

**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ
ESCOLA DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**

ADRIANO DE SOUZA NETO

**ESTUDO DA EFICÁCIA E SEGURANÇA DA CICLOSPORINA NO
CONTROLE DA DERMATITE ATÓPICA EM CÃES**

*(Study of the efficacy and safety of cyclosporine in the control of atopic dermatitis in
dogs)*

SÃO JOSÉ DOS PINHAIS

2012

ADRIANO DE SOUZA NETO

**ESTUDO DA EFICÁCIA E SEGURANÇA DA CICLOSPORINA NO
CONTROLE DA DERMATITE ATÓPICA EM CÃES**

(Study of the efficacy and safety of cyclosporine in the control of atopic dermatitis in dogs)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal- Área de concentração Saúde, Tecnologia e Produção Animal, da Escola de Ciências Agrárias e Ambientais, da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Ciência Animal.

Orientador: Prof. Dr. Marconi Rodrigues de Farias

SÃO JOSÉ DOS PINHAIS

2012

ADRIANO DE SOUZA NETO

**ESTUDO DA EFICÁCIA E SEGURANÇA DA CICLOSPORINA NO CONTROLE DA
DERMATITE ATÓPICA EM CÃES**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal- Área de concentração: Cirurgia e Clínica de Animais de Companhia, da Escola de Ciências Agrárias e Ambientais, da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Ciência Animal.

COMISSÃO EXAMINADORA

Professor Dr. Marconi Rodrigues de Farias
PUCPR

Professora Dra. Claudia Turra Pimpão
PUCPR

Professor Dr. Luiz Henrique de Araújo Machado
UNESP (Botucatu)

São José dos Pinhais, ____ de _____ de 2012.

SUMÁRIO

	Página
AGRADECIMENTOS.....	viii
FORMATO DA DISSERTAÇÃO.....	x
RESUMO GERAL.....	xi
ABSTRACT.....	xii
LISTA DE ABREVIATURAS.....	xiii
LISTA DE TABELAS.....	iv
LISTA DE FIGURAS.....	xv
CAPÍTULO 1- REVISÃO DA LITERATURA.....	1
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 DEFINIÇÃO.....	1
3 OCORRÊNCIA.. ..	2
4 ETIOPATOGENIA.....	4
4.1 Fatores intrínsecos.....	4
4.1.1 Barreira epidérmica.....	4
4.1.2 Imunopatologia da hiper-reatividade tegumentar.....	6
4.1.3 Perda da função de barreira antimicrobiana tegumentar.....	8
4.2 Fatores extrínsecos.....	9
4.2.1 Aero-alérgenos.....	10
4.2.2 Trofo- alérgenos.....	10
4.2.3 Alérgenos microbianos.....	11
4.2.4 Irritantes primários.....	12
5 SINAIS CLÍNICOS.....	12
6 DIAGNÓSTICO.....	14
7 TRATAMENTO.....	17
7.1 Tratamento tópico e minimização da exposição a irritantes.....	18
7.2 Medidas de controle e minimização da exposição à alérgenos ambientais.....	18
7.3 Tratamento antimicrobiano.....	19
7.4 Tratamento antifúngico.....	20
7.5 Tratamento anti-histamínico.....	21
7.6 Ácidos graxos essenciais (omega 3 e omega 6).....	21

7.7 Glicocorticóides.....	22
7.8 Inibidores da calcineurina (ciclosporina).....	25
7.8.1 Mecanismo de ação.....	25
7.8.2 Farmacocinética.....	27
7.8.3 Interações medicamentosas.....	29
7.8.4 Segurança.....	29
7.8.5 Tratamento da dermatite atópica com ciclosporina.....	31
7.9 Imunoterapia alérgeno-específica (dessensibilização).....	33
CAPÍTULO 2.....	35
1 ESTUDO DA EFICÁCIA DA CICLOSPORINA NO CONTROLE DA DERMATITE ATÓPICA EM CÃES.....	35
Resumo.....	35
Abstract.....	36
2 INTRODUÇÃO.....	37
3 OBJETIVO GERAL.....	40
3.1 Objetivos específicos.....	40
4 MATERIAIS E METÓDOS.....	40
4.1 Comitê de ética.....	40
4.2 Seleção da amostra.....	40
4.3 Delineamento experimental.....	40
4.4 Avaliação da eficácia.....	41
4.4.1 Critérios de inclusão.....	41
4.4.2 Critérios de exclusão.....	41
4.4.3 Exclusão de animais pós-início do ensaio.....	42
4.4.4 Protocolo experimental.....	42
4.4.4.1 Grupos experimentais.....	42
4.4.4.1.1 Grupo tratado com ciclosporina.....	42
4.4.4.1.2 Grupo controle (prednisona).....	43
4.5 Avaliação clínica.....	44
4.6 Análise estatística.....	45
5 RESULTADOS.....	46
5.1 Resultados da eficácia com ciclosporina (5mg/kg).....	46
5.2 Resultados da eficácia do grupo controle (prednisona 0,5mg/kg).....	49

6 DISCUSSÃO.....	52
7 CONCLUSÃO.....	55
CAPÍTULO 3.....	56
1 ESTUDO DA SEGURANÇA DA CICLOSPORINA EM CÃES HÍGIDOS.....	56
Resumo.....	56
Abstract.....	57
2 OBJETIVO GERAL.....	58
2.1 Objetivos específicos.....	58
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	58
3.1 Comitê de ética.....	58
3.2 Localização do estudo.....	58
3.3 Delineamento experimental.....	58
3.4 Animais utilizados no estudo.....	59
3.4.1 Critérios de inclusão.....	59
3.4.2 Critérios de exclusão.....	59
3.5 Protocolo experimental.....	59
3.5.1 Grupos experimentais.....	60
3.5.1.1 Grupo C5.....	60
3.5.1.2 Grupo C10.....	60
3.5.2 Avaliações clínicas.....	61
3.5.3 Avaliações laboratoriais.....	62
3.5.4 Exame de urina e avaliação da razão proteína/creatinina urinária (RPC).....	63
3.5.5 Descrição das atividades realizadas por dia experimental.....	63
4 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	65
5 RESULTADOS.....	66
6 DISCUSSÃO.....	73
7 CONCLUSÕES.....	78
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	79
APÊNDICES.....	89
ANEXOS.....	92

Se eu vi mais longe, foi por estar de pé
sobre ombros de gigantes.

Isaac Newton

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente a Deus por ter colocado em minha vida diversas oportunidades da qual pude desfrutar e a possibilidade de realizar meus sonhos.

Aos meus pais, Renaldo e Juceli, que desde o início de minha vida estiveram ao meu lado e me apoiando, dando suporte e fazendo grandes esforços para que este sonho pudesse ser realizado. Quero que vocês tenham a certeza de que isto só foi possível por que vocês estavam do meu lado em todos os momentos, os bons e os ruins. Sou eternamente grato, e dedico está que é uma das minhas maiores conquistas, a vocês que são muito especiais para mim.

Aos meus irmãos, Tarcísio e Maurício, que tantas vezes estiveram presente em minha vida tornando-a mais feliz, agradeço pelo carinho e companheirismo que tivemos em nossas vidas.

Aos demais familiares, que tantas vezes eu precisei e que estiveram do meu lado, torcendo por mim e pelo carinho de todos. Certamente todos vocês ajudaram de alguma forma a construir o meu caminho, a pessoa que sou.

A minha esposa, Suzana, a qual teve grande participação neste período da minha vida. Agradeço pela sua paciência, pelos conselhos, compreensão, dedicação e pelo amor que tens por mim. Agradeço por estar ao meu lado em todas as circunstâncias e que em momentos difíceis você me ajudou a resolvê-los com sabedoria.

Ao meu orientador Marconi Rodrigues de Farias, o qual me deu a oportunidade de acompanhá-lo, neste período de pesquisa, dispondo de atenção, paciência e disposição em passar seus conhecimentos. E agradeço, principalmente pela grande amizade construída nestes últimos anos, e a admiração que tenho por sua inteligência, gentileza e humildade, tanto em âmbito pessoal, quanto científico.

A professora Juliany Gomes Quitzan, pela sua disposição e aceite em ser minha coorientadora, agradeço muito a sua colaboração, e dedicação no presente estudo, com ensinamentos, incentivos e conselhos fundamentais durante o mestrado.

A professora Claudia Pimpão, sempre aberta em sua sala, disposta a oferecer seus conhecimentos e esforços a favor do estudo, os quais foram imprescindíveis para sua realização.

A professora Carolina Cavalcante, pela disposição na participação e

execução do projeto, e pelos conhecimentos transmitidos.

A Professora Cristina Sotomaior, que acompanhou está jornada desde o princípio, sempre se colando a disposição.

E a todos os demais professores da PUCPR que tive a oportunidade de ter aula e de convívio na entidade, que se dispuseram a ensinar com qualidade, grande parte dos conhecimentos adquiridos se deve a vocês.

A Suzana Solomon, grande amiga, que se dedicou intensamente em todas as fases da pesquisa, se mostrando uma grande pesquisadora.

Aos alunos de graduação e estagiários, Deivid, Amanda, Gustavo, Ana Paula, Ariele, Gisele e aos demais colaboradores que participaram de forma incessante e brilhante na realização do estudo, sempre demonstrando interesse em aprender e contribuir com a pesquisa, certamente vocês foram à estrutura de apoio para a realização deste grande projeto.

A Caroline Nocera, pelo apoio prestado junto à secretaria de Pós Graduação.

Ao Sr. Elias, responsável pelo canil, que gentilmente ajudou no manejo dos cães durante o estudo.

A todos os funcionários (em especial Ana Paula pelo auxílio no laboratório de análise clínicas, ao Leandro em difíceis coletas de sangue, Jéssica pela paciência no auxílio e fornecimento das fichas dos cães, e a Suellen pelo auxílio junto à farmácia) e todos os residentes (em especial Mairon, no auxílio da realização cistocentese realizada em todos os cães, e a Thaís pelo processamento dos exames laboratoriais, Luiz e Juliane no auxílio ao atendimento dos animais) da Unidade Hospitalar para Animais de Companhia da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR).

Ao laboratório Vallée, pelo apoio e disponibilidade no fornecimento das medicações utilizadas, durante o estudo.

Aos proprietários e animais do estudo, que contribuíram de forma significativa a pesquisa! Certamente a saúde e qualidade de vida canina portadores de dermatite atópica, será beneficiada através deste estudo.

Enfim todas as pessoas acima citadas e outras, que diretamente ou indiretamente fizeram parte do mestrado, e que ajudaram a desempenhar este trabalho! A todos vocês o meu MUITO OBRIGADO!!!

FORMATO DA DISSERTAÇÃO

A presente dissertação é composta por capítulos, a metodologia aplicada nos mesmos foi de acordo com ABNT.

O capítulo 1. Trata-se de revisão de literatura, abordando a dermatite atópica canina.

O capítulo 2. Refere-se ao Estudo da Eficácia da Ciclosporina no Controle da Dermatite Atópica Canina.

O capítulo 3. Estudo da Segurança da Ciclosporina em Cães Hípidos.

As referências de todos os capítulos encontram-se em lista única ao final da dissertação.

ESTUDO DA EFICÁCIA E SEGURANÇA DA CICLOSPORINA NO CONTROLE DA DERMATITE ATÓPICA EM CÃES

(Study of the efficacy and safety of cyclosporine in the control of atopic dermatitis in dogs)

RESUMO

A dermatite atópica (DA) é uma doença inflamatória crônica, recorrente e intensamente pruriginosa que acomete cerca de 10 a 15% da população canina. Seu desenvolvimento está relacionado a uma complexa interação entre fatores genéticos, imunológicos, ambientais, farmacológicos, psicogênicos e da função de barreira da pele. A DA tem sido descrita em cães de inúmeras raças, geralmente com idade inferior à três anos e é caracterizada por hiper-reatividade cutânea e prurido intenso, perene e primário. Diversos métodos de controle são citados, entretanto o mais utilizado pelos médicos veterinários é o uso intermitente de glicocorticóides, o qual tem sido associado a diversos efeitos colaterais. Este estudo teve como objetivo avaliar a eficácia da ciclosporina, na dose de 5mg/kg, na redução do quadro sintomato-lesional, avaliado por CADESI-03, e do prurido crônico, avaliado pela escala de Rybnicek (2009), durante 60 dias. Em adição foi avaliado a segurança do uso de ciclosporina (CsA) em cães hípidos através de avaliações clínicas semanais, da pressão arterial e laboratoriais (perfil hematológico, bioquímico sérico e urinário) nos dias zero, +15, +30, +45 e +60. Os animais tratados com CsA apresentaram uma melhora da involução sintomato-lesional no escore de CADESI nos dias (+30) e (+60) ($p < 0,001$) em relação ao dia zero. Já os cães que receberam prednisona obtiveram uma melhora no dia (+30) e (+60) ($p < 0,001$) do tratamento em relação ao dia zero, e uma diferença estatística entre o dia +60 ($p < 0,05$) do tratamento em relação ao dia +30. Em relação ao escore de prurido, os cães tratados com CsA evidenciaram uma redução significativa ($p < 0,001$) nos dias +7, +35 e +63, e nos dias +14, +21, +26, +42 e +49 ($p < 0,01$) e no dia +56 ($p < 0,05$) em relação ao dia zero da avaliação, e os cães tratados com prednisona tiveram uma melhora no dia +28, +35, +42, +49, +56 e +63 ($p < 0,001$), e no dia + 21 ($p < 0,01$) em relação ao momento inicial do tratamento. Nefrotoxicidade, necrose hepatocelular e hipertensão arterial não foram observados durante o período de estudo. Assim, a CsA mostrou-se eficaz e segura, no controle e na manutenção do tratamento da dermatite atópica canina.

Palavras-chave: Glicocorticóides; Prurido; Atopia; Genodermatoses; Imunossupressor.

ESTUDO DA EFICÁCIA E SEGURANÇA DA CICLOSPORINA NO CONTROLE DA DERMATITE ATÓPICA EM CÃES

(Study of the efficacy and safety of cyclosporine in the control of atopic dermatitis in dogs)

ABSTRACT

Atopic dermatitis (AD) is a chronic inflammatory disease, recurrent and intensely itchy that affects about 10 to 15% of the canine population. Its development is related to a complex interaction between genetic, immunological, environmental, pharmacological, and psychogenic barrier function of the skin. The DA has been described in many breeds of dogs, usually under the age of three years and is characterized by hyper-reactivity and cutaneous pruritus, and perennial primary. Several control methods are cited, however the most commonly used by veterinarians is the intermittent use of glucocorticoids, which has been associated with several side effects. This study aimed to evaluate the efficacy of cyclosporine at a dose of 5mg/kg, the reduction of the sintomato-lesional, rated by CADESI-03, and chronic itching, assessed by scale Rybnicek (2009), for 60 days. In addition we evaluated the safety of cyclosporine (CsA) in healthy dogs through weekly clinical evaluations, blood pressure and laboratory (blood profile, serum biochemical and urinary) on days zero, +15, +30, +45 and + 60. The animals treated with CsA showed an improvement of involution sintomato-lesional for scores on days CADESI (+30) and (+60) ($p < 0.001$) relative to day zero. In contrast, dogs receiving prednisone achieved an improvement in days (+30) and (+60) ($p < 0.001$) of treatment compared to day zero and a statistical difference between day +60 ($p < 0.05$) treatment compared to day +30. Regarding pruritus score, dogs treated with CsA showed a significant reduction ($p < 0.001$) on days +7, +35 and +63, and on days +14, +21, +26, +42 and +49 ($p < 0.01$) and on day +56 ($p < 0.05$) relative to day zero of the evaluation, and the dogs treated with prednisone had an improvement on day +28, +35, +42, +49, + and 56 +63 ($p < 0.001$), and on day + 21 ($p < 0.01$) with respect to time of initial treatment. Nephrotoxicity, hypertension and hepatocellular necrosis was not observed during the study period. Thus, CsA was effective and safe in controlling and maintaining the treatment of canine atopic dermatitis.

Key-words: Glucocorticoids; Pruritus; Atopy; Genodermatoses; Immunosuppressant.

LISTA DE ABREVIATURAS

BID - “bis in die” duas vezes ao dia

CADESI - Canine Atopic Dermatitis Extent and Severity Index/Índice de Gravidade da Dermatite Atópica Canina

CsA - Ciclosporina

CYP450 - Citocromo P450

DA - Dermatite Atópica

DAC - Dermatite Atópica Canina

DAS – Dermatite Atópica Simile

DASP - Dermatite Alérgica à Saliva de Pulga

F – Fêmea

GM-CSF - Granulocyte Macrophage Colony Stimulating Factor/Factor de Estimulação dos Granulócitos e Macrófagos

IFN α - Interferon α

Ig - Imunoglobulina

IgEs - Imunoglobulinas E

IL - Interleucina

M – Macho

ME – Microemulsão

mL – Mililitro

mm - Milímetros

PAM - Peptídeos antimicrobianos

PAS – Pressão arterial sistêmica

PUCPR - Pontifícia Universidade Católica do Paraná

PVA – Visual analog scale / Escala visual analógica

SID - “one in die” uma vez ao dia

SRD - Sem raça definida

TGF α - Factor α de Transformação e Crescimento

TNF α - Fator de Necrose Tumoral

VO - Via oral

LISTA DE TABELAS

	Página
CAPÍTULO 1	
Tabela 1. Critérios de Favrot 2010 para o diagnóstico de dermatite atópica em cães.....	17
CAPÍTULO 2	
Tabela 1. Dados de identificação dos cães incluídos no estudo de eficácia com ciclosporina 5 mg/kg, SID, via oral.....	43
Tabela 2. Identificação dos cães do estudo da eficácia com prednisona.....	44
CAPÍTULO 3	
Tabela 1. Identificação dos cães do estudo de segurança da ciclosporina, na dose de 5mg/kg e 10 mg/kg.....	61
Tabela 2. Atividades com os cães submetidos ao tratamento.....	64

LISTA DE FIGURAS

	Página
CAPÍTULO 1	
Figura 1. Padrão lesional característico da dermatite atópica canina.....	13
Figura 2. Demonstra um paralelo dentro do linfócito sem a ação da ciclosporina (esquerda) e o mecanismo de ação da ciclosporina, dentro do Linfócito T (direita), fazendo ligação com a ciclofilina-1 (seta), inibindo a calcineurina e evitando a transcrição de interleucinas, principalmente IL 2 (X).....	26
CAPÍTULO 2	
Figura 1. Valores das medianas na análise por CADESI dos cães do grupo tratado com ciclosporina nos dias 0, +30 e +60.....	47
Figura 2. Cão de nº 2 da Tabela 1, da raça Yorkshire Terrier, com DAC, no dia 0 do tratamento com ciclosporina, com lesão alopecica, descamação e eritema na região perioral (setas).....	47
Figura 3. Mesmo animal da figura 2, no dia 60 do tratamento com ciclosporina, com remissão das lesões periorais.....	47
Figura 4. Cão de nº 5 da Tabela 1, da raça beagle, com DAC, no dia 0 do tratamento com ciclosporina, com lesão, eritematosa, edema, hiperqueratose e excesso de dobras cutâneas no pavilhão auricular e estenose de conduto auditivo direito (seta).....	48
Figura 5. Mesmo animal da figura 4, no dia 60 do tratamento com ciclosporina, com remissão das lesões no pavilhão auricular.....	48
Figura 6. Valores das medianas na análise por RYBNICEK dos cães do grupo tratado com ciclosporina nos dias 0, +7, +14, +21, +28, +35, +42, +49, +56 e +63.....	48
Figura 7. Valores das medianas na análise por CADESI dos cães do grupo controle (prednisona) nos dias 0, +30 e +60.....	49
Figura 8. Valores das medianas na análise por RYBNICEK dos cães do grupo controle (prednisona) nos dias 0, +7, +14, +21, +28, +35, +42, +49, +56 e +63.....	50

Figura 9.	Comparação das medianas na análise por CADESI dos cães do grupo controle (prednisona) e do tratado com ciclosporina nos dias 0, +30 e +60.....	50
Figura 10.	Comparação das medianas na análise por RYBNICEK dos cães do grupo controle (prednisona) com o tratado com ciclosporina nos dias 0, +7, +14, +21, +28, +35, +42, +49, +56 e +63.....	51
CAPÍTULO 3		
Figura 1.	Valores das médias do hematócrito dos cães do grupo tratado com ciclosporina 5 mg/kg nos dias 0, +15, +30, +45 e +60.....	67
Figura 2.	Valores das médias da fosfatase alcalina dos cães do grupo ciclosporina 10 mg/kg nos dias 0, +15, +30, +45 e +60.....	67
Figura 3.	Comparação das médias nos valores de fósforo dos cães do grupo tratado com ciclosporina 5 e 10 mg/kg nos dias 0, +15, +30, +45 e +60.....	68
Figura 4.	Comparação das médias nos valores de uréia dos cães do grupo tratado com ciclosporina 5 e 10 mg/kg nos dias 0, +15, +30, +45 e +60.....	69
Figura 5.	Valores das médias de potássio iônico dos cães do grupo ciclosporina 10 mg/kg nos dias 0, +15, +30, +45 e +60.....	69
Figura 6.	Valores das médias de sódio iônico dos cães do grupo ciclosporina 10 mg/kg nos dias 0, +15, +30, +45 e +60.....	70
Figura 7.	Valores das médias de cálcio iônico dos cães do grupo ciclosporina 10 mg/kg nos dias 0, +15, +30, +45 e +60.....	71
Figura 8.	Comparação das médias nos valores de densidade urinária dos cães do grupo tratado com ciclosporina 5 e 10 mg/kg nos dias 0, +15, +30, +45 e +60.....	72

CAPÍTULO 1

DERMATITE ATÓPICA CANINA - REVISÃO

(Canine atopic dermatitis – Review)

1. INTRODUÇÃO

A dermatite atópica canina (DAC) é uma doença inflamatória pruriginosa, crônica e recorrente, de alta incidência em cães. Embora de etiologia multifatorial, sua etiopatogenia está relacionada a mutações genéticas que conduzem a distúrbios da função de barreira tegumentar, a defeitos na resposta imune antimicrobiana e a hiper-reatividade cutânea a alérgenos ambientais, antígenos microbianos, irritantes primários e trofoalérgenos (HILLIER, 2002; AKDIS et al., 2006; CORK et al., 2006; HOMEY et al., 2006).

Estima-se que de 3 a 15% da população canina seja afetada pela dermatite atópica, e esta deve ser incluída como diagnóstico diferencial em todos os cães com histórico de prurido crônico, piodermites, otites e malasseziose recorrentes (HILLIER, 2002; JAEGER et al., 2010). Esta revisão tem como objetivo discutir novos conceitos, a etiopatogenia e os principais aspectos epidemiológicos, clínicos, diagnósticos e terapêuticos da dermatite atópica em cães, principalmente a análise de eficácia e detecção de eventuais efeitos adversos (tegumentares ou sistêmicos), decorrentes da terapia imunomoduladora com ciclosporina, no controle de cães com dermatite atópica.

2. DEFINIÇÃO

A Dermatite Atópica Canina (DAC) é uma doença cutânea, crônica e recorrente, de foro alérgico e inflamatório, com predisposição genética (DETHIOUX, 2006), cujas manifestações clínicas estão associadas à produção de anticorpos, da classe IgE, específicos contra alérgenos ambientais (OLIVRY et al., 2001). É considerada uma síndrome de caráter multifatorial e está relacionada a mutações genéticas que conduzem a distúrbios da função de barreira tegumentar, a defeitos

na resposta imune antimicrobiana e a hiper-reatividade cutânea ao ambiente, antígenos microbianos e fúngicos, irritantes primários e trofoalérgenos (HILLIER, 2002; AKDIS et al., 2006; CORK et al., 2006; NUTTAL, 2008).

Entretanto, OLIVRY (2008) e OLIVRY et al. (2010) consensualmente consideram e classificaram, a título de definição mais atual, extrapolada daquela classificação das doenças alérgicas em humanos, a dermatite atópica canina em dois grupos: “dermatite atópica *stricto sensu*” (DA) e “dermatite atópica simile” (DAS). A DA *stricto sensu* se encaixaria na mesma definição, citada anteriormente, de Olivry et al. (2001), ou seja, pela presença de “anticorpos da classe IgE específicos contra alérgenos ambientais”. No entanto, na DAS, a hipersensibilidade mediada por IgE, em resposta aos alérgenos ambientais, não pode ser documentada, mesmo em presença de manifestações clínicas características para DA. Esta distinção não é puramente acadêmica, uma vez que pode apresentar importantes repercussões no tratamento do paciente atópico e na evolução da enfermidade (OLIVRY, 2008). Além disso, tal classificação conduz à teoria de que a resposta de hipersensibilidade mediada pela IgE não é um pré-requisito necessário para o desenvolvimento das manifestações clínicas da enfermidade (MORAR et al., 2006).

3. OCORRÊNCIA

Os dados existentes são insuficientes e dúbios para especular acerca dos verdadeiros valores da prevalência e incidência da DAC na população canina, permanecendo dúbios os dados existentes (HILLIER e GRIFFIN, 2001). Scott et al., (1997) referem que a Dermatite Alérgica à Saliva de Pulga (DASP) é a dermatite alérgica mais comum no cão, em países em que este parasita é endêmico, e dermatite atópica é a segunda, com uma prevalência de cerca de 10% nestes animais. Segundo Jaeger et al. (2010), pressupõe-se que a DA acometa entre 3 e 15% da população canina. Apesar destas incertezas sabe-se que a incidência da dermatite atópica (DA) em humanos teve um crescente aumento, especulando-se que em cães terá semelhante evolução, até porque muitos dos fatores ambientais associados a este aumento são encontrados de forma consistente no microambiente onde os cães habitam (HILLIER e GRIFFIN, 2001).

Como a dermatite atópica constitui-se em uma genodermatose, a maior ocorrência da doença tem sido observada em cães de raças puras (HILL, 2009), entretanto é fundamental ter em conta que podem existir variações regionais e que as predisposições podem ser alteradas com o tempo. Foi com base em estudos, de várias épocas e localizações geográficas, que fez-se uma elaborada lista de raças com maior predisposição para a DAC: american staffordshire terrier, beauceron, boston terrier, boxer, bull terrier, bulldog francês, bulldog inglês, cairn terrier, cavalier king charles, cocker spaniel, dálmata, fox terrier, golden retriever, jack russel terrier, labrador retriever, lhasa apso, pastor alemão, pug, schnauzer miniatura, scottish terrier, sealyham terrier, setter inglês, setter irlandês, shar pei, shih tzu, tervuren belga, west highland white terrier e yorkshire terrier (SCOTT et al., 2001; GRIFFIN e DEBOER, 2001; DETHIOUX, 2006).

A DAC manifesta-se habitualmente em animais bastante jovens, normalmente entre os seis meses e os três anos de idade (GRIFFIN e DEBOER, 2001; MARSELLA e OLIVRY, 2003; HILL, 2009). Eventualmente são reportados os primeiros sinais clínicos da doença em animais com menos de seis meses ou com mais de sete anos de idade (GRIFFIN e DEBOER, 2001).

As referências feitas a uma possível propensão sexual da DAC são inconsistentes e contraditórias, logo se considera que é uma questão ainda por esclarecer (GRIFFIN e DEBOER, 2001).

No Serviço de Dermatologia e Alergologia da Unidade Hospitalar para Animais de Companhia da PUCPR, entre o período de janeiro de 2005 e junho de 2006, a dermatite atópica representou 20,6% da casuística dermatológica, sendo que 63% dos animais eram fêmeas e 37% machos, 21,5% dos pacientes apresentavam de cinco a nove meses, 36,9% eram adultos jovens (de um a três anos), 16,92% adultos (de quatro a seis anos) e 23,07% apresentavam mais de sete anos. A doença ocorreu em animais de raças definidas em 75,4% das vezes, sendo acometidos, em ordem decrescente, animais das raças poodle, cocker spaniel, lhasa apso, labrador, maltês, pitt bull, pequinês, beagles, shar pei chinês, pastor alemão, schnauzer, shitzu, yorkshire terrier, akita, bull dog inglês, bull terrier, chow-chow, dálmata, pinscher e rottweiler (ALBERTO e FARIAS, 2006).

4. ETIOPATOGENIA

4.1 Fatores intrínsecos

4.1.1 Barreira epidérmica

A função de barreira é desempenhada principalmente pela epiderme, a qual é composta, basicamente, por queratinócitos distribuídos em quatro camadas: basal, espinhosa, granulosa e córnea. Estas células migram da camada basal em direção à camada córnea. Esse processo de queratinização, normalmente completa-se em torno de 21 dias (DETHIOUX, 2006).

O extrato córneo da epiderme é a primeira linha de defesa entre o ambiente e o organismo. Esta frágil camada limita a entrada de agentes agressores e restringe os movimentos de entrada e saída da água por via transcutânea (MAULDIN, 2006). Esta camada é formada pelos corneócitos, os quais são células achatadas que representam o estágio final da diferenciação dos ceratinócitos basais. A barreira à penetração de irritantes, alérgenos e agentes infecciosos está localizada nas porções inferiores do extrato córneo, sendo que a espessura da camada córnea varia entre as regiões corporais na tentativa de aumentar a proteção das áreas expostas à maior fricção e trauma (CORK et al., 2006).

A adesão entre os corneócitos é mantida por desmossomos modificados, os corneodesmossomos, além de outras proteínas de adesão, como a desmogleína, a desmocolina e a plectina. Em adição, durante a formação da camada córnea, grânulos lamelares contendo uma matriz lipídica composta por ceramidas, colesterol, ácidos graxos e ésteres de colesterol são eliminados no espaço extracelular, o que garante a hidratação, a flexibilidade e a impermeabilidade da epiderme (CORK et al., 2006; FARIAS, 2007).

A descamação é o processo pelo qual a espessura e a integridade da camada córnea da epiderme se mantêm constantes. Nesse processo, há um estreito equilíbrio entre uma rede de proteases endógenas (enzimas quimiotríptica e tríptica do estrato córneo, calicreínas, catepsinas, caspases e triptases) e exógenas (proteases estafilocócicas e de ácaros de poeira doméstica), que hidrolisam os corneodesmossomos e conduzem a descamação, e as antiproteases, como a filagrina, serina leucoprotease e a catepsina (CORK et al., 2006).

A via percutânea é a principal via de absorção de alérgenos ambientais e microbianos além de ser a principal responsável pelos escores clínicos e pela persistência do prurido e dos sintomas em cães com dermatite atópica (MARSELLA et al., 2006).

Diversos estudos evidenciaram a hereditariedade da DA em cães e seu modo de transmissão que é, provavelmente, de caráter dominante (SOUSA e MARSELLA, 2001) e há fortes evidências de que defeitos genéticos primários na barreira epidérmica podem ser determinantes no desenvolvimento desta morbidade (AKDIS et al., 2006; CORK et al., 2006).

Uma alteração na estrutura genômica do gene Kalicreína 7, e alterações no pH do extrato córneo identificadas em pessoas com dermatite atópica conduzem a um aumento da meia-vida de enzimas quimiotrópticas do extrato córneo. O aumento desta no espaço extracelular conduz a uma quebra dos corneodesmosomos e à descamação prematura dos corneócitos, o que conduz ao adelgaçamento desestruturação da camada córnea (CORK et al., 2006; MORAR et al., 2006).

Mutações no gene SPINK5 têm sido relacionadas à diminuição de antiproteases no espaço intercelular epidérmico, o que favorece ao aumento da atividade das enzimas quimiotrópticas e trípticas, a hidrólise da corneodesmosina e a descamação e o afinamento do extrato córneo. Especula-se também que mutações nos genes que codificam proteínas de adesão responsáveis pela preservação da barreira epidérmica podem ocorrer em indivíduos com dermatite atópica (CORK et al., 2006; FARIAS, 2007).

Em adição, distúrbios de maturação dos corpúsculos lamelares conduzem a uma diminuição de ácidos, enzimas e lipídios no extrato córneo, do mecanismo de extrusão de lipídios para o meio extracelular e da produção de ceramidas em indivíduos atópicos. Esses eventos podem conduzir ao aumento da perda de água transepidérmica e à xerose tegumentar destes pacientes (CORK et al., 2006).

Em estudos de microscopia eletrônica sobre a camada superior da epiderme de beagles atópicos e normais, em um modelo experimental de dermatite atópica canina, foi demonstrada uma diminuição das camadas de corneócitos e um maior espaço intercelular no extrato córneo da pele atópica, mesmo em áreas clinicamente normais (HIGHTOWER et al., 2008). Em adição, Shimada et al. (2009) aferiram a perda transepidérmica de água na região inguinal de cães atópicos e observaram que, em comparação com cães saudáveis, tanto as regiões lesionadas como as

não-lesionadas continham significativamente menos água no extrato epidérmico. Neste mesmo estudo, o montante relativo de ceramidas estava diminuído nos cães atópicos.

A conjugação desses fatores pode promover a quebra da função de barreira epidérmica tegumentar, o que favorece a penetração transcutânea de substâncias exógenas tais como irritantes primários, alérgenos ambientais, antígenos microbianos e fármacos, os quais são os alvos da resposta imunoalérgica evidenciada em indivíduos atópicos (AKDIS et al., 2006; CORK et al., 2006; HOMEY et al., 2006; MORAR et al., 2006-; OLIVRY et al., 2010).

4.1.2 Imunopatologia da hiper-reatividade tegumentar

As mudanças microestruturais da epiderme evidenciadas na dermatite atópica levam à sensação de prurido e iniciam o ciclo de amplificação da resposta inflamatória na dermatite atópica (HOMEY et al., 2006). O prurido contínuo induz a injúria mecânica dos ceratinócitos, os quais possuem importantes funções efetoras e determinam a direção da resposta imune tegumentar (NUTTALL et al., 2002; OLIVRY et al., 2005). Uma vez lesados, os ceratinócitos liberam IL-1, IL-2, TNF α , GM-CSF e TSLP, que promovem a migração e a proliferação de células dendríticas na epiderme. As células dendríticas servem como sentinelas do sistema imune e, uma vez ativadas, migram para os linfáticos e linfonodos e, a partir da liberação de IL-4 (induz a proliferação de linfócitos B e formação de IgE), IL-5 (aumento da proliferação, infiltração e da sobrevivência de eosinófilos) e IL-13 (proliferação e hiperqueratose tecidual), conduzem à diferenciação de linfócitos Th0 em linfócitos Th2, os quais migram para a pele e estimulam a inflamação (NUTTALL et al., 2002; OLIVRY et al., 2005; AKDIS et al., 2006; CORK et al., 2006; MORAR et al., 2006; FARIAS, 2007).

Recentemente, uma interleucina vem sendo profundamente estudada na DA, a IL-31, que é um novo membro da superfamília de IL-1, de citocinas que é expressa pelas células do estroma, principalmente, tais como as células epiteliais e endoteliais, cuja expressão é regulada positivamente após estimulação pró-inflamatória. A IL-31, pode funcionar tanto como uma citocina tradicional, ou como um factor nuclear que regula a transcrição do gene. Pensa-se que o seu funcionamento se assemelhe como um “alarme”, libertado após necrose celular para

alertar o sistema imune a danos nos tecidos ou stress. Ele mede os seus efeitos biológicos via interação com receptores da ST2 (IL-1RL1) e IL-1, a proteína do receptor acessório (IL-1RAcP), os quais são amplamente expressos, particularmente por células imunes inatas e T helper 2 (Th2). A IL-31 induz fortemente a produção de citocina Th2, a partir destas células pode promover doenças, tais como a dermatite atópica, (predispondo a precipitação e intensificação do prurido), asma atópica e anafilaxia. No entanto, IL-31 mostrou efeitos protetores em várias doenças cardiovasculares como aterosclerose, obesidade e diabetes tipo 2. Assim os efeitos da IL-31 ou são pro-inflamatórios ou anti-inflamatórios, dependendo da doença (MILLER, 2011).

DILLON et al. (2005) referem que em queratinócitos humanos, a IL-31 induz diversos genes de quimiocina, estes têm sido associados com a inflamação da pele atópica como CCL1, CCL17 e CCL22. Deste modo, níveis elevados de IL-31 em lesões de dermatite atópica podem intensificar a inflamação da pele, por meio da indução de quimiocinas, que posteriormente conduzirá ao recrutamento de células T. Por sua vez, a ativação de células T na pele, pode tornar-se novas fontes de IL-31, desse modo amplificando a inflamação da dermatite atópica e do prurido.

Com a quebra da barreira tegumentar, inúmeros alérgenos ambientais, antígenos microbianos e irritantes são difundidos por via transepidermica (CORK et al., 2006). Estes são reconhecidos, fagocitados e apresentados pelas células dendríticas epidérmicas aos linfócitos Th2, os quais estimulam a proliferação de linfócitos B e a produção de uma plethora de IgE alérgeno-específicos (AKDIS et al., 2006).

A IgE distribui-se pela superfície das células dendríticas e de mastócitos e levam à formação de complexo antígeno-anticorpo, o realce da capacitação e da apresentação antigênica, à desgranulação mastocitária e à amplificação da resposta imune, da inflamação e do prurido associado à dermatite atópica (NUTTALL et al., 2002; OLIVRY et al., 2005; AKDIS et al., 2006; MORAR et al., 2006; FARIAS, 2007).

Outro fato relevante no desenvolvimento da resposta imunoalérgica em pacientes com dermatite atópica está relacionado à diminuição na formação de TGF- β , o que favorece a resposta de hipersensibilidade a inúmeros alérgenos, na medida em que esta citocina está intimamente relacionada ao sistema de tolerância e imunorregulação (NUTTALL et al., 2002).

A perpetuação da resposta imunoalérgica e a cronificação da dermatite atópica estão intimamente relacionadas à presença da IL-5, a qual aumenta a sobrevivência e estimula a migração e ativação de eosinófilos para a pele (AKDIS et al., 2006). Paralelamente, observa-se uma inversão do perfil de resposta imune envolvendo a produção de citocinas Th1, como a TNF α , IL-11, IL-12, IL-18, TGF- β 1 e IFN- γ , de quimiocinas (RANTES, eotaxinas e CCL27) e de GM-CSF, que estimulam a infiltração de células T, macrófagos e eosinófilos, conduzem a uma subregulação de queratinócitos e inibem a apoptose de monócitos, gerando a hiperqueratose, a liquenização e o aumento da deposição de colágeno e fibrose tegumentar (NUTTALL et al., 2002; OLIVRY et al., 2005; NUTTALL et al., 2005; AKDIS et al., 2006; FARIAS, 2007).

Entretanto, apesar destes avanços no conhecimento da patogênese da dermatite atópica canina, os mediadores que provocam a sensação de prurido não foram elucidados. Sendo um fator relevante que, a histamina não pareça provocar prurido em cães, em contraste com os seres humanos e camundongos (OLIVRY et al., 2010).

4.1.3 Perda da função de barreira antimicrobiana tegumentar

Os peptídeos antimicrobianos (PAM) são substâncias produzidas principalmente pelos queratinócitos, distribuem-se nos espaços intercelulares e na superfície da pele e fazem parte de um sistema primário de proteção contra microrganismos. Sua regulação é atribuída principalmente à produção de citocinas, reguladas pela imunidade humoral (NOGRALES et al., 2010). Na vigência de uma invasão microbiana, a expressão de alguns PAM aumenta (SCHAUBER e GALLO, 2008). Diversos tipos celulares que residem permanentemente na pele humana, como os queratinócitos, sebócitos, glândulas sudoríparas e mastócitos estão envolvidos na produção de peptídeos antimicrobianos. Existem mais de 20 proteínas que conhecidamente possuem efeito antimicrobiano, sendo as catelicidinas e as β -defensinas as mais bem caracterizadas (SCHAUBER e GALLO, 2008; SANTORO et al., 2010).

As catelicidinas fazem parte de uma importante família de peptídeos antimicrobianos e possuem atividade inibidora contra vírus, fungos e bactérias. Em uma pele normal, sua expressão aumenta na presença destes patógenos, porém na

dermatite atópica seu processo de indução e das β -defensinas estão bastante diminuídos, o que conduz à diminuição da barreira antimicrobiana aumento da suscetibilidade às infecções (SCHAUBER e GALLO, 2008).

As β -defensinas são produzidas pelos queratinócitos e possuem uma forte atividade antimicrobiana contra bactérias estafilocócicas, mas tanto bactérias Gram positivas como Gram negativas são capazes de induzir a sua expressão. Junto às catelicidinas, produzidas pelas glândulas sudoríparas, têm atividade sinérgica contra *S. aureus*, porém sua expressão parece ser mal regulada nos locais lesionados de pacientes atópicos, colaborando consideravelmente para as infecções estafilocócicas (LLOYD, 2008; SCHAUBER e GALLO, 2008). Apesar de Santoro et al. (2010) terem determinado a existência e a localização das β -defensinas na pele de Beagles saudáveis, pouco se sabe a respeito do seu papel na DAC e sua atividade contra *S. pseudintermedius*. Fazakerley et al. (2010) recentemente demonstraram que o uso de β -defensina humana foi eficaz em inibir in vitro o crescimento de *S. pseudintermedius* canino, porém estudos com β -defensina canina são necessários.

Outros peptídeos antimicrobianos envolvidos na resposta neutrofílica contra microrganismos patogênicos da epiderme humana são as lipocalinas e a proteína S-100. Juntamente com as β -defensinas, são estimuladas pela produção de citocinas IL-17. A imunidade humoral regula a produção de IL-17, conferindo proteção precoce contra agentes patogênicos na superfície epitelial através da indução da resposta neutrofílica (NOGRALES et al., 2010).

Na dermatite atópica, há produção de várias citocinas devido ao processo inflamatório, incluindo IL-17. Porém, neste mesmo cenário, a resposta Th2 induz a liberação de citocinas IL-4 e IL-13. Elas agem nos ligantes dos receptores dos queratinócitos, antagonizando a indução das β -defensinas e das lipocalinas. Portanto, as áreas lesionadas da pele atópica possuem deficiência na expressão genética destes peptídeos antimicrobianos, apesar da boa resposta dos queratinócitos ao estímulo das citocinas (NOGRALES et al., 2010).

4.2 Fatores extrínsecos

Os fatores extrínsecos são os elementos externos responsáveis pela precipitação, intensificação e manutenção dos sintomas de dermatite atópica.

4.2.1 Aeroalérgenos

Os alérgenos provenientes dos ácaros da poeira doméstica são os principais responsáveis pela sensibilização e pelo desenvolvimento dos sintomas clínicos de doenças alérgicas em ambiente intradomiciliar. Estes vivem geralmente em roupas de cama, travesseiros, carpetes, tapetes e outros materiais têxteis do domicílio, onde se alimentam de descamações do epitélio humano, fungos, bactérias, detritos orgânicos e secreções humanas. A umidade e a temperatura do ar são os mais importantes fatores que determinam o local onde os ácaros vivem e o seu crescimento em relações as variações sazonais de sua população (FARIAS, 2007).

Os alérgenos dos ácaros da família Pyroglyphidae são predominantes na poeira domiciliar, e geralmente se originam do epitélio ou de enzimas digestivas dos ácaros, sendo o *Dermatophagoides pteronyssinus* e o *Dermatophagoides farinae* as suas principais espécies (ARLIAN et al., 2001; FARIAS, 2007)

Picos de concentração dos alérgenos do *Dermatophagoides pteronyssinus* ocorrem nos meses de outono e inverno (ARLIAN et al., 2001; JACKSON et al., 2005; FARIAS, 2007) enquanto aqueles do *Dermatophagoides farinae* têm apresentado maior prevalência em regiões de clima continental seco, com picos de população ocorrendo em temperaturas entre 25 e 30°C e umidade relativa do ar de 50 a 60% (JACKSON et al., 2005; FARIAS, 2007).

Outros alérgenos implicados na etiologia da sensibilização e da deflagração da doença alérgica incluem os fungos, como a *Alternaria* sp, o *Penicillium* sp. e o *Aspergillus* sp. o pólen de arbustos, de gramíneas e de ervas daninhas (BUSH, 2001; FARIAS, 2007).

4.2.2 Trofoalérgenos

O verdadeiro papel e a real incidência da precipitação do eczema atópico por trofoalérgenos em animais com DA ainda não está plenamente elucidada, mas acredita-se que ocorra entre 19,6 e 30,6% dos cães com prurido não-sazonal. Estes animais podem apresentar manifestações dermatológicas e/ou gastroentéricas (FARIAS, 2007).

Os trofoalérgenos capazes de induzir uma resposta de hipersensibilidade geralmente apresentam peso molecular que varia entre 18.000 e 36.000 kilodaltons,

e têm origem nas proteínas de carnes bovina, suína, eqüina e de frango, do leite (caseína e lactona), do ovo, do trigo, da aveia e de derivados da soja ou em fungos e algas presentes na água (HALLIWELL et al., 2005; NASCENTE et al., 2006).

4.2.3 Alérgenos microbianos

Atualmente existem fortes evidências a respeito da contribuição das infecções secundárias, tanto por *Staphylococcus* sp como por *Malassezia* sp, na intensificação e manutenção do estado alérgico de humanos portadores de dermatite atópica (DEBOER, 2008c). Em cães, *Staphylococcus pseudintermedius* é o principal agente bacteriano. Esta bactéria pertence à microbiota dita indígena de cães, porém, também, é considerada como oportunista devido ao seu frequente envolvimento em infecções cutâneas e óticas (FAZAKERLEY et al., 2009).

Em cães atópicos, um aumento da aderência do *Staphylococcus pseudintermedius* aos queratinócitos e de sua capacidade de colonização da pele tem sido demonstrado, o que conduz à ocorrência de piodermites recorrentes (OLIVRY et al., 2005). Este patógeno exerce um papel oportunista na dermatite atópica canina complicada por piodermite secundária (FAZAKERLEY et al., 2009). Suas toxinas (A, B, C, D, E e TSST-1) podem se comportar como “superantígenos”, capazes de induzir a expressão antigênica linfocítica cutânea e facilitar a adesão da molécula selectina-E ao endotélio vascular (DEBOER e MARSELLA, 2001). Estas toxinas, ao penetrarem pela epiderme atópica, passam a se comportar como alérgenos, estimulando a resposta mediada por IgEs, provocando uma reação do tipo alérgeno-específica (GEHRING et al., 2004). Em adição, linfócitos T são enviados ao local de inflamação cutânea, aumentando a resposta inflamatória. Os mastócitos cutâneos tornam-se sensíveis à IgEs e desgranulam após a epiderme ser exposta até mesmo a uma pequena quantidade de toxinas estafilocócicas ou outros antígenos absorvidos percutaneamente (HALLIWELL, 2006; MARSELLA e OLIVRY, 2001).

Um aumento da colonização tegumentar pela *Malassezia pachydermatis* tem também sido observado em cães com dermatite atópica, especialmente em áreas seborréicas e eritematosas da pele (GEHRING et al., 2004; OLIVRY et al., 2005; FARIAS, 2007). Esta é capaz de produzir inúmeras enzimas, como a lipase, galactosidase, glucosidase, hialuronidase, lecitinase, peroxidase, fosfolipase,

protease e a urease, as quais são capazes de induzir a liberação de ácido aracdônico pelos ceratinócitos e a ativação da cicloxigenase e lipoxigenase na pele, realçando a resposta inflamatória tegumentar (CHEN e HILL, 2005). Paralelamente, em cães portadores de dermatite atópica, tais enzimas promovem a produção de IgE a antígenos de malassezia, o que conduz ao agravamento da resposta inflamatória e do prurido (GEHRING et al., 2004; CHEN e HILL, 2005 ; OLIVRY et al., 2005; AKDIS et al., 2006 ; FARIAS, 2007).

4.2.4 Irritantes primários

Freqüentemente, cobertores ou roupas de lã, tecidos sintéticos ou ásperos, carpetes, tapetes, agentes de limpeza ambiental ou de roupas, produtos químicos, resinas urticantes presentes na superfície de plantas ou gramíneas podem provocar irritação mecânica, modificar o pH tegumentar, alterar a barreira epidermal e exacerbar a resposta inflamatória e o prurido no cão com DA, sem o envolvimento de mecanismos imunoalérgicos (FARIAS, 2007).

5. SINAIS CLÍNICOS

O principal sintoma associado à dermatite atópica é o prurido. Este, geralmente é intenso e antecede as lesões dermatológicas e pode ser intensificado com a presença destas. O prurido em cães pode ser evidenciado por simples coceira, lambedura, mordiscamento e/ou esfregadura em outras superfícies (DETHIOUX, 2006).

Embora na dermatite atópica o prurido possa ser sazonal, de acordo com a integridade da barreira epidérmica, das condições climáticas e da exposição a alérgenos intensificadores da resposta imunoalérgica, geralmente este é perene e diuturno, podendo apresentar intensificações sazonais (SCOTT et al., 2001; HILLIER, 2002).

Outra marcante característica do prurido na dermatite atópica é sua pronta resposta, em 81% das vezes, à terapia glicocorticóide (HILLIER, 2002).

Em geral, cães com dermatite atópica apresentam topografia sintomatolésional distribuídas nos condutos auditivos e pavilhões auriculares, na face (especialmente as regiões perioculares, perilabiais, mentonianas e o plano

nasolabial), axilas, abdômen, virilhas, porção distal dos membros (superfícies dorso digitais e interdigitais dorsal e ventral), áreas flexurais (flexuras carpianas, tíbio-társicas, flexuras anticubitais e flexuras poplíteas) e a região perineal (SCOTT et al., 2001; HILLIER, 2002; FAVROT, 2009).

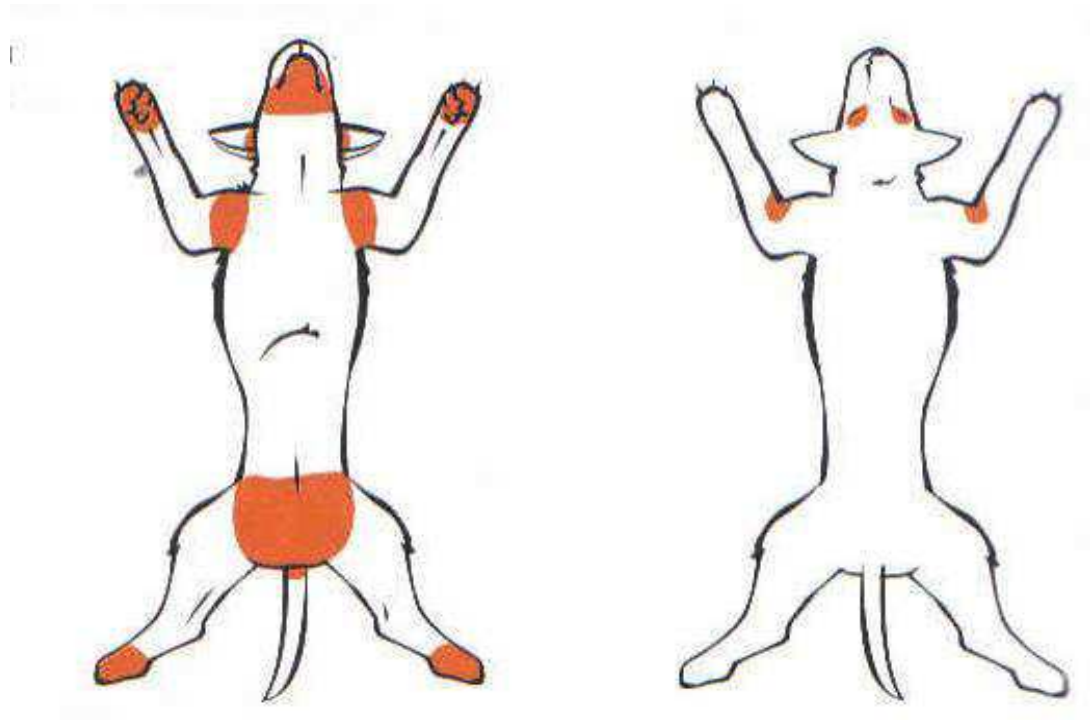


Figura 1. Padrão lesional característico da dermatite atópica canina.

Fonte: DETHIOUX, F. A dermatite atópica canina, um desafio para o clínico. 2006.

Lesões tegumentares primárias relacionadas à DAC são as máculas ou manchas eritematosas; entretanto, muitos animais atópicos em fase inicial de doença não apresentam lesões tegumentares evidentes (SCOTT et al., 2001; HILLIER, 2002). As lesões mais evidentes geralmente decorrem do prurido ocasionando alopecia ou hipotricose, tonsura, escoriações e erosões crostosas, além de pápulas, pústulas e colarinhos epidérmicos, geralmente envoltos por halos intensamente eritematosos, associados à piodermite superficial (impetigo ou foliculite) (SCOTT et al., 2001; HILLIER, 2002; FARIAS, 2007).

Em fase crônica, a pele se apresenta eritrodérmica e disqueratótica, sendo caracterizada pela presença de xerose, hiperkeratose, hiperpigmentação e liquenificação tegumentar, geralmente associada à desqueratose seca laminar e furfurácea (HILLIER, 2002).

Otite externa está presente em 86% dos cães com dermatite atópica, sendo geralmente caracterizada, na fase aguda, por eritema, edema e exsudação ceruminosa nos pavilhões auriculares e condutos auditivos (HILLIER, 2002). E, na fase crônica, por hiperplasia, estenose, hiperqueratose ou liquenificação, associada ou não a piodermite e malasseziose tegumentar (SCOTT et al., 2001).

Em estudo desenvolvido por Zur et al. (2002), com 266 cães atópicos, a dermatite por *Malassezia sp.* ocorreu em 38% dos cães, e as lesões eram caracterizadas por eritema intenso, hiperqueratose e liquenificação associados a escamas ou seborréia oleosa, geralmente em áreas intertriginosas.

Outro levantamento realizado por Favrot et al. (2010), permitiu que se evidenciasse infecção bacteriana ou fúngica secundárias ao quadro alérgico em, respectivamente, 66% e 33% dos cães, e otite externa em 50%. Naquele mesmo trabalho se evidenciou que as áreas mais envolvidas incluíram patas, axilas, regiões abdominal e auricular. Por outro lado, quadros mórbidos como urticária, rinite, dermatite de lambedura acral, conjuntivite, angioedema, hiperidrose, dermatite piotraumática ou fístulas interdigitais raramente foram observados em associação com dermatite atópica (HILLIER, 2002).

6. DIAGNÓSTICO

O diagnóstico de dermatite atópica é subsidiado pelos dados da anamnese e das manifestações clínicas, e só deve ser estabelecido após a exclusão de outras dermatopatias pruriginosas sazonais ou perenes (MARSELLA, 2008). Os principais diagnósticos diferenciais da dermatite atópica incluem: dermatite alérgica à saliva de pulgas (DASP), hipersensibilidade à saliva de mosquitos ou a parasitas intestinais, dermatite trofoalérgica, escabiose, queiletielose, dermatite de contato (alérgica ou por irritantes primários), foliculite bacteriana e malasseziose oto-tegumentar (SCOTT et al., 2001).

Uma minuciosa inspeção direta da pele deve ser realizada para a identificação de ectoparasitos como pulgas, piolhos ou carrapatos, bem como uma avaliação parasitológica do cerúmen, para a exclusão de otoacaríase em animais com otite externa pruriginosa (HILLIER, 2002; ROOSJE, 2005; FAVROT et al., 2010).

Exame parasitológico do raspado de pele deve ser realizado, a fim de identificar formas adultas, ovos ou fragmentos de *Sarcoptes scabiei* (SCOTT et al., 2001). Mesmo em caso negativo, cães que apresentem dermatopatia intensamente pruriginosa com histórico e sintomas tegumentares compatíveis com escabiose devem ser tratados com terapia específica (FARIAS, 2007).

Avaliação clínica e realização de exame citológico, cultura e antibiograma de pústulas intactas são necessários para confirmação e tratamento de piodermites bacterianas (FARIAS, 2007; OLIVRY et al., 2010). As infecções estafilocócicas podem causar inflamação e prurido moderado a intenso, mesmo em cães não atópicos, mas no caso de prurido remanescente após a resolução das mesmas, a suspeita de dermatite atópica deve ser mantida (FAVROT et al., 2010). A identificação de leveduras de *Malassezia sp* através do exame citológico de esfoliação por decalque ou método da fita adesiva (HILLIER, 2002; FARIAS, 2007; OLIVRY et al., 2010).

Se houver a persistência de prurido moderado a intenso e não sazonal nos cães, após a exclusão das dermatopatias acima citadas, o animal deve ser submetido à exclusão dietética para se verificar a possibilidade de hipersensibilidade alimentar (HALLIWELL, et al., 2005; AKDIS et al., 2006). Testes alérgicos de ELISA ou radioimunoensaio, devido à alta sensibilidade, estão geralmente associados a um grande número de resultados falso-positivos os quais não apresentam correspondência clínica, não devendo ser indicados no diagnóstico da hipersensibilidade alimentar (MARSELLA, 2008).

A restrição dietética deve ser inicialmente prescrita pode se estender por oito ou 12 semanas. Dietas comerciais hipoalergênicas, com proteínas hidrolisadas podem ser usadas durante a fase de exclusão dietética (HILLIER, 2002). Porém protocolos dietéticos com comida caseira, possui uma maior sensibilidade e especificidade diagnóstica (HALLIWELL, et al., 2005). As dietas caseiras a serem instauradas, devem fornecer ao animal, uma fonte protéica à qual nunca teve acesso (LEUNG, 2000; SCOTT et al., 2001; HALLIWELL, et al., 2005; AKDIS et., al 2006).

Como fonte protéica, as carnes de cordeiro, peixe, peru ou coelho ainda são comumente prescritos. Como fonte de carboidratos, o arroz integral ou a batata podem ser utilizados, devendo o alimento ser preparado em óleo de semente de girassol ou canola. Durante o período de teste, deve-se evitar o uso de medicações

com flavorizantes, na medida em que estes podem precipitar uma resposta imunoalérgica, e a água ofertada ao animal deve ser mineral (SCOTT et al., 2001).

Se após o período de teste alimentar, ocorrer uma melhora acima de 80% do prurido e dos sinais clínicos, o animal pode apresentar DA precipitada por trofoalérgenos e deve ser desafiado com o alimento anterior (HALLIWELL et al., 2005; FARIAS, 2007, JACKSON, 2009). Caso os sintomas se reiniciem após o desafio dietético, em um prazo de duas semanas, o diagnóstico é confirmado (HILLIER, 2002).

Se não houver melhora significativa dos sinais clínicos, é possível que os trofoalérgenos não sejam um dos componentes que precipitem, mantenham ou exacerbem a inflamação e o prurido, assim deve-se suspeitar de dermatite atópica não induzida por alimentos (SCOTT et al, 2001; HILLIER, 2002; OLIVRY et al., 2010, FAVROT et al, 2010), porém é plausível também a hipótese de que nem todos os componentes potencialmente alergênicos puderam ser excluídos da dieta, principalmente os relacionados à dieta hidrolisada (FARIAS, 2007; JACKSON, 2009; OLIVRY e BIZIKOVA, 2010).

Testes alérgicos intradérmicos ou sorológicos não devem ser utilizados como critério diagnóstico na dermatite atópica (HILLIER 2002; DEBOER, 2008b). Em geral, os testes sorológicos (RAST e ELISA) apresentam alta sensibilidade e baixa especificidade, o que faz com que esses exames tenham muitos resultados falso-positivos (SCOTT et al., 2001; HILLIER, 2002). Os resultados dos testes alérgicos devem sempre ser interpretados de acordo com o histórico de exposição e a sua relação com os sintomas clínicos do paciente, a fim de selecionarem quais alérgenos devem ser incluídos na imunoterapia alérgeno-específica (HILLIER, 2002; GRIFFIN, 2006).

Dessa forma, o diagnóstico de dermatite atópica é clínico por exclusão, e os testes alérgicos podem ser utilizados somente após aquele ter sido estabelecido, apenas com o intuito de se pesquisar os alérgenos responsáveis pela exacerbação e/ou manutenção da resposta inflamatória, visando subsidiar os protocolos de exclusão ou a manipulação de vacinas para a realização de dessensibilização alérgeno-específica (SCOTT et al., 2001; HILLIER, 2002; GRIFFIN, 2006).

Por se tratar de uma dermatopatia em que nenhum dos sinais clínicos são patognomônicos, critérios têm sido pesquisados e introduzidos na Medicina

Veterinária para subsidiar o estabelecimento precoce de seu diagnóstico (FAVROT, 2009).

Os critérios propostos por Willemse (1986), e revisados por Prélaud et al., (1998), são os mais utilizados, porém, em recente publicação, Favrot et al., (2010) descreveram um estudo em larga escala com cães com DA, onde populações de cães com dermatite atópica induzida por alimentos e cães com dermatite atópica não induzida por alimentos foram comparadas. Foi possível concluir que ambas as condições são clinicamente indistinguíveis, concordando com argumentos previamente expostos por Hillier e Griffin (2001) e neste montante, criaram um novo conjunto de critérios para o diagnóstico de DAC, com maior especificidade e sensibilidade quando comparados aos de Willemse (1996) e Prélaud et al., (1998), e que podem ser aplicados a pacientes com dermatite atópica induzida ou não por alimentos (FAVROT et al., 2010), conforme ilustra a tabela 1:

Tabela 1: Critérios de Favrot 2010 para o diagnóstico de dermatite atópica em cães

1. Início dos sinais clínicos antes de três anos de idade;
2. Cães habitam normalmente ambientes internos;
3. Prurido responsivo a corticosteróides;
4. Prurido como sinal inicial (prurido alérgico);
5. Patas torácicas afetadas;
6. Pavilhões auriculares afetados;
7. Margens de orelhas não afetadas;
8. Área dorso-lombar não afetada.

A combinação de cinco critérios satisfatórios tem uma sensibilidade de 85% e especificidade de 79% para diferenciar cães com DAC de cães com prurido crônico recorrente sem DAC. A adição de um sexto parâmetro aumenta a especificidade para 89% mas diminui a sensibilidade para 58%.

Fonte: OLIVRY, T et al. Treatment of canine atopic dermatitis: 2010 clinical practice guidelines from the International Task Force on Canine Atopic Dermatitis. *Veterinary Dermatology*, 21, 233–248, 2010.

7. TRATAMENTO

A conduta deve ser individualizada e o objetivo, em cada um dos pacientes, envolve uma combinação de modalidades medicamentosas de modo a obter, em

longo prazo, um controle eficaz, acessível, conveniente e com menor número de efeitos colaterais (DEBOER, 2008a).

Os cães atópicos apresentam, aproximadamente, 80% de chance de desenvolver uma doença não-sazonal. De modo geral, a doença pode ser satisfatoriamente controlada em mais de 90% destes animais. No entanto, o proprietário deve estar plenamente ciente que o tratamento é exigido por toda a vida do animal e que mudanças de protocolos terapêuticos, ao longo da vida, podem ser necessárias (SCOTT et al., 2001).

Elementos importantes no manejo desta alergopatia incluem: conscientização do proprietário, o conceito de “limiar de prurido”, redução da carga alérgica e, do prurido, recuperação da função de barreira epidérmica, utilização de medicamentos a curto e longo prazo, imunoterapia alérgeno-específica, se possível, para controle a longo curso (DEBOER, 2008a).

7.1 Tratamento tópico e minimização da exposição a irritantes

O uso frequente de xampus hidratantes, emolientes e umectantes ajuda a restabelecer a função de barreira da pele, e a minimizar a absorção de alérgenos ambientais e irritantes. A água utilizada nos banhos não deve ser quente, a pele não deve ser intensamente friccionada e o tempo de banho deve ser curto. Não se deve usar secadores quentes após os banhos, a secagem deve ser realizada, preferencialmente, em temperatura ambiente ou com o uso de sopradores. O uso de máquina de tosa rente à pele também pode favorecer a disfunção da barreira epidérmica e precipitar o prurido em cães atópicos, devendo alguns animais ter a pelagem cortada apenas com tesouras. O uso de substâncias irritantes não específicas, como sabões iônicos, perfumes, tintas e talcos devem ser evitados (LEUNG, 2000; SCOTT et al., 2001; AKDIS et al., 2006, OLIVRY et al., 2010).

7.2 Medidas de controle e minimização da exposição à alérgenos ambientais

Algumas medidas podem ser seguidas com o intuito de reduzir a exposição dos cães aos alérgenos ambientais, como pólenes, mofo e ácaros da poeira doméstica. Essas medidas incluem, dentre outras (SCOTT et al., 2001; DEBOER, 2008a):

- Reduzir as atividades extradomiciliares no período da manhã, quando a quantidade de pólen tende a ser maior;
- Restringir o contato com a grama, principalmente após o seu corte;
- Manter os animais em locais bem arejados e bem iluminados, naturalmente;
- Limpeza ambiental com fungicida, acaricida ou hipoclorito de sódio e aspiração de pó periódica;
- Manter o animal em ambientes sem umidade, evitando a entrada em guarda-roupas, permanência em áreas de serviço, cozinhas e banheiros;
- Usar capas impermeáveis e antiácaros em mobílias e colchões;
- Remoção de tapetes, carpetes e cortinas;
- Manter a umidade do ambiente entre 30 e 40%;
- Lavar as “roupas de cama”, com água quente (> 70°C);
- Evitar presença de plantas intradomiciliares.

7.3 Tratamento antimicrobiano

Como a colonização estafilocócica tegumentar está geralmente associada a secreção de toxinas capazes de funcionar como superantígenos e exacerbar a inflamação e o prurido, o tratamento antimicrobiano é fundamental para o controle da dermatite atópica (LEUNG, 2000; AKDIS et al., 2006, OLIVRY et al., 2010).

Por via sistêmica as Cefalosporinas de primeira ou segunda geração (cefalexina 30mg/kg/12h/VO) possuem excelente efeito antiestafilocócico, devendo ser usadas por 21 a 30 dias, com o intuito de eliminar a infecção e a colonização da pele (LEUNG, 2000; HILLIER, 2002; AKDIS et al., 2006).

A terapia tópica com clorexidine 2 ou 3% ou triclosan são eficientes para controlar a infecção, além de possuírem baixo potencial sensibilizante e baixa frequência de resistência (AKDIS et al., 2006). Esses produtos devem ser adicionados a substâncias emolientes e hidratantes, no intuito de recompor a barreira da pele (LEUNG, 2000).

A instituição de pulsoterapia antibiótica é necessária em casos nos quais ocorram mais de quatro crises em 12 meses (HILLIER, 2002).

De acordo com Curtis et al. (2006), além da resistência microbiana, os altos custos de muitos protocolos com antibióticos e os riscos potenciais de indução de

efeitos colaterais trazem à tona a necessidade de alternativas para o controle da piodermite bacteriana. As bacterinas têm sido estudadas há vários anos para este fim tendo sido demonstrado que estas promovem a produção de interleucinas e quimiocinas regulatórias, aumentando a imunidade cutânea contra bactérias e diminuindo a intensidade e a duração das crises de piodermite (FOSTER, 2004).

O Staphage Lysate (SPL®)2, é uma vacina bacteriologicamente estéril que contém componentes de *Staphylococcus aureus* sorotipos 1 e 3, lisada por bacteriófago, sendo uma das bacterinas que têm sido estudadas para o tratamento das infecções de repetição de várias etiologias não alérgicas. Em um estudo realizado por Deboer et al. (1990), 21 cães com piodermite superficial idiopática recorrente receberam antibioticoterapia concomitantemente com placebo ou SPL. Houve melhora significativa nos animais que receberam SPL. Apesar de sua eficácia em aumentar a resposta de linfócitos T supressores e minimizar a hipersensibilidade bacteriana, seu uso em cães atópicos com infecção de repetição tem sido pouco avaliado (SOLOMON, 2011). Curtis et al. (2006) obtiveram um controle favorável da piodermite superficial idiopática recorrente em um pequeno grupo de cães tratados com uma bacterina autógena de *Staphylococcus pseudintermedius*.

Segundo Solomon (2011) em seu estudo durante 23 semanas, com a utilização de Staphage Lysate em 13 cães com piodermite de repetição secundária a DAC, foi possível observar uma eficácia de 83,33% para o controle da piodermite bacteriana dos cães atópicos estudados. No entanto, Larsson Junior (2008) não obteve resultados tão satisfatórios, onde somente 28,6% de resposta plena ao uso do imunomodulador Estafilin® usado em um grupo de cães com piodermite superficial idiopática recorrente durante três meses.

7.4 Tratamento antifúngico

Infecções secundárias causadas por leveduras do gênero *Malassezia sp.* têm sido freqüentemente implicadas na piora do prurido atópico, principalmente em regiões intertriginosas (axila, virilha e interdigital), periorais, perianais e nos condutos auditivos, o que pode requerer o uso de terapia antimicótica tópica à base de imidazóis (cetoconazol ou miconazol a 2%) ou clorexidine a 3 ou 4% (FARIAS, 2007).

Em casos de malasseziose generalizada ou crônica, o uso de terapia antimicótica sistêmica com itraconazol (10 mg/kg/vo/24h), dois dias consecutivos por semana, por quatro semanas, deve ser indicado. Pulsoterapia antimicótica pode ser requerida em cães com infecções recorrentes (HILLIER, 2002; FARIAS 2007).

7.5 Tratamento anti-histamínico

Esse grupo de fármacos atua por competição ou antagonismo, ocupando os receptores da histamina. São classificados em H1 e H2. Os anti-H1 são os mais utilizados em pacientes humanos (CRIADO et al., 2008). Somente 15 a 30% dos cães atópicos são beneficiados com o uso apenas de anti-histamínicos (PETERSEN, 2008). Já DeBoer (2008a) relatou efetividade em 5 a 20% dos animais. A utilização dos anti-histamínicos é indicada para casos mais brandos da doença ou em combinação com outros fármacos (HILL, 2009).

Em um estudo, no qual se revisou de maneira sistemática o efeito dos anti-histamínicos em pacientes caninos com dermatite atópica, a terfenadina, a hidroxizina e a clemastina foram os anti-histamínicos mais eficazes para minimizar o prurido e o eritema ($\geq 50\%$) relacionados à doença (OLIVRY e MUELLER, 2003).

Dentre os anti-histamínicos mais utilizados inclui-se: Terfenadina (30-60 mg/cão/12h/VO), difenidramina (2,2 mg/kg/8h/VO), hidroxizina (3 mg/kg/8h/VO), clorfeniramina (0,2 a 0,5 mg/kg/8 ou 12h/VO), clemastina (0,05 a 0,1 mg/kg/12h/VO), cetirizina (10 mg/cão abaixo de 10kg/24h/VO, 10 mg/cão acima de 10kg/12h/VO). O tempo de tratamento deve ser de sete a 14 dias para que se avalie a eficácia do tratamento e a resposta, que é bem individual (HILL, 2009; PETERSEN, 2008).

Entretanto, segundo Olivry et al., (2010) os anti-histamínicos do tipo 1 agem como antagonistas do receptor de histamina, tais como: difenidramina, clorfeniramina e hidroxizina, poderiam ser usados para tratar crises agudas na DAC. De fato, estes medicamentos não teriam tempo suficiente para bloquear os receptores de histamina (liberada no início de reações alérgicas), antes da sua ocupação, deste modo não há provas conclusivas da eficácia de anti-histamínicos do tipo 1, no tratamento ativo da dermatite atópica canina.

7.6 Ácidos graxos essenciais (ômega 3 e ômega 6)

Auxiliam no bloqueio das reações alérgicas, bem como na melhora da condição da pele e pelame. Apresentam baixa eficácia na redução do prurido, em cães, porém são eficazes na melhora das condições do pelame (HILL, 2007).

Por outro lado, esses compostos possuem um efeito aditivo ou sinérgico, na diminuição dos sintomas da DAC, quando utilizados com anti-histamínicos ou glicocorticóides (SAEVIK et al., 2004). O animal deve receber a dose mínima de 30 mg/kg/dia de ácidos graxos (DEBOER, 2008a). Um fator de discussão nos estudos com esta terapia, é a proporção recomendada entre ômega 6/ômega 3. A proporção de 5:1 pode ser benéfica em alguns cães atópicos (SCOTT et al., 2001).

7.7 Glicocorticóides

Os glicocorticóides possuem ação antiinflamatória e imunomoduladora, ligando-se a receptores intracelulares, ampliando ou reduzindo a transcrição de determinadas proteínas, resultando em apoptose de células hiperativas do sistema imune (LIMA, 2007).

Atuam direta e indiretamente na expressão genética e favorecem a ativação da anexina 1 e da MAPK fosfatase 1, reprimindo a transcrição da cicloxigenase 2. Desta forma, os glicocorticóides bloqueiam a liberação de ácido aracdônico e a formação de eicosanóides (prostaglandinas, leucotrienos, tromboxanos e prostaciclina); inibem a transcrição de citocinas, quimiocinas, fator de proliferação vascular, moléculas de adesão e de fatores de crescimento; diminuem a ativação das células de langerhans, linfócitos T e estabilizam a membrana dos mastócitos (RHEN e CIDLOWSKI, 2005; FARIAS, 2007).

Embora os corticosteróides sejam amplamente utilizados no tratamento da DAC, poucos estudos duplo-cegos e randomizados foram conduzidos para avaliar a sua eficácia (HILLIER, 2002; OLIVRY e MUELLER, 2003). Efeito satisfatório no controle do prurido e dos sinais clínicos tem sido observado em 57 a 100% dos cães com dermatite atópica, sendo sua eficácia clínica estimada entre 58 e 86% (OLIVRY e MUELLER, 2003).

Os efeitos dos corticóides não são sustentáveis, sendo comum a recidiva dos sintomas clínicos da dermatite atópica quando estes são descontinuados, o que induz ao seu uso contínuo e abusivo pelo médico veterinário ou pelos proprietários (DEL ROSSO e FRIEDLANDER, 2005).

Efeitos colaterais relacionados à corticoideterapia sistêmica foram observados em 30 a 80% dos animais, variando de atrofia tegumentar, calcificação metastática, telangiectasias, poliúria, polidipsia, polifagia, letargia, ganho de peso, retenção de sódio e água, vômito, pancreatite, ulceração gastrointestinal, dislipidemias, hipertensão, tromboembolismo, atrofia da musculatura apendicular e desenvolvimento de infecções oportunistas, hiperadrenocorticismos iatrogênicos, dentre outros efeitos (SCOTT et al., 2001; HILLIER, 2002; DEL ROSSO e FRIEDLANDER, 2005; OLIVRY e MUELLER, 2003; RHEN e CIDLOWSKI, 2005; AKDIS et al., 2006; PETERSEN, 2008).

Devido ao potencial de risco de ocorrência de efeitos colaterais, quando utilizados por longos períodos, os glicocorticóides são recomendados, nas seguintes situações (HILL, 2007):

- Tratamentos curtos na presença de prurido intenso ou nos períodos de crise;
- Nas fases iniciais da imunoterapia, se o prurido for intenso;
- Na ausência de resposta a outros tratamentos;
- Em cães com alergia a pólenes que apresentam sintomas sazonais;
- Quando limitações financeiras não permitem outros tipos de tratamento.

Corticosteróides orais de curta ação, como a prednisona ou prednisolona na dose de 0,5 a 1,0 mg/kg podem ser indicados no controle da exacerbação aguda da inflamação e do prurido relacionados à dermatite atópica, até a amenização dos sinais clínicos (LEUNG, 2000; HILLIER, 2002; AKDIS et al., 2006). Se a terapia em longo prazo for utilizada, a dose deve ser reduzida para a menor possível, de modo a manter o animal em situação de conforto, ou seja, com o prurido controlado e com menor chance de desenvolver efeitos colaterais. Nesses casos, após a instituição da dose de 0,5 mg/kg/24h, seu uso deve ser espaçado para cada 48 horas e, em seguida, para cada 72 horas. Sua dose então deve ser reduzida e espaçada, até se encontrar um equilíbrio entre ausência de sinais clínicos e de efeitos colaterais da corticoideterapia. Nos casos em que o espaçamento e/ou a diminuição da dose dos corticosteróides estão relacionados à recidiva dos sintomas de dermatite atópica, a associação entre corticosteróides e anti-histamínicos, ou com os inibidores da fosfodiesterase ou da calcineurina deve ser tentada (SCOTT et al., 2001; HILLIER, 2002; PETERSEN, 2008).

O uso prolongado de corticosteróides exige a realização de urocultura a cada seis meses, além de determinação de função renal e hepática. A elevação sérica de isoenzima da fosfatase alcalina é esperada e não implica em hepatotoxicidade, já a elevação de ALT ou AST sugere o desenvolvimento de hepatopatia esteroideal (DEBOER, 2008a).

A utilização de esteróides injetáveis, de ação prolongada, como o acetato de metilprednisolona não é indicada, pois na presença de efeitos adversos indesejáveis, a despeito de sua interrupção, estes não podem ser minimizados em curto prazo (PETERSEN, 2008).

A terapia tópica com glicocorticóides é mais eficaz para o tratamento de áreas com prurido mais localizadas e permitem muitas vezes evitar o tratamento sistêmico (SCOTT et al., 2001; NUTTALL, 2008). Estes fármacos podem ser bastante benéficos, especialmente na inflamação de determinadas regiões corporais de difícil controle, como o períneo, as extremidades dos membros, os olhos e a face côncava dos pavilhões auriculares (NUTTALL, 2008; HILL, 2009).

Apesar dos efeitos adversos causados pelos glicocorticóides tópicos serem mais raros do que os dos sistêmicos, algumas preparações potentes podem ter efeitos graves (REME, 2007). Um estudo efetuado em crianças demonstrou que as mesmas desenvolveram hiperadrenocorticismismo (síndrome de Cushing) iatrogênico, secundário à aplicação de glicocorticóides tópicos potentes no tratamento de dermatose causada por fraldas (OZON et al., 2007).

Após estudos no ajuste da estrutura molecular de glicocorticóides tópicos, de modo a obter uma concentração ativa mais elevada e rápida na pele, surgiram então uma nova geração de medicações (glicocorticóides tópicos de 4ª geração), os duplos ésteres de hidrocortisona e prednisolona não halogenados. Estes têm como vantagens serem rapidamente distribuídos na epiderme e na derme superficial e aí exercerem efeitos antiinflamatórios potentes. Deste modo foi possível substituir os compostos que eram mais potentes, porém com maior potencial de efeitos colaterais sistêmicos, por outros igualmente eficazes e mais seguros (Aceponato de Hidrocortisona 0,0584%, Cortavance®) que garantem um nível superior de penetração cutânea associada a uma baixa disponibilidade plasmática (REME, 2007).

Os efeitos sistêmicos e a atrofia cutânea são minimizados porque a maior parte do fármaco é metabolizado na derme, distribuindo-se muito pouco composto

ativo nos tecidos mais profundos e na circulação, sendo por isso considerada muito segura a sua administração (REME, 2007; NUTTALL et al., 2009; PATEL et al., 2010). Entretanto quando utilizado a longo prazo, alguns efeitos adversos cutâneos como: atrofia cutânea, alopecia, piodermite localizada, demodicose, comedões, descamação e cistos foliculares superficiais, não devendo por isso ser usado durante mais de dois meses (BIZIKOVA et al., 2009; OLIVRY et al., 2010). De qualquer modo o risco de ocorrência destes efeitos é muito menor quando comparado com os glicocorticóides tópicos convencionais (DETHIOUX, 2006; OLIVRY et al., 2010).

7.8 Inibidores da calcineurina (ciclosporina)

A ciclosporina A (CsA) é um metabólito, polipeptídeo cíclico, lipossolúvel, derivado do fungo *Tolypocladium inflatum gams* e há muito tempo utilizada em pacientes humanos para evitar rejeição de órgãos pós transplante. O fármaco, também, é utilizado para o tratamento de doenças imunomediadas, como artrite reumatóide, psoríase e dermatite atópica (STEFFAN et al., 2004).

Na medicina veterinária a CsA apresenta indicação para o controle das doenças imunomediadas e autoimunes, como fístula perianal, complexo pênfigo e penfigóide, adenite sebácea, dermatite atópica, paniculite nodular estéril, alopecia areata, síndrome de Sézary, dentre outras (ROBSON e BURTON, 2003; NOLI, 2008).

7.8.1 Mecanismo de ação

A principal ação da ciclosporina é sobre a calcineurina, que é uma proteína citoplasmática presente em diversas células, incluindo linfócitos e células dendríticas. A calcineurina, atua como um fator de transcrição de interleucinas inflamatórias, tais como IL-2, IL-3, IL-4 e TNF-alfa. Esta transcrição é ativada através de um mecanismo cálcio-dependente, que incluem no mecanismo dois tipos de proteínas: a calmodulina e as imunofilinas. Essas proteínas foram assim denominadas por atuarem como receptores de substâncias inibidoras da calcineurina, o que significa minimizar a ação do linfócito e, logicamente, este processo deve ser feito de maneira bastante controlada para garantir a melhora do

quadro alérgico, sem comprometer a função imune do organismo (NOVAK e BIEBER, 2005).

Os fármacos que surgiram com capacidade de redução da ação da calcineurina agem inibindo diferentes imunofilinas, assim se caracteriza a principal ação sistêmica da ciclosporina (NOVAK e BIEBER, 2005).

A CsA atua em diferentes células, mas o seu principal recurso terapêutico é a ação sobre os linfócitos T (Figura 2), induzindo rapidamente uma imunossupressão reversível pela inibição do antígeno, desencadeada na fase inicial de ativação de CD4+ em Linfócitos T. Esta imunossupressão faz o bloqueio da transcrição de genes que codificam várias citocinas, em especial a interleucina (IL-2) (GUAGUÈRE et al., 2004).

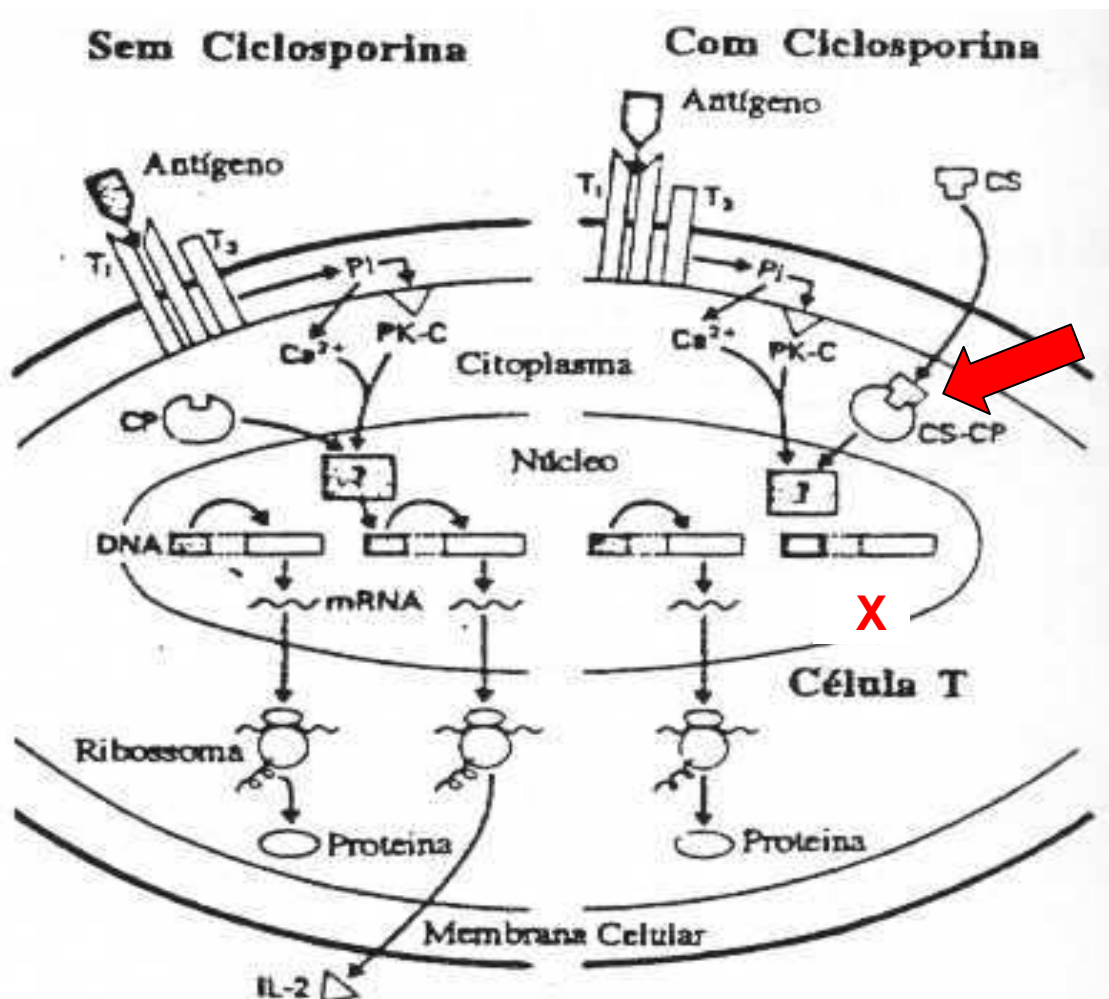


Figura 2. Demonstra um paralelo dentro do linfócito sem a ação da ciclosporina (esquerda) e o mecanismo de ação da ciclosporina, dentro do Linfócito T (direita), fazendo ligação com a ciclofilina-1 (seta), inibindo a calcineurina e evitando a transcrição de interleucinas, principalmente IL 2 (X). Fonte: Adaptado de BOREL, J. A. Cyclosporine. In: Textbook of Immunopharmacology, 1994.

O modo de ação molecular, envolve a ligação específica da CsA a uma proteína intracelular, ciclofilina-1, pertencente à família imunofilina. Em seguida, o complexo formado “ciclofilina-ciclosporina”, inibe a calcineurina, que é uma enzima envolvida na translocação nuclear do componente citoplasmático de NF-AT, um fator de transcrição essencial da (IL-2) (ALLISON, 2000; GUAGUÈRE et al., 2004). A ausência de (IL-2) impede a síntese, ativação e proliferação de linfócitos T, inibindo também a síntese secundária de outras citocinas, incluindo (IL-4, IL-5, IL-3 e IL-8), interferon (IFN)- γ e GM-CSF. A ciclosporina também exerce efeitos no fator de necrose tumoral (TNF)- α , diminui o número e a ativação de células de Langerhans epidermais, reduz a sobrevivência e resposta secretória de mastócitos, diminui a sobrevivência dos eosinófilos, inibe a infiltração celular dependente de mastócitos e a IgE nos sítios inflamatórios, reduz a secreção de citocinas por queratinócitos e também afeta os granulócitos e as plaquetas através de interferência com o cálcio-dependente da exocitose de grânulos associados a serina esterases (GUAGUÈRE et al., 2004; DAY, 2008).

A ciclosporina não inibe a secreção de IgA, IgG e IgM em cães, como ocorre em outras espécies, não alterando a imunidade humoral, e não afeta de forma significativa sobre níveis séricos de IgE alérgeno- específico e testes intradérmicos quando administrado em 5 mg/kg por 21 dias para cães com alergia a saliva de pulga (CLARKE et al., 2002).

Outro fator observado é o de que a ciclosporina induz a síntese do Fator de Crescimento Tumoral beta (TGF)- β e estimula as células a aumentar a deposição em sua matriz celular e a diminuir a degradação de proteases, que no homem e em ratos, pode ser responsável pela fibrose renal, e nos cães, pela hiperplasia gengival e pelas lesões verrucosiformes. No entanto, este aumento de (TGF)- β auxilia no processo de cicatrização da pele (MATSUDA e KOYASU, 2000).

7.8.2 Farmacocinética

Os estudos mostraram que após administração oral, a CsA tem perfil farmacocinético e biotransformação semelhantes no homem e nos animais. O fármaco administrado por via oral, como uma formulação a base de óleo vegetal, apresenta sua biodisponibilidade na faixa de 20-27% em cães e 25-35% no homem. Esta biodisponibilidade relativamente baixa pode ser explicada pela grande massa

molecular do fármaco e a sua baixa solubilidade em água. A disponibilidade de ciclosporina (pico de concentração) depende principalmente da atividade da proteína transportadora intestinal p-glicoproteína (P-gp) e do metabolismo das isoenzimas CYP3A4 e CYP3A5. A expressão de CYP3A, P-gp, e CYP3A está sujeita a polimorfismo genético, que pode afetar as necessidades individuais de dosagem (GUAGUÈRE et al., 2004; STEFFAN et al., 2004).

Torna-se essencial o conhecimento dos medicamentos que são co-administrados com ciclosporina, pois as interações das isoenzimas CYP3A ou P-gp podem afetar os seus níveis plasmáticos, podendo ocasionar um aumento da toxicidade ou uma diminuição do efeito imunossupressor. Com o uso dos genéricos de ciclosporina, uma média de biodisponibilidade de 20% inferior pode ser esperada, o que significa que a eficácia pode ser insatisfatória em casos isolados (GUAGUÈRE et al., 2004).

Em medicina veterinária, a ciclosporina está disponível no exterior, na forma de microemulsão (ME) em cápsulas moles de gelatina de 10, 25, 50 e 100 mg (Atopica®, Novartis Saúde Animal, Suíça) e 25, 50 e 100 mg (Atopex®, Cipla, Índia). Antes da preparação de microemulsão (ME) tornar-se disponível, o objetivo da elaboração de cápsulas micro-emulsificadas foi de aumentar a biodisponibilidade da ciclosporina em comparação com a formulação inicial em óleo de oliva. No homem, a biodisponibilidade da formulação (ME), aumenta para 30-40%. Em cães, a formulação micro-emulsificada oferece uma biodisponibilidade de 35%, em comparação com 20-25% da formulação de óleo vegetal (GUAGUÈRE et al., 2004; STEFFAN et al., 2004).

A formulação (ME) também diminui a variabilidade individual de absorção do fármaco, devido ao aumento da biodisponibilidade absoluta e da falta de efeito da secreção de bile na absorção. Um fator importante na formulação de ciclosporina em óleo vegetal é que a secreção biliar emulsificante influencia a absorção da solução de CsA. Em cães, a bile resulta em uma redução de 75-80% na absorção de medicamentos, cuja formulação é em óleo vegetal. Portanto a biodisponibilidade da CsA micro-emulsificada não é influenciada pela secreção biliar. No entanto, em cães, assim como na formulação (ME), a absorção é ligeiramente retardada quando o medicamento é administrado com alimentos, e a variabilidade individual é aumentada. Deste modo recomenda-se que a ciclosporina seja administrada duas horas antes ou após a alimentação (GUAGUÈRE et al., 2004).

Devido às suas propriedades lipofílicas, a CsA é amplamente distribuída pelos tecidos, com exceção de sua baixa passagem pela barreira hematoencefálica (BRUNER, 2006). Na pele sua concentração é até 10 vezes superior às concentrações no sangue em animais de laboratório e no homem (DONATSCH e RYFFEL, 1986). Nos cães, a mesma magnitude de concentração na pele foi encontrada no sangue (STEFFAN et al., 2004). A metabolização ocorre, principalmente, no fígado e intestino, pelo citocromo P450, especificamente CYP3A4. A ciclosporina apresenta-se, no sangue, 70% ligada aos eritrócitos, 10% aos leucócitos e 20% livre no plasma. As reações envolvidas na biodegradação da molécula incluem a hidroxilação e desmetilações. A eliminação ocorre, principalmente, através da bile (96%), com mínima excreção renal em todas as espécies. A fração inalterada deste fármaco, eliminado pelos rins, nos cães, é a 6% (GUAGUÈRE et al., 2004; STEFFAN et al., 2004).

7.8.3 Interações Medicamentosas

A ciclosporina sofre metabolização hepática, mais especificamente pelo sistema enzimático do citocromo P450 e por outros conjuntos enzimáticos oxidativos (NUTTALL et al., 2009). Estas características podem levar a interações medicamentosas relevantes com o cetoconazol, o qual pode ser explorada por uso concomitante na dose de 10mg/kg para aumentar seus níveis séricos e permitir seu uso em doses mais baixas e reduzir os custos, particularmente em cães de raças grandes, outras medicações que diminuem a atividade do citocromo P-450 e conseqüentemente aumentam o nível sérico de ciclosporina são a eritromicina, verapamil e diltiazem (GUAGUÈRE et al., 2004). Segundo Fischer et al. (2002) a associação do uso conjunto com a vitamina E solúvel em água, pode aumentar a concentração sérica de CsA.

Por outro lado, os anticonvulsivantes, a rifampicina, cimetidina, isoniazida, sulfa com trimetoprim, terbinafina, omeprazol e a metilprednisolona são fármacos que ativam este sistema enzimático, aumentando a metabolização de CsA, resultando em níveis subterapêuticos, proporcionando riscos de rejeições em transplantes e falhas em protocolos terapêuticos (ROBSON e BURTON, 2003).

7.8.4 Segurança

Os efeitos colaterais relacionados ao uso da ciclosporina têm sido incomumente observados, e incluem vômitos ou diarreia intermitentes aumento da sensibilidade à infecções, hirsutismo, hiperplasia gengival, proliferações papilomiformes e neoplasias orais (HILLIER, 2002; RADOWICZ e POWER, 2005; STEFFAN et al., 2005; LUCAS et al., 2007).

De acordo com Steffan et al., (2006), essas reações adversas são, geralmente, discretas e não exigem tratamento. Raramente, a terapia deve ser interrompida devido à ocorrência de tais sintomas. OLIVRY et al. (2002b) observou que um quinto dos cães que receberam ciclosporina, por via oral, ocasionalmente desenvolveram diarreia ou fezes amolecidas. Em um cão, foi observada erupção cutânea generalizada papilomatosa durante a segunda metade do tratamento.

Em humanos, a hipertensão arterial, nefrotoxicidade, hepatotoxicidade, imunossupressão e aumento da suscetibilidade ao aparecimento de neoplasias têm sido observados. A CsA é responsável por vasoconstrição arteriolar renal, causando redução no fluxo sanguíneo renal e na taxa de filtração glomerular. A vasoconstrição, da artéria aferente, resulta na liberação de endotelina e tromboxano e na ativação do sistema renina-angiotensina-aldosterona. A hipertensão parece ser induzida por outros mecanismos, tais como: aumento da atividade do sistema nervoso simpático; inibição de óxido nítrico; aumento do cálcio intracelular. O tratamento prolongado de humanos, portadores de DA, está associado a dano renal crônico devido às lesões reversíveis no parênquima. A longo prazo, lesões tubulares proximais podem se desenvolver (GUAGUÈRE et al., 2004) .

Estudo toxicológico, conduzido em cães, não demonstrou manifestações de nefrotoxicidade, clínica ou histologicamente, quando a CsA foi utilizada na dose de até 45 mg/kg durante 52 semanas (RYFFEL, 1982). Além disso, os cães parecem ser menos sensíveis a danos renais quando comparados a outras espécies, como ratos e humanos. Suspeita-se que o sistema renina-angiotensina-aldosterona de cães seja menos responsivo ao efeito da CsA do que em humanos. Essa variação nos efeitos tóxicos da droga poderia ser explicado pela excreção intracelular de CsA das células tubulares pela P-glicoproteína (P-gp), assim prevenindo os efeitos tóxicos e/ou pela ausência de efeito da CsA na proteína calbindina D. No homem, a concentração desta proteína nas células tubulares renais, diminui durante o tratamento com CsA, o que resulta em acúmulo de cálcio e disfunção das células tubulares. Em cães, essa função da proteína não é inibida. Em adição a

hepatotoxicidade, também, não foi relatada por diversos estudos utilizando o fármaco na espécie canina (GUAGUÈRE et al., 2004).

Segundo Yazbek (2010), em seu estudo a frequência de efeitos adversos, foi considerada alta (52,4 a 85,7%), durante os 60 dias de tratamento com CsA, onde, principalmente, após os primeiros 15 dias de terapia, 18 (85,7%) dos 21 animais apresentaram efeitos adversos (distúrbios gastrintestinais, vômitos, tenesmo, diarreia, disorexia e hirsutismo). Após 30 e 60 dias, respectivamente, a frequência reduziu-se para 61,9% e 52,4%. Esses dados vêm de encontro com aqueles referidos por Steffan et al, (2005). Segundo os autores, 268 cães, portadores de dermatite atópica, foram avaliados e, aproximadamente, 60% dos efeitos colaterais ocorreram no primeiro mês de tratamento com a CsA e, o restante, de maneira esporádica nos três meses que se seguiram.

7.8.5 Tratamento da dermatite atópica com ciclosporina

Vários estudos clínicos tentam estabelecer a atividade da CsA para o tratamento da dermatite atópica em cães. O potencial de eficácia da CsA para o tratamento da dermatite atópica em cães foi primeiramente demonstrada por Fontaine e Olivry (2001) em um estudo com 14 cães tratados com 5mg/kg por dia, durante 14 dias. Subseqüentes estudos cegos multicêntricos e randomizados com duração de 14 dias a quatro meses de tratamento, estabeleceram que a dosagem de 5mg/kg por dia é uma dose de indução eficaz de CsA para controlar os sinais clínicos e o prurido da dermatite atópica (OLIVRY et al., 2002b; STEFFAN et al., 2003).

O tratamento com a ciclosporina na dose de 5 mg/kg/24h/vo em cães tem sido associado à diminuição significativa do prurido e da inflamação relacionados à dermatite atópica em 40 a 86% dos casos (OLIVRY e MUELLER, 2003; RADOWICZ e POWER, 2005). Dessa forma, o uso da ciclosporina tem permitido melhoria da qualidade de vida e minimização do uso de corticosteroides e é a medicação de escolha para o controle da DA crônica em cães com menos de 10kg, que não respondem adequadamente à instituição de medidas que controlem os fatores perpetuantes da atopia, à terapia hidratante e ou aos anti-histamínicos (LEUNG, 2000; FONTAINE e OLIVRY, 2001; HILLIER, 2002; OLIVRY et al., 2002a,b; GUAGUÈRE et al., 2004; RADOWICZ e POWER, 2005).

Os efeitos da CsA começam a ser observados já ao redor da segunda semana de tratamento e a resposta máxima é obtida entre a sexta e oitava semanas (YAMADA et al., 2001). Segundo Olivry et al., (2003) em seu estudo, a redução do prurido e lesões da pele foi observada após quatro semanas de tratamento. Além disso em metade dos cães com dermatite atópica, a dose de ciclosporina pode ser reduzida após semanas para cada 48 horas, seguido mais tarde em alguns pacientes, a administração duas vezes por semana.

De acordo com OLIVRY et al. (2002a), em seu estudo, os quais avaliaram 30 cães com dermatite atópica, divididos em dois grupos, um deles tratado com ciclosporina 5 mg/kg uma vez ao dia, e o outro grupo com prednisolona 0,5 mg/kg uma vez ao dia, ambos durante seis semanas. As lesões de pele associadas à dermatite atópica foram classificadas por CADESI e a análise de prurido foi avaliada pelos proprietários, utilizando uma escala visual analógica (PVAs). Em ambos os grupos, os valores de CADESI e PVAs foram significativamente inferiores após seis semanas de tratamento. A análise estatística revelou que a redução foi acima de 50%, do escore de lesões no Grupo tratado com ciclosporina. Já em seu outro estudo, Olivry et al. (2002b), com 91 cães portadores de DA, avaliou-se a eficácia da ciclosporina durante seis semanas de tratamento, comparando duas doses orais: 5 mg/kg, *PO, SID* e 2,5 mg/kg, *PO, SID* e outro grupo tratado com placebo. Os resultados evidenciaram eficácia da CsA na maior dose, com relação à redução do número das lesões corpóreas e do prurido. Por outro lado, a mesma droga na menor dose não demonstrou ser mais eficaz que o placebo no controle das lesões e do prurido. Na dose superior, a eficácia foi considerada boa a excelente tanto pelos proprietários como pelos pesquisadores em 61% dos cães.

Steffan et al., (2006) realizaram uma revisão sistemática e meta-análise de 10 ensaios clínicos com cães portadores de dermatite atópica, os quais totalizaram cerca de 799 cães, 672 (84%) tratados com CsA, 160 (20%) com placebo, 74 (9%) com glicocorticóides orais e 23 (3%) com anti-histamínicos. A duração da administração de CsA variou entre ensaios entre duas semanas até seis meses. Quando se comparou a eficácia da ciclosporina com placebo, após a indução de tratamento que durou de quatro a seis semanas, em dois ensaios totalizando 253 cães com DA, os quais 160 cães tratados com placebo e 163 com CsA. A diferença de média ponderada em percentagem de melhoria nos escores lesionais foi de 80/163 (49%) dos cães com CsA, e aqueles com placebo foi de 20/160 (13%) de

melhora. Na sequência, foi comparado a eficácia entre os grupos tratados com CsA e glicocorticóides orais. Ao todo, 206 cães com DA, foram incluídos nestes dois estudos, 132 (64% dos indivíduos) receberam CsA, e 74 (36%) receberam corticóides, sendo (15 cães) com prednisolona oral e (59 cães) tratados com metilprednisolona. Quando a agregação dos resultados destes dois estudos foi comparada, a diferença média ponderada em percentagem de melhoria na pontuação lesionais foi de apenas 2% em favor dos glicocorticóides. Depois de uma fase de indução de quatro a seis semanas, a obtenção de uma redução de $\leq 50\%$ nas lesões e prurido. Ao combinar resultados destes dois estudos, a proporção de cães que alcançaram uma redução $\geq 50\%$ nas lesões foi de 58/132 (44%), com CsA e 39/74 (53%) com glicocorticóides orais. Em relação a redução do prurido, a percentagem de cães atingir a $\geq 50\%$ redução das pontuações prurido foi 50/132 (38%) com CsA e 36/74 (49%) com glicocorticóides orais. Na avaliação, do tratamento após 4 meses de duração, a proporção de cães que atingiram $\geq 50\%$ de redução dos escores lesionais na DA era de 77/117 (66%), com CsA e 34/59 (58%) com o uso de metilprednisolona por via oral. Já, a proporção de cães que atingiram $\geq 50\%$ de redução nos escores de prurido era de 47/117 (40%), com CsA e 25/59 (42%) com metilprednisolona por via oral.

7.9 Imunoterapia alérgeno-específica

Consiste na administração de extratos alergênicos, de maneira gradual, em indivíduos que apresentaram sensibilidade a eles, com o objetivo de reduzir ou reverter o estado de hipersensibilidade e de amenizar os sintomas associados a subseqüentes exposições ao alérgeno ofensor (PETERSEN, 2008; DEBOER, 2008a).

As principais indicações incluem: impossibilidade de exclusão dos alérgenos ambientais; prurido perene e ineficácia de outros tratamentos, previamente testados (SCOTT; MILLER; GRIFFIN, 2001). As desvantagens incluem: custo relativamente alto, nem sempre tão eficaz quanto o esperado. O período expectante, até a melhora, pode variar de um mês a um ano ou até mais (DEBOER, 2008a).

A imunoterapia provoca modificações na imunidade humoral e celular em humanos, como a normalização da desgranulação de basófilos, as alterações na resposta de células T auxiliares, o aumento na produção de IL-10, IgG1 e IgG4 e a

diminuição na produção de IgE, embora muitos desses efeitos não apresentem representatividade clínica (GRIFFIN, 2006).

Em cães, um aumento da produção de IFN- γ e uma inversão do perfil de resposta de Th2 para Th1 tem sido observado com a instituição da imunoterapia, o que conduz a uma diminuição de IL-4 e a um aumento na concentração de IgG (GRIFFIN, 2006).

A eficácia da imunoterapia alérgeno-específica é desconhecida, embora um estudo cego com controle-placebo tenha apontado um percentual de melhora de 50% em 59% dos cães tratados, contra 21% no grupo tratado com placebos (GRIFFIN, 2006).

Os principais efeitos colaterais relacionados à imunoterapia são edema, eritema, dor e prurido no local da injeção, aumento do prurido, vômito, ansiedade, diarreia, urticária e angioedema, o que faz que todo animal submetido à imunoterapia deva ser monitorado por no mínimo uma hora após a aplicação (HILLIER, 2002).

CAPÍTULO 2

1 ESTUDO DA EFICÁCIA DA CICLOSPORINA NO CONTROLE DA DERMATITE ATÓPICA EM CÃES.

(Study of the efficacy of cyclosporine in the control of atopic dermatitis in dogs)

RESUMO

A dermatite atópica é uma dermatopatia inflamatória, pruriginosa, crônica, de origem genética, resultante da perda da função de barreira física da pele e da hiperreatividade à alérgenos ambientais, trofoalérgenos, alérgenos microbianos e a irritantes primários que penetram ativamente pela epiderme. Esta acomete 10 a 15% da população canina e é mais comumente descrita em cães de raça pura, intradomiciliados, independente do gênero. O objetivo deste estudo foi avaliar a eficácia da ciclosporina no controle do prurido e das lesões associadas à dermatite atópica em cães. Selecionaram-se 24 cães maiores de um ano de idade, de ambos os gêneros, independente da raça, com diagnóstico de dermatite atópica baseados nos critérios de Favrot et al., (2010). Estes foram divididos em dois grupos: Grupo C, composto por 12 cães os quais receberam ciclosporina (5 mg/kg/vo/24h), juntamente com Prednisona 0,5 mg/kg/vo/24h durante sete dias, seguido de 0,5 mg/kg, a cada 48 horas durante mais sete dias. Após as duas semanas, a ciclosporina foi mantida como medicação isolada por mais 46 dias, até completar 60 dias de uso. Grupo CP, composto por 12 cães, que receberam Prednisona (0,5 mg/kg/vo/24h), durante sete dias, seguido de 0,5 mg/kg/vo/48h, durante 14 dias e em seguida se manteve um protocolo de manutenção, onde a prednisona foi administrada na dose de 0,5 mg/kg a cada 72 horas durante 39 dias. Os cães foram submetidos a exame clínico dermatológico para estabelecimento de escores sintomato-lesionais pelos critérios de CADESI-03 nos dias 0, 30 e 60 e, em adição, foi avaliado semanalmente o escore de prurido pelos critérios de Rybnicek, entre os dias 0 à 63. A eficácia foi analisada pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, seguido do teste de Dunn's. Para as análises entre os grupos foi utilizado o teste t. Houve uma involução sintomato-lesional, nos dias +30 e +60 ($p < 0,001$) com relação ao dia zero do tratamento em todos os cães. Em relação ao prurido, foi observado uma redução gradual significativa nos dias +7, +35 e +63 ($p < 0,001$). Quando se comparou os dois grupos em relação à involução sintomato-lesional, nenhuma diferença foi observada, nos vários momentos de observação. Em relação ao escore de prurido, este diminuiu de forma significativa no grupo CP em relação ao grupo C ($p < 0,05$). A ciclosporina se mostrou eficaz no controle das lesões associadas à dermatite atópica em cães e, apesar de menos eficaz no controle do prurido, este se manteve em níveis aceitáveis e associado a mínimos efeitos colaterais.

Palavras-chave: CADESI; Prurido; RYBNICEK; Genodermatose; Corticóide.

ABSTRACT

Atopic dermatitis is an inflammatory skin disease, itchy, chronic, genetic, resulting from the loss of physical barrier function of the skin and hyperreactivity to environmental allergens, trofoalérgenos, microbial allergens and irritants that penetrate primarily actively by the epidermis. This affects 10 to 15% of the canine population and is most commonly described in purebred dogs, intradomiciliados, regardless of gender. The aim of this study was to evaluate the efficacy of cyclosporine in controlling itching and lesions associated with atopic dermatitis in dogs. We selected 24 dogs older than one year of age, of both genders, regardless of race, diagnosed with atopic dermatitis based on criteria FAVROT et al., (2010). These were divided into two groups: Group C, consisting of 12 dogs which received cyclosporine (5 mg/kg/vo/24h) together with prednisone 0.5 mg/kg/vo/24h for seven days followed by 0, 5 mg / kg every 48 hours for seven days. After two weeks the drug was maintained as cyclosporin alone for another 46 days up to 60 days of use. Group CP, consisting of 12 dogs that received prednisone (0.5 mg/kg/vo/24h) for seven days followed by 0.5 mg/kg/vo/48h for 14 days and then remained one maintenance protocol, where the prednisone was administered at a dose of 0.5 mg/kg every 72 hours for 39 days. The dogs underwent clinical examination to establish dermatological sintomato-lesional scores by criteria CADESI-03 on days 0, 30 and 60 and, in addition, was measured weekly by the score of pruritus criteria Rybnicek, between days 0 to 63. Efficacy was analyzed by the nonparametric Kruskal-Wallis test followed by Dunn's. For the analyzes between groups t test was used. There was involution sintomato-lesional on days +30 and +60 ($p < 0.001$) relative to day zero treatment in all dogs. Regarding the pruritus has been observed a gradual significant on days +7, +35 and +63 ($p < 0.001$). When comparing the two groups with respect to involution sintomato-lesional, no difference was observed in the various moments of observation. Regarding pruritus score, it decreased significantly in the CP group than in group C ($p < 0.05$). Cyclosporin was effective in controlling the lesions associated with atopic dermatitis in dogs and although less effective in controlling the itching, this was kept at acceptable levels and associated with minimal side effects.

Keywords: CADESI; Pruritus; RYBNICEK; Genodermatosis; Corticoid.

2. INTRODUÇÃO

A dermatite atópica é uma doença de pele inflamatória, crônica, recorrente e pruriginosa (MARSELLA e SOUSA, 2001; DEBOER, 2004), e embora de etiologia multifatorial, sua fisiopatologia está relacionada a mutações genéticas que conduzem a distúrbios da função de barreira tegumentar, a defeitos na resposta imune antimicrobiana e a hiperreatividade cutânea a alérgenos ambientais, antígenos microbianos, irritantes e trofoalérgenos (HILLIER, 2002; AKDIS et al., 2006).

Estima-se que entre 3 a 15% da população de cães seja afetada pela dermatite atópica (JAEGER et al., 2010) e esta deve ser suspeita em todos os cães com prurido crônico, intenso, primário e perene, associado a piodermite, otite e malasseziose recorrentes (HILLIER, 2002).

Devido a mutações genéticas, a barreira física da epiderme dos cães com dermatite atópica tem diminuição da produção de lipídios e ceramídeos (MORAR et al., 2006; MARSELLA e SAMUELSON, 2009) e aumento da perda transepidermica de água, o que conduz a perda de função de barreira epidérmica, ressecamento e disqueratose (OLIVRY et al., 2010).

Com a alteração da barreira tegumentar, inúmeros alérgenos são difundidos por via transepidermica. Estes são reconhecidos, fagocitados e apresentados pelas células dendríticas epidérmicas aos linfócitos Th2, os quais estimulam a proliferação de linfócitos B e a produção de IgE alérgeno-específicos. A IgE se distribui pela superfície das células dendríticas e de mastócitos, originando a formação de complexo antígeno-anticorpo, o realce da captação, da apresentação antigênica e a desgranulação mastocitária, o que conduz à amplificação da resposta imune, da inflamação e do prurido (AKDIS et al., 2006; MORAR et al., 2006; OLIVRY et al., 2005).

Em adição, perda da função de barreira antimicrobiana em cães com dermatite atópica favorece ao supercrescimento fúngico e bacteriano na pele atópica e a infecções de caráter recorrente (AKDIS et al., 2006).

O principal sintoma da dermatite atópica é o prurido intenso a grave, crônico, perene, associado a máculas eritematosas. Este geralmente se inicia de forma moderada, porém tende à intensificar com a cronicidade da doença (AKDIS et al., 2006; HILLIER, 2002; OLIVRY et al., 2005).

As principais áreas da pele envolvidas são a face (especialmente as regiões perioculares, perilabiais, mentonianas e o plano nasolabial); o epitélio dos condutos auditivos e a superfície côncava dos pavilhões auriculares; a superfície ventral (região cervical ventral, axila, abdome e virilha); a porção distal dos membros (superfícies dorso-digitais e interdigitais dorsal e ventral), as áreas flexurais (flexuras carpianas, tíbio-társicas, as flexuras anticubitais e as flexuras poplíteas) e a região perineal (SCOTT et al., 2001).

O diagnóstico de DAC é realizado pela combinação de critérios, sendo o mais recente proposto, o de Favrot et al., (2010), o qual o início dos sintomas ocorre antes dos três anos de idade; cães com permanência intradomiciliar, na maior parte do tempo; prurido responsivo a glicocorticóides; prurido *sine materia* no início (não lesional); acometimento da porção distal de membros torácicos e de pavilhões auriculares; não acometimento da borda das orelhas; bem como da região dorsal-lombar.

O tratamento da dermatite atópica consiste na combinação do controle das infecções secundárias, recuperação da função de barreira epidérmica, minimização da exposição do animal a alérgenos da saliva de artrópodes, ambientais e trofoalérgenos e terapia antiinflamatória e imunomoduladora (MARSELLA e SOUSA, 2001; OLIVRY e SOUSA, 2001; DEBOER, 2004).

O tratamento em geral é contínuo e multifatorial, baseado na associação de terapia tópica e sistêmica que minimizem os sintomas e não seja associada a efeitos colaterais (OLIVRY e SOUSA, 2001; SCOTT et al., 2001).

Os glicocorticóides sistêmicos, apesar de muito eficazes, possuem graves efeitos colaterais e é comum a recidiva dos sinais clínicos da dermatite atópica quando estes são descontinuados, o que induz ao seu uso contínuo e abusivo pelo médico veterinário ou pelos proprietários (AKDIS et al., 2006; DEL ROSSO e FRIEDLANDER, 2005). O uso crônico de glicocorticoides pode induzir poliúria, polidipsia, polifagia, glomerulopatia com perda protéica, esteatonecrose hepática, trombose, acidente vascular cerebral, gastrite, úlcera gástrica, pancreatite e diminuir o período de vida do animal em longo prazo. Por essa razão, seu uso deve ser limitado ao tratamento agudo do eczema atópico, ou na fase inicial de imunoterapia ou da terapia com outras medicações imunomoduladoras (DEL ROSSO e FRIEDLANDER, 2005; SCOTT et al., 2001).

Um dos problemas evidenciados no tratamento da dermatite atópica é sua refratariedade e recorrência em um elevado número de animais, bem como a presença de graves efeitos colaterais com o uso crônico das medicações imunossupressoras utilizadas em seu controle (SCOTT et al., 2001).

A imunoterapia para cães, apesar de ter eficácia moderada, não é padronizada, havendo variações no tipo do alérgeno, número e frequência de administração na fase de indução, dose e potência do extrato (HILLIER e GRIFFIN, 2001; SCOTT et al., 2001, OLIVRY e SOUSA, 2001).

Diante à baixa eficácia dos anti-histamínicos, a tratamentos convencionais pouco responsivos ou aos intensos efeitos colaterais dos glicocorticóides, novos fármacos foram propostos para o tratamento da dermatite atópica.

A ciclosporina (CsA) é um metabólito, polipeptídeo cíclico, lipossolúvel, derivado do fungo *Tolypocladium inflatum gams* (SCOTT et al., 2001; MARSELLA e OLIVRY, 2001). Este fármaco liga-se a uma proteína intracelular – a ciclofilina-1 – e, assim, inibe a calcineurina, enzima que codifica a IL-2. A ausência desta interleucina impede a ativação e a proliferação de linfócitos T, frente a outras citocinas, como IL-4 e INF- γ . Outras atividades referidas da CsA incluem: diminuição da sobrevida e desgranulação de mastócitos; inibição da liberação de IL-4, IL-5, TNF α , IL-3 e IL-8; inibição da sobrevida de eosinófilos, assim como o recrutamento dessas células para o local da inflamação; redução do número de células de Langerhans, bem como de sua função de apresentação de antígenos; redução da secreção de citocinas pelos queratinócitos; diminuição da infiltração celular dos mastócitos e da IgE nos locais da inflamação cutânea, através da prevenção das reações de fase tardia mediadas pelo TNF α (GUAGUERE et al., 2004; BRUNER, 2006).

Estudos que utilizaram ciclosporina, no controle e tratamento da dermatite atópica canina, reportaram uma taxa de 71 a 75% de satisfação do proprietário. A eficácia e segurança da CsA, no controle da DAC, foi documentada por diversos autores (FONTAINE e OLIVRY, 2001; OLIVRY et al., 2002a,b; OLIVRY e MUELLER, 2003; BURTON et al., 2004; RADOWICZ e POWER, 2005; STEFFAN et al., 2006; LUCAS et al., 2007; YAZBEK, 2010).

3. OBJETIVO GERAL

O presente estudo teve como objetivo avaliar a eficácia da ciclosporina, no controle da dermatite atópica em cães.

3.1 Objetivos específicos

- Avaliar a eficácia na involução e controle do quadro sintomato-lesional e do prurido associado a dermatite atópica canina com o uso de ciclosporina;
- Comparar a eficácia da ciclosporina, com a prednisona na involução e controle do quadro sintomato-lesional no tratamento da dermatite atópica canina;
- Avaliar a segurança da ciclosporina no controle da dermatite atópica em cães.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Comitê de ética

O estudo respeitou a Resolução Normativa No. 1, de 9 de Julho de 2010, que dispõe sobre a instalação e o funcionamento das Comissões de Ética no Uso de Animais (CEUAs), sob protocolo nº 588 (Anexo F), obedecendo as normas de Boas Práticas Clínicas com a utilização de animais em protocolos experimentais.

4.2 Seleção da Amostra

Foram selecionados cães com diagnóstico de dermatite atópica, atendidos na Unidade Hospitalar para Animais de Companhia da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR) e no serviço de dermatologia prestado em uma clinica veterinária particular, situada em Florianópolis-SC, com a prévia autorização dos proprietários.

4.3 Delineamento experimental

Foi realizado um estudo longitudinal, com amostras clínicas de conveniência, ao aleatorizado para a avaliação da eficácia da ciclosporina, comparado com a prednisona em cães .

4.4 Avaliação da eficácia

4.4.1 Critérios de inclusão

Os cães incluídos no estudo apresentavam cinco ou mais dos critérios estabelecidos por FAVROT et al., (2010) para o diagnóstico de dermatite atópica, como:

- Aparecimento dos sinais antes de três anos de idade;
- Cães domiciliados a maior parte do tempo;
- Histórico de prurido crônico, perene, primário (*sini material*) e responsivo a corticóides;
- Lesões nas porções distais de membro torácico;
- Lesões em pavilhões auriculares;
- Ausência de lesões nas bordas dos pavilhões auriculares;
- Ausência de lesões em região lombo-sacral.

Estes pertenciam a ambos os gêneros e foram incluídos, independente da raça.

Em adição, o prurido destes animais não apresentava um controle adequado dos sinais clínicos, após adequada exclusão de ectoparasitas, ao controle da piodermite e malasseziose eczematizantes e a exclusão dietética, por quatro a oito semanas, baseada na manutenção do animal por quatro a oito semanas em dieta com proteína original, caseira ou comercial, e também a terapia tópica com xampú hidratante.

Todos os cães só foram inclusos mediante a prévia anuência e autorização do proprietário, o qual se responsabilizou pela administração do medicamento e assiduidade em todos os retornos agendados.

4.4.2 Critérios de exclusão

Os seguintes critérios de exclusão foram estabelecidos:

- Cães de proprietários que não aderiram corretamente ao protocolo;
- Animais que estavam recebendo outras terapias medicamentosas (antimicrobianos) de forma regular;
- Animais portadores de doenças sistêmicas, que necessitassem de tratamento contínuo (diabetes, hiperadrenocorticism, epilepsia); cadelas gestantes ou lactantes;
- Cães com degeneração/necrose hepatocelular associado ao aumento significativo da AST ou ALT ou indícios de insuficiência hepática, com diminuição significativa da albumina sérica, colesterol, fibrinogênio ou uréia;
- Cães com doença renal pregressa;
- Cães com neutropenia grave, definida como uma contagem absoluta de neutrófilos inferior a 3000 cel/mm³.

4.4.3 Exclusão de animais pós-início do ensaio

Animais que apresentassem distúrbios clínicos em decorrência do emprego da ciclosporina e que necessitassem de tratamento de suporte, ou desenvolvessem comorbidades durante o ensaio.

4.4.4 Protocolo experimental

4.4.4.1 Grupos experimentais

4.4.4.1.1 Grupo tratado com ciclosporina

Grupo CP - Composto por doze cães com dermatite atópica, que receberam ciclosporina¹, 5 mg/kg, a cada 24 horas, por via oral, durante 60 dias, sempre realizada com o animal em jejum de no mínimo duas horas (Tabela 1).

¹ **Ciclosporina 25mg** (laboratório: Cipla, lote: J05364, fabricação: 04/2010, validade: 03/2013). **Ciclosporina 50mg** (laboratório: Cipla, lote: J05365, fabricação: 04/2010, validade: 03/2013). Os medicamentos utilizados nos experimentos, foram cedidos pelo laboratório Vallée S.A.

Juntamente, foi administrado prednisona 0,5 mg/kg a cada 24 horas, por via oral, durante sete dias e, logo após, houve redução de sua dosagem para 0,5 mg/kg cada 48 horas por mais sete dias. A administração de ciclosporina foi mantida como monoterapia pelos 46 dias adicionais.

TABELA 1. Dados de identificação dos cães incluídos no estudo de eficácia com ciclosporina 5mg/kg, SID, via oral:

Identificação Nº	Tratamento	Nome	Sexo	Raça	Idade
1	ciclosporina	Estrelinha	F	Lhasa-Apso	3 anos
2	ciclosporina	Harumi	F	Yorkshire	4 anos
3	ciclosporina	Shadow	M	Shitzu	1 ano e 5 meses
4	ciclosporina	Bebel	F	Lhasa-Apso	3 anos e 5 meses
5	ciclosporina	Lunie	F	Beagle	5 anos
6	ciclosporina	Dara	F	SRD	2 anos
7	ciclosporina	Jesse	F	Cocker Spaniel	9 anos
8	ciclosporina	Vivi	F	SRD	5 anos
9	ciclosporina	Mia	F	Shitzu	2 anos e 4 meses
10	ciclosporina	Luna	F	Maltês	4 anos e 2 meses
11	ciclosporina	Mila	F	Schnauzer	3 anos e 3 meses
12	ciclosporina	Lupi	M	Poodle	10 anos e 5 meses

4.4.4.1.2 Grupo controle (prednisona)

Grupo P – Este grupo foi composto por doze cães com dermatite atópica, que receberam: Prednisona² 0,5 mg/kg, a cada 24 horas, por via oral durante sete dias. Após foi administrado prednisona 0,5 mg/kg a cada 48 horas por 14 dias e em

² **Prednisona 5mg** (laboratório: Neo Química, lote: 103233, fabricação: 04/2010, validade: 04/2012). **Prednisona 20mg** (laboratório: Neo Química, lote: 108509, fabricação: 04/2010, validade: 04/2012). Os medicamentos utilizados nos experimentos, foram cedidos pelo laboratório Vallée S.A.

seguida se manteve um protocolo de manutenção, onde a prednisona foi administrada na dose de 0,5 mg/kg a cada 72 horas durante 39 dias (tabela 2).

TABELA 2. Identificação dos cães do estudo da eficácia com prednisona.

Identificação Nº	Tratamento	Nome	Sexo	Raça	Idade
1	Prednisona	Toquinho	M	Shitzu	1 ano e 8 meses
2	Prednisona	Kiara	F	Poodle	8 anos
3	Prednisona	Elvis	M	Buldogue Inglês	3 anos
4	Prednisona	Fiona	F	Buldogue Inglês	2 anos e 5 meses
5	Prednisona	Frida	F	Dachshund	9 anos
6	Prednisona	Benji	M	Pastor Alemão	7 anos
7	Prednisona	Negrinha	F	SRD	5 anos
8	Prednisona	Tuko	M	Pinsher	8 anos
9	Prednisona	Laila	F	Schnauzer	2 anos e 8 meses
10	Prednisona	Tomy	M	Lhasa Apso	1 ano e 6 meses
11	Prednisona	Kitie	F	Lhasa Apso	7 anos e 9 meses
12	Prednisona	Roque	M	Lhasa Apso	3 anos e 3 meses

4.5 Avaliação clínica

Os proprietários dos animais foram submetidos a um questionário que constava o histórico, diagnóstico, tratamentos pregressos e resposta prévia à terapia.

Cada animal incluído no estudo foi submetido a exame clínico dermatológico pelo pesquisador, havendo completo delineamento sintomato-lesional e estabelecimento de escores pelos critérios de CADESI-03 (OLIVRY et al., 2007) (Anexo A) nos dias 0, +30 e +60 durante a administração da ciclosporina e da prednisona.

O escore de prurido foi avaliado semanalmente pelo pesquisador obedecendo aos critérios de RYBNICEK (2009) (Anexo B), entre os dias 0 e 63 do estudo.

Os dados iniciais (dia 0) bem como os dados obtidos durante os 60 dias de tratamento foram então comparados e analisados, sendo cada animal controle dele mesmo na avaliação da eficácia.

No intuito de se evidenciar a ocorrência de colateralidades, todos os animais foram submetidos a avaliações clínicas semanais, durante todo o ensaio (60 dias), a qual era composta pela avaliação dos parâmetros (peso, mucosas, tempo de preenchimento capilar, frequência cárdio-respiratória) e avaliação especial por sistemas, onde foi avaliada, mormente a pele, o sistema digestório, sistema urinário, cardiocirculatório e neurológico, sendo todos os dados compilados em uma ficha clínica de caráter individual (Apêndice A).

4.6 Análise estatística

Os dados obtidos e demonstrados em medianas dentro dos grupos foram analisados pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, seguido de teste de Dunn's, adotando-se o nível de significância de 5% ($\alpha= 0,05$). Para as análises entre os grupos foi utilizado o teste t. Todas as análises estatísticas foram realizadas com a utilização do software Graphpad Prism versão 3.0.

5. RESULTADOS

Considerando a média dos 24 animais incluídos e divididos entre os grupos com dermatite atópica, 21 cães (87,5%) eram de raça pura, dentre eles cinco cães da raça lhasa apso (20,83%), seguido com três cães pela raça shih tzu com (12,5%), dois cães das raças poodle, schnauzer e buldogue inglês (8,33%) e um animal das raças pinsher, dachshund, pastor alemão, yorkshire, beagle, cocker spaniel e maltês (4,17%). Três cães eram sem raça definida SRD (12,5%). A média em relação ao sexo, 16 (66,67%) dos animais eram fêmeas, e os outros 8 (33,33%) eram machos. A mediana do peso dos 24 cães do estudo foi de 7,300kg. e a mediana da faixa etária foi de 3 anos.

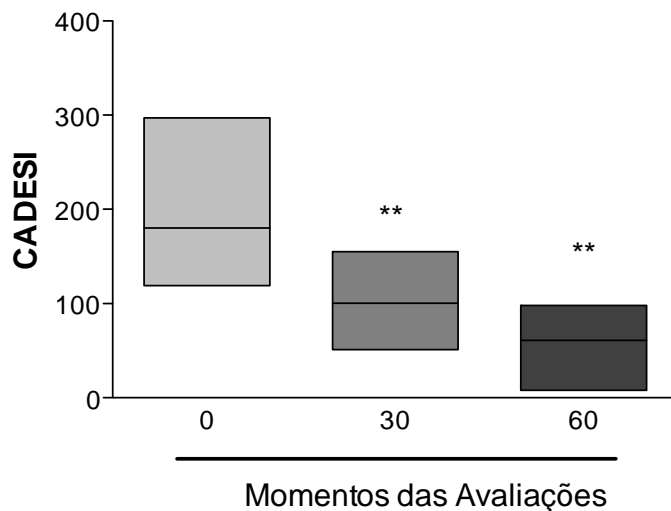
5.1 Resultados da eficácia com ciclosporina (5mg/kg)

A ciclosporina foi bem tolerada pelos animais, e não houve dificuldade na sua administração. Efeitos colaterais observados em 2 (16,67%) dos pacientes, que apresentaram episódios esporádicos de vômito durante dois dias, os quais involuíram espontaneamente, e não foram associados a novos episódios de efeitos gastroentéricos durante o restante do ensaio.

As avaliações clínicas realizadas nos animais tratados com ciclosporina não evidenciaram nenhuma alteração tegumentar compatível com farmacodermias e alterações cardiocirculatória, respiratória, hepática, urinária e ou neurológica.

Em relação à eficácia, a ciclosporina no presente estudo, de acordo com a escala de CADESI, foi responsável por uma involução sintomato-lesional no dia (+30) e no dia (+60) ($p < 0,001$) do tratamento, em relação ao dia zero (Figura 1).

FIGURA 1. Valores das medianas na análise por CADESI dos cães do grupo tratado com ciclosporina nos dias 0, +30 e +60.



**** P<0,001 em relação a avaliação no dia 0.**

As linhas dentro dos blocos representam as medianas.

Após o início do protocolo terapêutico com ciclosporina foi observado uma involução sintomato-lesional registrada pelo índice de CADESI, nos dias +30 e +60 (Figura 3 e 5), havendo diferença estatística significativa (Figura 5) aos 60 dias, com relação ao momento inicial do tratamento (Figura 2 e 4) em todos os cães.

A seguir, as Figuras 2,3,4 e 5, demonstra a involução dos sinais clínicos, dos cães tratados com ciclosporina durante os 60 dias de estudo.



Figura 2 - Cão de nº 2 da Tabela 1, da raça Yorkshire Terrier, com DAC, no dia 0 do tratamento com ciclosporina, com lesão alopécica, descamação e eritema na região perioral (setas).



Figura 3 – Mesmo animal da figura 2, no dia 60 do tratamento com ciclosporina, com remissão das lesões periorais.



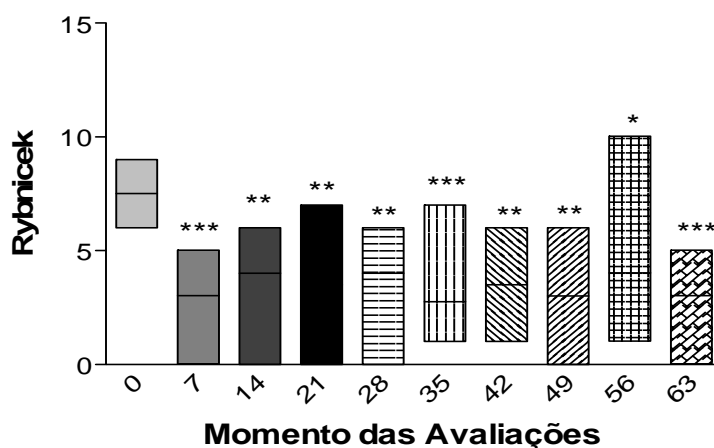
Figura 4 – Cão de nº 5 da Tabela 1, da raça beagle, com DAC, no dia 0 do tratamento com ciclosporina, com lesão, eritematosa, edema, hiperqueratose e excesso de dobras cutâneas no pavilhão auricular e estenose de conduto auditivo direito (seta).



Figura 5 – Mesmo animal da figura 4, no dia 60 do tratamento com ciclosporina, com remissão das lesões no pavilhão auricular.

Durante o tratamento dos cães com ciclosporina foi observada uma tendência de redução do escore de prurido, segundo os critérios de RYBNICEK, principalmente a partir do 7º dia e ao longo dos 63 dias de estudo, com uma redução significativa ($p < 0,001$) nos dias +7, +35 e +63, e nos dias +14, +21, +26, +42 e +49 ($p < 0,01$) e no dia +56 ($p < 0,05$) em relação ao dia zero da avaliação (Figura 6).

FIGURA 6. Valores das medianas na análise por RYBNICEK dos cães do grupo tratado com ciclosporina nos dias 0, +7, +14, +21, +28, +35, +42, +49, +56 e +63.



* $p < 0,05$ em relação ao momento 0.

** $p < 0,01$ em relação ao momento 0.

*** $p < 0,001$ em relação ao momento 0.

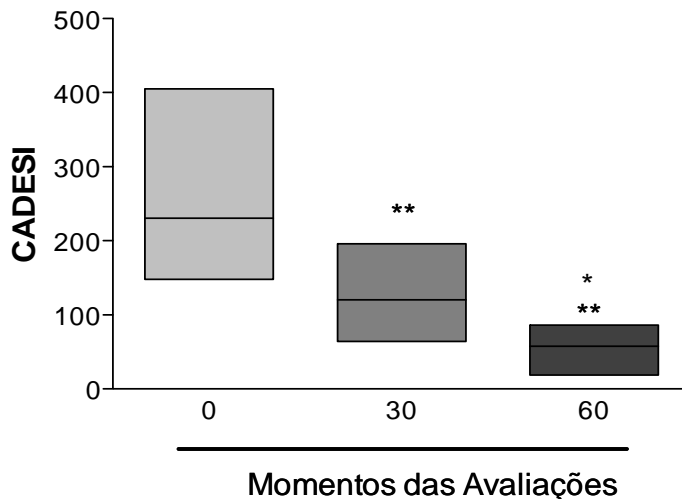
As linhas dentro dos blocos representam as medianas.

5.2 Resultados da eficácia do grupo controle (Prednisona 0,5 mg/Kg)

Após o início da administração da prednisona, polifagia foi observada em três dos 12 animais (36%), e poliúria e polidipsia foi observado em todos os cães. Nenhuma outra alteração sintomato-lesional foi observada na avaliação dos demais órgãos e sistemas.

Em relação à eficácia pela análise de CADESI no grupo controle, houve melhora sintomato-lesional no dia +30 e +60 ($p < 0,001$) e uma diferença estatística entre o dia +60 ($p < 0,05$) do tratamento em relação ao dia +30 (Figura 7).

FIGURA 7. Valores das medianas na análise por CADESI dos cães do grupo controle (prednisona) nos dias 0, +30 e +60.



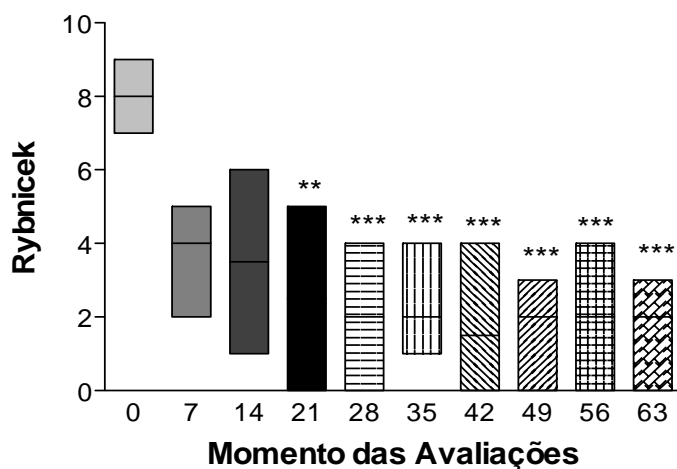
** $P < 0,001$ em relação a avaliação no dia 0.

* $P < 0,05$ em relação a avaliação no dia 30.

As linhas dentro dos blocos representam as medianas.

Os valores das medianas no escore de prurido pelos critérios de RYBNICEK dos cães tratados com prednisona foi reduzida a partir do início do tratamento e durante os 63 dias de estudo. Uma diferença significativa do escore do prurido foi observada nos dias +28, +35, +42, +49, +56 e +63 ($p < 0,001$), e no dia + 21 ($p < 0,01$) em relação ao momento inicial do tratamento (Figura 8).

FIGURA 8. Valores das medianas na análise por RYBNICEK dos cães do grupo controle (prednisona) nos dias 0, +7, +14, +21, +28, +35, +42, +49, +56 e +63.

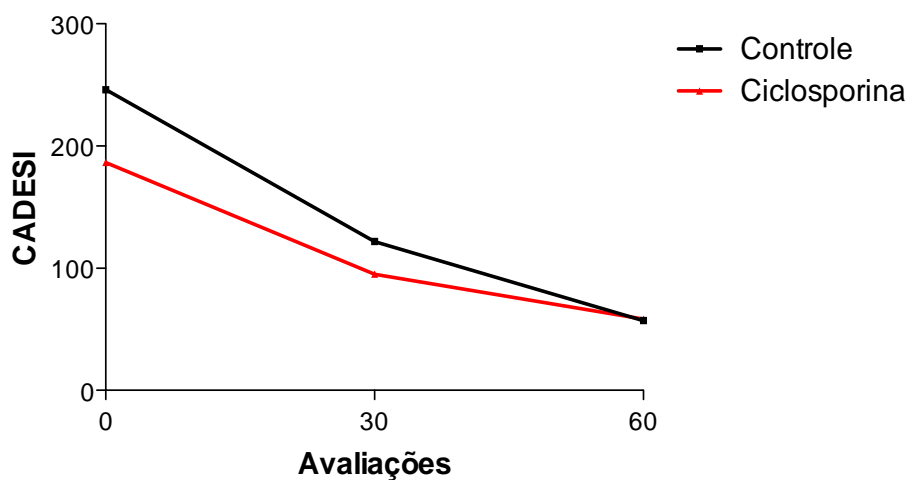


** $p < 0,01$ em relação ao momento 0;
 *** $p < 0,001$ em relação ao momento 0.

As linhas dentro dos blocos representam as medianas.

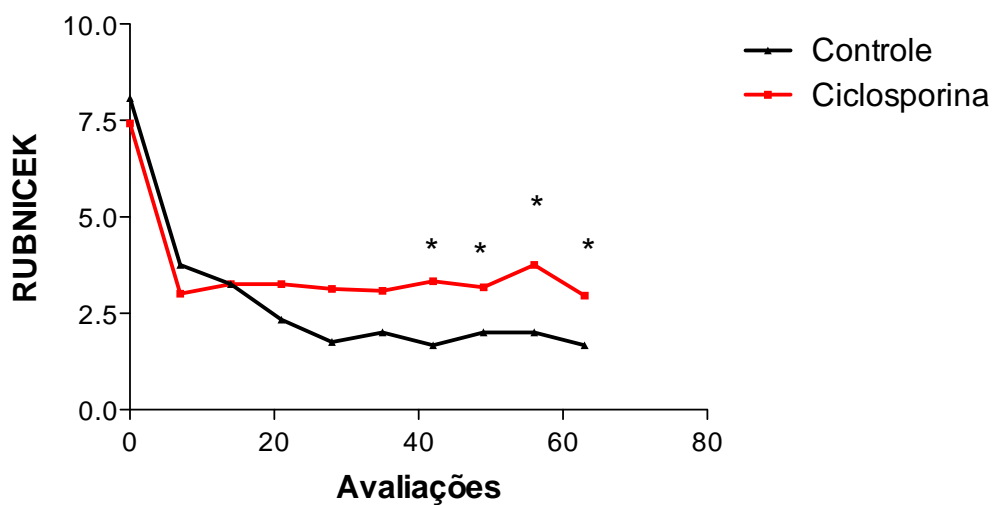
Quando se comparou os valores das medianas de CADESI entre os dois grupos P (prednisona) e CP (ciclosporina) em relação à involução sintomatológica, nenhuma diferença estatística foi observada, nos momentos de observação (Figura 9).

FIGURA 9. Comparação das medianas na análise por CADESI nos cães do grupo controle (prednisona) e do tratado com ciclosporina nos dias 0, +30 e +60.



Quando se comparou o escore de prurido segundo os critérios de RYBNICEK nos dois grupos experimentais (Figura 10), foram observadas melhores índices de controle da intensidade do prurido no grupo tratado com prednisona, em relação ao grupo com ciclosporina a partir do 42º dia de avaliação ($p < 0,05$), mantendo-se esta diferença nos dias +49, +56 e +63.

FIGURA 10. Comparação das medianas na análise por RYBNICEK dos cães do grupo tratado com prednisona, e do grupo com ciclosporina nos dias 0, +7, +14, +21, +28, +35, +42, +49, +56 e +63.



* $p < 0,05$ entre os grupos.

6. DISCUSSÃO

A evidente predisposição dos animais de raça definida para dermatite atópica ressalta a importância da herança genética, como já observado por vários autores (ROSSER, 1999; SCOTT et al., 2001; SOUSA e MARSELLA, 2001; ROOSJE, 2005; DETHIOUX, 2006; LUCAS et al., 2007; JAEGER et al., 2010), no desenvolvimento desta morbidade.

A raça mais acometida no presente estudo foi a lhasa apso (20,83%), enquanto Lucas et al., (2007) observou prevalência em poodles e Yazbek (2010) em shih tzu. Essas diferenças na predisposição racial são esperadas, como o citado por Roosje (2005) e Jaeger et al. (2010), entre países e continentes e, além disso, estas devem se alterar com o passar do tempo, em função do modismo criatório. Em adição, as variações ambientais a qual estes animais são expostos favorecem, ou não, a precipitação ou exacerbação dos sintomas clínicos associados a dermatite atópica (FARIAS, 2007).

No presente estudo pôde-se observar notável acometimento de fêmeas, contradizendo alguns estudos (BURTON et al., 2004; RADOWICZ; POWER, 2005; STEFFAN et al., 2005; FAVROT et al., 2010), pelos quais não se notou predisposição sexual, no entanto os estudos realizados por Lucas (2007) e Yazbek (2010), houve a predileção por fêmeas. Entretanto estes resultados, podem ser influenciados por modismo criatório, onde a maioria dos cães avaliados eram de pequeno porte e intradomicilados, havendo a preferência dos proprietários por fêmeas, e os mesmos julgam que o gênero está associado a um comportamento mais dócil, sendo tendencioso a predominância de cadelas.

Na dermatite atópica, o prurido antecede as lesões dermatológicas, induz a injúria mecânica dos queratinócitos, os quais liberam citocinas e quimiocinas e perpetuam a resposta inflamatória (NUTTALL et al., 2002). Isto pode ocasionar escoriações, favorecer a perda de função de barreira epidérmica e o supercrescimento bacteriano e de leveduras.

Assim, o controle do prurido crônico deve ser um dos focos principais do tratamento a longo prazo da DAC.

No presente trabalho, a involução do prurido, baseado na escala de RYBNICEK (2009) foi associada com a melhora sintomato-lesional dos pacientes, registrada pelo índice de CADESI-03 (OLIVRY et al., 2007), e demonstrou que a

ciclosporina é uma terapia eficaz, no controle da DAC e com mínimos efeitos colaterais a curto prazo.

Segundo Guaguere et al., (2004), a redução do prurido bem como a inflamação na pele, se deve principalmente ao fato da ação da ciclosporina sobre a calcineurina, que é uma proteína citoplasmática presente em diversas células, incluindo linfócitos e células dendríticas. A calcineurina atua como um fator de transcrição de interleucinas inflamatórias, tais como IL-2, IL-3, IL-4 e TNF-alfa. Esta transcrição é ativada através de um mecanismo cálcio-dependente, que inclui dois tipos de proteínas: a calmodulina e as imunofilinas.

Em adição, a ciclosporina inibe a proliferação de células de Langerhans, diminui a sobrevivência e a desgranulação de mastócitos, induz a apoptose de eosinófilos e inibe a liberação de IL-4, IL-5, TNF alfa, IL-3 e IL18, induzindo vários efeitos imunomoduladores benéficos e garantindo a melhora da sintomatologia e do prurido na dermatite atópica, sem comprometer a função imune do organismo (GUAGUERE et al., 2004).

A involução das lesões ocorreu de maneira mais acentuada nos primeiros 14 dias, quando seu uso foi associado ao de corticosteróides. A combinação de ciclosporina com baixas doses de corticosteróides orais foi utilizada no estudo até a indução de uma concentração sérica de ciclosporina capaz de sustentar seus efeitos imunomoduladores. Segundo Hillier, (2002) e Guaguere et al. (2004), isto se faz necessário devido ao fato de os efeitos satisfatórios da ciclosporina só serem observados em cães, em média a partir de 21 a 30 dias de uso contínuo. Outro fator relevante para sua associação com os corticosteróides é que sua metabolização é realizada pelo citocromo P-450 e por outros conjuntos enzimáticos oxidativos. Uma vez que os corticóides inibem a ação do citocromo P-450 hepático, este diminui a depuração de ciclosporina, aumentando seus níveis séricos (GUAGUERE et al., 2004).

No presente ensaio, mesmo com a retirada dos corticóides, a ciclosporina se manteve eficaz no controle sintomato-lesional a partir do 14^o até o 60^o dia de tratamento, coincidindo com os resultados obtidos por Fontaine e Olivry (2001); Olivry et al., (2002a,b); Burton et al., (2004); Steffan et al., (2005); Steffan et al., (2006) ; Lucas et al., (2007); Yazbek (2010).

Uma das atribuições sugeridas de sua eficácia, no presente estudo, pode ser explicada pela biodisponibilidade e absorção da ciclosporina testada, o qual se

apresenta na forma de cápsulas gelatinosas, com a formulação de ciclosporina micro-emulsificada (ME). De acordo com Guaguere et al., (2004) no homem, a biodisponibilidade da formulação em óleo vegetal é de 20-30%, já a micro-emulsificada, aumenta para 30-40%. Em cães, a formulação (ME) oferece uma biodisponibilidade de 35%, em comparação com 20-25% da formulação de óleo vegetal.

Apesar da ciclosporina ter sido capaz de manter controlados os escores de prurido dos cães com dermatite atópica, após a retirada de prednisona, a partir do 42º dia de observação, a terapia com corticosteróides reduziu o escore de prurido de forma mais significativa, devido a sua maior amplitude na cascata de inflamação sobre o sistema imunológico, diferente da ciclosporina, que age de forma seletiva, principalmente em linfócitos.

Com a ciclosporina, entretanto, o índice de redução de prurido com foi considerado adequado pelos proprietários e pela avaliação médica dos pacientes. Em contrapartida, a terapia com corticóide é comumente associada com efeitos colaterais a curto e em longo prazo, e seus índices de redução de prurido não se sustentam com seu uso contínuo, devido à taquifilaxia orgânica, o que induz ao seu uso contínuo e abusivo pelo médico veterinário ou pelos proprietários e reduz a expectativa de vida dos cães (HILLIER, 2002; GUAGUÈRE et al., 2004; DEL ROSSO et al., 2005), fato não observado com o uso de ciclosporina.

7. CONCLUSÕES

- A ciclosporina foi responsável por uma involução e controle sintomato-lesional e no prurido, mostrando-se eficaz no tratamento de cães com dermatite atópica.
- A ciclosporina demonstrou eficácia no tratamento da dermatite atópica canina, com a involução e controle sintomato-lesional no grupo de cães testados, quando comparado ao grupo de cães tratados com prednisona.
- A ciclosporina não demonstrou efeitos colaterais significativos durante o período de estudo em cães.

CAPÍTULO 3

1 ESTUDO DA SEGURANÇA DA CICLOSPORINA EM CÃES HÍGIDOS.

(Study of the Safety of cyclosporine in healthy dogs)

RESUMO

A ciclosporina (CsA) é um metabólito, polipeptídeo cíclico, lipossolúvel, derivado do fungo *Tolypocladium inflatum gams*. Na medicina veterinária, a sua indicação é no controle de doenças imunomediadas e autoimunes, principalmente a dermatite atópica canina. A CsA atua em diferentes células, mas a sua principal ação é sobre os linfócitos T, induzindo rapidamente a uma imunossupressão reversível pela inibição do antígeno, desencadeada na fase inicial de ativação de CD4+ em Linfócitos T. Esta imunossupressão faz o bloqueio da transcrição de genes e de calcineurina que codificam várias citocinas, em especial a interleucina (IL-2). O objetivo deste estudo foi avaliar a segurança da ciclosporina (CsA) em cães hígidos. Para o estudo, foram selecionados doze cães, maiores de um ano de idade, de ambos os sexos, independente da raça. Estes animais foram divididos em dois grupos. O grupo C5 foi composto por seis cães e submetido à administração de ciclosporina 5 mg/kg/dia, e o grupo C10, foi composto por outros seis cães, que receberam ciclosporina 10 mg/kg/dia. A administração de ciclosporina em ambos os grupos, se estendeu durante 60 dias. A segurança do uso de CsA foi estimada através de avaliações clínicas semanais da pressão arterial, sistema tegumentar, respiratório, linfohematopoiético, neurológico, digestório e urinário. Exames laboratoriais através do perfil hematológico, urinário e bioquímico sérico nos dias zero, +15, +30, +45 e +60 após a administração de CsA. Os dados foram analisados por delineamentos paramétricos, através do teste t entre os grupos e ANOVA (one-way) dentro do grupo adotando-se o nível de significância de $\alpha = 5\%$. Em 16,67% dos cães foi observado vômitos ocasionais que involuíram espontaneamente. Não foi observado alterações na pressão arterial sistêmica, nefrotoxicidade e necrose hepatocelular, juntamente nos demais sistemas avaliados a ciclosporina não mostrou indícios de alteração. A ciclosporina foi um medicamento seguro para uso em cães na dose de 5 a 10 mg/kg por dia durante 60 dias.

Palavras-chave: Imunossupressor, Exames Laboratoriais, Inibidor de Calcineurina

ABSTRACT

Cyclosporine (CsA) is a metabolite, soluble polypeptide cyclic, derived from the fungus *Tolypocladium inflatum* gams. In veterinary medicine, it is indicate for the control of autoimmune and immune-mediated diseases, especially canine atopic dermatitis. CsA acts in different cells, but their main action is on T lymphocytes, inducing rapidly immune suppression that is reversible based on the inhibition of the antigen, triggered in the initial activation of CD4 + in T lymphocytes. This immune suppression causes the block transcription of genes and calcineurin responsible for the encoding of several cytokines, particularly interleukin (IL-2). The aim of this study was to evaluate the safety of cyclosporine (CsA) in healthy dogs. It was selected twelve dogs older than one year of age, of both sexes, regardless of race. These animals were divided into two groups. The C5 group was composed of six dogs and subjected to administration of cyclosporin 5 mg / kg / day, and the C10 group was composed of six other dogs that received cyclosporine 10 mg / kg / day. Administration of cyclosporin in both groups was extended for 60 days. The safety of the CsA's use was estimated by weekly clinical examinations of blood pressure, and integumentary, respiratory, lymphohematopoietic, neurological, digestive and urinary systems. Laboratory tests were provided via hematological, biochemical serum and urinary profile on days zero, 15, 30, 45 and 60 after administration of CsA. Data were analyzed by parametric designs, by Student t – test among groups and ANOVA (one-way) within the group, adopting a significance level of $\alpha = 5\%$. In 16.67% of the dogs was observed occasional vomiting that involuted spontaneously. There was no change on blood pressure, nephrotoxicity and hepatocellular necrosis, as well as comparing all the other systems evaluated cyclosporine showed no signs of modification. Cyclosporine is a safe drug for use in dogs with a daily dosage of 5 to 10 mg / kg for 60 days.

Keywords: Immunosuppressant, Laboratory Tests, Calcineurin Inhibitor

2. OBJETIVO GERAL

O presente estudo teve como objetivo avaliar a segurança da ciclosporina em cães hígdos.

2.1 Objetivos específicos

- Avaliar o aparecimento de alterações clínicas tegumentares, respiratórias, neurológicas, cardiocirculatórias, gastroentéricas, hepáticas e urinárias relacionadas ao uso da ciclosporina;
- Avaliar alterações no perfil hematológico, urinário e bioquímico sérico em relação à excreção renal com perda protéica, índices de colestase, degeneração/necrose e função hepatocelular;
- Avaliar alterações na pressão arterial sistêmica associadas ao uso da ciclosporina.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Comitê de ética

O estudo respeitou a Resolução Normativa No. 1, de 9 de Julho de 2010, que dispõe sobre a instalação e o funcionamento das Comissões de Ética no Uso de Animais (CEUA), sob protocolo nº 588 (Anexo H), obedecendo as normas de Boas Práticas Clínicas.

3.2 Local do estudo

O estudo foi realizado no canil experimental da Unidade Hospitalar para Animais de Companhia da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR).

3.3 Delineamento experimental

Foi realizado um estudo longitudinal e randomizado para avaliar a segurança da ciclosporina em cães hígdos.

3.4 Animais utilizados no estudo

Foram utilizados 12 cães no estudo de segurança, todos oriundos do canil experimental da Unidade Hospitalar para Animais de Companhia da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR), e foram mantidos em canis individuais com área comum de solário, alimentados com ração Proplan[®] Purina e mantidos com água *ad libidum*.

3.4.1 Critérios de inclusão

Cães maiores de um ano de idade, de ambos os gêneros, independente da raça, hípidos e sem alterações clínicas ou laboratoriais de doenças sistêmicas.

3.4.2 Critérios de exclusão

- Animais que tivessem recebendo outras terapias medicamentosas;
- Animais portadores de doenças sistêmicas, que necessitassem de tratamento contínuo (diabetes, hiperadrenocorticismos, epilepsia);
- Cadelas gestantes ou lactantes;
- Cães com menos de um ano de idade ou com peso corporal inferior a 4 kg;
- Cães com degeneração ou necrose hepatocelular, definida como AST ou ALT com valores acima de três vezes maiores ao limite superior;
- Cães com insuficiência hepática associada à diminuição da albumina sérica ou dos índices de uréia;
- Cães com doença renal progressiva identificada por proteinúria e alterações nos índices séricos da ureia, creatinina e densidade urinária;
- Cães com grave neutropenia, definida como uma contagem absoluta de neutrófilos inferior a 2000 cel/mm³.

3.5 Protocolo experimental

Duas semanas antes do início do experimento os animais selecionados permaneceram no canil experimental, recebendo o mesmo manejo geral, a fim de

passarem por uma adaptação ambiental, e foram vermífugados no dia (-14) para evitar que reações decorrentes de verminose como anorexia, vômito, diarreia e emaciação fossem confundidos com colateralidades relacionadas ao tratamento.

Os animais selecionados para a avaliação da segurança passaram por completo exame clínico e laboratorial (hemograma completo, exames bioquímicos, exame de urina, aferição da pressão arterial sistêmica), uma semana antes do início do ensaio, na intenção de identificar alguma enfermidade que pudesse interferir no estudo.

3.5.1 Grupos experimentais

Os animais foram divididos em dois grupos de acordo com a dosagem de ciclosporina¹ administrada em cada grupo respectivamente, **grupo C5** (5mg/kg a cada 24 horas) e **grupo C10** (10mg/kg a cada 24 horas).

A dose utilizada neste estudo foi baseada nos dados desenvolvidos por OLIVRY et al. (2002a) para o controle da dermatite atópica em cães.

3.5.1.1 Grupo C5

Composto por seis animais saudáveis (Tabela 1) que receberam ciclosporina¹ na dose de 5 mg/kg a cada 24 horas, por via oral durante 60 dias.

Estes animais receberam o medicamento em jejum de no mínimo duas horas, com o objetivo de aumentar a absorção da ciclosporina, já que esta pode ser influenciada se for fornecida junto à alimentação.

3.5.1.2 Grupo C10

Composto por seis animais saudáveis (Tabela 1) que receberam ciclosporina¹ na dose de 10 mg/kg a cada 24 horas, por via oral durante 60 dias. Estes animais também receberam o medicamento em jejum de no mínimo 2 horas.

¹ **Ciclosporina 25mg** (laboratório: Cipla, lote: J05364, fabricação: 04/2010, validade: 03/2013). **Ciclosporina 50mg** (laboratório: Cipla, lote: J05365, fabricação: 04/2010, validade: 03/2013). Os medicamentos utilizados nos experimentos, foram cedidos pelo laboratório Vallée S.A.

TABELA 1. Identificação dos cães do estudo de segurança da ciclosporina, na dose de 5 mg/kg e 10 mg/kg.

Identificação Nº	Tratamento	Nome	Sexo	Raça	Idade
1	ciclosporina 5 mg/kg	Amy	F	SRD	4 anos
2	ciclosporina 5 mg/kg	Pingo	M	SRD	6 anos
3	Ciclosporina 5 mg/kg	Florbelo	M	SRD	3 anos
4	ciclosporina 5 mg/kg	Fran	F	SRD	3 anos
5	ciclosporina 5 mg/kg	Margot	F	SRD	3 anos
6	ciclosporina 5 mg/kg	Linda	F	SRD	2 anos
7	ciclosporina 10 mg/kg	Raposa	F	SRD	5 anos
8	ciclosporina 10 mg/kg	Panda	M	SRD	4 anos
9	ciclosporina 10 mg/kg	Porca	F	SRD	2 anos
10	ciclosporina 10 mg/kg	Medrosa	F	SRD	3 anos
11	ciclosporina 10 mg/kg	Diadorin	F	SRD	2 anos
12	ciclosporina 10 mg/kg	Holandesa	F	SRD	4 anos

3.5.2 Avaliações clínicas

Todos os animais foram submetidos a exame clínico diariamente, durante todo o período do ensaio (60 dias), e todas as alterações observadas documentadas em ficha clínica individual (apêndice B). Em cada paciente foram observados parâmetros gerais e a presença de perda de peso, letargia ou prostração, hiporexia ou anorexia, náusea, vômitos, diarreia e desidratação.

Avaliações clínicas (geral e especial) de todos os parâmetros fisiológicos (peso, mucosas, pele e anexos, estado de hidratação, tempo de preenchimento capilar, frequência cardíaca e respiratória), além de exame clínico dermatológico, avaliação do sistema respiratório, cárdiocirculatório, digestório e genito-urinário foram realizadas, quinzenalmente.

Em adição, os animais foram submetidos à avaliação da pressão sanguínea sistêmica semanalmente e sete dias após o término da administração de ciclosporina.

A aferição da pressão arterial foi realizada com o cão em decúbito lateral, sobre a artéria cefálica, pelo método indireto de aferição, com o uso do aparelho Doppler, esfigmomanômetro e manguitos de tamanhos que variam de acordo com a circunferência do membro torácico, ilustrados respectivamente nos Anexos C, D e E. O cálculo para a determinação do tamanho do manguito foi baseado na fórmula:

$$[0,4 \times \text{circunferência do membro torácico}]$$

Para cada cão foram realizadas, no mínimo, três mensurações consecutivas em ambiente calmo, sendo registrada e considerada a média destas. Foram classificados como hipertensos os cães com PAS igual ou superior a 160 mmHg conforme descrito por Elliot (2006).

3.5.3 Avaliações laboratoriais

Todos os exames laboratoriais foram realizados no Laboratório de Patologia Clínica Veterinária da Unidade Hospitalar de Animais de Companhia da PUCPR.

Para avaliar a segurança da ciclosporina foram coletadas amostras de sangue de todos os animais nos dias 0, +15, +30, +45 e +60 após o início do ensaio. Após a obtenção, as amostras de sangue foram acondicionadas em frascos apropriados para realização de hemograma completo (tubos com ácido etileno diaminotetraacético – EDTA) e de exames bioquímicos séricos.

Os métodos laboratoriais adotados para provas bioquímicas foram:

- Para avaliação de colestase: fosfatase alcalina (Bowers Mc Comb modificado);
- Para avaliação de necrose hepatocelular: ALT (Reitman e Frankel), AST (Reitman e Frankel);
- Para avaliação de função hepática: proteína total (Biureto) e albumina (verde de Bromocresol);
- Para avaliação da função renal: uréia (Enzimático – Colorimétrico) e creatinina (picrato alcalino);

- Para avaliação do equilíbrio iônico: potássio iônico (íon seletivo), sódio iônico (íon seletivo), cálcio iônico (íon seletivo), fósforo (Gomory).

3.5.4 Exame de urina e avaliação da razão proteína/creatinina urinárias (RPC)

Os pacientes foram submetidos a coletas de amostras de urina para realização da urinálise. A técnica asséptica de cistocentese foi o método de predileção para coleta de urina, com o objetivo de excluir a proteinúria pós-renal (ETTINGER e FELDMAN, 2010). A coleta foi realizada através de uma seringa descartável e estéril de 10 mL, com uma agulha hipodérmica 37:6. Todas as amostras foram colhidas com auxílio de exame ultrassonográfico. Em seguida os tubos com amostras de sangue e as seringas com urina, foram encaminhados ao Laboratório de Análises Clínicas da UHAC (PUCPR) onde foram imediatamente processadas seguindo as técnicas padronizadas para uso diagnóstico.

O método colorimétrico utilizado para a determinação da proteína urinária foi o corante azul brilhante de Coomassie G – 250 pela técnica descrita por Bradford (1976). Concomitantemente, foi determinada a concentração urinária de creatinina utilizando reação de picrato alcalino em um analisador bioquímico semiautomático (QUICK LAB – DRAKE®). Segundo Grauer (2005), em cães não azotêmicos, o valor normal da razão proteína e creatinina urinária (RPC) seria menor que 0,5 e valores da RPC maior que 1,0 seriam anormais ou patológicos, sendo que estes valores foram utilizados como referência na interpretação do presente estudo.

3.5.5 Descrição das atividades realizadas por dia experimental

TABELA 2. Atividades com os cães submetidos ao tratamento.

Dia experimental	Atividade realizada
- 14	Duas semanas antes do ensaio, todos os cães foram vermifugados com o produto Canex [®] (laboratório: CEVA, lote: J05364, fabricação: 04/2010, validade: 03/2013).
- 7	Triagem – Exame clínico, aferição da pressão arterial e coleta de sangue (hemograma completo, exames bioquímicos: fosfatase alcalina, ALT, AST, potássio iônico, sódio iônico, cálcio iônico, fósforo, uréia e creatinina, proteína total e albumina e urinálise).
0 (zero)	Exame clínico, aferição da pressão arterial e coleta de sangue (hemograma completo, exames bioquímicos: fosfatase alcalina, ALT, AST, potássio iônico, sódio iônico, cálcio iônico, fósforo, uréia e creatinina, proteína total e albumina; urinálise).
+7	Aferição da pressão arterial sistêmica.
+14	Aferição da pressão arterial sistêmica.
+ 15	Exame clínico, aferição da pressão arterial sistêmica e coleta de sangue (hemograma completo, exames bioquímicos: fosfatase alcalina, ALT, AST, potássio iônico, sódio iônico, cálcio iônico, fósforo, uréia e creatinina, proteína total e albumina; urinálise).
+ 21	Aferição da pressão arterial sistêmica.
+ 28	Aferição da pressão arterial sistêmica.
+ 30	Exame clínico, aferição da pressão arterial e coleta de sangue (hemograma completo, exames bioquímicos: fosfatase alcalina, ALT, AST, potássio iônico, sódio iônico, cálcio iônico, fósforo, uréia e creatinina, proteína total e albumina; urinálise).
+ 35	Aferição da pressão arterial sistêmica.
+ 42	Aferição da pressão arterial sistêmica.
+ 45	Exame clínico, aferição da pressão arterial e coleta de sangue (hemograma completo, exames bioquímicos: fosfatase alcalina, ALT, AST, potássio iônico, sódio iônico, cálcio iônico, fósforo, uréia e creatinina, proteína total e albumina; urinálise).
+ 49	Aferição da pressão arterial sistêmica.
+ 56	Aferição da pressão arterial sistêmica.
+ 60	Exame clínico, aferição da pressão arterial e coleta de sangue ((hemograma completo, exames bioquímicos: fosfatase alcalina, ALT, AST, potássio iônico, sódio iônico, cálcio iônico, fósforo, uréia e creatinina, proteína total e albumina; urinálise).
+ 67	Aferição da pressão arterial sistêmica.
0 a +60	Administração de ciclosporina nos grupos (C5 e C10) e avaliação clínica.

4. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados do teste de segurança foram demonstrados por meio de médias provenientes dos parâmetros hematológicos e bioquímicos analisados por delineamentos paramétricos, através do teste t entre os grupos e ANOVA (one-way) dentro do grupo adotando-se o nível de significância de $\alpha= 5\%$. Foi utilizado o software GraphPad Prism, versão 3.0.

5. RESULTADOS

O produto foi bem tolerado pelos animais dos dois grupos (C5 e C10) e não houve dificuldade na sua administração.

Registra-se que um animal, do grupo C10, foi excluído durante o estudo, devido a diagnóstico de gestação no trigésimo dia de administração de ciclosporina. Entretanto, não foram observados efeitos colaterais ou teratogênicos na ninhada, devido ao uso de ciclosporina.

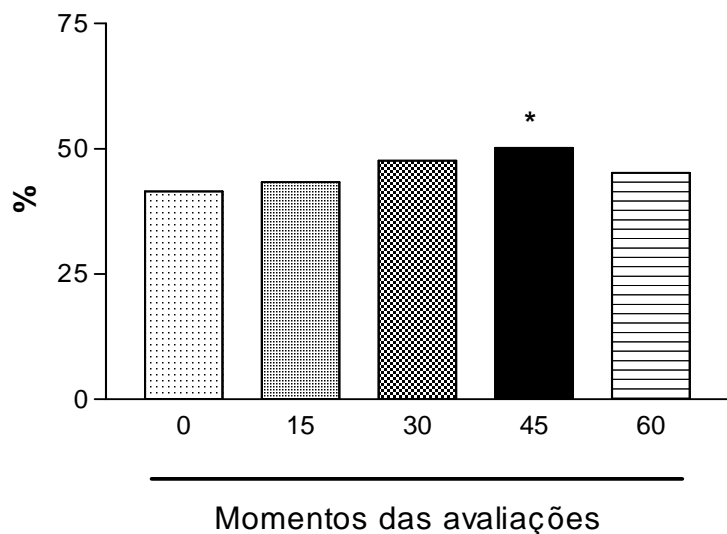
Em relação aos efeitos colaterais, após a administração da ciclosporina, 16,67% dos pacientes, ou seja, 2(12) cães, pertencentes ao grupo C5, apresentaram episódios esporádicos de vômito durante dois dias, porém após a manutenção da administração da ciclosporina, estes sintomas involuíram espontaneamente, não havendo novos episódios de efeitos gastroentéricos durante o restante do ensaio. Nos animais do grupo C10, não houve evidência de efeitos colaterais.

Durante as avaliações clínicas, alterações tegumentares, renais, hepáticas, cardiocirculatórias, respiratórias e neurológicas não foram observadas nos animais tratados com ciclosporina, nas doses de 5 e 10 mg/kg durante todo tempo de observação experimental.

De acordo com as avaliações laboratoriais, os valores de eritrograma, leucograma, bioquímicos séricos, urinálise, creatinina e proteína urinária, bem como a relação entre as duas frações, dos cães tratados com ciclosporina, dos grupos C5 e C10, nos dias 0, +15, +30, +45 e +60 do estudo, mantiveram-se dentro dos valores normais, não havendo alteração significativa nestes parâmetros. Algumas alterações laboratoriais observadas dentro de cada grupo (C5 e C10), ou a comparação entre eles, foi evidenciada de acordo com as figuras 1,2,3,4,5,6,7 e 8, porém estes resultados não ultrapassaram os valores limítrofes fisiológicos de cada parâmetro analisado.

Oscilações entre os valores das médias do hematócrito foram observadas nos cães tratados com ciclosporina 5 mg/kg, mormente no dia +45 ($p < 0,05$) (Figura 1), porém estes permaneceram dentro da normalidade.

FIGURA 1. Valores das médias do hematócrito dos cães do grupo tratado com ciclosporina 5 mg/kg nos dias 0, +15, +30, +45 e +60.

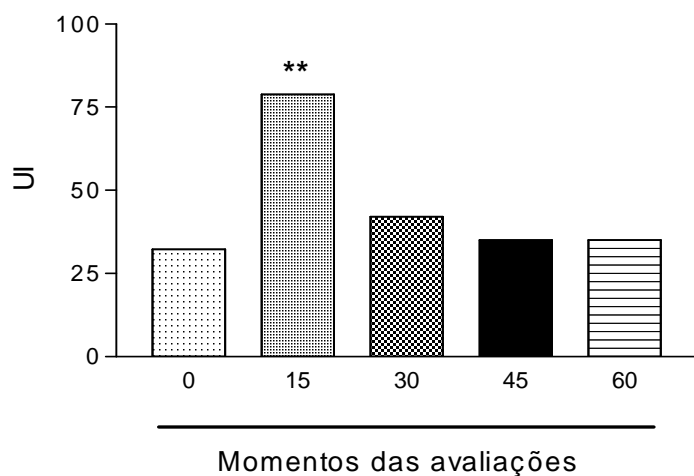


* $p < 0,05$ em relação ao momento 0.

Em relação à pressão arterial sistêmica do Grupo C5, não houve diferença ($p < 0,05$), entre as datas sequenciais de mensuração, em relação ao dia zero.

Os valores das médias de fosfatase alcalina dos cães tratados com ciclosporina 10 mg/kg (Figura 2), tiveram um aumento significativo ($p < 0,01$) no momento +15 da avaliação em relação ao dia zero, porém estes valores ainda se mantêm normal e reduzindo no momento +30 até o final do experimento.

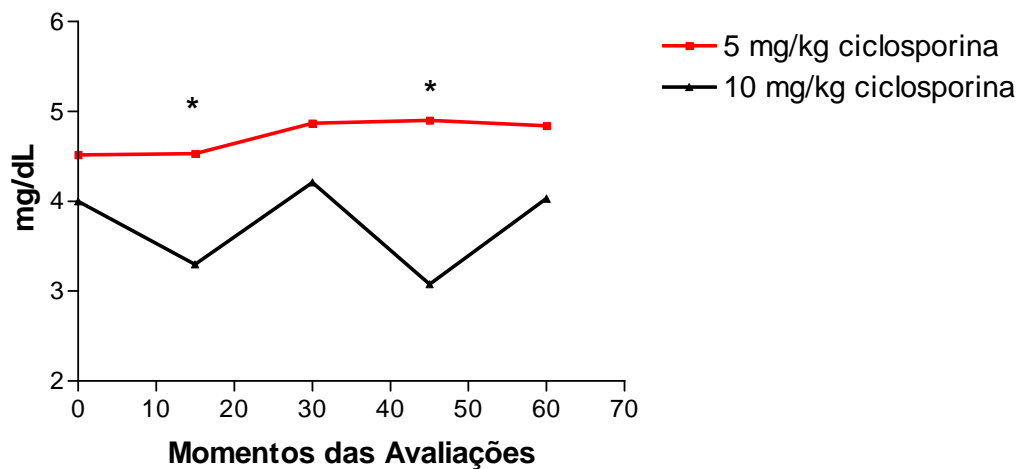
FIGURA 2. Valores das médias da fosfatase alcalina dos cães do grupo ciclosporina 10 mg/kg nos dias 0, +15, +30, +45 e +60.



** $p < 0,01$ em relação ao momento 0.

Quando se comparou os valores das médias de fósforo (Figura 3) entre os cães dos grupos tratados com ciclosporina, 5 e 10 mg/kg, houve diferença significativa ($p < 0,01$) principalmente nos momentos +15 e +45 das avaliações. Vale ressaltar que mesmo havendo diferença entre os grupos, o aumento observado nos níveis de fósforo está dentro da normalidade de valores limítrofes para a espécie.

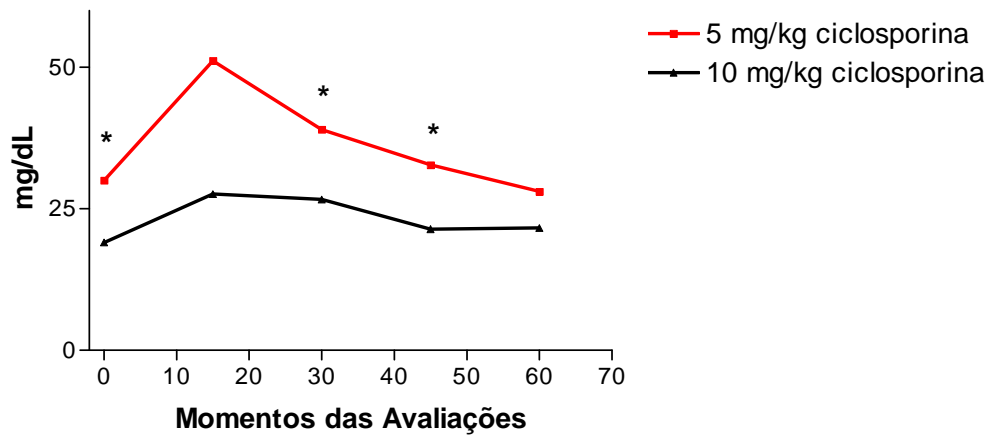
FIGURA 3. Comparação das médias nos valores de fósforo dos cães do grupo tratado com ciclosporina 5 e 10 mg/kg nos dias 0, +15, +30, +45 e +60.



* $p < 0,01$ em relação a dose 10 mg/kg.

A Figura 4 mostra a comparação entre os valores das médias de uréia dos cães dos grupos tratados com ciclosporina, 5 e 10 mg/kg, e pode-se observar diferença significativa entre os dois grupos ($p < 0,01$) nos momentos zero, +30 e +45, porém este aumento não ultrapassa os valores normais de uréia para cães.

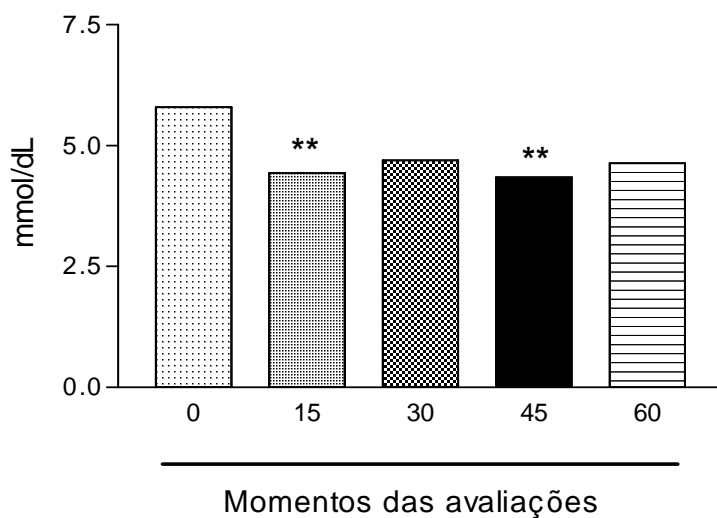
FIGURA 4. Comparação das médias nos valores de uréia dos cães do grupo tratado com ciclosporina 5 e 10 mg/kg nos dias 0, +15, +30, +45 e +60.



* $p < 0,01$ em relação a dose 10 mg/kg.

A Figura 5 demonstra os valores das médias de potássio iônico dos cães tratados com ciclosporina 10 mg/kg, o qual teve uma redução significativa ($p < 0,01$) nos momentos +15 e +45 da avaliação em relação ao dia zero, no entanto estes valores se mantêm dentro da normalidade de valores de potássio iônico para cães.

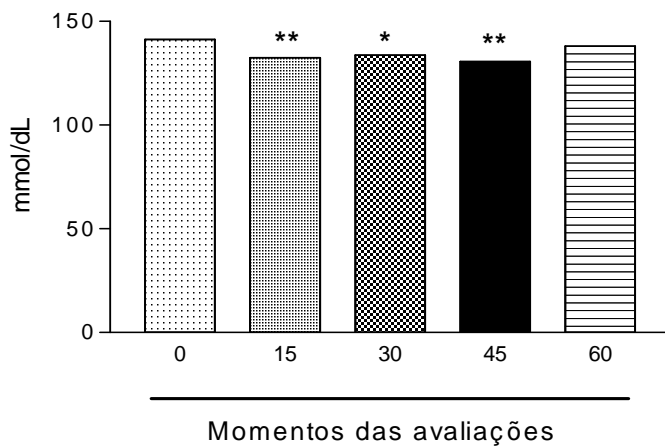
FIGURA 5. Valores das médias de potássio iônico dos cães do grupo ciclosporina 10 mg/kg nos dias 0, +15, +30, +45 e +60.



** $p < 0,01$ em relação ao momento 0.

Os valores das médias de sódio iônico dos cães do grupo ciclosporina 10 mg/kg (Figura 6), demonstraram uma redução significativa nos momentos +15 ($p<0,01$) a +30 ($p<0,05$) das avaliações em relação ao dia zero, entretanto estes valores mesmo reduzidos ainda se mantêm dentro dos valores de sódio iônico para cães.

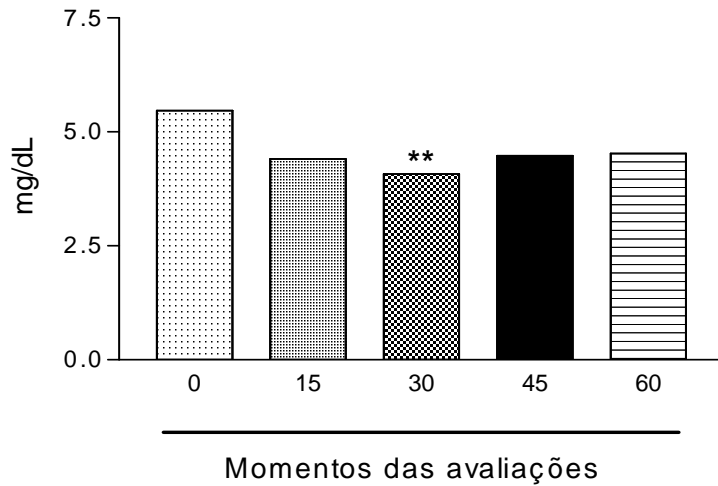
FIGURA 6. Valores das médias de sódio iônico dos cães do grupo ciclosporina 10 mg/kg nos dias 0, +15, +30, +45 e +60.



** $p<0,01$; * $p<0,05$ em relação ao momento 0.

A análise dos valores das médias de cálcio iônico dos cães do grupo ciclosporina 10 mg/kg (Figura 7) demonstra uma redução ($p<0,01$) no momento +30 da avaliação em relação ao dia zero, porém estes valores ainda se mantêm dentro dos valores normais de cálcio iônico dos cães.

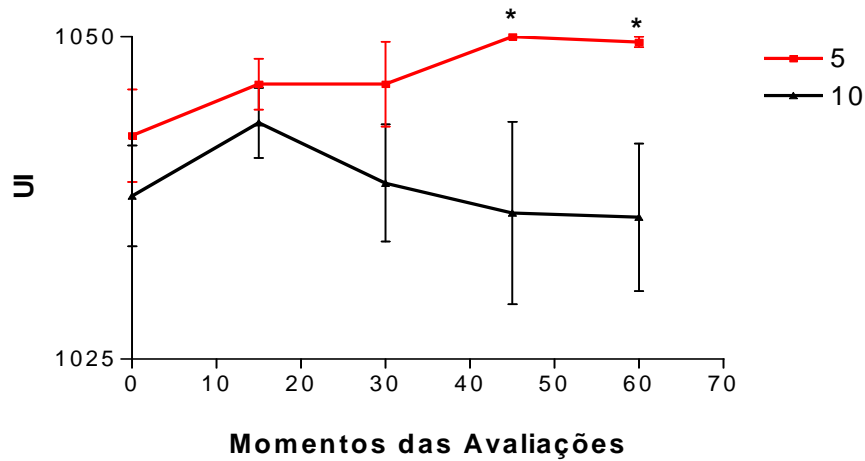
FIGURA 7. Valores das médias de cálcio iônico dos cães do grupo ciclosporina 10 mg/kg nos dias 0, +15, +30, +45 e +60.



** $p < 0,01$ em relação ao momento 0.

A comparação entre os valores das médias de densidade urinária dos cães dos grupos tratados com ciclosporina (5 mg/kg e 10 mg/kg) mostrou um aumento significativo ($p < 0,01$) no grupo C5 (5 mg/kg) de ciclosporina, principalmente nos momentos das avaliações +45 e +60, em relação ao grupo C10 (10 mg/kg) de ciclosporina (Figura 8).

FIGURA 8. Comparação das médias dos valores de densidade urinária dos cães do grupo tratado com ciclosporina 5 e 10 mg/kg nos dias 0, +15, +30, +45 e +60.



* $p < 0,01$ em relação a dose de 10 mg/kg.

Os resultados obtidos das médias na aferição da pressão arterial sistêmica do Grupo C10, não revelaram diferença estatística ($p < 0,05$), entre as datas sequenciais de mensuração do grupo, em relação ao dia zero, na pressão arterial sistêmica (PAS).

Em adição, foi comparado as médias de PAS entre os dois grupos (Grupo tratado com ciclosporina 5 mg/kg e grupo tratado com 10 mg/kg), os quais não revelaram diferenças estatísticas significativas entre os grupos.

6. DISCUSSÃO

No que se refere aos efeitos colaterais, nos dois grupos de cães (C5 e C10), foram observados distúrbios gastroentéricos (vômitos), em 2 (16,67%) dos pacientes, entretanto, estes foram esporádicos e com duração de dois dias, os quais involuíram espontaneamente, sem a interrupção do tratamento ou auxílio de outros medicamentos. Corroborando com outros estudos que descreveram que reações adversas gastroentéricas associadas a ciclosporina são comuns e prevalecem em relação a outros sintomas, porém geralmente são discretas, transitórias e não exigem tratamento ou interrupção precoce da terapia (FONTAINE e OLIVRY, 2001; OLIVRY et al., 2002a,b; ROBSON e BURTON, 2003; BURTON et al., 2004; RADOWICZ e POWER, 2005; STEFFAN et al., 2005; STEFFAN et al., 2006; LUCAS et al., 2007; YASBEK, 2010).

A causa deste efeito colateral, não está elucidada. Sugere-se que devido ao perfil de dispersão das moléculas do fármaco no intestino delgado (diâmetro médio e distribuição do tamanho das partículas), a disponibilidade de ciclosporina (pico de concentração) depende principalmente da atividade da proteína transportadora intestinal p-glicoproteína (P-gp) e do metabolismo das isoenzimas CYP3A4 e CYP3A5. A expressão de CYP3A, P-gp, e CYP3A está sujeita a polimorfismo genético, que pode afetar as necessidades individuais de dosagem e sua absorção (GUAGUERE et al., 2004). A associação destes fatores, podem estar correlacionados a ocorrência de efeitos gastroentéricos, principalmente vômitos.

Em adição, a variabilidade individual fisiológica de emulsificantes naturais como os sais biliares, o tipo de alimentação, alterações da funcionalidade gastrointestinal podem eventualmente ocasionar desequilíbrios na absorção da CsA e acarretar efeitos gastroentéricos (vômitos e diarréias).

Outro fator importante, preconizado neste estudo, e que pode estar relacionado principalmente às crises eméticas, foi a administração da ciclosporina em jejum em ambos os grupos (C5 e C10), já que em cães, assim como na formulação (ME), a absorção é ligeiramente retardada quando o medicamento é administrado com alimentos, e a variabilidade individual é aumentada. Deste modo, recomenda-se que a ciclosporina seja administrada duas horas antes ou após a alimentação (GUAGUERE et al., 2004).

Outros efeitos adversos relacionados ao uso da CsA como diarreia, papilomas, hirsutismo, inapetência e hiperplasia gengival não foram evidenciados durante o período do estudo. Acredita-se, que estes efeitos podem estar correlacionados com terapias em tempos maiores ao do estudo realizado (60 dias).

De acordo com Radowicz e Power (2005) no seu estudo retrospectivo com 51 cães com DAC, submetidos de 6 a 30 meses de terapia com CsA, 11 animais (22%) apresentaram um ou mais efeitos colaterais com o uso da ciclosporina, tais como: vômitos (quatro; 36%), diarreia (cinco; 45%), letargia/inapetência (quatro; 36%). Além disso, três (27%) apresentaram hirsutismo generalizado (Labrador, Keeshond e Irish setter), um cão (9%) desenvolveu papilomas orais após 30 dias de tratamento e, finalmente, um cão (9%) desenvolveu hiperplasia gengival, após 15 meses de submissão à terapia, todos confirmados através de exame histopatológico.

Yazbek (2010) relatou em seu estudo, durante 60 dias de administração de CsA, dois casos de hirsutismo e uma alta taxa de efeitos adversos ligados ao sistema gastroentérico (episódios eméticos, tenesmo, diarreia e disorexia, principalmente, após os primeiros 15 dias de terapia, uma vez que nesse exato momento, 18 (85,7%) dos 21 animais apresentaram efeitos adversos. Após 30 e 60 dias, respectivamente, a frequência reduziu-se para 61,9% e 52,4%.

Em relação aos exames laboratoriais, foi possível observar que a ciclosporina nas doses empregadas de 5mg/kg e 10mg/kg, não foi responsável por alterações significativas nos diversos sistemas avaliados.

Oscilações nos valores do hematócrito foram observadas nos cães tratados, porém estes permaneceram dentro da normalidade. Estas podem estar relacionadas ao fornecimento de uma ração regular de alta qualidade, em relação ao alimento fornecido anteriormente ao estudo dos animais, ou também devido a variações fisiológicas momentâneas de cada indivíduo no dia de coleta.

Em estudo realizado por Olivry et al. (2002a), 27 cães, portadores de dermatite atópica, foram divididos em dois grupos: um tratado com prednisolona (0,5 mg/kg, PO, SID), totalizando 14 cães, e outro com ciclosporina (5 mg/kg, PO, SID), totalizando 13 cães. O tempo de tratamento durou seis semanas. O hemograma, no grupo tratado com CsA ocorreu discreta leucopenia (15%), eosinofilia (15%) e eosinopenia (23%). Já no grupo tratado com prednisolona, as alterações incluíram: neutrofilia (27%), linfopenia (36%), eosinopenia (45%) os quais são consistentes

com leucograma de *stress*, geralmente observado após terapia com glicocorticóide oral.

Na avaliação hepática, no presente estudo, foi possível observar um aumento significativo da fosfatase alcalina, no entanto estes valores se mantiveram dentro do parâmetro fisiológico e não foi associado a evidências clínicas de distúrbios de vias biliares e colestase.

As alterações laboratoriais observadas por Radowicz e Power (2005) em seu estudo retrospectivo de 51 cães atópicos, recebendo CsA (5 mg/kg/dia, PO) por, no mínimo, seis meses, 13 dos cães (25%) demonstraram alterações durante o tratamento, porém nenhum sintoma estava associado a essas anormalidades, que incluíram: alterações nas enzimas hepáticas (seis), hipercolesterolemia (quatro), hipoalbuminemia associada a aumento de enzimas hepáticas (um), hipoalbuminemia associada a hipercolesterolemia (um), e hiperglicemia (um).

Segundo Guaguere et al. (2004) a CsA atinge altas concentrações no sangue, acumulando-se principalmente no fígado, pâncreas, tecido adiposo e rim, em ordem decrescente. É metabolizada exclusivamente pela cadeia de citocromos P450, no fígado, em vários metabólitos com maior polaridade, que retêm a estrutura cíclica e 94% é excretado através da bile e 6% pela urina.

Desta forma o metabolismo hepático da CsA tende a ser três vezes mais ativo em cães do que em seres humanos e essa atividade pode ser expressa pelo aumento da fosfatase alcalina nestes cães.

Segundo Guaguere et al. (2004) a nefrotoxicidade e aumento da pressão arterial são os efeitos colaterais mais preocupantes em humanos. A ciclosporina é responsável por uma vasoconstrição arteriolar renal, causando uma redução no fluxo sanguíneo renal e da filtração glomerular. O resultado da vasoconstrição da artéria aferente é a liberação de endotelina, tromboxano e ativação de sistema renina-angiotensina-aldosterona. Portanto a insuficiência renal associada a ciclosporina é secundária a alterações da hemodinâmica intra-renal.

Na avaliação da excreção renal, quando se comparou os valores de fósforo, uréia e creatinina, entre os cães dos grupos tratados com ciclosporina 5 mg/kg e 10 mg/kg, pode-se observar diferença significativa nestas frações em questão, porém os níveis de fósforo e uréia não ultrapassam os valores normais para cães. Também não foi observado alterações clínicas e laboratoriais sugestivas de necrose tubular aguda, na avaliação do sistema urinário durante os 60 dias de ensaio e a presença

significante de proteinúria nos dois grupos do estudo, indicando ausência de glomerulopatia e indução de insuficiência renal.

Em outro estudo, sinais de nefrotoxicidade também não foram observados clinicamente ou histologicamente em cães tratados com ciclosporina, mesmo com alta dose (45 mg/kg), administrada durante 52 semanas (RYFFEL, 1982). Estes resultados foram confirmados em estudos de segurança empregando doses de até 33 mg/kg por 90 dias, e nenhum estudo ou ensaio clínico revelaram aumento dos níveis séricos de creatinina, e alterações na excreção renal (CIRESI et al., 1992; OLIVRY et al., 2002a; STEAFFAN et al., 2003).

Essa variação nos efeitos tóxicos do fármaco poderia ser explicado pela excreção intracelular de CsA das células tubulares pela P-glicoproteína (P-gp), o que previne seus efeitos tóxicos e/ou pela ausência de efeito da CsA na proteína calbindina D. No homem, a concentração desta proteína nas células tubulares renais, diminui durante o tratamento com CsA, o que resulta em acúmulo de cálcio e disfunção das células tubulares. Em cães, essa função da proteína não é inibida (AICHER, 1998), o que torna a CsA menos nefrotóxica no cão do que no homem.

Em relação aos valores de potássio, sódio e cálcio iônico dos cães tratados com ciclosporina (10 mg/kg), houve uma redução significativa dos valores. De acordo com Ciresi et al.,(1992) e Fisch et al.,(1993) em cães, os estudos farmacológicos realizados com alta dose de CsA (20-30 mg/kg) mostraram apenas efeitos renais moderados, como a redução da taxa do fluxo de urina e uma redução da excreção de sódio, entretanto, todos sem alterações na função renal.

No presente estudo, todos os valores dos íons oscilaram dentro da normalidade dos parâmetros fisiológicos, e não foram associados a alterações clínicas. Estas diminuições não foram associadas à necrose glomerulotubular ou distúrbios gastroentéricos, já que não houve sinais de diarreia, iso ou hipostenúria e o exame do sedimento urinário não demonstrou proteinúria e cilindúria. Em adição não houve alterações clínicas compatíveis com hipocalcemia, hipocalcemia e hiponatremia durante todo experimento.

A hipertensão arterial é outra colateralidade associada com o uso da ciclosporina em humanos. Esta é induzida pelo aumento da atividade do sistema nervoso simpático, a inibição de óxido nítrico e um aumento intracelular Ca^{+2} , o que causa reatividade vascular a agentes vasoconstritores. Mais recentemente, tem sido

sugerida que a nefrotoxicidade pode resultar da inibição das respostas adaptativas à hipertonicidade ocorrida durante a concentração de urina (GUAGUERE et al., 2004).

Quanto à avaliação individual da pressão arterial sistêmica dos cães pertencentes ao grupo C10, foi verificada oscilações nos valores da PAS. Os animais 7,8,9,10,11 e 12 apresentaram mensurações de PAS acima do valor considerado normal segundo Elliot (2006). Os cães pertencentes a este grupo se caracterizavam com comportamentos de agitação, ansiedade e medo nos momentos da aferição da PAS. Deste modo, acredita-se que possa haver interferência nos valores obtidos nestes animais, já que os mesmos não apresentavam sinais clínicos, antes e/ou após o início do estudo que justifique o aumento da pressão arterial sistêmica.

Em relação à avaliação dos valores médios de pressão arterial sistêmica, não houve alterações significativas, ao longo dos 60 dias de terapia, nos 11 animais avaliados, coincidindo com trabalhos anteriores (LUCAS et al., 2007; YAZBEK, 2010). Estudos realizados por Ciresi et al. 1992, não mostram o aumento da pressão arterial em cães quando altas doses de CsA foram administradas em cães hípidos, e a administração oral de CsA em doses de até 33 mg/kg por 90 dias, não induziram qualquer mudança na pressão arterial sistêmica. A ausência de efeito sobre os parâmetros hemodinâmicos é confirmada em outros estudos nos quais a média da pressão arterial, ou a resistência vascular sistêmica e o débito cardíaco foram mensurados (EDWARDS, et al., 1993).

Suspeita-se que o sistema renina-angiotensina-aldosterona pode ser menos afetado pela CsA em cães em comparação ao homem (CIRESI et al., 1992), deste modo os resultados são antagônicos àqueles evidenciados em estudos com pacientes humanos (YAMADA et al., 2001).

Outro fator importante é que a metabolização da ciclosporina em sua maior parte é realizada no fígado, o qual pode ser associado a necrose hepatocelular. Ao contrario do rim, onde sua metabolização e excreção da ciclosporina são mínimas, este fator também pode estar associado ao menor risco de nefrotoxicidade.

7. CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos pode-se concluir que:

- A ciclosporina é um fármaco seguro na dose de 5 a 10 mg/kg, uma vez ao dia, por via oral, quando utilizada em cães hípidos, durante 60 dias, e não foi associada a alterações hematológicas, necrose hepatocelular, necrose tubular aguda, glomerulopatia com perda proteica e hipertensão arterial.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AICHER, L. ; WAHL, D. ; ARCE, A. *et al.* New insights into cyclosporine A nephrotoxicity by proteome analysis. **Electrophoresis**. p. 19: 1998.

AKDIS, C. A. ; AKDIS, M. ; BIEBER, T. ; BINDSLEV-JENSEN, C. ; BOGUNIEWICZ, M. ; EIGENMANN, P. ; HAMID, Q. ; KAPP, A. ; LEUNG, D. Y. M. ; LIPOZENCIC, J. ; LUGER, T. A. ; MURARO, A. ; NOVAK, N. ; PLATTS- MILLS, E. ; ROSENWASSER, L. ; SCHEYNIUS, A. ; SIMONS, E. R. ; SPERGEL, J. ; TURJANMAN, K. ; WAHN, U. ; WEIDINGER, S. ; WERFEL, T. ; ZUBERBIER, T. Diagnosis and treatment of atopic dermatitis in children and adults: European Academy of Allergology and Clinical Immunology/ American Academy of Allergy, Asthma and Immunology/ PRACTALL Consensus Report. **Journal Allergy and Clinical Immunology**, v. 118, n. 1, p. 152-169, 2006.

ALBERTO, C.; FARIAS, M. R. **Estudo retrospectivo de 65 casos de dermatite atópica canina, avaliados entre o período de janeiro de 2005 a julho de 2006 na unidade hospitalar para animais de companhia.** Curitiba, 2006. 33f. Monografia (Graduação em Medicina Veterinária)- Centro de Ciência Agrárias e Ambientais, Pontifícia Universidade Católica do Paraná.

ALLISON, A.C. Immunosuppressive drugs: the first 50 years and a glance forward. **Immunopharmacology**. v. 47, pg. 63–83, 2000.

ARLIAN, L. G. ; PLATTS-MILLS, T. A. E. Definitively diagnosing atopic dermatitis in dogs. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, (Supplement 406), v. 107, n. 3, p. 406- 413, 2001.

BIZIKOVA, P., LINDER, K. E., PAPS, J.; OLIVRY, T. Effect of a novel topical diester glucocorticoid spray on immediate- and late-phase cutaneous allergic reactions in Maltese-beagle atopic dogs: a placebo-controlled study. **Veterinary Dermatology**, v.21, p.71–80. 2009.

BOREL, J. F. Cyclosporine. In: **Textbook of Immunopharmacology**, Blackwell Scientific Publications, DaleM, Foreman JC, FanTD, Eds. Oxford,3th edition, pg. 320-330. 1994.

BRUNER, S. R. Updates in therapeutics for veterinary dermatology. **Veterinary Clinics Small Animal Practice**, v. 36, n. 1, p. 39-58, 2006.

BURTON, G.; BURROWS, A.; WALKER, R.; ROBSON, D.; BASSETT, R.; BRYDEN, S.; HILL, A. Efficacy of cyclosporin in the treatment of atopic dermatitis in dogs – combined results from two veterinary dermatology referral centres. **Australian Veterinary Journal**, v. 82, n. 11, p. 681-685, 2004.

BUSH, R. K. ; PORTNOY, J. M. The role and abatement of fungal allergens in allergic diseases. **Journal of Allergy and Clinical Immunology** (Supplement 430), v. 107, n. 3, p. 430-440, 2001.

CHEN, T. ; HILL, P. B. The biology of *Malassezia* organism and their ability to induce immune responses and skin disease. **Veterinary Dermatology**, v. 16, p. 4-26,2005.

CIRESI, D. S. L. ; LOYD, M. A. ; SANDBERG, S. M. *et al.* The sodium retaining effects of cyclosporine. **Kidney International**. v. 41.p. 689–93. 1992.

CLARKE, K., MCCALL, C., STEFFAN, J. *et al.* The effects of cyclosporine A and oral prednisolone on flea allergen specific serum IgE and intradermal tests in experimentally sensitized laboratory beagles. **Proceedings of the 18th European Society of Veterinary Dermatology**- European College Veterinary Dermatology. European Society of Veterinary Dermatology-European College of Veterinary Dermatology. p. 223. 2002.

CORK, M. J. ; ROBINSON, D. A. ; VASILOPOULOS, Y. ; FERGUSON, A. ; MOUSTAFA, M. ; MACGOWAN, A. ; DUFF, G. W. ; WARD, S. J. ; TAZI-AHNINI, R. New perspectives on epidermal barrier dysfunction in atopic dermatitis: Gene-environment interactions. **Journal Allergy and Clinical Immunology**, v. 118, n. 1, p. 3-21, 2006.

CRIADO, P. R.; CRIADO, R. F. J.; AZULAY, D. R. Pruridos, prurigos, urticária e afins. In: AZULAY, R. D.; AZULAY, D. R.; AZULAY-ABULAFIA, L. **Dermatologia**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, p. 230-257. 2008.

CURTIS, C.F.; LAMPORT, A.I.; LLOYD, D.H. Masked, controlled study to investigate the efficacy of a *Staphylococcus intermedius* autogenous bacterin for the control of canine idiopathic recurrent superficial pyoderma. **Veterinary Dermatology**, v. 17, n. 3, p. 163-168, 2006.

DAY, M. J. Immunomodulatory therapy. In: **Small Animal Clinical Pharmacology**. 2nd ed. Eds J. E. Maddison, S. W. Page and D. B. Church. Saunders Elsevier, Philadelphia, PA. p. 270-286, 2008.

DEBOER, D. J. Atopic dermatitis – developing a management plan. **North American Veterinary conference**, p. 375-378, 2008a.

DEBOER, D. J. Atopic dermatitis – IgE tests versus allergy tests. **North American Veterinary conference**, p. 372-374, 2008b.

DEBOER, D. J. Atopic dermatitis – Pathogenesis, Clinical Signs, and Diagnosis. **North American Veterinary conference**, p. 370-371, 2008c.

DEBOER, D. J. Canine atopic dermatitis: new targets, new therapies. Madison: **The Journal American Society for Nutritional Sciences**, v. 134, n 8. 2004.

DEBOER, D.J.; MARSELLA, R. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XII): the relationship of cutaneous infections to the pathogenesis and clinical course of canine atopic dermatitis. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 81, p. 239-249, 2001.

- DEBOER, D.J.; MORIELLO, K.A., THOMAS, C.B.; SCHULTZ, K.T. Evaluation of a commercial staphylococcal bacterin for management of idiopathic recurrent superficial pyoderma in dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v. 51, p. 636–639, 1990.
- DEL ROSSO, J.; FRIEDLANDER, S. F. Corticosteroids: Options in the era of steroid-sparing therapy. **Journal of the American Academy Dermatology**, v. 53, n. 1, p. 50-58, 2005.
- DETHIOUX, F. A dermatite atópica canina, um desafio para o clínico. **Focus**, edição especial, p. 7-56, 2006.
- DILLON S. R. ; SPRECHER C. ; HAMMOND A. ; et al. Interleukin 31, a cytokine produced by activated T cells, induces dermatitis in mice. **Nature Immunology**. V.5, p. 752–760 2005.
- DONATSCH, P.; RYFFEL, B. Pharmacokinetics of cyclosporine in toxicological studies. **Transplantation Proceedings**; v. 18. p. 71–76. 1986.
- EDWARDS, B. S.; LOYD, M. A.; ANDERSON, L. M. The synergistic effects of cyclosporine and endothelin: demonstration of an important cardiopressor action. **Transplantation**. v.55: p.8–11.1993.
- ELLIOT, J. Hypertension concensus report an update.In: ANNUAL AMERICAN COLLEGE OF VETERINARY INTERNAL MEDICINE FORUM, 24., Louisville.**Proceedings**,.p. 654-655. 2006.
- ETTINGER, S.J.; FELDMAN, E. C. Textbook of Veterinary Internal Medicine, St. Louis. MO: Saunders Elsevier. 7th Ed. v. 1 e 2.p. 1105. 2010.
- FARIAS, M.R. Dermatite atópica canina: da fisiopatologia ao tratamento. **Clínica Veterinária**, n. 69, p. 48-62, 2007.
- FAVROT, C. Clinical signs and diagnosis of canine atopic dermatitis. **European Journal of Companion Animal Practice**, v. 19, p. 219-222, 2009.
- FAVROT, C.; STEFFAN, J.; SEEWALD, W.; PICCO, F. A prospective study on the clinical features of chronic canine atopic dermatitis and its diagnosis. **Veterinary Dermatology**, v. 21, n. 1, p. 23-30, 2010.
- FAZAKERLEY, J. WILLIAMS, N.; CARTER, S.; MCEWAN, N.; NUTTALL, T. Heterogeneity of *Staphylococcus pseudintermedius* isolates from atopic and healthy dogs. **Veterinary Dermatology**, v. 21, p. 1-8, 2010.
- FAZAKERLEY, J.; NUTTALL, T.; SALES, D.; SCHMIDT SCHMIDT, V.; CARTER, S.D.; HART, C.A.; McEWAN, N.A. Staphylococcal colonization of mucosal and lesional skin sites in atopic and healthy dogs. **Veterinary Dermatology**, v. 20, p. 179 – 184, 2009.

FISCH, J.; GULMI, F. A.; CHOU, S.Y. *et al.* The renal haemodynamic response to endothelin in chronic cyclosporine-treated dogs. **Journal of Urology**; v.149. p. 878–883. 1993.

FISCHER, J.R., HARKIN, K.R., FREEMAN, L.C. Concurrent administration of water-soluble vitamin E can increase the oral bioavailability of cyclosporine A in healthy dogs. **Veterinary Therapeutics**. v. 3, p. 465–473. 2002.

FONTAINE, J.; OLIVRY, T. Treatment of canine atopic dermatitis with cyclosporine: a pilot clinical study. **Veterinary Record**, v. 148, n. 21, p. 662-663, 2001.

FOSTER, A.P. Immunomodulation and immunodeficiency. **Veterinary Dermatology**, v. 15, n. 2, p.115-126, 2004.

GEHRING, U. ; BISCHOF, W. ; SCHLENVOIGT, G. ; RICHTER, K. ; FAHLBUSCH, B. ; WICHMANN, H. F. ; HEINRICH, J. Exposure to house dust endotoxin and allergic sensitization in adults. **Allergy**, v. 59, p. 946-952, 2004.

GRAUER, G. F. Early detection of renal damage and disease in dogs and cats. **The Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**. Illinois, v.35, p.581-596, 2005.

GRIFFIN, C. E.; DEBOER, D. J. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XIV):clinical manifestations of canine atopic dermatitis. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 81, 255-269. 2001.

GRIFFIN, G. E. Allergen-specific immunotherapy for canine atopic dermatitis: Making it work. **Veterinary Medicine**, v. 101, n. 9, p. 590-605, 2006.

GUAGUÈRE, E. ; STEFFAN, J. ; OLIVRY, T. Cyclosporin A: a new drug in the field of canine dermatology. **Veterinary Dermatology**, v. 15, p. 61-74, 2004.

HALLIWELL, R. E. W. ; GORDON, C. M. ; HORVATH, C. ; WAGNER, R. IgE and IgG antibodies to food antigens in sera from normal dogs, dogs with atopic dermatitis and dogs with adverse food reactions. In: HILLIER, A. ; FOSTER, A. P. ; KWOCCHKA, K. W. **Advances in Veterinary Dermatology**, v. 5, p. 28-35, 2005.

HALLIWELL, R. Revised nomenclature for veterinary allergy. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 114, n. 3-4, p. 207-208, 2006.

HIGHTOWER, K.; MARSELLA, R.; CREARY, E.; DUTCHER, P. Evaluation of transepidermal water loss in canine atopic dermatitis: a pilot study in Beagle dogs sensitized to house dust mites. **The 23rd Proceedings of the North American Veterinary Dermatology Forum**, 2008.

HILL, P. B. Treatment of canine atopic dermatitis: balancing the three factors. **In Practice**, v. 29, p. 566-573, 2007.

HILL, P. B. Management of atopic dermatitis. **In Proceedings of the European Veterinary Conference**: Amsterdam, the Netherlands, 23-25, p. 5-6. 2009.

HILLIER, A. Allergy testing and treatment for canine atopic dermatitis. **Veterinary Medicine**, v. 97, n. 3, p. 210-224, 2002.

HILLIER, A.; GRIFFIN, C. E. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (I): incidence and prevalence. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 81, n. 3-4, p. 147-151, 2001.

HOMEY, B.; STEINHOFF, M. ; RUZICKA, T. ; LEUNG, D. Y. M. Cytokines and chemokines orchestrate atopic skin inflammation. **Journal Allergy and Clinical Immunology**, v. 118, n. 1, p. 178-189, 2006.

JACKSON, A. P. ; FOSTER, A. P. ; HART, B. J. ; HELPS, C. R. ; SHAW, S. E. Prevalence of house dust mites and dermatophagoides group 1 antigens collected from bedding, skin and hair coat of dogs in south-west England. **Veterinary Dermatology**, v. 16, p. 32-38, 2005.

JACKSON, H. A. allergy in dogs- clinical signs and diagnosis. **European Journal of Companion Animal Practice**, v. 19, p. 230-233, 2009.

JAEGER, K.; LINEK, M.; POWER, H. T.; BETTENAY, S. V.; ZABEL, S.; ROSYCHUK, R. A. W.; MUELLER, R. S. Breed and site predispositions of dogs with atopic dermatitis: a comparison of five locations in three continents. **Veterinary Dermatology**, v. 21, n. 1, p. 119-123, 2010.

LARSSON JUNIOR, C.E. Estudo comparativo da eficácia da imunoterapia com bactéria e de dois esquemas de pulsoterapia antibiótica no manejo de piodermites superficiais idiopáticas recidivantes caninas. 2008. 88 f. **Dissertação** (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo.

LEUNG, D. Y. M. Atopic dermatitis: New insights and opportunities for therapeutic intervention. **Journal Allergy and Clinical Immunology**, v. 105, n. 5, p. 858-876, 2000.

LIMA, H. C. Fatos e mitos sobre Imunomoduladores. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 82, n. 3, p. 207-221, 2007.

LLOYD, D.H. The canine skin microbiota: habitats, acquisition, interactions and exchange. **European Journal of Companion Animal Practice**, v. 18, p.61-68, 2008.

LUCAS, R.; BEVIANI, D.; PELEGRINI, C.; CANTAGALLO, K.; MINGOSSI, R. J. Avaliação da efetividade do uso da ciclosporina na terapia de cães atópicos. **Clínica Veterinária**, ano 12, n. 69, p. 68-72, 2007.

MARSELLA, R. Approach to the allergic dog. In: continuing education programme, world congress of veterinary dermatology, Hong Kong. **Proceedings of the Continuing Education Programme**. p. 66-71. 2008.

MARSELLA, R. ; NICKLIN, C. ; LOPEZ, J. Studies on the role of routes of allergen exposure in high IgE-producing beagle dogs sensitized to house dust mites. **Veterinary Dermatology**, v. 17, p. 306-312, 2006.

MARSELLA, R; OLIVRY, T. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (VII): mediators of cutaneous inflammation. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 81, p. 205-213, 2001.

MARSELLA, R.; OLIVRY, T. Animal Models of Atopic Dermatitis. **Clinics in Dermatology**, v.21,p. 122–133. 2003.

MARSELLA, R.; SAMUELSON, D. Unravelling the skin barrier: a new paradigm for atopic dermatitis and house dust mites. **Veterinary Dermatology**, v. 20, p. 533-540, 2009.

MARSELLA, R.; SOUSA, C. A. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XIII): threshold phenomenon and summation of effects. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, Amsterdam, v. 81, n. 3-4, p. 251-253, 2001.

MATSUDA, S., KOYASU, S. Mechanisms of action of cyclosporine. **Immunopharmacology**; v. 47, p. 119–125. 2000.

MAULDIN, E. A. Skin barrier function and canine atopic dermatitis. In Symposium Proceedings: **Hill's Symposium on Dermatology, Palm Springs**. CA, 2-4, pg. 24-27. 2006.

MILLER, A. M. Role of IL - 33 in inflammation and disease. **Journal of Inflammation**,V.8, p. 22. 2011.

MORAR, N. ; WILLIS-OWEN, S. A. G. ; MOFFATT, M. F. ; COOKSON, W. O. C. M. The genetics of atopic dermatitis. **Journal Allergy and Clinical Immunology**, v. 118, n. 1, p. 24-34, 2006.

NASCENTE, P. S. , XAVIER, M. O. ; DA ROSA, C. S. ; SOUZA, L. L. ; MEIRELES, M. C. A. ; MELLO, J. R. B. Hipersensibilidade alimentar em cães e gatos. **Clínica Veterinária**, Ano XI, n. 64, p. 60-66,2006.

NOGRALES, K.E.; SUÁREZ-FARIÑAS, M.; SHEMER, A.; FUENTESDUCULAN, J.; CHIRICOZZI, A.; CARDINALE, I.; ZABA, L.C.; KIKUCHI, T.; RAMON, M.; BERGMAN, R.; KRUEGER, J.G.; GUTTMAN-YASSKY, E. Atopic dermatitis keratinocytes exhibit normal Th17 cytokine responses. **Journal Allergy Clinical Immunology**, v. 125 p. 744-746, 2010.

NOLI, C. Extra-label use of cyclosporine. In: continuing education programme, world congress of veterinary dermatology, Hong Kong. **Proceedings of the Continuing Education Programme**. p. 251-256. 2008.

NOVAK, N.; BIEBER, T. The role of dendritic cell subtypes in the pathophysiology of atopic dermatitis. **Journal American Academy Dermatology**. v.53.p.171- 176. 2005.

NUTTALL, T. Abordagem da dermatite atópica. **Veterinary focus: dermatologia canina e felina**. v.18, p.32-39.2008.

NUTTALL, T. J. ; KNIGHT, P. A. ; MACALEESE, S. M. ; BROWN, J. ; LAMB, J. R. ; HILL, P. B. Expression of Th1-cytokine mRNA in canine atopic dermatitis correlates with severity of clinical lesions. In: HILLIER, A. ; FOSTER, A. P. ; KWOCKKA, K. W. **Advances in Veterinary Dermatology**, v. 5, p. 17-27, 2005.

NUTTALL, T. J. ; KNIGHT, P. A. ; MCALEESE, S. M. ; LAMB, J. R. ; HILL, P. B. T-helper 1, T-helper 2 and immunosuppressive cytokines in canine atopic dermatitis. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 87, p. 379-384, 2002.

NUTTALL, T.; MUELLER, R.; BENSIGNOR, E.; VERDE, M.; NOLI, C.; SCHMIDT, V.; RÈME C. Efficacy of a 0,0584% hydrocortisone aceponate spray in the management of canine atopic dermatitis: a randomized, double blind, placebo-controlled trial. **Veterinary Dermatology**, v. 20, p.191-199. 2009.

OLIVRY, T. Current issues of controversy in canine allergy. In: continuing education programme, world congress of veterinary dermatology, Hong Kong. **Proceedings of the Continuing Education Programme**. p. 154-159. 2008.

OLIVRY, T. MARSELLA, R. IWASAKI, T. MUELLER, RS. Task Force on Canine Atopic Dermatitis. Evaluation of CADESI-03, a severity scale for clinical trials enrolling dogs with atopic dermatitis. **Veterinary Dermatology**, v.18,p. 79-96, 2007.

OLIVRY, T. ; RIVIERRE, C. ; MURPHY, K. M. et al. Maintenance of treatment of canine atopic dermatitis with cyclosporine: decreasing dosages or increasing intervals?. **Proceedings of 18th Annual Meeting of the American Academy of Veterinary Dermatology** /American College of Veterinary Dermatology Monterey, CA: American Academy of Veterinary Dermatology/ American College of Veterinary Dermatology, 2003.

OLIVRY, T.; BIZIKOVA, P. A systematic review of the evidence of reduced allergenicity and clinical benefit of food hydrolysates in dogs with cutaneous adverse food reactions. **Veterinary Dermatology**, v. 21, p. 32-41, 2010.

OLIVRY, T.; DEBOER, D. J.; FAVROT, C.; JACKSON, H.A.; MUELLER R.S.; NUTTALL, T.; PRÉLAUD, P. Treatment of canine atopic dermatitis: 2010 clinical practice guidelines from the International Task Force on Canine Atopic Dermatitis. **Veterinary Dermatology**, v. 21, n. 3, p. 233–248, 2010.

OLIVRY, T.; DEBOER, D. J.; GRIFFIN, C. E.; HALLIWELL, R. E. W.; HILL, P. B.; HILLIER, A. The ACVD task force on canine atopic dermatitis: forewords and lexicon. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 81, n. 3-4, p. 143-146, 2001.

OLIVRY, T.; MARSELLA, R.; MAEDA, S.; PUCHEU-HASTON, C. M.; HAMMERBERG, B. Mechanism of lesion formation in canine atopic dermatitis: 2004 hypothesis. In: HILLIER, A.; FOSTER, A. P.; KWOCKKA, K. W. **Advances in Veterinary Dermatology**, v. 5, p. 10-16, 2005.

OLIVRY, T.; MUELLER, R. S.; Evidence-based veterinary dermatology: a systematic review of the pharmacotherapy of canine atopic dermatitis. **Veterinary Dermatology**, v. 14, p. 121-146, 2003.

OLIVRY, T.; RIVIERRE, C.; JACKSON, H. A.; MURPHY, K. M.; DAVIDSON, G.; SOUSA, C. A. Cyclosporine decreases skin lesions and pruritus in dogs with atopic dermatitis: a blinded randomized prednisolone-controlled trial. **Veterinary Dermatology**, v. 13, n. 2, p. 77-87, 2002a.

OLIVRY, T.; STEFFAN, J.; FISCH, R. D.; PRÉLAUD, P.; GUAGUÈRE, E.; FONTAINE, J.; CARLOTTI, D. N. Randomized controlled trial of the efficacy of cyclosporine in the treatment of atopic dermatitis in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 221, n. 3, p. 370-377, 2002b.

OZON, A., CETINKAYA, S., ALIKASIFOGLU, A., GONC, E. N., SEN, Y. & KANDEMIR, N. Inappropriate use of potent topical glucocorticoids in infants. **Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism**, v.20, p. 219-225. 2007.

PARKS. Medical Electronics. Non-directional dopplers. Disponível em: <<http://www.parksmed.com/products/?page=3.php>>. Acesso em: 14 jun. 2012.

PATEL, A.; FORSYTHE, P.; SMITH, S. Dermatitis atópica. In F. Nind (Ed.), **Dermatologia de Pequenos Animais: soluciones saunders en la práctica veterinaria**. (p. 44-53). Barcelona: Elsevier Saunders. 2010.

PETERSEN, A. Treatment of canine atopic dermatitis. In: continuing education programme, world congress of veterinary dermatology, Hong Kong. **Proceedings of the Continuing Education Programme**. p. 72-76, 2008.

PRELAUD, P.; GUAGUÈRE, E.; ALHAIDARI, Z. et al. Re-evaluation of diagnostic criteria of canine atopic dermatitis. **Revue de Médecine Vétérinaire**, v. 149, p. 1057-1064, 1998.

RADOWICZ, S. N.; POWER, H. T. Long-term use of cyclosporine in the treatment of canine atopic dermatitis. **Veterinary Dermatology**, v. 16, p. 81-86, 2005.

REME, C. A. Introduction to cortavance: a topical diester glucocorticoid developed for veterinary dermatology. In **Virbac international dermsymposium – proceedings: Advances in Topical Glucocorticoid Therapy**, p. 15-27. 2007.

RHEN, T.; CIDLOWSKI, J. A. Antiinflammatory Action of Glucocorticoids — New Mechanisms for Old Drugs. **The New England Journal of Medicine**, v. 353, n. 16, p. 1711-1723, 2005.

ROBSON, D. C.; BURTON, G. G. Review – Cyclosporin: applications in small animal dermatology. **Veterinary Dermatology**, v. 14, n. 1, p. 1-9, 2003.

ROBSON, D. Review of the pharmacokinetics, interactions and adverse reaction of ciclosporine in people, dogs and cats. **Veterinary Record** p.152, 739-748. 2003.

ROOSJE, P. Canine atopic dermatitis: new concepts. **European Journal of Companion Animal Practice**, v. 15, n. 2, p. 189-195, 2005.

ROSSER, E. J. Advances in the diagnosis and treatment of atopy. **Veterinary Clinics of North America: Small animal Practice**, v. 29, n. 6, p. 1437-1447, 1999.

RYBNICEK, J. Further validation of a pruritus severity scale for use in dogs. **Veterinary Dermatology**, v. 20, n. 2, p. 115-122, 2009.

RYFFEL, B. Experimental toxicological studies with cyclosporin A. In: **White, D.J.G.**, ed. *Cyclosporine A*. Amsterdam: Elsevier Biomedical Press: p.45–75. 1982.

SAEVIK, B. K.; BERGVALL, K.; HOLM, B. R.; SAIJONMAA-KOULUMIES, L. E.; HEDHAMMAR, A.; LARSEN, S.; KRISTENSEN, F. A randomized, controlled study to evaluate the steroid sparing effect of essential fatty acid supplementation in the treatment of canine atopic dermatitis. **Veterinary Dermatology**, v. 15, n. 3, p. 137-145, 2004.

SANTORO D.; BUNICK, D.; GRAVES.T.K.; Campbell, K.L. Expression and distribution of antimicrobial peptides in the skin of healthy beagles. **Veterinary Dermatology**, v. 22, p. 61–67, 2010.

SCHAUBER, J.; GALLO, R. L. Antimicrobial peptides and the skin immune defense system. **J Allergy Immunol**, v. 122, p. 261-266, 2008.

SCOTT, D. W., MILLER, W. H. & GRIFFIN, C. E. Dermatoses Inmunológicas. In **Muller & Kirk's Dermatología en pequeños animales, 5ª ed.** p. 566-587. Buenos Aires– Argentina: Inter-médica. 1997.

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

SEHRA, S.; TUANA, F. M. B.; HOLBREICH, M.; MOUSDICAS, N.; KAPLAN, M. H.; TRAVERS, J. B. Clinical correlations of recent developments in the pathogenesis of atopic dermatitis. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 83, n. 1, p. 57-73, 2008.

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

SOLOMON, S. E. B. Uso de *staphylococcus aureus* phage lysate staphage lysate (SPL)® para o controle da piodermite eczematizante de repetição em cães com dermatite atópica. 2011. 72f. **Dissertação** (Mestrado em Medicina Veterinária) – Pontifícia Universidade Católica do Paraná, São José dos Pinhais, 2011.

SOUZA, C.A.; MARSELLA, R. The ACVD task force o canine atopic dermatitis (II): genetic factors. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 81, p. 153-157, 2001.

STEFFAN, J.; ALEXANDER, D.; BROVEDANI, F. et al. Comparison of cyclosporine A with methylprednisolone for treatment of canine atopic dermatitis: a parallel blinded randomized controlled trial. **Veterinary Dermatology**; v.14: p.11–22. 2003.

STEFFAN, J.; FAVROT, C.; MUELLER, R. A systematic review and meta-analysis of the efficacy and safety of cyclosporin for the treatment of atopic dermatitis in dogs. **Veterinary Dermatology**, v. 17, n. 1, p. 3-16, 2006.

STEFFAN, J.; PARKS, C.; SEEWALD, W. Clinical trial evaluating the efficacy and safety of cyclosporine in dogs with atopic dermatitis. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 226, n. 11, p. 1855-1863, 2005.

STEFFAN, J.; STREHLAU, G.; MAURER, M.; ROHLFS, A. Cyclosporin A pharmacokinetics and efficacy in the treatment of atopic dermatitis in dogs. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 27, n. 4, p. 231-238, 2004.

UNOVET. Productos: manguito para monitor multiparametrico. Disponível em: <<http://www.unovet.es/detalles-articulo.aspx?idArticulo=27>>. Acesso em: 14 jun. 2012.

WILLEMSE, T. A. Atopic skin disease: a review and a reconsideration of diagnostic criteria. **Journal of Small Animal Practice**, v. 27, n. 11, p. 771-778, 1986.

YAMADA, C. K.; SACRAMENTO, D. A.; SIMIS, D. R. C.; BOHNENSTENGEL, E. Ciclosporina e dermatite atópica: revisão bibliográfica 1993-1998. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 76, n. 5, p. 617-624, 2001.

YAZBEK, A. V. B. **Avaliação da eficácia, de ocorrência de efeitos adversos e da qualidade de vida de cães atópicos tratados com ciclosporina**. São Paulo, 2010. Monografia (Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária).

ZUR, G.; IHRKE, P. J.; WHITE, S. D.; KASS, P. H. Canine atopic dermatitis: a retrospective study of 266 cases examined at the University of California, Davis, 1992-1998. Part I. Clinical features and allergy testing results. **Veterinary Dermatology**, v. 13, n. 2, p. 89-102, 2002.

APÊNDICES

APÊNDICE A

Ficha de avaliação clínica dos cães do grupo eficácia (ciclosporina e prednisona)

Data: Dia do protocolo:

Animal:

Raça: Idade: Sexo:

Grupo: Peso:

Protocolo Terapêutico:

EXAME FÍSICO:

T^o: MUCOSAS: TPC:

FC: FR:

AUSCULTAÇÃO:

ABDOMEN:

Escore de prurido:

Valores da análise por RYBNICEK dos cães do grupo eficácia nos dias 0, +7, +14, +21, +28, +35, +42, +49, +56 e +63 durante a administração de Prednisona 0,5mg/kg.

Parâmetro	cão	Dias										Escala de prurido
		0	+7	+14	+21	+28	+35	+42	+49	+56	+63	
RYBNICEK												0 – 10

Análise por CADESI:

Valores da análise por CADESI dos cães do grupo eficácia nos dias 0, +30 e +60 durante a administração de Prednisona 0,5mg/kg.

Parâmetro	cão	Dias			Escala
		0	+30	+60	
CADESI					0 - 1240

APÊNDICE B

Ficha de avaliação clínica do grupo segurança

GRUPOS “SEGURANÇA”

NOME:

DATA:

DIA:

GRUPO:

EXAME FÍSICO:

T°:

MUCOSAS:

TPC:

FC:

FR:

AUSCULTAÇÃO:

ABDOMEN:

PRESSÃO ARTERIAL SISTÊMICA:

OBSERVAÇÕES DE ALTERAÇÕES NOS DIVERSOS SISTEMAS

(tegumentar, respiratório, cárdiocirculatório, digestório , genito-urinário e neurológico):

ANEXOS

ANEXO A

Data:

Animal:

Raça:

Idade:

Grupo:

Peso:

Escore de CADESI:

Dia:

CADESI-03.IV - © ITFCAD 2004 ÁREAS CORPORAIS			Eritema	Lignificação	Escoriações	Alopecia Auto-induzida	TOTAL
Face	Pré-auricular		1				
	Periocular		2				
	Perilabial		3				
	Focinho		4				
	Bochecha		5				
Cabeça	Dorsal		6				
Pina Auricular	Esquerdo	Côncavo	7				
		Convexo	8				
	Direito	Côncavo	9				
		Convexo	10				
Pesçoço	Dorsal		11				
	Ventral		12				
	Lateral	Direito	13				
		Esquerdo	14				
Axila	Direita		15				
	Esquerda		16				
	Esterno		17				
Torax	Dorsal		18				
	Lateral	Direito	19				
		Esquerdo		20			
Inguinal	Direito		21				
	Esquerdo		22				
	Abdomen		23				
Lombar	Dorsal		24				
Flanco	Direito		25				
	Esquerdo		26				
Membros Anteriores	Esquerdo	Medial	27				
		Lateral	28				
		Flexor cubital	29				
		Flexor carpal	30				
	Direito	Medial	31				
		Lateral	32				
		Flexor cubital	33				
		Flexor carpal	34				
Patas Anteriores	Esquerdo	Metacarpal palmar	35				
		Metacarpal dorsal	36				
		Falangeal palmar	37				
		Interdigital dorsal	37				
	Direito	Metacarpal palmar	39				
		Metacarpal dorsal	40				
		Falangeal palmar	41				
		Interdigital dorsal	42				
Membros Posteriores	Esquerdo	Medial	43				
		Lateral	44				
		Flexor do joelho	45				
		Flexor do Tarso	46				
	Direito	Medial	47				
		Lateral	48				
		Flexor do joelho	49				

Patás Posteriores	Esquerdo	Flexor do tarso	50				
		Metatarsal plantar	51				
		Metatarsal dorsal	52				
		Falangeal plantar	53				
	Direito	Interdigital dorsal	54				
		Metatarsal plantar	55				
		Metatarsal dorsal	56				
		Falangeal plantar	57				
		Interdigital dorsal	58				
		Perianal		59			
Perigenital		60					
Cauda	Ventral	61					
	Dorsal	62					
Graduação (cada local, cada lesão): nada: 0; 1:leve; 2,3: moderado; 4,5:severo							Escore total (máximo 1240)

Fonte: OLIVRY, T. MARSELLA, R. IWASAKI, T. MUELLER, RS. Task Force on Canine Atopic Dermatitis. Evaluation of CADESI-03, a severity scale for clinical trials enrolling dogs with atopic dermatitis. **Veterinary Dermatology**, 18: 79-96, 2007.

ANEXO B

Data:

Animal:

Raça:

Idade:

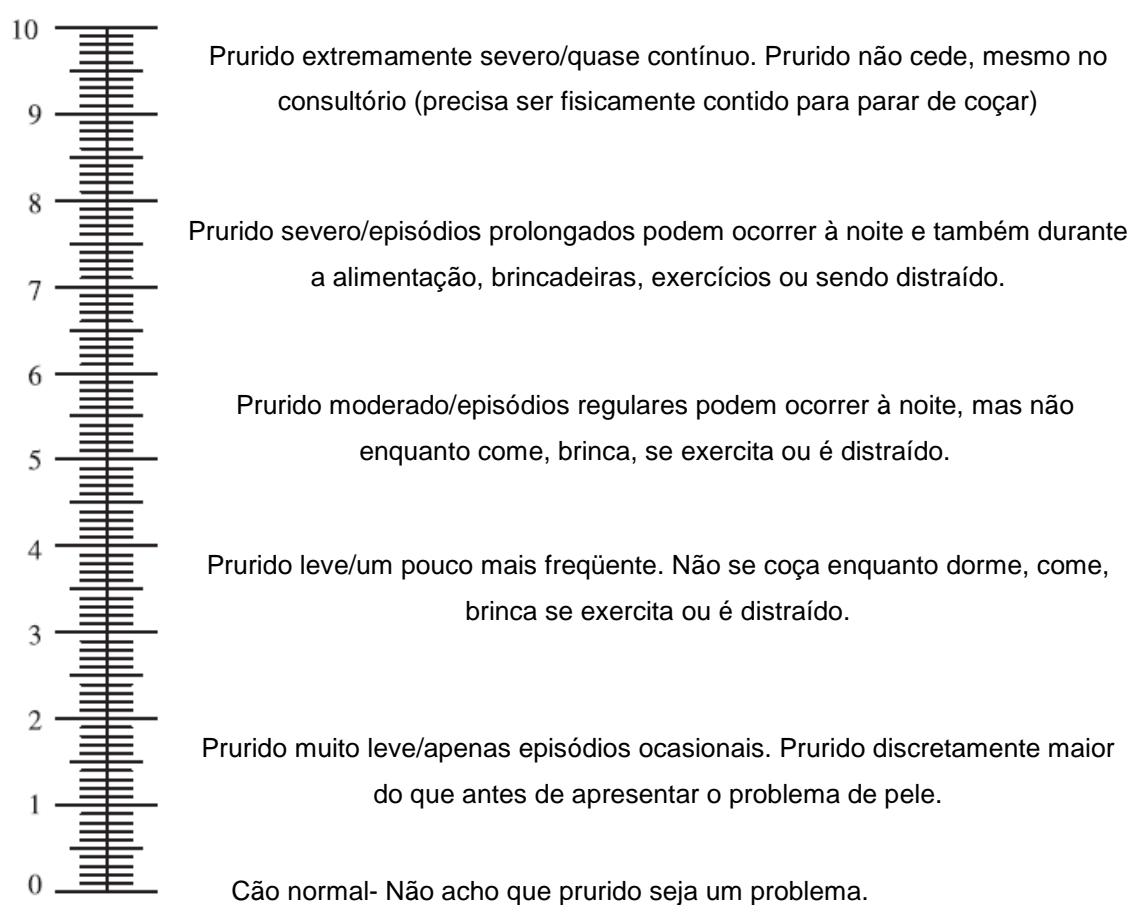
Grupo:

Peso:

Escore de RYBNICEK:

Dia:

Escore de prurido avaliado em cães com dermatite atópica segundo os critérios de Rybnicek (2009).



Fonte: RYBNICEK, 2009.

ANEXO C

Aparelho Doppler Model 812 utilizado no experimento para a aferição da PAS.



Figura 1. Aparelho Doppler Model 812 utilizado no experimento para a aferição da PAS.
FONTE: Parks Medical Electronics, Inc. (2012)

ANEXO D

Esfigmomanometro Modelo G5 Heine utilizado no experimento para a aferição da PAS.



Figura 2. Esfigmomanometro Modelo G5 Heine
FONTE: Unovet (2012).

ANEXO E

Kit Manguitos veterinários de 1 via, de diferentes tamanhos utilizados no experimento (n°01: 5,6cm/3,3cm; n°02: 7,1cm/4,2cm; n°03: 9,1cm/ 5,4cm; n°04: 11,7cm/6,9cm; n°05: 15cm/8,9cm).

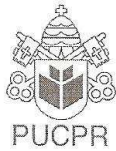


Figura 3. Kit Manguitos veterinários de 1 via, de diferentes tamanhos utilizados no experimento.

FONTE: Unovet (2012).

ANEXO F

Parecer do comitê de ética no uso de animais.



PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ
NÚCLEO DE BIOÉTICA
COMITÊ DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

Curitiba, 2 de dezembro de 2010.

PARECER DE PROTOCOLO DE PESQUISA

REGISTRO DO PROJETO NO CEUA: 588 – 1ª versão

TÍTULO DO PROJETO: Avaliação da eficácia e segurança do produto ATOPEX em cães

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Cláudia Turra Pimpão

EQUIPE DA PESQUISA:

Cláudia Turra Pimpão, Marconi Rodrigues de Farias

INSTITUIÇÃO:

Pontifícia Universidade Católica do Paraná

CENTRO / CURSO:

Obtenção de registro no MAPA

ESPÉCIE DE ANIMAL	SEXO	IDADE / PESO	CATEGORIA	QUANTIDADE
Cães	Machos e fêmeas	Indeterminado	C	26

O colegiado do CEUA em reunião no dia 02/12/2010, avaliou o projeto e emite o seguinte parecer: **APROVADO**.

Obs.: Sugerimos a submissão desse projeto ao Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos, devido ao questionário que será aplicado ao produtor.

Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEUA-PUCPR de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificado e as suas justificativas.

Se a pesquisa, ou parte dela for realizada em outras instituições, cabe ao pesquisador não iniciá-la antes de receber a autorização formal para a sua realização. O documento que autoriza o início da pesquisa deve ser carimbado e assinado pelo responsável da instituição e deve ser mantido em poder do pesquisador responsável, podendo ser requerido por este CEUA em qualquer tempo.



Lembramos ao pesquisador que é obrigatório encaminhar o relatório anual parcial e relatório final da pesquisa a este CEUA.

Atenciosamente,



Prof Peter Gaberz Kirschnik

Coordenador

Comitê de Ética no Uso de Animais - PUCPR

