Lucia, 2018; Olivry et al., 2013; Steinhoff et al., 2003).

A família dos recetores de potencial transitório (TRP) também desempenha uma função importante na transmissão do sinal pruriginoso. Estes recetores são canais iónicos, que podem ser uma peça essencial nas vias da transmissão do prurido (De Lucia, 2018). Os canais TRP estão presentes nas células da pele e para além da sua função na transmissão

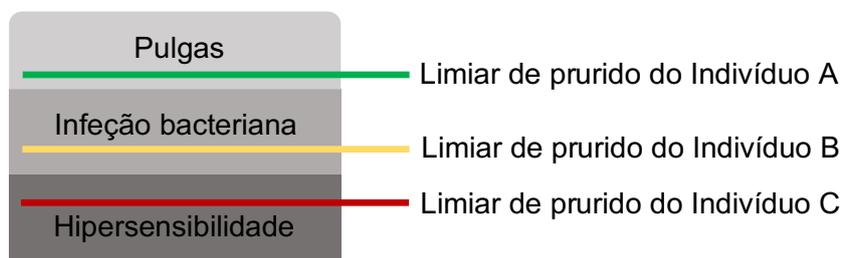
do prurido, também têm um papel na regulação da função da barreira cutânea, na diferenciação dos queratinócitos, na inflamação, no crescimento do pelo e na cicatrização (Kaneko & Szallasi, 2014; Moran, McAlexander, Bíró & Szallasi, 2011). O TRPV1, o TRPA1 e o TRPV3 são três destes canais associados a doenças da pele (Kaneko & Szallasi, 2014). O primeiro, com expressão nos nervos sensitivos, já foi associado à fisiopatologia da DA em seres humanos, e a sua inibição farmacológica ou eliminação genética diminuiu o comportamento associado ao prurido, induzido por histamina, em ratos (Imamachi et al., 2009; Kaneko & Szallasi, 2014; Shim et al., 2007). O TRPA1 também se expressa nos nervos sensitivos, muitas vezes em conjunto com o TRPV1, no entanto, as vias pelas quais induzem o prurido são diferentes (Fernandes et al., 2013; Kaneko & Szallasi, 2014). O TRPV3, expresso em abundância nos queratinócitos, está associado ao prurido, ao crescimento do pelo e à queratinização e a utilização de antagonistas deste canal pode diminuir o prurido (Kaneko & Szallasi, 2014).

5.2. Limiar de prurido

O limiar de prurido, em conjunto com o limiar de carga alérgica, tem sido utilizado na tentativa de explicar o desenvolvimento dos sinais clínicos da DA, no entanto, este conceito é apenas teórico não tendo sido ainda validado nem testado (Marsella & Sousa, 2001).

De acordo com a teoria do limiar de prurido, todos os indivíduos são capazes de tolerar um certo nível de estímulo pruriginoso, que varia de indivíduo para indivíduo (figura 4), sem que este conduza ao aparecimento de sinais clínicos. Para além disso, o grau de prurido final que um animal experimenta resulta do somatório de vários estímulos pruriginosos, sendo que, se este ultrapassar o limiar de prurido individual, o animal vai, muito provavelmente, apresentar sinais clínicos (Marsella & Sousa, 2001).

Figura 4 - Representação esquemática do limiar de prurido de três indivíduos (A, B e C) face a três estímulos (pugas, infeção bacteriana e hipersensibilidade). (Figura original).



Legenda: Ao eliminar as pulgas o indivíduo A vai deixar de manifestar sinais de prurido; para que o indivíduo B deixe de manifestar prurido é necessário eliminar a infeção bacteriana bem como as pulgas; no caso do indivíduo C, para além da eliminação da infeção e das pulgas é necessário controlar a DA para que possam deixar de haver sinais de prurido.

Assim, todos os fatores facilmente controláveis, como por exemplo os parasitas externos, que contribuem para aumentar o estímulo pruriginoso e consequentemente atingir o limiar de

prurido, devem ser eliminados, de forma a permitir ao animal uma maior tolerância para outros fatores cujo controlo é mais difícil, como alguns alergénios. As infeções secundárias também podem ter uma grande influência no nível final de prurido de um animal. Os microorganismos capazes de provocar infeção secundária na pele, como as bactérias ou *Malassezia* spp, para além de contribuírem para o processo inflamatório da pele, também podem agir como alergénios e induzir a produção de IgE (Marsella & Sousa, 2001).

Tendo em conta o conceito de limiar de prurido é clara a importância do mesmo para o manejo da DAC. Através do controlo dos vários estímulos pruriginosos que podem afetar um animal reduz-se a probabilidade deste atingir o seu limiar, facilitando assim o manejo desta doença (Marsella & Sousa, 2001).

6. Impacto da DAC na qualidade de vida dos cães e dos cuidadores

A DA é uma doença crónica com um impacto negativo na qualidade de vida tanto dos humanos como dos cães por ela afetados (Favrot, Linek, Mueller & Zini, 2010).

A qualidade de vida relacionada com a saúde é normalmente avaliada em termos de quão negativamente é afetada por uma doença (Noli, 2019).

Em Medicina Humana sabe-se que uma doença, para além de afetar a qualidade de vida do doente, também pode afetar a sua família. O mesmo acontece em Medicina Veterinária, em que se observa que a qualidade de vida dos cuidadores pode ser afetada negativamente pela doença dos seus animais. De facto, os cuidadores de animais com problemas dermatológicos podem sentir-se exaustos física e mentalmente, pelas implicações que a doença do seu animal pode ter na sua vida. Os custos associados à doença e as alterações na vida social e familiar são fatores com grande peso na qualidade de vida dos cuidadores (Noli, Minafò, & Galzerano, 2011).

Em 2010 Linek e Favrot realizaram um estudo em que confirmaram que a qualidade de vida dos cães é extremamente afetada pela DAC, bem como a dos seus cuidadores, e que a destes últimos está relacionada com a gravidade da doença e a própria relação de proximidade entre o cuidador e o seu animal. Neste estudo, tal como já foi demonstrado acontecer com pais de crianças atópicas, foi registada uma grande perturbação do sono diretamente relacionada com a gravidade do prurido. Para além disso, muitos cuidadores sofrem com o custo e com a implementação do tratamento, pois normalmente exige a administração de comprimidos ou banhos frequentes que podem requerer muito tempo, podendo até levar a alterações na vida social e familiar dos cuidadores (Linek & Favrot, 2010). Relativamente aos cães, o prurido foi, de facto, o fator referido pelos cuidadores com maior influência na qualidade de vida. A intensidade do prurido bem como a gravidade da apresentação clínica mostraram ter um impacto mais significativo na qualidade de vida do que a duração da doença. Este estudo demonstrou, ainda, que as atividades normais do cão, como dormir, passear ou brincar, podem estar afetadas, contudo na alimentação não houve grande influência. A irritabilidade

dos cuidadores nestas situações também pode influenciar, indiretamente, a qualidade de vida dos animais (Linek & Favrot, 2010).

Noli e os seus colaboradores (2011) realizaram um estudo, com o intuito de desenvolver um questionário para avaliar a qualidade de vida, semelhante ao de Favrot e seus colaboradores (2010) em que verificaram, também, uma grande relação entre a gravidade do prurido e a qualidade de vida. Este estudo diferiu do de Favrot, uma vez que o propósito era avaliar o impacto na qualidade de vida de cães com outras doenças dermatológicas para além da DAc. Neste estudo, em contraste com o anterior, as alterações no comportamento, nas atividades diárias (por exemplo brincar) e o fardo da administração de tratamentos sobrepuseram-se à perturbação do sono; no entanto, os resultados são concordantes relativamente à escassa influência negativa na alimentação. Estas diferenças podem estar relacionadas com a singularidade dos questionários desenvolvidos e utilizados pelos dois grupos, bem como pela diferença no estilo de vida das populações dos dois estudos (Noli et al., 2011). No que se refere aos cuidadores este estudo mostrou que a DAc tem um impacto negativo relevante, com resultados semelhantes a estudos anteriores (Noli et al., 2011).

Recentemente, foi desenvolvido um novo questionário por Wright e os seus colaboradores, utilizado para avaliar a relação entre o prurido e a qualidade de vida antes e após a administração de oclacitinib (Wright, Cooper & Pavlock, 2018). Posteriormente, noutro estudo, o mesmo questionário foi utilizado para avaliar a mesma relação, mas com o uso de lokivetmab (Nguyen et al., 2018). Enquanto no estudo do oclacitinib houve uma boa relação entre a evolução do prurido e a qualidade de vida, no estudo do lokivetmab não se observou um aumento na qualidade de vida com a diminuição do prurido. No entanto, as circunstâncias em que se apresentavam os cães nos dois estudos eram muito diferentes. No primeiro os cães incluídos apresentavam um quadro agudo de prurido sem tratamento prévio, enquanto os cães incluídos no estudo do lokivetmab apresentavam um quadro crónico cuja resposta a terapêuticas anteriores tinha sido negativa (Nguyen et al., 2018; Noli, 2018; Wright et al., 2018).

A avaliação da qualidade de vida é muito importante e pode representar uma ferramenta bastante útil, em conjunto com a avaliação clínica, para a escolha do plano terapêutico mais adequado a cada situação (Noli et al., 2011).

7. Tratamento da DAc

No maneio da DA, sendo esta uma doença quase sempre incurável, o objetivo passa essencialmente por uma melhoria da qualidade de vida, manifestada por uma redução do prurido e um maior intervalo entre crises, assim como um menor grau de complicações secundárias, tais como as infeções (Saridomichelakis & Olivry, 2016).

Tendo em conta a complexidade da fisiopatologia da DAc, bem como a variação individual na manifestação da mesma é compreensível que o tratamento deva ser flexível e personalizado

de indivíduo para indivíduo dentro das intervenções terapêuticas existentes. O plano terapêutico deve ser também multimodal e, além de adequado ao quadro clínico do animal, deve ter também em conta a disponibilidade económica e até temporal dos cuidadores (DeBoer, 2014a). A abordagem terapêutica tem quatro grandes objetivos, identificar e evitar o contacto com os fatores desencadeadores de crises, reduzir o prurido e as lesões cutâneas, melhorar a higiene e o estado da pele e do pelo e prevenir a recorrência dos sinais clínicos (Olivry et al., 2015, 2010).

Tal como já foi referido anteriormente, o ICADA, atualizou em 2015 as *guidelines* para o tratamento da DAc de 2010. Estas *guidelines*, *Treatment of canine atopic dermatitis: 2015 updated guidelines from the International Committee on Allergic Diseases of Animals (ICADA)*, incluem um plano detalhado para o tratamento de crises agudas e da doença crónica e encontram-se disponíveis, de livre acesso, e traduzidas para diversas línguas incluindo português (Olivry et al., 2015, 2010).

Atualmente, são várias as intervenções disponíveis para o manejo da DAc, contudo, nem todas são eficazes em diferentes indivíduos (Olivry et al., 2015). O estudo e desenvolvimento de novas ferramentas terapêuticas é fundamental para aumentar o número de intervenções disponíveis e deste modo proporcionar a cada indivíduo o plano terapêutico mais adequado. O oclacitinib e o lokivetmab são os dois instrumentos terapêuticos mais recentes que possuem a vantagem de ter uma ação mais específica relativamente a outros fármacos disponíveis há mais tempo. Deste modo, por apresentarem menos efeitos secundários, tornam-se opções mais seguras (Cosgrove, Wren, Cleaver, Martin, et al., 2013; Michels, Ramsey, et al., 2016).

7.1. Oclacitinib

O oclacitinib é um inibidor seletivo da enzima Janus quinase (JAK) que impede a sinalização das citocinas pró-inflamatórias e pruritogénicas após a ligação destas últimas aos seus recetores e foi aprovado tanto nos Estados Unidos da América como na União Europeia para o controlo ou tratamento da DAc e do prurido associado a dermatite alérgica em cães com pelo menos um ano de idade (Gonzales et al., 2014; Saridomichelakis & Olivry, 2016).

As quatro enzimas pertencentes à família das JAK [JAK1, JAK2, JAK3 e tirosina quinase 2 (TYK2)] encontram-se no citoplasma das células e ligam-se seletivamente aos recetores das citocinas, presentes na superfície celular, tendo um papel essencial na atividade destas (Gonzales et al., 2014). Estas enzimas são extremamente importantes em vários processos fisiológicos como a inflamação, a hematopoiese e para o correto funcionamento da imunidade (Damsky & King, 2017; DeBoer, 2014a). Diversas citocinas como as interleucinas, os interferões e outras moléculas, transmitem um sinal desde a membrana celular ao núcleo da célula por se ligarem aos seus recetores e consequentemente pela ativação da via JAK-STAT. Quando esta ligação ocorre, as enzimas JAK associadas aos recetores são ativadas e

provocam a fosforilação das proteínas STAT que sofrem dimerização e se deslocam até ao núcleo onde vão regular diretamente a transcrição de genes (Damsky & King, 2017).

O oclacitinib, num estudo de Gonzales e colaboradores, mostrou ser um inibidor seletivo das enzimas JAK, em particular da JAK1, uma vez que a sua ação na inibição das citocinas cujos recetores utilizam pares JAK2/JAK2 foi inferior quando comparada com a inibição das citocinas cujos recetores usam pares com uma JAK1, por exemplo JAK1/JAK3 (Gonzales et al., 2014). Tendo em consideração que muitas das citocinas envolvidas na fisiopatologia da DAc, como por exemplo a IL-4, IL-13 e IL-31, recorrem a recetores que utilizam a JAK1 como via de sinalização intracelular, a seletividade do oclacitinib para esta enzima aparenta ser muito vantajosa. O oclacitinib promove então uma grande inibição na ação das citocinas envolvidas na inflamação e no prurido sem que haja um efeito relevante na atividade das JAK2, as enzimas recrutadas por muitas citocinas implicadas na hematopoiese (DeBoer, 2014a; Gonzales et al., 2014).

O oclacitinib tem uma ação rápida e eficaz no alívio do prurido, que pode ser evidente logo nas primeiras 24 horas, e do processo inflamatório da pele (Cosgrove, Wren, Cleaver, Martin, et al., 2013; Cosgrove, Wren, Cleaver, Walsh, et al., 2013). O oclacitinib pode, inclusive, reduzir consideravelmente o prurido nas primeiras quatro horas, como foi relatado por Gadeyne e seus colaboradores num estudo em 2014 (Gadeyne et al., 2014). A brevidade da ação deste fármaco na diminuição do prurido, bem como o alívio e o conforto proporcionados a longo prazo, levam a um aumento considerável na qualidade de vida dos doentes e dos seus cuidadores (Cosgrove et al., 2015; Cosgrove, Wren, Cleaver, Martin, et al., 2013).

Apesar de estarem registados alguns efeitos adversos, o oclacitinib é muito seguro. As alterações gastrointestinais (anorexia, vómito e diarreia) são os efeitos adversos mais comuns (Cosgrove, Wren, Cleaver, Martin, et al., 2013; Cosgrove, Wren, Cleaver, Walsh, et al., 2013). Uma vez que o oclacitinib tem a capacidade de modular o sistema imunitário, pode aumentar a suscetibilidade às infeções e infestações além de poder potencialmente agravar processos neoplásicos. Assim, todos os animais aos quais é administrado oclacitinib, devem ser monitorizados regularmente para controlar as situações acima referidas (Cosgrove et al., 2015). Pela mesma razão, a utilização deste fármaco é contraindicada em animais imunodeprimidos ou com neoplasias (Agência Europeia do Medicamento (EMA), 2018a).

Para uma ação rápida e eficaz no controlo do prurido e das lesões inflamatórias associadas à DAc é recomendada a administração de oclacitinib duas vezes ao dia nos primeiros 14 dias, após os quais a administração deve passar a uma vez por dia apenas, para um tratamento de manutenção (Cosgrove, Wren, Cleaver, Walsh, et al., 2013). Tal como é indicado no resumo das características do medicamento (RCM), a dose recomendada é de 0,4 a 0,6 mg/kg (EMA, 2018a).

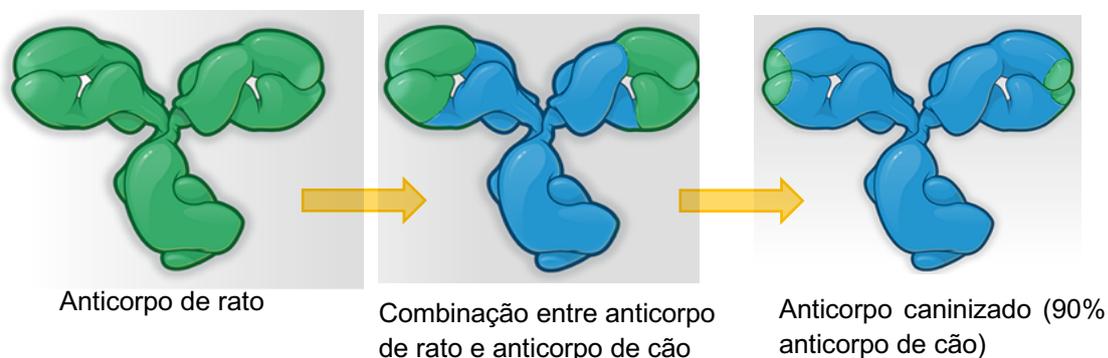
O oclacitinib é um fármaco com uma ação dirigida que representa uma opção terapêutica extremamente importante para o controlo das crises agudas e para o maneio crónico da DAC, bem como para outras doenças pruriginosas e alérgicas da pele (DeBoer, 2014a).

7.2. Lokivetmab

Em Medicina Humana a terapêutica biológica já é utilizada há cerca de trinta anos e está agora a começar a ser utilizada em Medicina Veterinária. A terapêutica biológica simula a resposta imunológica normal do organismo contra agentes estranhos ou no combate de doenças (Sousa, 2017b). Os anticorpos monoclonais (mAbs) estão incluídos neste tipo de terapêutica e quando são administrados a um indivíduo têm uma ação semelhante aos anticorpos produzidos por um plasmócito, com capacidade para se ligarem a um único epítipo do antígeno alvo (Sousa, 2017b).

Estes mAbs terapêuticos são produzidos através da inoculação do antígeno de interesse em ratos. Assim que os linfócitos B dos ratos estejam a produzir anticorpos, estes são recolhidos e fundidos individualmente com células B cancerígenas (de mieloma), de modo a dar origem a hibridomas, células com tempo de vida ilimitado. Da divisão destes hibridomas surgem células idênticas (clones) com capacidade para produzir grandes quantidades de mAbs. Por fim, e para que os anticorpos de rato não provoquem uma resposta imunológica na espécie alvo sendo consequentemente inativados, são utilizadas técnicas de ADN recombinante para substituir o máximo de porções possíveis dos anticorpos de rato por porções da espécie alvo (por exemplo, para o caso do cão os anticorpos passam a designar-se caninizados), (figura 5) (Sousa, 2017b, 2017a).

Figura 5 - Representação esquemática do processo de caninização de um anticorpo. (Imagem adaptada e reproduzida com autorização da Zoetis).



O lokivetmab é um anticorpo monoclonal caninizado, obtido por tecnologia recombinante, contra a IL-31 canina, cuja utilização está indicada para o tratamento de manifestações clínicas de DAC e, em Setembro de 2018, recebeu aprovação, nos Estados Unidos da

América, para o tratamento da dermatite alérgica (Michels, Ramsey, et al., 2016; Zoetis, 2018a, 2018b). O lokivetmab neutraliza a ação da IL-31 por se ligar seletivamente a esta e desta forma impedindo a ligação da IL-31 ao seu recetor (Michels, Ramsey, et al., 2016; Michels, Walsh, et al., 2016; Souza, Rosychuk, Contreras, Schissler & Simpson, 2018).

Tal como já foi referido, a IL-31 é uma citocina com um papel crítico no desenvolvimento de prurido na DAc (Michels, Walsh, et al., 2016). A função desta interleucina nos seres humanos é semelhante e está associada ao prurido e à inflamação crónica, bem como à regulação da imunidade em tecidos expostos ao ambiente (Souza et al., 2018).

Em estudos anteriores, a frequência dos cães com DAc cujos níveis da IL-31 estavam acima do limite mínimo de quantificação, variaram entre 7% a 57%. No estudo de Michels e seus colaboradores (2016), os níveis desta interleucina na maioria dos cães encontravam-se inferiores ao limite mínimo quantificável, contudo os resultados satisfatórios obtidos após a utilização do lokivetmab sustentam a importância do papel da IL-31 no prurido e no agravamento das lesões da DAc. Os autores deste estudo consideram que os níveis de IL-31 com significado clínico podem estar presentes na maioria dos cães com DAc, contudo, inferiores ao limite atualmente quantificável, o que, por sua vez, pode indicar que a inibição da IL-31 pode ser eficaz na redução do prurido de outras doenças cujos valores de IL-31 aparentam estar baixos (Michels, Ramsey, et al., 2016).

No estudo acima referido foram obtidos resultados que indicam que a duração e a magnitude do efeito do lokivetmab estão relacionados com a dose, pelo menos até à dose máxima investigada (2 mg/kg), tendo sido alcançada uma redução do prurido durante pelo menos um mês com as doses de 0,5 e 2 mg/kg. A rapidez e a magnitude do efeito do lokivetmab na redução do prurido, bem como na diminuição dos valores da escala utilizada para avaliar as lesões da DAc, *Canine Atopic Dermatitis Extent and Severity Index (CADESI)-03*, confirmam, uma vez mais, o papel essencial da IL-31 na DAc, no desenvolvimento do prurido e no efeito pró-inflamatório (Michels, Ramsey, et al., 2016).

O efeito antipruriginoso do lokivetmab já foi demonstrado por vários estudos. As observações feitas relativamente ao tempo entre a administração e o início do efeito clínico indicam um período curto com uma ação rápida. Em menos de 24 horas pode haver uma redução significativa do prurido, mesmo em cães que não estejam a receber mais nenhuma medicação antipruriginosa (Souza et al., 2018).

Embora fosse expectável que animais que não responderam bem ao tratamento com oclacitinib tivessem menor probabilidade de responder favoravelmente ao lokivetmab, isto não se verificou num estudo de Souza e colaboradores (2018). A razão para estes animais não terem atingido uma resposta satisfatória ao oclacitinib, mas para o lokivetmab ter sido um sucesso terapêutico, é desconhecida, no entanto o contrário também é possível (Souza et al., 2018).

Apesar deste medicamento ser um anticorpo monoclonal caninizado, o desenvolvimento de uma reação imunogénica com formação de anticorpos contra o lokivetmab não é impossível e foi registada por Michels e seus colaboradores (2016) em 2,5% dos cães que integraram o seu estudo. Esta reação com formação de anticorpos neutraliza o lokivetmab e pode levar à perda da sua eficácia (Michels, Walsh, et al., 2016; Souza et al., 2018).

A utilização do lokivetmab é muito segura, com poucos eventos adversos registados, sendo que os mais frequentes são o vómito e a letargia. No estudo de Souza e colaboradores (2018) os eventos adversos registados resolveram-se sem necessidade de intervenção. Podem ainda ser observados desconforto e dor no local de administração logo após a mesma. Esta é uma boa opção terapêutica para animais com doenças sistémicas ou cutâneas concomitantes, uma vez que se provou bem tolerado e seguro (Souza et al., 2018).

A interação entre o lokivetmab e outros medicamentos é pouco provável, uma vez que as enzimas que metabolizam os xenobióticos, como o citocromo P450, não estão envolvidas na eliminação de anticorpos monoclonais. Assim, não é expectável que ocorram interações pela indução ou inibição destas enzimas. No entanto, com a utilização de anticorpos monoclonais pode haver uma alteração nos níveis de outros medicamentos administrados concomitantemente. Os níveis elevados de citocinas nas doenças inflamatórias crónicas 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, Walsh, et al., 2016).

Os mAbs são eliminados por catabolismo intracelular nos lisossomas onde a proteólise dá origem a péptidos ou aminoácidos que podem ser excretados pelos rins ou reutilizados na síntese de novas proteínas (Sousa, 2017a).

Para além disso, o lokivetmab não aparenta ter qualquer efeito nos resultados dos testes intradérmicos ou serológicos para deteção de IgE (Souza et al., 2018).

Para uma terapia eficaz com o lokivetmab está recomendada, tal como vem indicado no resumo das características do medicamento, uma administração mensal com uma dose mínima de 1 mg/kg (EMA, 2018b). A administração deve ser subcutânea, uma vez que por se tratar de proteínas, os mAbs são digeridos se administrados oralmente (Sousa, 2017b).

A terapia com lokivetmab representa uma opção bastante vantajosa, uma vez que é muito eficaz e tem uma ação muito específica, o que o torna mais seguro quando comparado com outras opções como os glucocorticoides que podem ter um impacto negativo em vários sistemas do corpo (Michels, Ramsey, et al., 2016).

CAPÍTULO III – AVALIAÇÃO DA RESPOSTA AO TRATAMENTO DA DAC COM LOKIVETMAB

1. Objetivos

A presente dissertação de mestrado tem como principal objetivo a avaliação da eficácia do lokivetmab (Cytoint[®], Zoetis) no tratamento da DAC, através de avaliações clínicas com recurso à escala CADESI-4 e de avaliações quantitativas do prurido por parte dos cuidadores com recurso a uma escala visual (*Visual Analogue Scale, VAS*). Neste estudo pretende-se, também, avaliar a segurança relativa à utilização do lokivetmab, através de análises sanguíneas realizadas antes e após o tratamento e registo de eventos adversos.

2. Materiais e métodos

2.1. Seleção da amostra

Os cães incluídos neste estudo foram selecionados a partir das consultas do serviço de Dermatologia do HEV-FMV-ULisboa pelo seu diagnóstico de DAC e aquando da decisão de iniciar tratamento com lokivetmab (Cytoint[®]). O presente trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética e Bem-Estar Animal da FMV e a participação de todos os animais incluídos foi autorizada por meio de um consentimento informado (Anexo 1) pelos respetivos cuidadores.

A inclusão dos animais neste estudo teve por base os seguintes critérios:

- i. Diagnóstico clínico de DAC, realizado pelo médico veterinário com base na história e nos sinais clínicos, seguindo os critérios recomendados por Favrot (2010) e após a exclusão de outros diagnósticos diferenciais.
- ii. Exclusão de parasitas externos e cumprimento de um protocolo antiparasitário, decidido pelo médico veterinário.
- iii. Permissão de utilização de outras medicações/ferramentas terapêuticas apenas em casos de manutenção e não a iniciar em simultâneo com o lokivetmab.
- iv. Preenchimento por parte dos cuidadores de um termo de responsabilidade consentindo a inclusão do animal.

Relativamente à exclusão dos animais do presente trabalho, foram utilizados os critérios que se seguem:

- i. Interrupção do tratamento antes das duas administrações.
- ii. Incumprimento no preenchimento da escala para a classificação do prurido.
- iii. Falta de comparência às consultas de avaliação propostas.
- iv. Cadelas gestantes

2.2. Protocolo e procedimentos

Na consulta da primeira administração do lokivetmab procedeu-se à recolha da história clínica, em conversa com os cuidadores e através das bases de dados dos programas informáticos Qvet® e Guruvet®, bem como ao exame físico para avaliação de lesões cutâneas e respetiva gravidade. Esta avaliação foi realizada pelo médico veterinário com recurso à escala CADESI-4 (Anexo 2) e registada como dia 0 (D0), correspondente à primeira avaliação, antes da administração do lokivetmab. Nesta mesma consulta foi entregue aos cuidadores um caderno com uma escala para classificação do prurido (Anexo 3), com as respetivas datas de preenchimento, sendo estas nos dias 0 (antes da administração do lokivetmab), 1, 2, 3, 4, 5, 6, 13, 20, 27, 34, 41, 48 e 55. Procedeu-se, ainda, à colheita de uma amostra de sangue para avaliação do hemograma e parâmetros hepáticos (alanina aminotransferase, ALT e fosfatase alcalina sérica, FAS). No final da consulta foi então administrado o lokivetmab (Cytopoint®, disponível em quatro apresentações, representadas na figura 6), respeitando as indicações de utilização, bem como a dose recomendada (tabela 3), e pedido aos cuidadores que aguardassem 30 minutos antes de abandonarem as instalações do HEV-FMV-ULisboa para que fosse possível agir rapidamente caso houvesse uma reação adversa.

Figura 6 – Embalagens de Cytopoint® contendo dois frascos de 1 ml cada, nas concentrações crescentes de 10 mg, 20 mg, 30 mg e 40 mg. (Fotografia original).



Tabela 3 – Tabela informativa da dose de Cytoint® a administrar em função do peso corporal do cão. Dose mínima recomendada: 1 mg/kg. (Imagem adaptada do RCM (EMA, 2018b)).

Peso corporal (kg) do cão	CYTOPOINT dosagem (mg) a ser administrada			
	10	20	30	40
3,0-10,0	1 frasco			
10,1-20,0		1 frasco		
20,1-30,0			1 frasco	
30,1-40,0				1 frasco
40,1-50,0	1 frasco			1 frasco
50,1-60,0			2 frascos	
60,1-70,0			1 frasco	1 frasco
70,1-80,0				2 frascos

Foi solicitado aos cuidadores que regressassem ao hospital 15 dias após a primeira administração para uma consulta de acompanhamento e para uma segunda avaliação das lesões com a escala CADESI-4.

A segunda administração de lokivetmab foi realizada com um intervalo de cerca de 28 dias em relação à primeira, sendo que nesta visita, para além da injeção de Cytoint®, foi levado a cabo um terceiro exame dermatológico com avaliação e classificação das lesões recorrendo à escala CADESI-4.

A última consulta de reavaliação foi realizada cerca de 28 dias depois da segunda administração. Nesta consulta fez-se a última avaliação com a escala CADESI-4, recolheu-se o caderno com a avaliação do prurido e colheu-se outra amostra de sangue para avaliar os mesmos parâmetros determinados na primeira colheita.

A abordagem terapêutica utilizada em todos os casos foi multimodal, tendo em conta as necessidades individuais dos cães bem como as possibilidades dos cuidadores e, acima de tudo, com vista ao bem-estar dos animais. Os antibióticos e os antifúngicos, em caso de infeções secundárias, os champôs terapêuticos, os ectoparasiticidas, os ácidos gordos, vitamina E e a imunoterapia alérgico-específica foram alguns dos instrumentos terapêuticos usados em conjunto com o Cytoint®. Contudo, a sua utilização foi adaptada de modo a não ser iniciada ao mesmo tempo que o lokivetmab para não interferir nos resultados.

2.2.1. Avaliação da resposta ao tratamento

A avaliação da eficácia do lokivetmab foi realizada através da análise das classificações do prurido, atribuídas pelos cuidadores nas datas já referidas, e das classificações atribuídas pelo médico veterinário na escala CADESI-4. A segurança do lokivetmab foi apreciada pela comparação das análises sanguíneas realizadas antes e depois do tratamento e, ainda, pelos eventuais efeitos adversos reportados pelos cuidadores.

2.3. Análise estatística

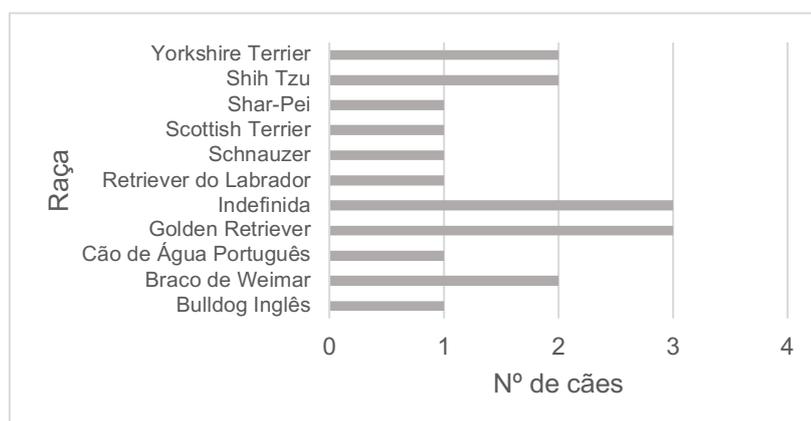
Os dados recolhidos foram organizados com o auxílio do programa Microsoft Office 365, Excel® (versão 16.19). Posteriormente, a análise estatística destes dados foi realizada com recurso ao programa R® (versão 3.5.1). As classificações seriadas do prurido foram avaliadas pelo método de *Kaplan-Meier*. Para comparar algumas das curvas obtidas por este método, recorreu-se ao teste não paramétrico de Log-Rank. Para avaliar a diferença entre valores do prurido e do CADESI em tempos distintos, utilizou-se o teste não paramétrico *Wilcoxon*, para amostras emparelhadas que não seguem uma distribuição normal. Para todas as análises foi considerado estatisticamente significativo um valor de $p \leq 0,05$. Para o cálculo de intervalos de confiança (IC) utilizou-se o método de *Wilson* através do *website EpiTools Epidemiological Calculators* desenvolvido pela Ausvet®.

3. Resultados

3.1. Caracterização da amostra

A amostra em estudo é constituída por 18 cães, dos quais 8 são fêmeas (1 inteira e 7 ovariectomizadas) e 10 são machos (5 inteiros e 5 orquiectomizados). Para o tratamento dos resultados relativos ao grau de prurido, um destes animais teve de ser excluído da amostra por falta de dados. As idades destes animais estão compreendidas entre 1 e 14 anos, com uma mediana de 4,5 e intervalo interquartil de 4,25. As raças observadas estão representadas no gráfico 2.

Gráfico 2 - Distribuição das raças na amostra em estudo.

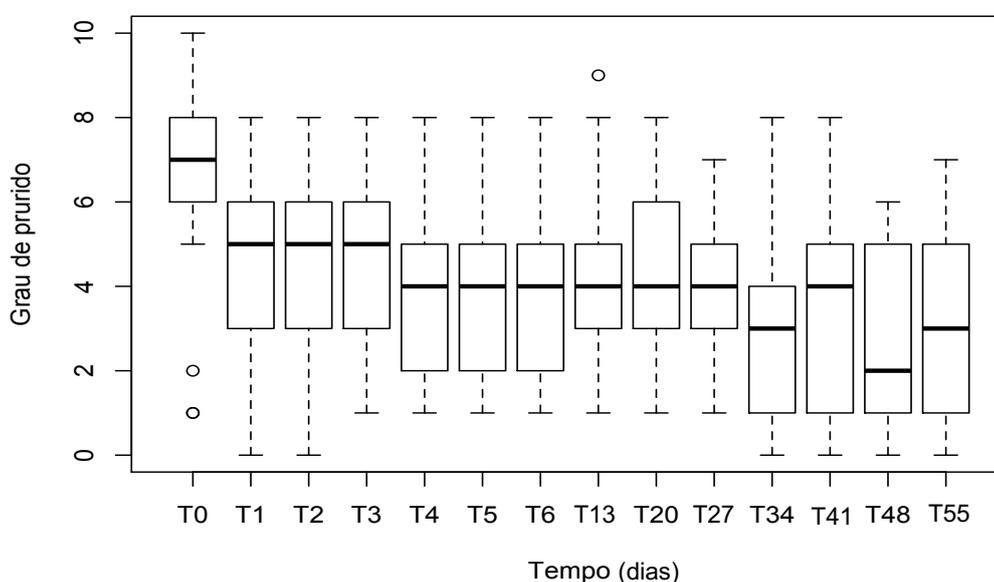


3.2. Evolução do grau de prurido

O grau de prurido foi avaliado ao longo de oito semanas, em 14 tempos distintos, e apresenta uma redução do valor da mediana representada no gráfico 3. Estas avaliações repetidas encontram-se detalhadas no anexo 4.

Os valores do grau de prurido registados no dia 0 encontram-se entre 1 e 10 com uma mediana de 7 e intervalo interquartil de 2. Após quatro semanas (T27), o grau de prurido apresentava valores entre 1 e 7, e uma mediana de 4 com um intervalo interquartil de 2. Na última avaliação, oito semanas após o início do tratamento (T55), os valores do grau de prurido variaram entre 0 e 7 com uma mediana de 3 e intervalo interquartil de 4.

Gráfico 3 - Valores do grau de prurido na amostra ao longo do tempo.



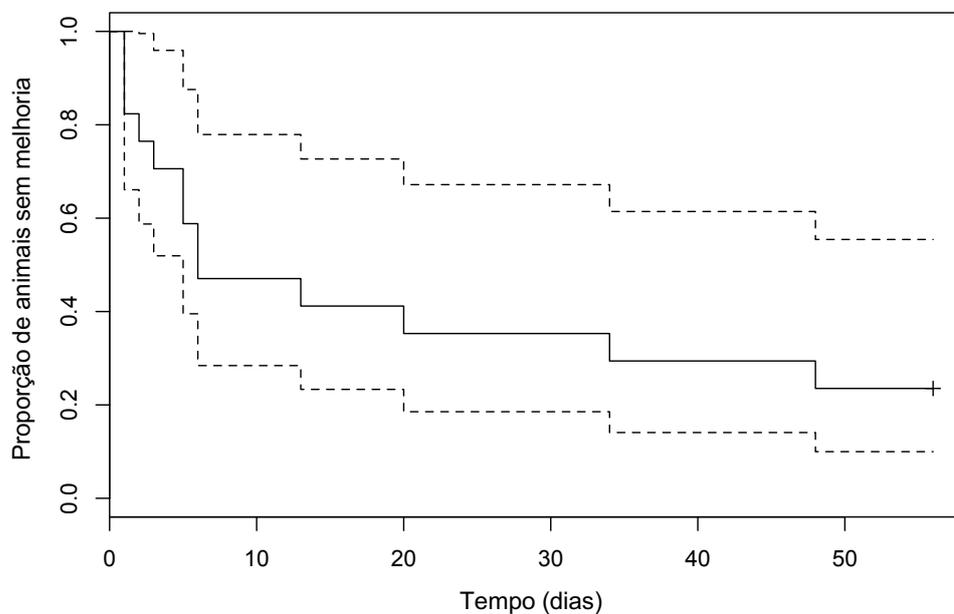
Considerando uma melhoria clinicamente significativa a redução de pelo menos 50% no valor do grau de prurido, observámos na amostra uma melhoria em 76,47%, IC 95% [52,74%-90,44%] dos animais no tempo total (entre T0 e T55). Destes animais que apresentaram melhoria, verificou-se que 38,46%, IC 95% [17,71%-64,48%] melhoraram mais do que uma vez, considerando sempre o valor mais baixo obtido na melhoria anterior. Atentando apenas às primeiras 4 semanas (de T0 a T27), verificou-se uma melhoria em 64,71%, IC 95% [41,30%-82,69%] dos animais. Dos que não apresentaram melhoria nas primeiras 4 semanas, ou seja, após a primeira administração, 33,33%, IC 95% [9,68%-70%] melhoraram nas 4 semanas seguintes (após a segunda administração). Ainda que não tenha sido alcançada uma redução de 50% no valor do grau de prurido em todos os animais da amostra, foi possível verificar uma redução neste valor, ao longo do tempo total, em 75%, IC 95% [30,06%-95,44%] dos animais que não atingiram uma melhoria clinicamente significativa.

A diferença entre os valores do grau de prurido iniciais (T0) e ao fim de oito semanas (T55) é estatisticamente significativa ($W = 125$, $p = 0,023$), bem como a diferença entre os valores iniciais (T0) e ao fim de quatro semanas (T27) ($W = 90$, $p = 0,02$). Contudo, a diferença não é

estatisticamente significativa quando comparados os valores do grau de prurido entre a segunda injeção (T27) e o final das oito semanas (T55) ($W = 68, p = 0,34$).

Observou-se ainda, que mais de 50% dos animais apresentou uma melhoria clinicamente significativa antes do décimo dia após a primeira injeção (gráfico 4).

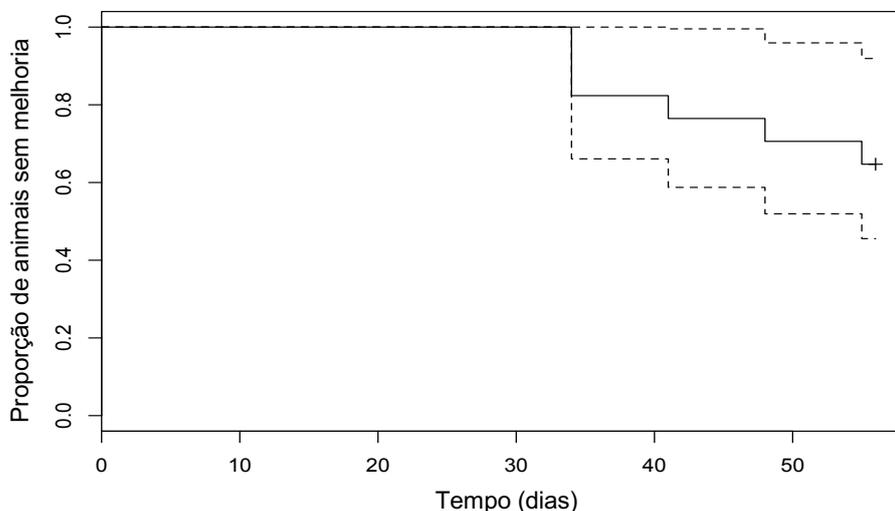
Gráfico 4 – Curva da proporção de animais sem melhoria, pelo método de *Kaplan-Meier*, durante as oito semanas.



Legenda: Linha a tracejado representa o intervalo de confiança de 95%.

Considerando apenas as últimas 4 semanas observou-se uma melhoria clínica numa proporção de animais inferior à das primeiras 4 semanas (gráfico 5). Ainda assim, esta proporção é superior à representada (para as últimas 4 semanas) no gráfico 4, ilustrando os animais que melhoraram uma segunda vez.

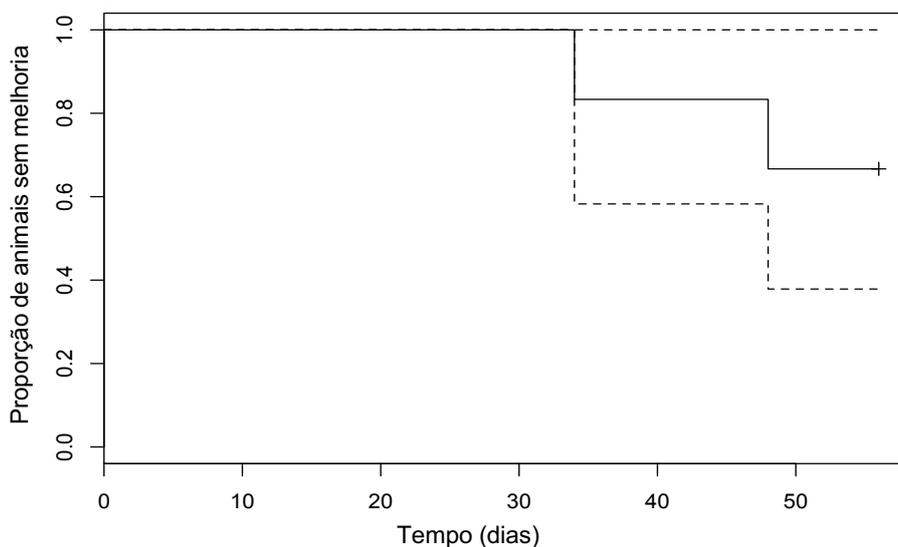
Gráfico 5 – Curva da proporção de animais sem melhoria, pelo método de *Kaplan-Meier*, considerando apenas as últimas 4 semanas.



Legenda: Linha a tracejado representa o intervalo de confiança de 95%.

Tal como já foi referido, houve animais que apresentaram melhoria clínica após a segunda administração apesar de esta não se ter verificado nas primeiras 4 semanas. No gráfico 6 é possível observar que a redução de 50% do prurido nestes animais ocorreu em dois tempos distintos, sendo um perto da segunda administração e outro perto do 50º dia.

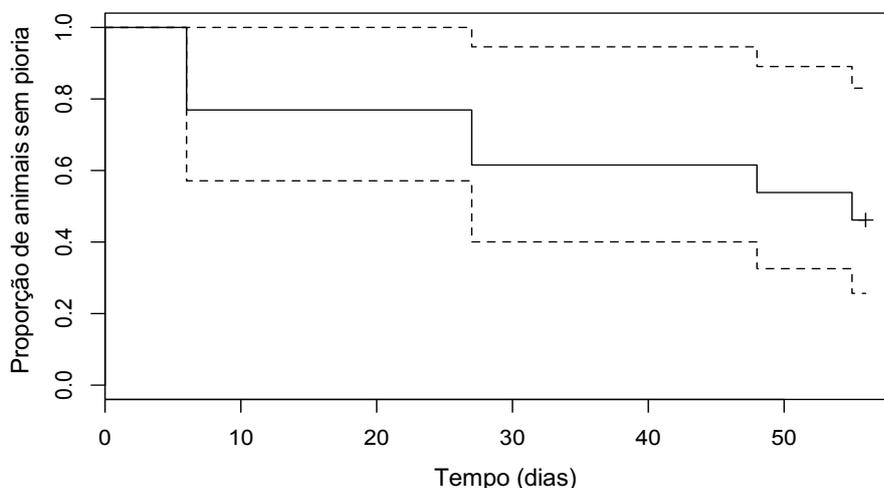
Gráfico 6 - Curva da proporção de animais sem melhoria nas últimas 4 semanas, pelo método de *Kaplan-Meier*, considerando uma sub-amostra que inclui apenas os animais que não melhoraram nas primeiras 4 semanas.



Legenda: Linha a tracejado representa o intervalo de confiança de 95%.

Considerando um aumento de dois valores no grau de prurido como um agravamento clinicamente significativo, esta foi observada em 53,85%, IC 95% [29,14%-76,79%] dos animais que anteriormente tinham apresentado melhoria clínica (gráfico 7).

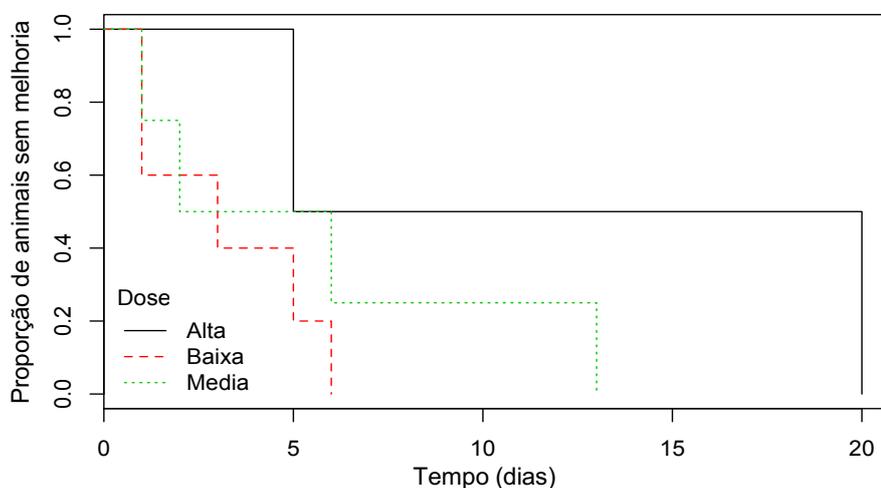
Gráfico 7 - Curva da proporção de animais sem agravamento numa sub-amostra que inclui apenas os animais que apresentaram melhoria clínica, pelo método de *Kaplan-Meier*, durante as oito semanas. Considerou-se como agravamento um aumento de dois valores no grau de prurido.



Legenda: Linha a tracejado representa o intervalo de confiança de 95%.

Tendo em consideração apenas os animais que apresentaram melhoria clinicamente significativa nas primeiras 4 semanas, procedeu-se à comparação entre as doses administradas na primeira injeção (gráfico 8). Assim sendo, e tendo em conta a dose mínima recomendada de 1 mg/kg, as doses administradas foram divididas em três categorias, baixa (1-1,2 mg/kg), média (1,2-1,3 mg/kg) e alta ($\geq 1,3$ mg/kg). Os animais aos quais foi administrada a dose baixa aparentam ter atingido a melhoria em primeiro lugar, seguidos dos animais da dose média e por fim da dose alta. Contudo, a diferença entre as curvas das doses não é estatisticamente significativa ($\chi^2 = 2,5$, $p = 0,3$).

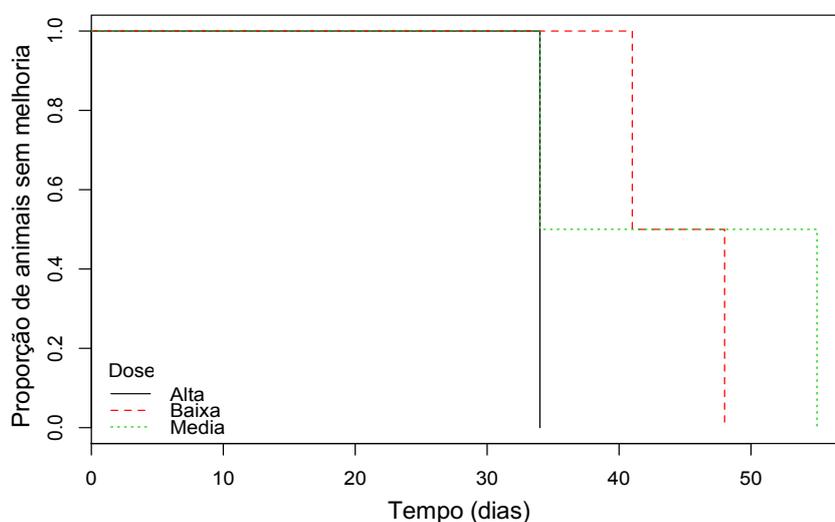
Gráfico 8 – Curvas da proporção de animais sem melhoria durante as primeiras 4 semanas, pelo método de *Kaplan-Meier*, tendo em conta as doses administradas na primeira injeção. Para este gráfico consideraram-se apenas os animais que atingiram melhoria clinicamente significativa nas primeiras 4 semanas.



Considerando ainda as doses utilizadas na primeira administração observou-se uma melhoria clinicamente significativa em 62,5%, IC 95% [30,57%-86,32%] dos animais aos quais foi administrada uma dose baixa, em 80%, IC 95% [37,55%-96,38%] dos animais que receberam uma dose média e em 50%, IC 95% [15%-85%] dos animais com dose alta.

Do mesmo modo, foi comparada a evolução do prurido ao longo das últimas 4 semanas, tendo em conta a dose da segunda administração (gráfico 9). Considerando as categorias (baixa, média e alta) já referidas, e contrariamente ao mês anterior, observou-se em primeiro lugar a melhoria por parte dos animais aos quais foi administrada uma dose alta. Tal como para o primeiro mês, a diferença entre as curvas das doses, nas últimas 4 semanas, não é estatisticamente significativa ($\chi^2 = 2,6$, $p = 0,3$).

Gráfico 9 – Curvas da proporção de animais sem melhoria durante as últimas 4 semanas, pelo método de *Kaplan-Meier*, tendo em conta as doses administradas na segunda injeção. Para este gráfico consideraram-se apenas animais que atingiram melhoria clinicamente significativa nas últimas 4 semanas.



A evolução do prurido ao longo das oito semanas foi ainda avaliada e comparada tendo em conta outras variáveis como a presença, ou não, de infeção secundária e a idade (gráficos no anexo 5).

No primeiro caso, foi possível observar nos animais com infeção secundária, uma melhoria mais rápida (cerca de 70% destes cães atingiram melhoria clinicamente significativa antes dos 10 dias) e numa proporção superior comparativamente aos animais sem infeção secundária. Ainda assim, a diferença observada entre as duas curvas não é estatisticamente significativa ($\chi^2 = 0,6$, $p = 0,4$).

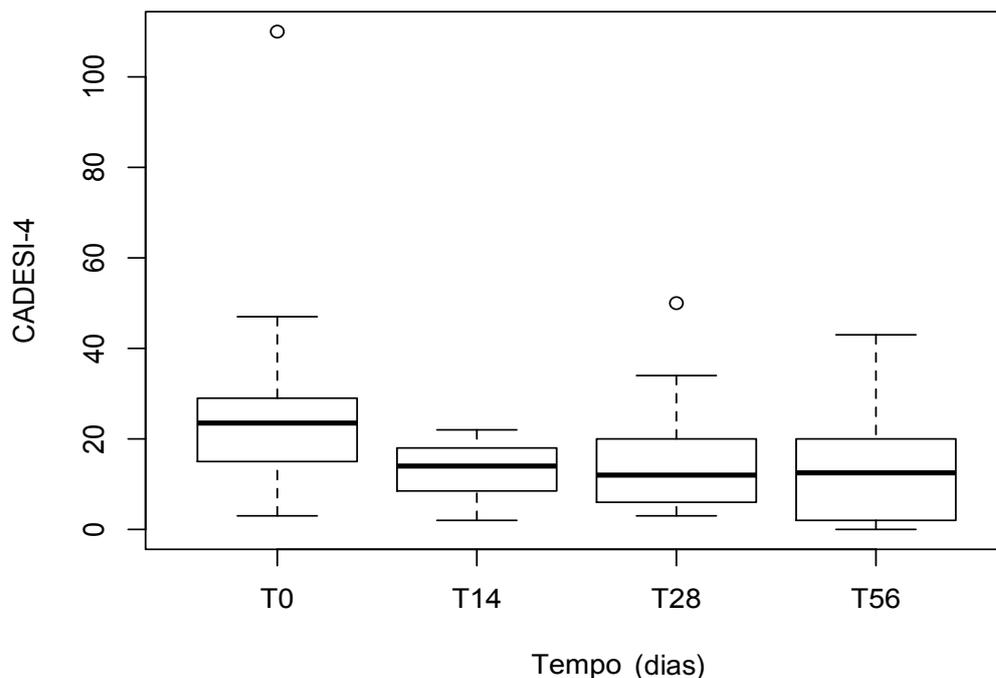
No que toca à idade, foram considerados dois grupos, um com cães dos 0 aos 4 anos e outro com animais com mais de 4 anos. Da comparação entre estes grupos observou-se uma melhoria mais rápida no grupo dos 0 aos 4 anos, cerca de 60% destes animais atingiu uma melhoria clinicamente significativa antes dos 10 dias. Ao fim das oito semanas, a proporção de animais que atingiram uma melhoria clinicamente significativa é muito semelhante entre os dois grupos, sendo, no entanto, ligeiramente superior no grupo dos cães mais velhos. A diferença entre as curvas destes dois grupos, não é, uma vez mais, estatisticamente significativa ($\chi^2 = 0,2$, $p = 0,7$).

3.3. Evolução do CADESI-4

A classificação do CADESI-4, tal como o prurido, foi avaliada ao longo de oito semanas, no entanto, apenas em 4 tempos, e apresenta uma redução do valor da mediana representada no gráfico 10. Estas avaliações encontram-se detalhadas no anexo 6.

Os valores de CADESI-4 na primeira avaliação (T0) encontram-se compreendidos entre 3 e 110, com uma mediana de 23,5 e intervalo interquartil de 13. Após quatro semanas, no dia da segunda administração, os valores de CADESI-4 encontravam-se entre 3 e 50 com um valor de mediana de 12 e intervalo interquartil 13,5. Na última avaliação, oito semanas após o início do tratamento, os valores de CADESI-4 variaram entre 0 e 43, e apresentam uma mediana de 12,5 e intervalo interquartil de 17,25.

Gráfico 10 – Valores de CADESI-4 na amostra ao longo do tempo.



Tal como para o prurido, considerou-se uma melhoria clinicamente significativa uma redução de pelo menos 50% no valor do CADESI-4. Durante as oito semanas observou-se uma melhoria em 77,78%, IC 95% [54,79%-91%] dos animais, sendo que nestes últimos se verificou mais do que uma melhoria em 28,57%, IC 95% [11,72%-54,65%]. Considerando apenas as primeiras 4 semanas (T0 a T28) observou-se melhoria em 61,11%, IC 95% [38,62%-79,69%] dos animais. Dos que não apresentaram melhoria nas primeiras 4 semanas, ou seja, após a primeira administração, 42,86%, IC 95% [15,82%-74,95%] melhoraram nas 4 semanas seguintes (após a segunda administração). Uma vez mais, dos animais que não atingiram uma redução de pelo menos 50% no valor de CADESI-4 ao longo do tempo, 75%, IC 95% [30,06%-95,44%] registou uma diminuição destes valores ainda que insuficiente para ser considerada uma melhoria clinicamente significativa segundo os critérios utilizados.

A diferença dos valores de CADESI-4 entre T0 e após oito semanas (T56) é estatisticamente significativa ($W = 150$, $p = 0,005$). Verificou-se também uma diferença estatisticamente significativa entre T0 e duas semanas depois (T14) ($W = 108$, $p = 0,007$) e entre T0 e T28 ($W = 148,5$, $p = 0,006$). Contudo, entre as quatro semanas após o início do tratamento (T28) e a

última avaliação (T56) não se verificou uma diferença estatisticamente significativa entre os valores de CADESI-4 ($W = 78$, $p = 0,96$).

3.4. Efeitos adversos e análises laboratoriais

Durante as oito semanas em estudo, registaram-se dois episódios de vômito, em animais diferentes e um de vômito e diarreia no mesmo animal.

Relativamente às análises sanguíneas não foram observadas alterações com significado clínico nos resultados da segunda colheita (após duas administrações de lokivetmab).

Embora não se tenha pesquisado o desenvolvimento de anticorpos contra o lokivetmab, houve dois animais (11,76%, IC 95% [3,29%-34,34%]) cuja progressão do prurido ao longo dos dois meses poderia ser compatível com esta situação.

3.5. Seguimento após conclusão do projeto

Após a conclusão do projeto, 14 cães (77,78%, IC 95% [54,79%-91%]) continuaram a receber administrações de Cytopoint® nos três meses seguintes. Até à presente data, há registos de que 11 (61,11%, IC 95% [38,62%-79,69%]) dos animais incluídos no estudo continuam a receber o Cytopoint® como parte do plano terapêutico para o controlo da DA.

4. Discussão

Com o presente trabalho pretendeu-se avaliar o efeito do lokivetmab no grau de prurido, nas lesões associadas à DAc e a segurança inerente à sua utilização.

Tendo em conta que o prurido é uma das principais manifestações da DAc e com uma influência tão grande e negativa na qualidade de vida dos animais e respetivos cuidadores, foi definido como principal objetivo deste estudo a avaliação da eficácia do lokivetmab na redução do prurido (Bizikova et al., 2015; Linek & Favrot, 2010). Assim, foi levado a cabo um estudo extenso e detalhado relativo à evolução do prurido nos cães da amostra.

4.1. Evolução do grau de prurido

A evolução do prurido ao longo do tempo foi positiva, tendo sido verificada uma redução que se provou estatisticamente significativa tanto ao fim do primeiro mês como do segundo em relação ao início do tratamento com lokivetmab. Esta redução no grau de prurido é evidente nas medianas ao longo do tempo, sendo que passa de um valor de 7 para um valor de 4 ao fim de um mês e para 3 ao fim de dois meses.

Tal como foi referido nos resultados, foi considerada uma melhoria clinicamente significativa quando se verificou uma redução de pelo menos 50% no grau de prurido. A decisão da utilização deste critério, em si exigente, para avaliar a eficácia e o sucesso do tratamento com lokivetmab na redução do prurido, baseou-se na sua utilização por vários autores em diversos

estudos clínicos semelhantes, como é o exemplo dos trabalhos de Michels e colaboradores (2016) e Cosgrove e colaboradores (2015) relativos ao lokivetmab e ao oclacitinib, respetivamente. Considerando este critério, os resultados obtidos sugerem que o lokivetmab é eficaz na redução do prurido na maioria dos animais, sendo que durante o tempo total em estudo foi observada melhoria clinicamente significativa em 76,47% da amostra. Este valor é semelhante ao obtido (77%) por Souza e colaboradores no seu estudo retrospectivo referente ao uso do lokivetmab no manejo do prurido alérgico em cães (Souza et al., 2018). Apesar de não ter sido atingida uma redução de 50% no prurido inicial em todos os animais da amostra, houve diminuição deste valor em todos os cães, exceto num. Este animal, em que não se verificou uma redução no valor inicial do grau de prurido, já se apresentava com uma classificação baixa (2 em 10), uma vez que antes de iniciar o lokivetmab estava sujeito a uma terapêutica com oclacitinib. Contudo, este animal manteve um nível de prurido baixo semelhante ao que tinha com a terapêutica anterior, tendo sido por isso também um caso de sucesso terapêutico.

A comparação do potencial de resposta ao lokivetmab entre os animais com valores de prurido inicial alto e baixo seria interessante de analisar; contudo, após observar os registos das classificações iniciais do prurido verificou-se que estas eram maioritariamente altas e que os poucos casos de prurido inicial baixo não iriam permitir tirar conclusões. Esta comparação foi realizada por Souza e colaboradores e os resultados apontam para uma probabilidade de resposta ao lokivetmab maior nos animais com prurido mais grave, ainda que a diferença não seja estatisticamente significativa (Souza et al., 2018).

A ação do lokivetmab na redução do prurido foi evidente logo no primeiro registo após administração (T1), o que vai ao encontro dos resultados de outros estudos onde se verificaram efeitos nas primeiras 24 horas (Michels, Ramsey, et al., 2016; Souza et al., 2018). Apesar dos cuidadores só terem registado o grau de prurido oficialmente ao fim de 24 horas após a administração, foi possível em consulta perceber que, em alguns casos, o lokivetmab produziu efeitos em poucas horas. Ainda que os efeitos da sua ação possam ser visíveis prontamente, em alguns casos esta foi mais gradual. Contudo, antes do sétimo dia após a primeira administração já tinha sido atingida uma melhoria clinicamente significativa (redução de pelo menos 50% no grau de prurido) em mais de metade da amostra.

Para estimar a duração da ação do lokivetmab foram, mais uma vez, avaliadas as classificações do grau de prurido atribuídas pelos cuidadores e, para fins estatísticos, foi considerado um agravamento quando se registou um aumento de dois valores relativamente ao valor mínimo atingido. A utilização deste critério, em vez de um semelhante ao utilizado para a melhoria, foi uma tentativa de obter resultados mais exigentes relativos à eficácia do lokivetmab, uma vez que, para que uma melhoria seja considerada clinicamente significativa, o prurido tem de reduzir para metade, enquanto para se considerar um agravamento basta que haja um aumento de dois valores na escala em relação ao valor mínimo atingido.

Considerando estes critérios, foi observado um agravamento em 53,85% (n=7) dos animais que antes já tinham atingido uma melhoria clinicamente significativa. No entanto, em 3 destes animais o aumento no grau de prurido foi registado no dia anterior ao da administração seguinte (2 animais no 27º dia e um no 55º dia), o que se poderia esperar em alguns casos uma vez que os estudos realizados pela Zoetis relativos à duração da eficácia do Cytopoint® (lokivetmab) indicam um período de 4 a 8 semanas, sendo que no RCM é sugerida uma administração mensal (EMA, 2018b; Zoetis, 2018a). Assim sendo, os resultados obtidos neste estudo sugerem que o lokivetmab mantém a sua eficácia durante pelo menos 4 semanas (tempo decorrido entre cada administração) na maioria dos animais da amostra e estão de acordo com os resultados obtidos por Michels e colaboradores (Michels, Ramsey, et al., 2016). A formulação do lokivetmab em quatro concentrações diferentes e a indicação para a administração em intervalos de peso (tal como observado na tabela 3) permitiu que se avaliasse a eficácia consoante a dose efetiva administrada (mg/kg). Ainda que todos os animais tenham feito o tratamento de modo a receber a dose mínima recomendada em Portugal (1 mg/kg, sendo que nos Estados Unidos é o dobro), as variações individuais de peso dentro dos intervalos de administração levaram a doses administradas diferentes entre indivíduos. Considerando os resultados obtidos por Michels e colaboradores no estudo para a determinação da dose adequada de lokivetmab, seria de esperar que os resultados do presente estudo indicassem, também, uma magnitude de eficácia diretamente proporcional à dose (Michels, Ramsey, et al., 2016). No entanto, talvez por se tratar de variações muito pequenas na dose e/ou por todos os animais receberem uma dose terapêutica, não parece existir uma tendência para uma maior eficácia com dose superior ou menor eficácia com dose inferior, tal como foi apresentado nos resultados. Relativamente à velocidade de ação, tendo em conta a dose, verificou-se uma melhoria mais rápida no grupo da dose mais baixa no primeiro mês e no grupo da dose mais alta no segundo mês. Ainda assim, a diferença na velocidade de ação entre doses não foi estatisticamente significativa em nenhum dos meses. Os casos em que não se obteve resultados satisfatórios (n=5) podem ser justificados por diversas razões. A formação de anticorpos contra o lokivetmab é uma possibilidade que, embora não tenha sido testada no presente estudo, poderia explicar dois dos casos onde o grau de prurido aumenta após a segunda administração. Apesar de se tratarem de anticorpos caninizados, existe a possibilidade de formação de anticorpos direcionados contra os anteriores visto que 10% dos mesmos ainda pertence a outra espécie (EMA, 2018b; Sousa, 2017a). Estes anticorpos contra o lokivetmab foram pesquisados e quantificados por Michels e seus colaboradores, num estudo de avaliação da segurança da sua utilização em 2016, e foram encontrados em 2,5% dos animais que receberam este tratamento (Michels, Walsh, et al., 2016). Noutro estudo, em 2018, observou-se a perda do controlo do prurido depois da segunda injeção em 2,6% dos animais a receber tratamento com lokivetmab. Neste último também não foram pesquisados os anticorpos direcionados contra o lokivetmab; contudo os

autores consideram que seria uma hipótese plausível para justificar esses resultados (Souza et al., 2018). De facto, a perda de eficácia do lokivetmab após a segunda administração nos dois casos, que no presente estudo representam 11,76% da amostra, poderia ser justificada pela neutralização do mesmo por anticorpos, no entanto, seria necessário a medição destes para que se pudesse tirar conclusões.

Um dos animais dos dois casos acima referidos transitou do tratamento com oclacitinib para o lokivetmab. Esta transição abrupta pode ter tido influência nos resultados obtidos relativos ao prurido. O oclacitinib para além do seu poder na redução da inflamação pode, em doses superiores às utilizadas no tratamento da DAC, ter propriedades imunossupressoras (Banovic, Tarigo, Gordon, Barber & Gogal Jr, 2018). Pelo seu grande potencial, para além do controlo do prurido na DAC já conhecido, os inibidores das JAK estão a ser estudados e em alguns casos utilizados para o tratamento de doenças inflamatórias e autoimunes em humanos (Danese, Grisham, Hodge & Telliez, 2015; Tanaka, 2015). No caso deste animal, a ação do oclacitinib pode ter sido mantida durante o primeiro mês do estudo e, à medida que os seus efeitos foram desaparecendo, o lokivetmab pode não ter sido suficiente para manter o prurido tão baixo.

Como foi sendo referido ao longo do presente trabalho, a DAC é uma doença complexa, multifatorial, cuja fisiopatologia ainda não é totalmente compreendida (Gedon & Mueller, 2018) e em que a resposta aos diferentes tratamentos disponíveis pode variar de animal para animal (Olivry et al., 2015). De facto, essa complexidade e a combinação dos múltiplos mediadores principalmente na origem do prurido (De Lucia, 2018) podem justificar, também, a diferença na eficácia do lokivetmab entre indivíduos. A ausência de resposta ao lokivetmab ou a resposta menos acentuada podem eventualmente estar associadas a uma predominância de outros mediadores do prurido em relação à IL-31.

A componente genética e geográfica podem ter grande influência na fisiopatologia da DAC e, conseqüente, manifestação da mesma. Os avanços no estudo do genoma permitiram investigar com maior detalhe a base genética da DAC e, apesar de não ser claro se estão associados à causa ou ao efeito, sabe-se que existe um elevado número de genes ligados à patogénese da DAC (Nuttall, 2013). A DAC é um síndrome com uma base genética heterogénea que varia de raça para raça e entre *pools* genéticos geográficos, o que pode explicar as diferenças na manifestação da doença e nas respostas ao tratamento (Aglér, Friedenberg, Olivry, Meurs & Olby, 2019; Nuttall, 2013). Considerando esta variabilidade a DAC pode vir a ser separada em “endofenotipos” distintos com possibilidade de necessitar de abordagens terapêuticas diferentes (Olivry, 2018a). Dada esta informação, seria interessante avaliar a resposta ao lokivetmab em raças distintas, contudo não foi possível realizar essa análise no presente estudo pelo reduzido tamanho da amostra e dos representantes de cada raça. No entanto, em estudos posteriores com amostras mais numerosas e com representações de raças diferentes significativas poderia ser feita essa análise.

As classificações do grau de prurido utilizadas neste estudo para todas as avaliações realizadas foram registadas pelos cuidadores. Apesar de ter sido fornecida uma escala detalhada e descritiva, a interpretação da mesma pode variar entre pessoas e pela mesma pessoa ao longo do tempo. Assim, é importante ter este facto em consideração e manter um pensamento crítico aquando da análise dos resultados.

4.2. Evolução do CADESI-4

O progresso das classificações do CADESI-4 foi bastante satisfatório, tendo sido observada uma redução estatisticamente significativa dos valores entre o dia da primeira administração e o final do estudo. A diminuição dos valores pôde ser observada logo ao fim de duas semanas e após um mês de tratamento, com diferenças que se provaram estatisticamente significativas tanto entre a primeira avaliação e duas semanas depois, como entre a primeira administração e a segunda. Os valores de CADESI-4 da primeira avaliação apresentaram uma mediana de 23,5 que reduziu para 12,5 na última avaliação.

Considerando o mesmo critério utilizado para o grau de prurido, observou-se uma melhoria clinicamente significativa, respeitante ao CADESI-4, em 77,78% dos animais da amostra durante o período total do estudo. No primeiro mês de tratamento a melhoria clinicamente significativa foi observada em 61,11% dos cães, um valor superior aos registados por Michels e colaboradores num intervalo de tempo semelhante, mas com base no CADESI-03 (46% nos cães a receber 2 mg/kg de lokivetmab e 22% no grupo de 0,5 mg/kg) (Michels, Ramsey, et al., 2016). À semelhança do que se observou para o grau de prurido, também no que toca ao CADESI-4, apesar de não se ter observado uma melhoria de pelo menos 50% em todos os animais, houve redução do valor inicial em todos os cães exceto num. Contudo, os valores de CADESI-4 deste animal mantiveram-se sempre baixos no intervalo classificado como ligeiro. Atendendo aos intervalos para classificação da gravidade da DAc pelo CADESI-4 (<10, cães normais ou remissão; 10-34, DAc ligeira; 35-59, DAc moderada; \geq 60 DAc grave) (Olivry et al., 2014) é possível verificar que, ao contrário do que se observou para o prurido, a maioria dos animais apresentavam na primeira avaliação classificações no intervalo da DAc ligeira, havendo apenas um caso grave e três moderados. Nas avaliações seguintes não se registaram casos graves, sendo que na última avaliação a maioria dos animais apresentava-se no intervalo da DAc ligeira, havendo um caso moderado e seis no grupo dos animais considerados normais ou em remissão.

Perante os resultados obtidos, o lokivetmab pode ser considerado eficaz na redução dos valores do CADESI-4 na maioria dos animais e na manutenção dos valores baixos entre administrações (durante 4 semanas pelo menos). A própria eficácia do lokivetmab no prurido pode favorecer a diminuição dos valores do CADESI uma vez que interrompe o ciclo prurido – ato de coçar – inflamação – prurido. Com a redução do prurido o animal não tem tanta

tendência a coçar e assim não intensifica a inflamação, dando espaço e facilitando a resolução das lesões.

A ação do lokivetmab foi evidente nos valores de CADESI-4 logo no primeiro registo (após a primeira administração), ainda que este só tenha sido obtido ao fim de duas semanas. A eficácia na redução dos valores do CADESI-03 é notada ainda mais cedo, ao fim de 7 dias após a injeção, por Michels e colaboradores em 2016 (Michels, Ramsey, et al., 2016).

Enquanto o prurido pode diminuir rapidamente, as lesões cutâneas avaliadas pelo CADESI-4 podem levar mais tempo na sua resolução. Assim, em estudos de curta duração, como é o caso do presente trabalho, a avaliação do efeito de uma abordagem terapêutica, neste caso do lokivetmab, nas lesões da DAc, através desta escala pode não representar totalmente a realidade. Na tentativa de melhorar esta questão, Olivry em 2018 desenvolveu e sugeriu a utilização do CADESI4-E, uma escala que avalia apenas o eritema nas mesmas áreas corporais e com os mesmos valores de classificação que o CADESI-4 (Olivry, 2018b). O eritema, ao contrário das outras lesões avaliadas no CADESI-4 que surgem e desaparecem mais lentamente, é a lesão que se manifesta e resolve em primeiro lugar. Deste modo, a avaliação com base apenas no eritema permite que em estudos de curta duração se detete a eficácia, ou não, de uma abordagem terapêutica, uma vez que o eritema pode desaparecer rapidamente (Olivry, 2018b). Embora a duração do presente estudo tenha sido relativamente curta (8 semanas), a utilização desta escala é sugerida para trabalhos com durações inferiores a 6 semanas (Olivry, 2018b), não tendo sido, por esta razão, escolhida em detrimento do CADESI-4.

4.3. Satisfação dos cuidadores e continuação do tratamento

O peso emocional e físico que a DAc tem nos cuidadores, bem como as implicações que o manejo desta doença tem, tanto a nível financeiro como no tempo que ocupa, podem influenciar muito a qualidade de vida dos cuidadores (Noli, 2019; Noli et al., 2011). A satisfação dos cuidadores relativamente ao plano terapêutico é, portanto, extremamente importante para que estes se mantenham fiéis às indicações dos médicos veterinários e, que desta forma, seja possível alcançar o sucesso terapêutico (Linek & Favrot, 2010).

Embora a satisfação dos cuidadores relativamente à terapêutica com o lokivetmab não tenha sido investigada por meio de questionários, durante as consultas de seguimento procurou-se obter informação sobre a opinião dos cuidadores nesse sentido. Para além disso, foi realizada uma investigação através da base de dados informatizada, de modo a aferir quantos dos animais incluídos na amostra continuaram a receber tratamento com o lokivetmab.

O número bastante elevado de animais que, tanto ao fim de três meses (77,78%) como até à presente data (61,11%), continuavam sujeitos a um plano terapêutico que incluía o lokivetmab sugere que a maioria dos cuidadores ficou satisfeita com esta opção terapêutica. De facto, foram obtidos testemunhos por parte de cuidadores que sentiram que o lokivetmab

proporcionou uma grande melhoria tanto na qualidade de vida do animal como da própria família. Por outro lado, houve quatro casos onde os cuidadores não notaram diferença significativa com utilização do lokivetmab. No entanto, dois destes animais estiverem sujeitos a outras opções terapêuticas antes do início do projeto e, na opinião dos cuidadores, o controlo alcançado com o lokivetmab foi semelhante, ainda assim preferiram voltar para as opções anteriores por questões económicas. Excluindo os dois casos em que de facto, para os cuidadores, não houve melhorias com a utilização do lokivetmab, a interrupção desta opção terapêutica deveu-se principalmente ao custo associado a cada administração, considerado bastante elevado por muitos cuidadores, e não à falta de eficácia.

4.4. Efeitos adversos e análises laboratoriais

Durante os dois meses (duas administrações) em que o lokivetmab foi utilizado como parte do plano terapêutico para a DAc foram apenas registados três casos com eventos adversos. Os três animais apresentaram episódios de vômito sendo que um deles teve, também, diarreia. Em todos os casos a situação ficou resolvida sem que houvesse necessidade de intervenção. Situações de vômito e diarreia em animais aos quais estava a ser administrado lokivetmab também foram descritas no estudo para determinação da segurança do mesmo. No estudo referido também se observaram outros efeitos adversos que no presente trabalho não se verificaram, como por exemplo anorexia e letargia (Michels, Walsh, et al., 2016). A letargia e o vômito foram as reações adversas mais observadas por Souza e colaboradores, no seu estudo retrospectivo em 2018, e também neste houve resolução das situações sem necessidade de intervenção médica (Souza et al., 2018). Tanto aos exames físicos como através das análises sanguíneas realizadas antes e após o tratamento não se verificaram alterações com significado clínico. Estas observações vão ao encontro dos resultados obtidos no estudo anteriormente referido em que também não foram registadas alterações nas análises realizadas aos animais em tratamento com lokivetmab (Michels, Walsh, et al., 2016). As reações de hipersensibilidade, embora possíveis e advertidas no RCM (EMA, 2018b; Michels, Walsh, et al., 2016), não se verificaram neste estudo.

Apesar de não se ter investigado ativamente as interações com outras medicações utilizadas, estas não foram observadas, à semelhança do que se verificou no estudo de Michels e colaboradores (Michels, Walsh, et al., 2016).

A ausência de interações com outras medicações, bem como a ação tão específica e totalmente direcionada para uma única interleucina, sugerem que o lokivetmab pode ser uma excelente opção para animais com outras doenças concomitantes que não possam ser sujeitos a outros fármacos, como por exemplo um animal com neoplasia ao qual não pode ser administrado oclacitinib.

Os resultados obtidos no presente estudo indicam que o lokivetmab é muito seguro, não tendo sido registada nenhuma situação grave ou com necessidade de intervenção por parte do médico veterinário.

4.5. Limitações do estudo

Para além das limitações que foram sendo referidas ao longo da discussão houve outras que merecem ser mencionadas.

As avaliações das lesões e respetivo preenchimento das escalas do CADESI-4 foram realizadas por dois investigadores clínicos (A. M. Loureço e H. Pereira) que trabalham em conjunto há muito tempo e que no início do estudo se reuniram com o intuito de uniformizar a atribuição de classificações.

Idealmente, para avaliar os efeitos do lokivetmab não deveria ter sido utilizada nenhuma outra medicação em simultâneo. Contudo, a principal preocupação durante todo o projeto foi o bem-estar dos animais e dada a apresentação tão grave de alguns casos, houve necessidade de implementar um plano terapêutico multimodal e individualizado. Todas as medicações utilizadas em conjunto com o lokivetmab foram registadas e administradas de modo a interferir o mínimo possível com os resultados.

A reduzida dimensão da amostra, quando comparada com outros estudos clínicos semelhantes, foi, sem dúvida um fator limitante, tendo impossibilitado certas investigações como por exemplo a comparação, já referida, da eficácia do lokivetmab em raças diferentes. A motivação e coerência dos cuidadores no preenchimento das escalas para avaliação do prurido também limitou a dimensão da amostra, resultando até na exclusão de alguns animais cujos cuidadores não respeitaram o número de avaliações solicitadas. O custo do lokivetmab, considerado por muitos elevado e fora das possibilidades financeiras, mostrou ser também um fator limitante para inclusão de animais na amostra.

5. Conclusão

A utilização do lokivetmab no tratamento de cães com DA mostrou ser uma opção extremamente eficaz e segura.

As reduções estatisticamente significativas que se observaram tanto no grau de prurido como no valor do CADESI-4 ao longo de dois meses, vieram comprovar a eficácia, já demonstrada em estudos clínicos anteriores, do lokivetmab nesta doença. Do mesmo modo, a ausência de efeitos secundários com significado clínico e de interações medicamentosas dão ênfase à segurança desta opção terapêutica e promovem confiança na sua utilização em casos mais complexos que possam ter restrições farmacológicas.

A velocidade de ação e o potencial de redução do prurido demonstrados pelo lokivetmab representam uma ferramenta extremamente importante, sendo o prurido o sinal clínico da DAC mais prevalente e com maior impacto na qualidade de vida do animal e do cuidador (Bizikova et al., 2015; Linek & Favrot, 2010).

Tendo em conta a complexidade da DAC e a variação na resposta individual ao tratamento da mesma, a comprovação da eficácia e da segurança do lokivetmab é muito útil, uma vez que disponibiliza mais uma opção para integrar no plano terapêutico desta doença.

BIBLIOGRAFIA

- Agência Europeia do Medicamento (EMA). (2018a). Resumo das características do medicamento veterinário - Apoquel[®]. Consultado a 6 de Dezembro de 2018, em https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/apoquel-epar-product-information_en.pdf
- Agência Europeia do Medicamento (EMA). (2018b). Resumo das características do medicamento veterinário - Cytopoint[®]. Consultado a 6 de Dezembro de 2018, em https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/cytopoint-epar-product-information_en.pdf
- Agler, C. S., Friedenber, S., Olivry, T., Meurs, K. M., & Olby, N. J. (2019). Genome-wide association analysis in West Highland White Terriers with atopic dermatitis. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 209, 1–6.
- Banovic, F., Tarigo, J., Gordon, H., Barber, J. P., & Gogal Jr, R. M. (2018). Immunomodulatory in vitro effects of oclacitinib on canine T-cell proliferation and cytokine production. *Veterinary Dermatology*, 30(1), 17-e6.
- Bizikova, P., Santoro, D., Marsella, R., Nuttall, T., Eisenschenk, M. N. C., & Pucheu-Haston, C. M. (2015). Review: Clinical and histological manifestations of canine atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology*, 26(2), 79-e24.
- Carr, M. N., Torres, S. M. F., Koch, S. N., & Reiter, L. V. (2009). Investigation of the pruritogenic effects of histamine, serotonin, tryptase, substance P and interleukin-2 in healthy dogs. *Veterinary Dermatology*, 20(2), 105–110.
- Casimiro, T. F. F. (2017). *Caraterização do fenótipo do Cão de Água Português com dermatite atópica canina*. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa.
- Cosgrove, S. B., Cleaver, D. M., King, V. L., Gilmer, A. R., Daniels, A. E., Wren, J. A., & Stegemann, M. R. (2015). Long-term compassionate use of oclacitinib in dogs with atopic and allergic skin disease: Safety, efficacy and quality of life. *Veterinary Dermatology*, 26(3), 171-e35.
- Cosgrove, S. B., Wren, J. A., Cleaver, D. M., Martin, D. D., Walsh, K. F., Harfst, J. A., Follis, S. L., King, V. L., Boucher, J. F., & Stegemann, M. R. (2013). Efficacy and safety of oclacitinib for the control of pruritus and associated skin lesions in dogs with canine allergic dermatitis. *Veterinary Dermatology*, 24(5), 479-e114.
- Cosgrove, S. B., Wren, J. A., Cleaver, D. M., Walsh, K. F., Follis, S. I., King, V. I., Tena, J. S., & Stegemann, M. R. (2013). A blinded, randomized, placebo-controlled trial of the efficacy and safety of the Janus kinase inhibitor oclacitinib (Apoquel[®]) in client-owned dogs with atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology*, 24(6), 587-e142.
- Damsky, W., & King, B. A. (2017). JAK inhibitors in dermatology: The promise of a new drug class. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 76(4), 736–744.
- Danese, S., Grisham, M., Hodge, J., & Telliez, J.-B. (2015). JAK inhibition using tofacitinib for inflammatory bowel disease treatment: a hub for multiple inflammatory cytokines. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 310(3), G155–G162.
- De Lucia, M. (2018). Recent advances in the pathophysiology of pruritus. Em *Proceedings da*

- DeBoer, D. J. (2014a). Guidelines for symptomatic medical treatment of canine atopic dermatitis. Em C. Noli, A. Foster, & W. Rosenkrantz (Eds.), *Veterinary Allergy* (pp. 90–95). John Wiley & Sons, Ltd.
- DeBoer, D. J. (2014b). Introduction: canine atopic dermatitis as an evolving, multifactorial disease. Em C. Noli, A. Foster, & W. Rosenkrantz (Eds.), *Veterinary Allergy* (pp. 5–7). John Wiley & Sons, Ltd.
- Dhand, A., & Aminoff, M. J. (2014). The neurology of itch. *Brain*, 137(2), 313–322.
- Dillon, S. R., Sprecher, C., Hammond, A., Bilsborough, J., Rosenfeld-Franklin, M., Presnell, S. R., Haugen, H. S., Maurer, M., Harder, B., Johnston, J., Bort, S., Mudri, S., Kuijper, J. L., Bukowski, T., Shea, P., Dong, D. L., Dasovich, M., Grant, F. J., Lockwood, L., Levin, S. D., LeCiel, C., Waggle, K., Day, H., Topouzis, S., Kramer, J., Kuestner, R., Chen, Z., Foster, D., Parrish-Novak, J., & Gross, J. A. (2004). Interleukin 31, a cytokine produced by activated T cells, induces dermatitis in mice. *Nature Immunology*, 5(7), 752–760.
- Favrot, C., Linek, M., Mueller, R., & Zini, E. (2010). Development of a questionnaire to assess the impact of atopic dermatitis on health-related quality of life of affected dogs and their owners. *Veterinary Dermatology*, 21(1), 64–70.
- Favrot, C., Steffan, J., Seewald, W., & Picco, F. (2010). A prospective study on the clinical features of chronic canine atopic dermatitis and its diagnosis. *Veterinary Dermatology*, 21(1), 23–31.
- Feld, M., Garcia, R., Buddenkotte, J., Katayama, S., Lewis, K., Muirhead, G., Hevezi, P., Plessner, K., Schrupf, H., Krjatskov, K., Sergeeva, O., Müller H. W., Tsoka, S., Kere, J., Dillon, S. R., Steinhoff, M., & Homey, B. (2016). The pruritus- and T_H2-associated cytokine IL-31 promotes growth of sensory nerves. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 138(2), 500-508.e24.
- Fernandes, E. S., Vong, C. T., Quek, S., Cheong, J., Awal, S., Gentry, C., Aubdool, A. A., Liang, L., Bodkin, J. V., Bevan, S., Heads, R., & Brain, S. D. (2013). Superoxide generation and leukocyte accumulation: key elements in the mediation of leukotriene B₄-induced itch by transient receptor potential ankyrin 1 and transient receptor potential vanilloid 1. *The FASEB Journal*, 27, 1664–1673.
- Gadeyne, C., Little, P., King, V. L., Edwards, N., Davis, K., & Stegemann, M. R. (2014). Efficacy of oclacitinib (Apoquel[®]) compared with prednisolone for the control of pruritus and clinical signs associated with allergic dermatitis in client-owned dogs in Australia. *Veterinary Dermatology*, 512-e86.
- Gedon, N. K. Y., & Mueller, R. S. (2018). Atopic dermatitis in cats and dogs: a difficult disease for animals and owners. *Clinical and Translational Allergy*, 8(1), 41.
- Gonzales, A. J., Bowman, J. W., Fici, G. J., Zhang, M., Mann, D. W., & Mitton-Fry, M. (2014). Oclacitinib (APOQUEL) is a novel Janus kinase inhibitor with activity against cytokines involved in allergy. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 37, 317–324.
- Gonzales, A. J., Humphrey, W. R., Messamore, J. E., Fleck, T. J., Fici, G. J., Shelly, J. A., Teel, J. F., Bammert, G. F., Dunham, S. A., Fuller, T. E., & McCall, R. B. (2013). Interleukin-31: its role in canine pruritus and naturally occurring canine atopic

dermatitis. *Veterinary Dermatology*, 24(1).

- Griffin, C. E., & DeBoer, D. J. (2001). The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XIV): clinical manifestations of canine atopic dermatitis. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 81(3–4), 255–269.
- Halliwell, R. (2006). Revised nomenclature for veterinary allergy. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 114(3–4), 207–208.
- Hensel, P., Santoro, D., Favrot, C., Hill, P., & Griffin, C. (2015). Canine atopic dermatitis: Detailed guidelines for diagnosis and allergen identification. *BMC Veterinary Research*, 11(1), 1–13.
- Hill, P. B., Lo, A., Eden, C. A. N., Huntley, S., Morey, V., Ramsey, S., Richardson, C., Smith, D. J., Sutton, C., Taylor, M. D., Thorpe, E., Tidmarsh, R., & Williams, V. (2006). Survey of the prevalence, diagnosis and treatment of dermatological conditions in small animals in general practice. *Veterinary Record*, 158(16), 533–539.
- Hillier, A., & Grif, C. E. (2001). The ACVD task force on canine atopic dermatitis (I): incidence and prevalence. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 81, 147–151.
- Ikoma, A., Steinhoff, M., Ständer, S., Yosipovitch, G., & Schmelz, M. (2006). The neurobiology of itch. *Nature Reviews Neuroscience*, 7(7), 535–547.
- Imamachi, N., Park, G. H., Lee, H., Anderson, D. J., Simon, M. I., Basbaum, A. I., & Han, S. (2009). TRPV1-expressing primary afferents generate behavioral responses to pruritogens via multiple mechanisms. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(27), 11330–11335.
- Jaeger, K., Linek, M., Power, H. T., Bettenay, S. V., Zabel, S., Rosychuk, R. A. W., & Mueller, R. S. (2010). Breed and site predispositions of dogs with atopic dermatitis: A comparison of five locations in three continents. *Veterinary Dermatology*, 21(1), 118–122.
- Jones S. A. & Jenkins B. J. (2018). Recent insights into targeting the IL-6 cytokine family in inflammatory diseases and cancer. *Nature Reviews, Immunology*, 18(12), 773-789.
- Kaneko, Y., & Szallasi, A. (2014). Transient Receptor Potential (TRP) channels: a clinical perspective. *British Journal of Pharmacology*, 171, 2474–2507.
- Kido-Nakahara, M., Furue, M., Ulzii, D., & Nakahara, T. (2017). Itch in atopic dermatitis. *Immunology and Allergy Clinics of North America*, 37(1), 113–122.
- Leader, B., Carr, C. W., & Chen, S. C. (2015). Pruritus epidemiology and quality of life. Em A. Cowan & G. Yosipovitch (Eds.), *Pharmacology of Itch, Handbook of Experimental Pharmacology* (pp. 15–38). Berlin: Springer.
- Linek, M., & Favrot, C. (2010). Impact of canine atopic dermatitis on the health-related quality of life of affected dogs and quality of life of their owners. *Veterinary Dermatology*, 21(5),
- Lourenço-Martins, A. M. G. X. F. (2010). *Contribuição para o estudo da dermatite atópica canina na área metropolitana de Lisboa*. Tese de Doutoramento em Ciências Veterinárias. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária - Universidade Técnica de Lisboa.
- Lourenço-Martins, A. M., Delgado, E., Neto, I., Peleteiro, M. C., Morais-Almeida, M., & Correia, J. H. D. (2011). Allergic conjunctivitis and conjunctival provocation tests in atopic dogs,

- Lourenço, A. M., Schmidt, V., Braz, B. S., Nóbrega, D., Nunes, T., Duarte-Correia, J. H., Matias D., Maruhashi, E., Rème, C. A., & Nuttall, T. (2016). Efficacy of proactive long-term maintenance therapy of canine atopic dermatitis with 0.0584 % hydrocortisone aceponate spray: a double-blind placebo controlled pilot study. *Veterinary Dermatology*, 27, 88-e25.
- Marsella, R., & Olivry, T. (2003). Animal models of atopic dermatitis. *Clinics in Dermatology*, 21(2), 122–133.
- Marsella, R., Olivry, T., & Carlotti, D. N. (2011). Current evidence of skin barrier dysfunction in human and canine atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology*, 22(3), 239–248.
- Marsella, R., Samuelson, D., & Doerr, K. (2010). Transmission electron microscopy studies in an experimental model of canine atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology*, 21(1), 80–87.
- Marsella, R., & Sousa, C. A. (2001). The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XIII): Threshold phenomenon and summation of effects. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 81(3–4), 251–254.
- Marsella, R., Sousa, C. A., Gonzales, A. J., & Fadok, V. A. (2012). Current understanding of the pathophysiologic mechanisms of canine atopic dermatitis. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 241(2), 194–207.
- Metz, M., Grundmann, S., & Ständer, S. (2011). Pruritus: an overview of current concepts. *Veterinary Dermatology*, 22(2), 121–131.
- Michels, G. M., Ramsey, D. S., Walsh, K. F., Martinon, O. M., Mahabir, S. P., Hoevers, J. D., Walters, R. R., & Dunham, S. A. (2016). 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*, 27(6), 478-e129.
- Michels, G. M., Walsh, K. F., Kryda, K. A., Mahabir, S. P., Walters, R. R., Hoevers, J. D., & Martinon, O. M. (2016). 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*, 27(6), 505-e136.
- Miller, W. H., Griffin, C. E., Campbell, K. L., & Marsella, R. (2013). Hypersensitivity disorders: canine atopic dermatitis. In *Muller and Kirk's small animal dermatology* (7th ed., pp. 365–388). St. Louis, Missouri: Saunders, Elsevier.
- Moran, M. M., McAlexander, M. A., Bíró, T., & Szallasi, A. (2011). Transient receptor potential channels as therapeutic targets. *Nature Reviews*, 10, 601–620.
- Nguyen T.S., Simpson B., L'Estrange R., et al. (2018) Progress report from an early experience program involving atopic dogs treated with lokivetmab reaching 30 days post injection using a mobile application monitoring pruritus and dog and owner quality of life (QoL). (abstract) Proceedings from the Australian Small Animal Veterinarians Innovation, Research and Development Symposium. Australian Vet Association Annual Conference Brisbane, Queensland 2018;9–10.
- Nimmo Wilkie, J. S., Yager, J. A., Eyre, P., & Parker, W. M. (1990). Morphometric analyses of the skin of dogs with atopic dermatitis and correlations with cutaneous and plasma histamine and total serum IgE. *Veterinary Pathology*, 27(3), 179–186.

- Noli, C. (2019). Assessing quality of life for pets with dermatologic disease and their owners. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 49(1), 83–93.
- Noli, C., Minafò, G., & Galzerano, M. (2011). Quality of life of dogs with skin diseases and their owners. Part 1: Development and validation of a questionnaire. *Veterinary Dermatology*, 22(4), 335–343.
- Nuttall, T. (2013). The genomics revolution: Will canine atopic dermatitis be predictable and preventable? *Veterinary Dermatology*, 24(1), 10-e4.
- Olivry, T. (2018a). Canine atopic dermatitis and its itch: from pathogenesis to targeted therapy. Em *Proceedings Book - 30th European Veterinary Dermatology Congress, Dubrovnik, Setembro 2018* (p. 98). ESVD, ECVD.
- Olivry, T. (2018b). Could we use the erythema grading of the CADESI4 as a simple instrument for future short-duration clinical trials of dogs with atopic dermatitis? *Veterinary Dermatology*, 30(1), 80–81.
- Olivry, T., & Bäumer, W. (2015). Atopic itch in dogs: pharmacology and modeling. Em A. Cowan & G. Yosipovitch (Eds.), *Pharmacology of Itch, Handbook of Experimental Pharmacology* (Vol. 226, pp. 357–369). Berlin: Springer.
- Olivry, T., Bizikova, P., Paps, J. S., Dunston, S., Lerner, E. A., & Yosipovitch, G. (2013). Cowhage can induce itch in the atopic dog. *Experimental Dermatology*, 22(6), 435–437.
- Olivry, T., Deboer, D. J., Favrot, C., Jackson, H. A., Mueller, R. S., Nuttall, T., & Prélaud, P. (2015). Treatment of Canine Atopic Dermatitis: 2015 Updated Guidelines from the International Committee on Allergic Diseases of Animals (ICADA). *BMC Veterinary Research*, 11, 1–15.
- Olivry, T., DeBoer, D. J., Favrot, C., Jackson, H. A., Mueller, R. S., Nuttall, T., & Prélaud, P. (2010). Treatment of canine atopic dermatitis: 2010 clinical practice guidelines from the International Task Force on Canine Atopic Dermatitis. *Veterinary Dermatology*, 21(3), 233–248.
- Olivry, T., Saridomichelakis, M., Nuttall, T., Bensignor, E., Griffin, C. E., & Hill, P. B. (2014). Validation of the Canine Atopic Dermatitis Extent and Severity Index (CADESI)-4, a simplified severity scale for assessing skin lesions of atopic dermatitis in dogs. *Veterinary Dermatology*, 25(2), 77–86.
- Palomares, O., Yaman, G., Azkur, A. K., Akkoc T., Akdis, M., & Akdis C. A. (2010). Role of Treg in immune regulation of allergic diseases. *European Journal of Immunology*, 40(5), 1232-1240.
- Papoiu, A. D. P., Tey, H. L., Coghill, R. C., Wang, H., & Yosipovitch, G. (2011). Cowhage-induced itch as an experimental model for pruritus. A comparative study with histamine-induced itch. *PLoS ONE*, 6(3), 1–5.
- Pennamen, M., Briand, A., & Cochet-Faivre, N. (2018). Early diagnostic criteria of atopic dermatitis in puppies: a pilot study (abstract). *Veterinary Dermatology*, 29(5), 370.
- Pereira, M. P., & Ständer, S. (2017). Prurido crónico: fisiopatologia, classificação clínica, diagnóstico e tratamento. *Revista da Sociedade Portuguesa de Dermatologia e Venereologia*, 75, 329–336.

- Pomar, J. (2006). *A Divina Comédia de Dante Alighieri*. Lisboa: Bertrand.
- Potenzieri, C., & Undem, B. J. (2012). Basic mechanisms of itch. *Clinical and Experimental Allergy*, 42(1), 8–19.
- Roster, A., Fischer N. M., Urwyler, A., & Favor, C. (2018). Circulating CD4(+)CD25(+)Foxp3(+) T regulatory cell levels in an experimental model of canine atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology*, 26(6), 511-e17.
- Rybniček, J., Lau-Gillard, P. J., Harvey, R., & Hill, P. B. (2009). Further validation of a pruritus severity scale for use in dogs. *Veterinary Dermatology*, 20(2), 115–122.
- Santoro, D., Marsella, R., Pucheu-Haston, C. M., Eisenschenk, M. N. C., Nuttall, T., & Bizikova, P. (2015). Review: Pathogenesis of canine atopic dermatitis: Skin barrier and host-micro-organism interaction. *Veterinary Dermatology*, 26(2), 84-e25.
- Saridomichelakis, M. N., & Olivry, T. (2016). An update on the treatment of canine atopic dermatitis. *Veterinary Journal*, 207, 29–37.
- Schamber, P., Schwab-Richards, R., Bauersachs, S., & Mueller, R. S. (2014). Gene Expression in the Skin of Dogs Sensitized to the House Dust Mite *Dermatophagoides farinae*. *G3; Genes|Genomes|Genetics*, 4(10), 1787–1795.
- Shim, W., Tak, M., Lee, M., Kim, M., Kim, M., Koo, J., Lee, C., Kim, M., & Oh, U. (2007). TRPV1 Mediates Histamine-Induced Itching via the Activation of Phospholipase A2 and 12-Lipoxygenase. *The Journal of Neuroscience*, 27(9), 2331–2337.
- Shimada, K., Yoon, J. S., Yoshihara, T., Iwasaki, T., & Nishifuji, K. (2009). Increased transepidermal water loss and decreased ceramide content in lesional and non-lesional skin of dogs with atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology*, 20(5–6), 541–546.
- Sommer, F., Hensen, P., Böckenholt, B., Metze, D., Luger, T. A., & Ständer, S. (2007). Underlying diseases and co-factors in patients with severe chronic pruritus: A 3-year retrospective study. *Acta Dermato-Venereologica*, 87(6), 510–516.
- Sousa, C. A. (2015). Itch symposia: pruritus pathways - the veterinary perspective (or why I need to re-learn neurology). Em *29th Proceedings of the North American Veterinary Dermatology Forum, Nashville, Tennessee, Abril* (pp. 217–222).
- Sousa, C. A. (2017a). Biologic therapy for companion animals - what is it? Em *World Small Animal Veterinary Association Congress Proceedings, El Dorado Hills, CA, USA*. El Dorado Hills, CA, USA.
- Sousa, C. A. (2017b). Introduction to monoclonal antibody therapy. Em *Atlantic Coast Veterinary Conference Proceedings*.
- Souza, C. P., Rosychuk, R. A. W., Contreras, E. T., Schissler, J. R., & Simpson, A. C. (2018). 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*, 29(6), 489-e164.
- Ständer, S., Weisshaar, E., Mettang, T., Szepietowski, J. C., Carstens, E., Ikoma, A., ... Bernhard, J. D. (2007). Clinical classification of itch: A position paper of the international forum for the study of itch. *Acta Dermato-Venereologica*, 87(4), 291–294.
- Steinhoff, M., Neisius, U., Ikoma, A., Fartasch, M., Heyer, G., Skov, P. S., Luger, T., A., & Schmelz, M. (2003). Proteinase-activated receptor-2 mediates itch: a novel pathway

for pruritus in human skin. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 23(15), 6176–6180.

- Takamori A., Nambu A., Sato K., Yamaguchi S., Matsuda K., Numata T., Sugawara T., Yoshizaki T., Arae K., Morita H., Matsumoto K., Sudo K., Okumura K., Kitaura J., Matsuda H. & Nakae S. (2018). IL-31 is crucial for induction of pruritus, but not inflammation, in contact hypersensitivity. *Scientific Reports*, 8(1).
- Tanaka, Y. (2015). Recent progress and perspective in JAK inhibitors for rheumatoid arthritis: From bench to bedside. *Journal of Biochemistry*, 158(3), 173–179.
- Wilhem, S., Kovalik, M., & Favrot, C. (2011). Breed-associated phenotypes in canine atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology*, 22(2), 143–149.
- Wittich, F. W. (1941). Spontaneous allergy (atopy) in the lower animal. Seasonal hay fever (fall type) in a dog. *Journal of Allergy*, 12(3), 247–251.
- Wright, A., Cooper, S., & Pavlock, A. (2018). Association of administration of oclacitinib with improvement of quality of life of acutely pruritic dogs and their owners in seven days (abstract). *Veterinary Dermatology*, 29(4), 273.
- Yosipovitch, G., & Papoiu, A. D. P. (2008). What causes itch in atopic dermatitis? *Current Allergy and Asthma Reports*, 8(4), 306–311.
- Zampeli, E., & Tiligada, E. (2009). The role of histamine H 4 receptor in immune and inflammatory disorders. *British Journal of Pharmacology*, 157(1), 24–33.
- Zoetis. (2018a). Cytopoint. Acedido a 6 de Dezembro de 2018, disponível em: <https://www.zoetisus.com/products/dogs/cytopoint/index.aspx>
- Zoetis. (2018b). Zoetis Receives New Allergic Dermatitis Indication For Cytopoint®. Acedido a 6 de Dezembro de 2018, disponível em <https://www.zoetisus.com/news-and-media/zoetis-receives-new-allergic-dermatitis-indication-for-cytopoint.aspx>

Anexo 1 – Termo de responsabilidade apresentado aos cuidadores para o consentimento da participação do seu animal no estudo

Termo de Responsabilidade e Certificado de Autorização

Eu, _____,
cuidador(a) do canídeo _____, autorizo a sua presença no Projecto
“Cytopoint em Cães Atópicos”, atestando ter sido informado(a) das condições do mesmo e
estando consciente de que posso desistir a qualquer momento.

_____ de _____ de _____

(Assinatura do cuidador)

Anexo 2 – Escala CADESI-4

Tabela 4 - Tabela de Classificação CADESI – 4.

CADESI – 04 (ICADA)		Eritema	Liquenificação	Escoriações e/ou Alopecia	TOTAL
Região perilabial <i>(esquerda e direita combinadas)</i>		1			
Pavilhão Auricular	Esquerda	2			
	Direita	3			
Axilas	Esquerda	4			
	Direita	5			
Extremidades podais anteriores <i>(face dorsal e palmar combinadas)</i>	Esquerda	6			
	Direita	7			
Extremidades podais posteriores <i>(face dorsal e palmar combinadas)</i>	Esquerda	8			
	Direita	9			
Região flexora do cotovelo	Esquerda	10			
	Direita	11			
Face palmar metacárpica <i>(da almofada cárpica à metacárpica)</i>	Esquerda	12			
	Direita	13			
Flancos	Esquerda	14			
	Direita	15			
Região Inguinal <i>(virilhas)</i>	Esquerda	16			
	Direita	17			
Abdômen		18			
Períneo <i>(desde a vulva/escroto até ao ânus)</i>		19			
Face ventral da cauda <i>(proximal)</i>		20			
Classificar cada região e cada lesão: ausente – 0; ligeiro – 1; moderado – 2; grave – 3		Pontuação TOTAL (20 x 3 x 3 = 180)			

Adaptado de “Validation of the Canine Atopic Dermatitis Extent and Severity Index (CADESI)-4, a simplified severity scale for assessing skin lesions of atopic dermatitis in dogs”, 2014.

Anexo 3 – Escala de gravidade do prurido

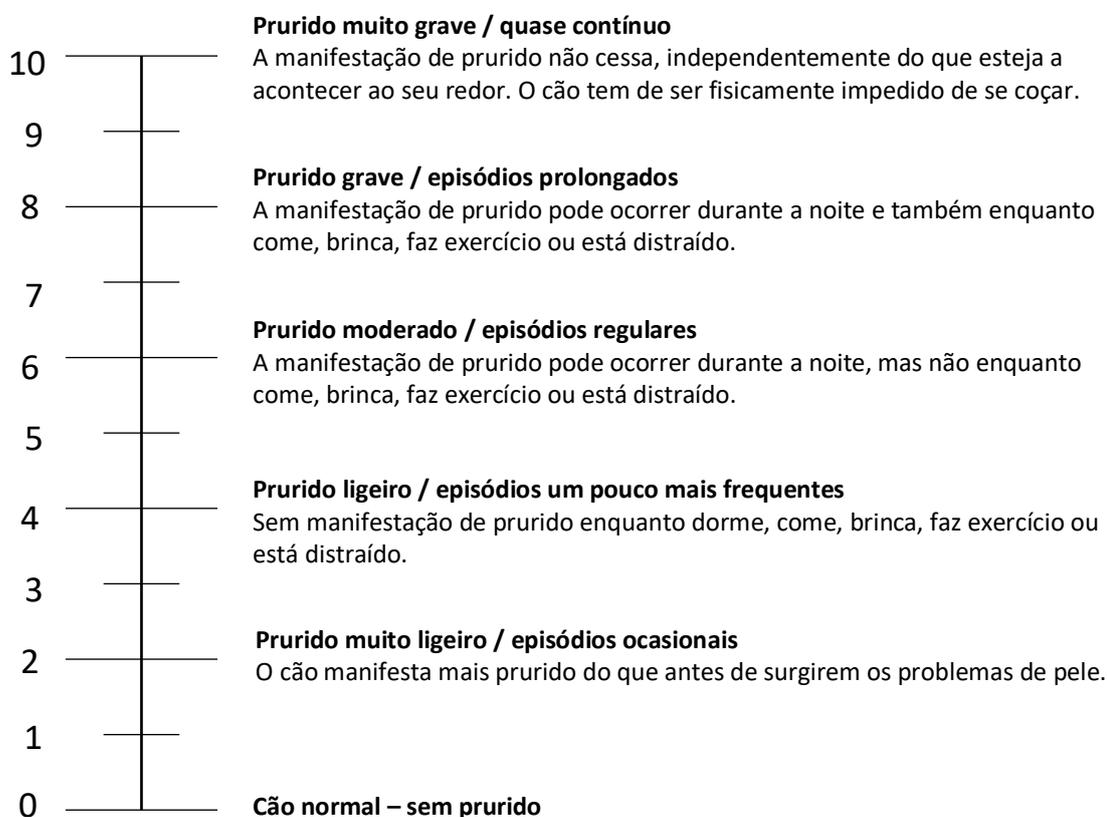
Figura 7 - Escala para classificação do grau de prurido tal como foi entregue aos cuidadores.



Grau de Prurido

O prurido (comichão) pode manifestar-se por coçar, lamber, morder e esfregar o corpo.

Por favor, assinale com um “X”, na escala de 0 a 10 que se segue, aquele que considera ser o grau de prurido que o seu cão apresenta neste momento.



Escala de Gravidade do Prurido adaptada de “Further validation of a pruritus severity scale for use in dogs”, 2009.

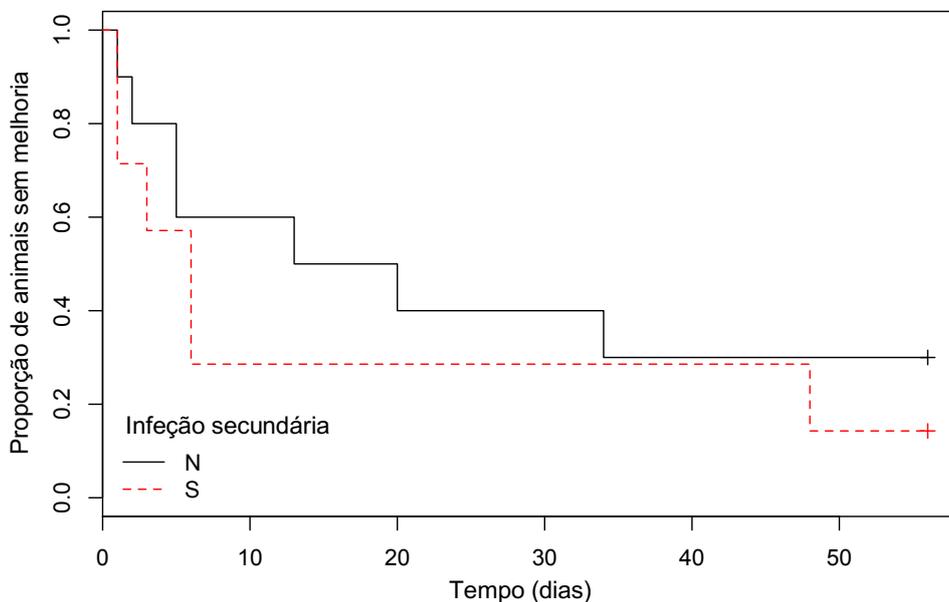
Anexo 4 – Valores do grau de prurido

Tabela 5 - Classificação do grau de prurido dos animais ao longo do tempo (dias).

Animal	D0	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D13	D20	D27	D34	D41	D48	D55
A	6	4	4	5	5	4	3	3	4	5	4	5	4	5
B	8	3	3	3	3	2	2	3	2	2	3	2	2	1
C	8	7	7	7	5	5	4	5	3	3	1	1	0	0
D	6	4	6	6	4	4	4	4	6	6	4	4	2	2
E	7	6	6	6	6	6	6	9	1	1	1	1	1	3
F	2	2	2	2	2	2	2	4	8	2	2	2	4	7
G	9	7	5	5	5	4	4	4	4	3	2	2	2	2
H	7	7	6	6	6	6	5	5	5	5	5	5	5	6
J	8	8	8	8	8	8	8	8	7	7	8	8	6	6
L	1	1	0	1	1	1	2	2	4	4	4	5	6	6
M	10	1	2	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1
N	7	6	6	4	4	2	6	6	6	4	0	6	0	0
O	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	5	5	5
P	7	5	5	5	5	5	4	3	4	4	4	4	5	5
Q	1	0	1	1	1	1	2	2	3	4	5	4	4	4
R	6	6	5	3	2	2	2	2	2	4	3	0	0	1
S	5	4	4	3	3	3	3	3	3	3	1	1	1	1

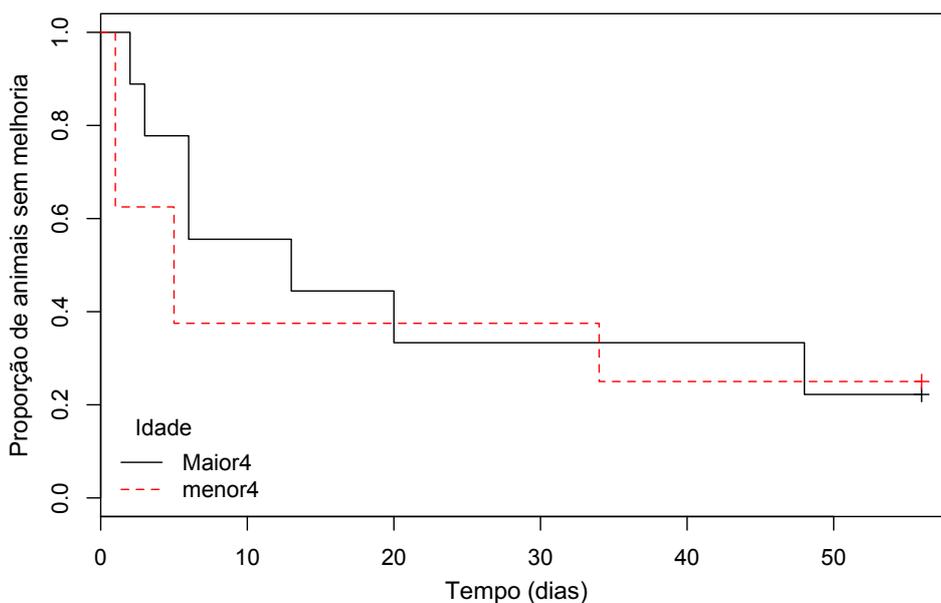
Anexo 5 – Gráficos de comparação da melhoria no grau de prurido entre idades e presença de infecção secundária, pelo método de Kaplan-Meier

Gráfico 11 - Curvas da proporção de animais sem melhoria ao longo das 8 semanas, pelo método de Kaplan-Meier, tendo em conta a presença, ou não, de infecção secundária.



Legenda: N – sem infecção secundária; S – com infecção secundária.

Gráfico 12 - Curvas da proporção de animais sem melhoria ao longo das 8 semanas, pelo método de Kaplan-Meier, tendo em conta a idade dos animais.



Legenda: Maior4 – animais com mais de 4 anos; menor4 – animais dos 0 aos 4 anos.

Anexo 6 – Valores do CADESI-4

Tabela 6 - Classificação do CADESI-4 dos animais ao longo do tempo (dias).

Animal	T0	T14	T28	T56
A	47	18	50	26
B	16	15	13	13
C	23	7	5	1
D	24	7	20	30
E	14	11	5	10
F	15	20	20	34
G	3	10	6	2
H	16	2	12	0
I	26	-	6	5
J	38	22	9	14
L	25	-	23	20
M	110	20	34	43
N	26	15	20	12
O	14	-	12	0
P	29	18	3	19
Q	8	14	11	10
R	37	13	15	20
S	19	4	8	1

Nota: Intervalos para classificação da gravidade da DAC pelo CADESI-4 - <10, cães normais ou remissão; 10-34, DAC ligeira; 35-59, DAC moderada; ≥ 60 DAC grave (Olivry et al., 2014).