



Universitat Autònoma de Barcelona

ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  http://cat.creativecommons.org/?page_id=184

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <http://es.creativecommons.org/blog/licencias/>

WARNING. The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=en>



Universitat Autònoma de Barcelona

Nuevas opciones terapéuticas para el manejo del Síndrome Atópico Cutáneo Felino

Tesis Doctoral

Isaac Carrasco Rivero

Directores: Anna Puigdemont Rodríguez y Lluís Ferrer Caubet

Tutora: Anna Puigdemont Rodríguez

Departament de Farmacologia, de Terapèutica i de Toxicologia

Facultat de Veterinària

Universitat Autònoma de Barcelona

2022

La **Dra. Anna Puigdemont Rodríguez**, Catedrática del Departamento de Farmacología, Terapéutica y Toxicología de la Universitat Autònoma de Barcelona; y el **Dr. Lluís Ferrer Caubet**, Catedrático del Departamento de Medicina y Cirugía animal de la Universitat Autònoma de Barcelona, informan que:

El trabajo de tesis doctoral con título:

“Nuevas opciones terapéuticas para el manejo del Síndrome Atópico Cutáneo Felino”

De la que es autor **Isaac Carrasco Rivero**,
licenciado en Veterinaria por la Universitat Autònoma de Barcelona

ha estado realizado bajo nuestra dirección y cumple las condiciones exigidas para optar al título de Doctor por la Universitat Autònoma de Barcelona

Para que así conste, firmamos el presente certificado
en Bellaterra, a 22 de junio de 2022

Anna Puigdemont Rodríguez
Directora y tutora

Lluís Ferrer Caubet
Director

AGRADECIMIENTOS	4
ABREVIATURAS	6
RESUMEN	8
INTRODUCCIÓN	11
Fisiopatología del Síndrome Atópico Cutáneo Felino	13
Papel de la barrera cutánea	14
Papel del microbioma	16
Papel de las células inflamatorias	18
Papel de los mediadores inflamatorios/citoquinas	21
Papel de las IgE	24
Signos clínicos del Síndrome Atópico Cutáneo Felino	29
Diagnóstico del Síndrome Atópico Cutáneo Felino	34
Manejo terapéutico	44
Mejora de la integridad y funcionalidad de la barrera cutánea	45
Glucocorticoides	46
Inhibidores de la calcineurina	50
Antihistamínicos	53
Inhibidores de la cinasa Jano (<i>Janus Kinase</i> o <i>JAK</i>)	55
Inmunoterapia alérgeno-específica	61
Otros fármacos	72
HIPÓTESIS	76
OBJETIVOS	77
1. Estudiar la eficacia de la inmunoterapia sublingual alérgeno-específica en el gato	77
2. Estudiar la eficacia del oclacitinib para el control del Síndrome Atópico Cutáneo Felino:	77
ESTUDIOS	78
ESTUDIO 1: Clinical efficacy of sublingual allergen-specific immunotherapy in 22 cats with atopic dermatitis	79
Abstract	80
Introduction	81
Material and methods	82
Results	84
Discussion	89
References	92
ESTUDIO 2: A pharmacokinetic study of oclacitinib maleate in six cats	96
Abstract	97
Introduction	98
Methods and materials	98
Results	101
Discussion	102
References	104
ESTUDIO 3: Efficacy of oclacitinib in the control of feline atopic skin syndrome: plasma concentration and clinical effect correlation	106
Abstract	107
Introduction	108

Materials and Methods.....	109
Results	111
Discussion	115
Conclusions.....	117
References	118
DISCUSIÓN	122
La SLIT es una terapia efectiva y segura para el síndrome atópico cutáneo felino	123
El oclacitinib es una alternativa para el control de los signos clínicos del síndrome atópico cutáneo felino	132
CONCLUSIONES	139
BIBLIOGRAFÍA.....	140

AGRADECIMIENTOS

Después de un largo camino esta tesis es una realidad, al fin. Han sido años de profundo estudio y lectura, y de intenso aprendizaje a todos los niveles.

No habría sido posible hacer este camino sólo, como casi ninguno. Y tengo mucho que agradecer y pocas herramientas para compensarlo.

Ante todo, gracias Ana, la mejor compañera de viaje. Por nunca tacharme de loco y siempre apoyarme en mis ideas, incluso en la aventura del doctorado, que tantas horas ha robado a la familia. GRACIAS.

Carlos, qué decirte, el principal motor de mi vida. ¡Ya ves! Nunca es tarde para seguir creciendo. Nunca dejes de aprender.

Mis padres, esfuerzo y dedicación incondicional. Sin ellos, obviamente, no habría llegado hasta aquí. Estoy seguro de que se sentirá orgulloso, allí donde esté.

A mis directores, ¡qué gran suerte he tenido de poder caminar a hombros de gigantes!, gracias.

Anna, què dir-te? Sense tu res de tot això hagués estat possible. M'has ensenyat tant!, inclús sense ser conscient. Esperit crític i excel·lència, ara ho tinc gravat a foc. Gràcies en majúscules.

Lluís, l'exemple a seguir per a mi i per a molts clínics, que lluitem i ens esforcem cada dia per ser una mica més com tu. Gràcies pels teus valuosos consells.

A todos los compañeros que habéis hecho posible este camino, colaborado en los estudios clínicos, incluyendo pacientes, haciendo seguimientos, rellenando formularios para que todo funcionase. Rubén, gracias por todas las horas dedicadas ¡Gracias infinitas! Y a todos los que han creído y creen en mí, incluidos todos los gatos que de forma inconsciente se han puesto en mis manos para que intentase mejorar sus vidas.

A veces le vencerá el desaliento. Es normal. Le decía que escribir es como boxear, pero también es como correr. Por eso me paso el día mandándole a la calle: si tiene la fuerza moral para realizar carreras largas, bajo la lluvia, con frío, si tiene la fuerza de terminar, de poner en ello toda su fortaleza, todo su corazón, y llegar hasta el final, entonces será capaz de escribir. No deje nunca que se lo impida el cansancio ni el miedo. Al contrario, utilícelos para avanzar.

La verdad sobre el caso Harry Quebert. Joël Dicker

ABREVIATURAS

AAI	Alopecia autoinducida
AP-1	Activador de la proteína 1
ASIT	Inmunoterapia alérgeno-específica
AUC	Área bajo la curva
CD	Células dendríticas
CGE	Complejo granuloma eosinofílico
CLI	Células linfoides innatas
C _{max}	Concentración máxima
CPA	Células presentadoras de antígeno
CsA	Ciclosporina A
DE	Dermatitis eosinofílica
DM	Dermatitis miliar
EDTA-K2	Ácido etilendiaminetetraacético
EPIT	Inmunoterapia epicutánea
ERG	Elementos de respuesta a glucocorticoides
fAD	Dermatitis Atópica felina
FAS	Síndrome Atópico Felino
FASS	Síndrome Atópico Cutáneo Felino
FcεRI	Receptor de alta afinidad para las IgE
GLUT4	Transportador de glucocorticoides en membrana celular
GR	Receptores de glucocorticoides
H1r	Receptor H1 para la histamina
H4r	Receptor H4 para la histamina
HDM	Ácaros del polvo
HPLC	Cromatografía líquida de alta eficacia
IDT	Test intradérmico
IFN-γ	Interferón gamma
IgA	Inmunoglobulina A
IgE	Inmunoglobulina E
IgG	Inmunoglobulina G
IL	Interleucina

ILIT	Inmunoterapia intralinfática
IQR	Rango intercuartil
ITAE	Inmunoterapia alérgeno-específica
JAK	Cinasa de Jano (Janus)
JAK-STAT	Janus Kinasa – Traductor de la señal y activador de la transcripción
JAKinhibs	Inhibidores de la Janus Kinasa
NF-KB	Factor Nuclear kappa-B
NFNFiHD	Dermatitis por hipersensibilidad no inducida ni por pulgas ni por alimento
NGF	Factor de crecimiento neuronal
NK-1	Neuroquinina 1
PCF	Prurito cervico-facial
PDE4	Fosfodiesterasa 4
PEA-um	Palmitoiletanolamida ultramicronizada
PVAS	Escala visual del prurito
SCIT	Inmunoterapia subcutánea
SCORFAD	Escala de valoración de lesiones
SLIT	Inmunoterapia sublingual
$t_{1/2}$	Tiempo de vida media
TEWL	Pérdida de agua transepidérmica
TGF β	Factor de crecimiento transformante beta
Th1	T helper 1
Th2	T helper 2
TLR	Receptores tipo Toll
T_{max}	Tiempo en el que el fármaco alcanza su máxima concentración en plasma
TNF α	Factor de necrosis tumoral alfa
T_{reg}	Células T reguladoras
TRPV	Receptor de potencial transitorio vaniloide
TSLP	Linfopoyetina estromal tímica
TYK1	Tyrosin cinasa 1

RESUMEN

El Síndrome Atópico Cutáneo Felino (FASS) es un motivo de consulta frecuente en el gato, dando lugar a signos clínicos que en muchas ocasiones pueden ser graves y crónicos, y que merman de forma considerable la calidad de vida tanto del paciente como de su responsable o tutor. Así, es fundamental establecer un protocolo diagnóstico y terapéutico adecuado en cada caso.

Lamentablemente todavía se desconocen muchos de los mecanismos fisiopatológicos implicados en el desarrollo de las dermatitis alérgicas en el gato, a pesar de los avances conseguidos en otras especies como el perro o el ser humano. Este desconocimiento limita el desarrollo de terapias dirigidas a inhibir mediadores o vías inmunológicas específicas o con la capacidad de modificar el curso de la enfermedad desde un punto de vista etiológico.

En consecuencia, es común el uso repetido y/o crónico de fármacos inmunosupresores orales o inyectables para el control del FASS, los cuales no están exentos de riesgo para la vida del animal. Además, a pesar de que el uso tópico de estos fármacos está muy extendido en dermatología humana y se le atribuyen muchos menos efectos adversos, su uso es limitado en el gato debido al comportamiento normal de acicalamiento. Así, el objetivo de esta tesis fue estudiar alternativas farmacológicas eficaces para el control del FASS.

Por una parte, se realizó un estudio prospectivo no controlado en un grupo de gatos sensibilizados a ácaros, con el objetivo de probar la eficacia de la inmunoterapia alérgeno-específica sublingual (SLIT) en esta especie. Ya desde los tres primeros meses de tratamiento se observó una mejoría clínica significativa, tanto a nivel de lesiones como de prurito. Así mismo, no se reportaron efectos adversos asociados al uso de la SLIT ni dificultades en la administración de la preparación oral.

Con el fin de conocer algunos de los mecanismos inmunológicos relacionados con la respuesta clínica a la inmunoterapia alérgeno-específica en el gato, se estudió la evolución de las concentraciones plasmáticas tanto de IgE como de IgG alérgeno-específicas. Durante el estudio, las concentraciones de IgE disminuyeron de forma progresiva, observándose cambios significativos después de 9 meses de tratamiento. Por el contrario, y a diferencia de lo observado en otras especies, los niveles de IgG se mantuvieron estables durante todo el curso del estudio. Así, la producción de IgG

bloqueantes no explica el beneficio clínico observado. Del mismo modo, la evolución de los niveles de IgE puede explicar la mejoría de los signos clínicos a medio-largo plazo, pero no el rápido efecto observado durante los primeros tres meses de tratamiento.

Por otra parte, se consideró que oclacitinib podía resultar una alternativa segura y adecuada a los fármacos inmunosupresores clásicos, como los glucocorticoides o la ciclosporina A, para el control del FASS. Al tratarse de un fármaco que sólo está registrado para su uso en el perro, realizamos un primer estudio de farmacocinética con el fin de conocer su comportamiento en el gato. Los resultados farmacocinéticos obtenidos fueron similares a los obtenidos en el perro, aunque su absorción y eliminación fueron más rápidas en el gato, por lo que parecería adecuado administrar una dosis mayor y/o disminuir el intervalo de administración en esta especie.

Posteriormente se realizó un estudio clínico en el que se administró oclacitinib oral a un grupo de gatos con diagnóstico de FASS, a una dosis de 1 mg/kg/12 horas durante 2 semanas, seguido de 1 mg/kg/24 horas durante 2 semanas más; es decir, a una dosis superior a la registrada en el perro, pero con la misma pauta de administración. Después de la primera semana de tratamiento se observaron diferencias significativas en el prurito y las lesiones, que se mantuvieron hasta el final de estudio, a pesar de disminuir la frecuencia de administración después de los primeros 14 días.

Con el fin de poder establecer una relación entre los niveles de oclacitinib en sangre y la evolución clínica de los pacientes incluidos en el estudio, se valoraron las concentraciones plasmáticas del fármaco a los 7 y a los 28 días de tratamiento. No se pudo establecer una correlación entre ambos parámetros, por lo que la medición de los niveles plasmáticos de oclacitinib no parece un parámetro útil para monitorizar la eficacia clínica de este fármaco en el gato.

Durante el estudio se monitorizaron posibles cambios, a nivel hematológico y bioquímico, relacionados con el uso de oclacitinib. Sólo en un gato se detectó una disminución en el valor de hematocrito después de una semana de tratamiento y elevaciones leves-moderadas de ALT en dos gatos, en ambos casos los niveles se normalizaron al interrumpir el tratamiento.

De igual modo, se registraron pocos efectos clínico-patológicos asociados a la administración de oclacitinib, y sólo dos animales presentaron vómitos autolimitantes. En general, fue un fármaco muy bien tolerado para su administración oral.

En base a los resultados obtenidos en los estudios incluidos en esta tesis doctoral podemos concluir que la SLIT es una alternativa terapéutica efectiva, segura y bien tolerada para el control de los signos clínicos del FASS. Así mismo, oclacitinib presenta un comportamiento farmacocinético que permite su uso en esta especie. A una dosis superior a la registrada en el perro permite un control adecuado y rápido de los signos clínicos relacionados con el FASS.

INTRODUCCIÓN

Las reacciones de hipersensibilidad con expresión cutánea, o dermatitis alérgicas, son comunes en la clínica dermatológica diaria, tanto en medicina humana como veterinaria. Suponen un alto coste en términos económicos y de calidad de vida de los pacientes afectados y/o de sus cuidadores o tutores (Noli *et al.*, 2016; Spitznagel *et al.*, 2021).

Aun existiendo algunas diferencias geográficas, la prevalencia de la dermatitis atópica en medicina humana puede llegar a niveles del 20% del total de la población infantil, y del 5 al 17% en adultos (Bylund *et al.*, 2020; Cork *et al.*, 2020; Kader *et al.*, 2021). En medicina veterinaria se estima que entre el 3 y 15% del total de pacientes caninos presentan signos compatibles con dermatitis atópica (Hillier y Griffin, 2001), y el prurito es el motivo de consulta en el 30-40% de las consultas dermatológicas en esta especie (Hill *et al.*, 2006). En el gato se estima una prevalencia de alrededor del 12% para las dermatitis alérgicas (Hobi *et al.*, 2011; Ravens *et al.*, 2014), y pueden llegar a suponer hasta el 32% de las visitas a los servicios de dermatología de hospitales de referencia (Scott *et al.*, 2012).

En el gato no parece adecuado utilizar el término “atopia” (Coka y Cooke, 1923) ya que, a diferencia del perro (Shaw *et al.*, 2003; Jaeger *et al.*, 2021), no existen estudios que demuestren un fundamento genético de la enfermedad, a pesar de los datos observados en algunas series de casos (Moriello 2001), y que algunas razas aparezcan sobrerrepresentadas, como el Abisinio (Scott y Miller, 2013; Ravens *et al.*, 2014; Valapahti *et al.*, 2016) o el Bosque de Noruega (Leistra *et al.*, 2005). Así mismo, no siempre es posible demostrar la implicación de las IgE en la enfermedad en el gato.

Así, en 2011 se propuso el término **dermatitis por hipersensibilidad no inducida ni por pulgas ni por alimentos** (NFNFiHD, traducción de su nombre en inglés *Non-Food Non-Flea induced Hypersensitivity Dermatitis*) (Hobi *et al.*, 2011), para definir en el gato lo que en otras especies se conoce como dermatitis atópica.

A pesar de todo, recientemente se ha propuesto una nueva denominación que agrupa varias enfermedades alérgicas en el gato, entre ellas las enfermedades cutáneas: El **Síndrome Atópico Felino** (FAS, por sus siglas en inglés *Feline Atopic Syndrome*) engloba todas aquellas enfermedades presumiblemente alérgicas y que afectan a nivel

cutáneo, gastrointestinal y respiratorio. Bajo el paraguas de este término se encuentra el **Síndrome Atópico Cutáneo Felino** (FASS, por sus siglas en inglés *Feline Atopic Skin Syndrome*), en el que se incluyen las dermatitis alérgicas causadas por alérgenos ambientales, diferentes a las proteínas alimentarias o a la saliva de la pulga, sin necesidad de demostrar la presencia de IgE alérgeno-específicas (Santoro *et al.*, 2021).

Fisiopatología del Síndrome Atópico Cutáneo Felino

En el ser humano la dermatitis atópica se considera una enfermedad compleja y multifactorial, en la que el funcionamiento inadecuado de la barrera cutánea se suma a una respuesta inmunológica inapropiada desencadenada y facilitada por factores genéticos y ambientales, dando lugar al inicio y a la posterior cronificación de la enfermedad dermatológica (Yang *et al.*, 2020; Kader *et al.*, 2021).

Se conocen múltiples polimorfismos genéticos en personas atópicas que afectan tanto a la función de la barrera cutánea, como a la respuesta inmunitaria innata y adquirida; así como diversos cambios epigenéticos que se producen sobre el ADN y que aumentan la prevalencia de la dermatitis atópica, ilustrando la importancia de los factores ambientales en la fisiopatología de la enfermedad (Kim *et al.*, 2016). Entre éstos, parece de especial importancia la falta de contacto con antígenos bacterianos durante las primeras fases de la vida, observación de la que ha derivado la “teoría de la higiene”, que explicaría a su vez el aumento en la incidencia de la dermatitis atópica en las últimas décadas en países industrializados (Okada *et al.*, 2010; Nedoszytko *et al.*, 2020).

Del mismo modo, en un estudio reciente realizado en el perro se ha observado que altas concentraciones de ácaros y endotoxinas durante las fases tempranas del desarrollo disminuyó significativamente la posibilidad de desarrollar dermatitis atópica en los perros incluidos en el estudio. Las concentraciones de ambos elementos se veían disminuidas con el uso de desinfectantes, y aumentaban con el uso de humidificadores y en relación directa con el tiempo que pasaban los perros en exterior (Rostaher *et al.*, 2021).

Lamentablemente el papel de muchos de estos factores es todavía desconocido en el desarrollo del Síndrome Atópico Cutáneo en el gato.

Papel de la barrera cutánea

La barrera cutánea está formada por las células del estrato córneo de la epidermis, la matriz proteica y los lípidos que se encuentran en el espacio intercelular depositados en múltiples láminas. Sus principales funciones son proporcionar una barrera física entre el medio ambiente y el interior del cuerpo, evitar la pérdida transepidérmica de fluidos y actuar como defensa frente a agentes externos (Yang *et al.*, 2020; Kader *et al.*, 2021). Las alteraciones en la composición o funciones de los diferentes componentes de la barrera cutánea juegan un papel importante en la fisiopatología de la dermatitis atópica humana y canina.

La filagrina es una importante proteína estructural de la piel, responsable de la diferenciación de queratinocitos, imprescindible para conseguir un estrato córneo fuerte e íntegro y para mantener la hidratación natural de la piel (Salvati *et al.*, 2021). En el momento en el que los queratinocitos pasan del estrato granuloso al estrato córneo durante su proceso de diferenciación, la profilagrina contenida en los gránulos hialinos se desfosforila y se vuelve más soluble. Tras la acción de varias proteasas se forman monómeros de filagrina, que tienen la capacidad de agregar filamentos de queratina. Esto, junto a la acción de otras proteínas como la loricrina o la involucrina, da lugar a los cambios morfológicos y citoestructurales típicos de los queratinocitos. Una vez concluido el proceso de cornificación, la filagrina es degradada por la acción de la caspasa-14, dando lugar a aminoácidos higroscópicos que, junto con otras moléculas como el ácido hialurónico, el lactato y diferentes iones, forman lo que recibe el nombre de factor hidratante natural de la piel (Thyssen y Kezic, 2014; Cepelak *et al.*, 2019).

Si se pierde la función de la filagrina, se producirán cambios estructurales en la epidermis por alteraciones en las uniones celulares, con la consiguiente pérdida de cohesión, aumentando potencialmente el paso de alérgenos. Así mismo, se producirán cambios funcionales, como deshidratación, aumento de la pérdida de agua transepidérmica (TEWL, por sus siglas en inglés *Trans Epidermal Water Loss*) y cambios en el pH, que pueden dar lugar a la activación de diversas citoquinas inflamatorias y facilitar la colonización de la piel por parte de los microorganismos (Cepelak *et al.*, 2019).

Existen alteraciones genéticas, presentes entre el 10 y el 40% de las personas atópicas, que producen la pérdida de función de los genes responsables de transcripción de la filagrina y aumentan el riesgo de sufrir dermatitis atópica (Thyssen y Kezic, 2014;

Cabanillas y Novak, 2016; Cepelak *et al.*, 2019; Kader *et al.*, 2021; Salvati *et al.*, 2021). Pero los niveles y funcionalidad de esta proteína también pueden verse afectados por algunos factores ambientales como los rayos UVB, algunos irritantes cutáneos, la disminución de la humedad ambiental e incluso el estrés psicológico (Thyssen y Kezic, 2014). Algunas citoquinas proinflamatorias, como la IL-4, la IL-13 o la IL-31, reducen de forma secundaria la expresión de filagrina por parte de los queratinocitos, además de otras proteínas como la involucrina y la loricrina (Olivry *et al.*, 2010; Wolf y Wolf, 2012; Cabanillas y Novak, 2016), disminuyendo todavía más la integridad de la barrera cutánea, y aumentando el riesgo de nuevas sensibilizaciones (Olivry *et al.*, 2010).

Del mismo modo se ha observado una disminución de los lípidos intercelulares, entre ellos las ceramidas, en la piel lesional y no lesional de personas con dermatitis atópica, que resultan en una permeabilidad anormal de la epidermis (Yang *et al.*, 2020). Esta disminución se produce por cambios en el pH que promueven la acción de algunas proteasas que degradan enzimas necesarias para la formación de ceramidas, como la esfingomielinasa y la β -glucocerebrosidasa; y por disminución de la propia síntesis de las ceramidas por la acción de citoquinas producidas en la dermatitis atópica (Yang *et al.*, 2020).

Se han realizado múltiples estudios con el fin de descifrar si la funcionalidad e integridad de la barrera cutánea también juega un papel importante en la patogenia de la enfermedad en el perro (Marsella *et al.*, 2021). Se ha observado un menor nivel de filagrina y un aumento en la expresión de enzimas encargadas de su catabolismo (caspasa-14, matriptasa y calpaina-1) en la piel de perros atópicos, aun en ausencia de inflamación (Marsella *et al.*, 2011; Santoro *et al.*, 2015; Fanton *et al.*, 2017); así como valores superiores de TEWL en perros atópicos, asociados a una disminución de los niveles de ceramidas y de fitoesfingosina-1 (Santoro *et al.*, 2015). A pesar de los diferentes trabajos publicados, todavía existen muchas preguntas por responder sobre el papel de la filagrina en la dermatitis atópica en esta especie (Kanda *et al.*, 2013; Combarros *et al.*, 2020; Olivry *et al.*, 2021)

Se han observado cambios estructurales en el estrato córneo de la piel de perros atópicos, dando lugar a una superficie cutánea más irregular y frágil. Los cambios observados en este estudio se podrían considerar primarios ya que fueron detectados tanto en pieles de perros atópicos con lesiones como sin ellas (Combarros *et al.*, 2021). Sin embargo, algunos cambios observados en la barrera cutánea en perros atópicos podrían ser secundarios, tal como se ha observado en un estudio en el

que los niveles de los factores naturales de hidratación de la piel disminuían de forma significativa tras la exposición a alérgenos en una colonia de perros sensibilizados (Olivry *et al.*, 2021). Este descenso podría estar relacionado con una disminución en la degradación de la filagrina por la acción de citoquinas inflamatorias como la IL-4 e IL-13, que pueden modificar la función de la caspasa-14 en el ser humano (Olivry *et al.*, 2021). Por tanto, podemos intuir la acción conjunta de las alteraciones primarias de la barrera cutánea y las modificaciones secundarias que se producen por acción de la reacción inflamatoria, que a su vez es posible gracias a sus deficiencias primarias (Teoría del Dentro-Fuera-Dentro propuesta para explicar la etiopatogenia de las dermatitis atópicas en el ser humano (Elias y Schmuth, 2009)).

Por esto se asume que la integridad de la barrera cutánea es importante para evitar la aparición y progresión de la dermatitis alérgica también en el perro, así como para evitar nuevas sensibilizaciones (Olivry, 2011), a pesar de que no existe la evidencia suficiente para afirmar que los cambios observados sean primarios o secundarios (Santoro *et al.*, 2013).

En el caso del gato existe poca información sobre la implicación de la barrera cutánea en el Síndrome Atópico Cutáneo. A pesar de que se han realizado estudios en esta especie con el fin de estandarizar métodos de evaluación de su integridad, como la medición la TEWL, la hidratación cutánea y el pH (Szczepanik *et al.*, 2011; Momota *et al.*, 2016), se han obtenido resultados muy dispares entre estudios. En algunos de ellos se ha observado una correlación positiva entre los niveles de TEWL en algunas regiones anatómicas y la gravedad de las lesiones (Szczepanik *et al.*, 2018; Szczepanik *et al.*, 2019), pero también un aumento de la hidratación en la piel de los gatos afectados (Szczepanik *et al.*, 2018b). Son necesarios, por tanto, más estudios con el fin de poder valorar los cambios en la barrera cutánea de gatos alérgicos, y su utilidad en el manejo terapéutico del Síndrome Atópico Cutáneo.

Papel del microbioma

El término de barrera cutánea no se refiere únicamente a la organización estructural y a la función inmunitaria de la epidermis, sino también al equilibrio adecuado que debe existir con los microorganismos que habitan en ella, que se consigue gracias a la integridad de la propia barrera física y a la acción del sistema inmunitario cutáneo innato y adaptativo (Kobayashi e Imanishi, 2021). Estos microorganismos participan en la

protección frente agresiones externas y son fundamentales en la modulación de la respuesta inmunitaria (Rodrigues, 2017), ya que el sistema inmunitario cutáneo ha evolucionado en estrecha relación con el microbioma de la piel, creando una relación de beneficio mutuo (Kobayashi e Imanishi, 2021).

Una barrera cutánea sana permite mantener una mayor diversidad en el microbioma, característica que se pierde en pacientes atópicos, fundamentalmente durante momentos de empeoramiento clínico (Santoro *et al.*, 2015). En personas atópicas se ha observado una menor diversidad bacteriana que en pacientes sanos, con predominancia de *Staphylococcus aureus*, alteración que a su vez se correlaciona positivamente con la gravedad de la enfermedad clínica (Wolf y Wolf, 2012; Kobayashi e Imanishi, 2021). De forma análoga, en la piel de los perros atópicos se pierde parte de la diversidad normal del microbioma cutáneo, con una desviación significativa hacia *Staphylococcus pseudintermedius* y *Corynebacterium* spp. (Pierezan *et al.*, 2016; Rodrigues, 2017; Puigdemont *et al.*, 2020).

En el caso concreto del gato, las actuales técnicas moleculares han permitido demostrar que existe una mayor diversidad de estafilococos en la piel sana del gato de la que se había considerado en estudios previos basados en los resultados de cultivos bacterianos, siendo *Staphylococcus epidermitis* y *Staphylococcus capitis* los más representados (Older *et al.*, 2021). Del mismo modo, se han observado diferencias en el microbioma en función de la raza y el estilo de vida (Older *et al.*, 2019).

Y tal como se observó en el perro, en la piel de gatos alérgicos la proporción de *Staphylococcus* spp. aumenta con respecto al resto de bacterias que forman parte del microbioma (Older *et al.*, 2017), disminuyendo así la biodiversidad. A pesar de estos resultados, todavía faltan estudios para confirmar la implicación del microbioma en la enfermedad alérgica cutánea en el gato (Older *et al.*, 2021).

La causa por la que se producen estos cambios en el microbioma cutáneo en la dermatitis atópica se desconoce en buena parte, aunque se han identificado algunos mecanismos posiblemente implicados. Cuando se producen alteraciones en el metabolismo y los niveles de filagrina, se producen aumentos de pH que pueden dar lugar a crecimientos bacterianos aberrantes (Marsella *et al.*, 2021). Así mismo, la expresión de citoquinas inflamatorias en la piel de animales y personas atópicas, como la IL-4 o la IL-13, no sólo disminuye los niveles de filagrina sino que también produce un descenso en los péptidos antimicrobianos, aumentando así la susceptibilidad de

colonización bacteriana (Kobayashi e Imanishi, 2021), la cual exacerba a su vez el cuadro clínico (Elias y Schmuth, 2009).

Papel de las células inflamatorias

En la fisiopatología de las dermatitis alérgicas existe la implicación de numerosas células del sistema inmunitario, tanto innato como adaptativo. En las primeras fases de la respuesta inflamatoria se observa un número elevado de células del sistema inmunitario innato: basófilos, células dendríticas y eosinófilos (Kader *et al.*, 2021). Así mismo, es fundamental el papel de los propios queratinocitos, y no sólo como barrera física. Éstos, al entrar en contacto con alérgenos ambientales, producen TSLP (*Thymic Stromal Lymphopoietin*), que es una citoquina de la familia de la IL-7 que estimula la liberación de otras citoquinas, como IL-6, IL-13 o IL-31, aumentando el nivel de prurito e inflamación (Kader *et al.*, 2021).

Las células del sistema inmunitario innato se encuentran en un mayor número en la piel alérgica lesionada. Tienen un importante papel en la respuesta inmunitaria innata frente infecciones y en la regulación de la inflamación (Yang *et al.*, 2020). Al ser estimuladas por IL-25, IL-33 y TSLP (producidas a su vez por otras células inflamatorias y queratinocitos) se comportan como una fuente de citoquinas Th2 proinflamatorias, liberando IL-13 e IL-5 (Brunner *et al.*, 2019). A su vez, tanto los mastocitos como los basófilos potencian el reclutamiento de estas CLI-2 (Kader *et al.*, 2021).

Las células dendríticas están presentes en varias fases de la inflamación y tienen una alta capacidad para atrapar y presentar los antígenos. En la piel encontramos dos tipos principales de células dendríticas en condiciones normales, las células de Langerhans y las Células Dendríticas Dérmicas. Pero en un ambiente de inflamación se desarrolla un tercer tipo conocido como Células Dendríticas Epidérmicas Inflamatorias, que juegan un papel fundamental en el desarrollo de la dermatitis atópica (Kader *et al.*, 2021). Actúan de nexo entre el sistema inmunitario innato y el adaptativo (linfocitos T y B), amplificando la respuesta alérgica mediante una respuesta inflamatoria Th2 y realizando una correcta presentación de antígenos, con la consiguiente activación de linfocitos T y la producción de IgE por parte de linfocitos B.

Así mismo, las células dendríticas tienen la capacidad de polarizar la respuesta de los linfocitos hacia Th1 o Th2, en función del tipo de información que reciban a través de las

citoquinas derivadas de queratinocitos (Ashina y Maeda, 2017). El número de células dendríticas (Langerhans) en la piel lesionada de gatos con FASS es mayor que el que observado en pacientes sanos, lo que parece confirmar que estas células del sistema inmunitario innato también son importantes en la patogenia de la enfermedad alérgica cutánea en esta especie (Roosje *et al.*, 1997).

La implicación posterior y/o simultánea del sistema inmunológico adaptativo es fundamental para la progresión de la dermatitis alérgica, y en medicina humana se considera que la dermatitis atópica es una enfermedad mediada principalmente por linfocitos T, ya que se encuentran sobrerrepresentados en la piel de las personas atópicas, siendo la mayoría de ellos linfocitos T de memoria. Estos linfocitos inducen a las células B a producir IgE, y producen IL-4, IL-5 e IL-13, aumentando así la respuesta inflamatoria (Brunner *et al.*, 2019).

En la piel de perros atópicos también se ha podido observar un mayor número de linfocitos T CD8+ y CD4+ (Sinke *et al.*, 1997). Del mismo modo, en la piel lesionada de gatos con dermatitis atópica se ha observado un mayor número de linfocitos, habiendo un incremento significativo de linfocitos T CD4+ (con aumento de la ratio CD4+/CD8+), sin un incremento asociado de éstos en sangre periférica (Roosje *et al.*, 1998). Considerando que la piel de gatos sanos está casi desprovista de estas células, cabe pensar que son importantes en la patogenia de la dermatitis alérgica también en esta especie.

Por su parte, los linfocitos B dirigen y mantienen la respuesta humoral al evolucionar hacia células plasmáticas, con la capacidad de producir anticuerpos alérgeno-específicos, y células B de memoria. Además, mantienen la actividad de los linfocitos T actuando como células presentadoras de antígeno (Kader *et al.*, 2021).

Es importante considerar que las células del sistema inmunitario adaptativo no sólo actúan exacerbando la respuesta alérgica, sino que algunas de ellas ejercen una acción moduladora sobre la misma. Así, algunas células B, productoras de IL-10, tienen la capacidad de regular la respuesta alérgica, disminuyendo la actividad de linfocitos T efectores (Zhang *et al.*, 2015). La IL-10, junto con la acción de otros mediadores inflamatorios como TGF- β , producen un aumento de la inmunotolerancia, favoreciendo la proliferación de linfocitos T reguladores (T_{reg}) (Zhang *et al.*, 2015; Kader *et al.*, 2021). Se ha demostrado la capacidad *in vitro* de los linfocitos T_{reg} de suprimir la proliferación de otros linfocitos T efectores (Th1-Th2), y sus acciones *in vivo* son múltiples, como

inhibir la activación y desgranulación de mastocitos y basófilos; disminuir la expresión de receptores FcεRI en los mastocitos, evitando así su desgranulación ligada a IgE; inhibir la maduración de células dendríticas; inducir a las células B a producir IgG4, disminuyendo así la producción de IgE; o disminuir la infiltración de eosinófilos y linfocitos en el tejido dañado, interactuando a su vez con células residentes para mejorar su remodelación (Palomares *et al.*, 2017). Así mismo, son capaces de inhibir el desarrollo y la progresión de desórdenes autoinmunes sistémicos mediados por linfocitos T, y su capacidad inmunorreguladora está disminuida en pacientes con enfermedades inmunomediadas como psoriasis y penfigoide bulloso (Zhang *et al.*, 2015).

En un estudio realizado en perros, se observó una relación inversa entre la cantidad de T_{regs} en circulación sistémica antes de la exposición a *Dermatophagoides farinae* y los niveles de IgE alérgeno-específicas y la intensidad de los signos clínicos (Rostaher *et al.*, 2018).

La generación y el mantenimiento de una cantidad adecuada de linfocitos B_{reg} y T_{reg}, así como de sus citoquinas supresoras, es fundamental para la inducción de tolerancia alérgica, y será uno de los principales objetivos a conseguir mediante el uso de inmunoterapia alérgeno-específica (Keppler *et al.*, 2008; Palomares *et al.*, 2017).

Cuando se realiza un estudio histológico de la piel de los gatos con FASS se observa un infiltrado inflamatorio más o menos intenso, consistente en mastocitos, linfocitos, eosinófilos y algún histiocito, con una distribución superficial de perivascular a intersticial, que varía en función de la cronicidad (Gross *et al.*, 2005), similar al observado en la piel de perro y en personas alérgicas (Bizikova *et al.*, 2015).

La infiltración de mastocitos en la piel de los gatos afectados de FASS siempre se ha considerado fundamental en el curso de la enfermedad (Roosje *et al.*, 2004; Taglinger *et al.*, 2008). A pesar de esto, en un estudio de Tunhikorn *et al.* (2015), no se observaron diferencias significativas en la población de mastocitos en la piel de animales con dermatitis alérgica y no alérgica, aunque dicha población era mayor en pieles lesionadas que no lesionadas. Por tanto, la presencia de mastocitos debería considerarse más un tipo de patrón de reacción inflamatoria por parte de la piel del gato que un marcador de reacción alérgica propiamente, ya que también se encuentran sobrerrepresentados en otras enfermedades como el pénfigo foliáceo (Preziosi *et al.*, 2003).

Por otra parte, el infiltrado eosinofílico en la piel inflamada de gatos alérgicos suele ser elevado, principalmente en capas más profundas de la piel y a nivel perivascular, y podrían servir como un mejor indicador celular de reacción alérgica que los mastocitos (Roosje *et al.*, 2004).

Por tanto, debe considerarse importante la implicación de diversas células inflamatorias en la patogenia del FASS, igual que se ha observado en la piel de otras especies, como el perro, aunque son necesarios más estudios para poder determinar con detalle el papel específico y la importancia relativa de cada una de ellas en cada uno de los patrones clínicos lesionales clásicos.

Papel de los mediadores inflamatorios/citoquinas

Todas las células anteriormente descritas tienen la capacidad de producir citoquinas pro-inflamatorias y pruritogénicas. En medicina humana se ha descrito una respuesta humoral bifásica durante la progresión de la dermatitis alérgica, en la que predominan las citoquinas Th2 (IL-4, IL-5, IL-13, IL-31 y CCL-18) y Th22 (IL-22 y proteínas SA100) en la fase aguda de la enfermedad, mientras que en fases más crónicas adquiere peso la respuesta Th1 (IFN- γ , IL-2) (Jenmalm *et al.*, 2001; Brunner *et al.*, 2019; Salvati *et al.*, 2021). En el perro, en cambio, no se observa una polarización tan evidente (Pucheu-Haston *et al.*, 2016).

Además de su capacidad pro-inflamatoria, algunas de estas citoquinas (como por ejemplo IL-4 o IL-13) afectan a la funcionalidad e integridad de la barrera cutánea, reduciendo la expresión de moléculas como la filagrina. Los queratinocitos que maduran en un ambiente rico en IL-4 e IL-13 presentan una disminución severa de la expresión del gen de la filagrina, aún sin la existencia de mutaciones previas en el mismo (Brunner *et al.*, 2019; Kader *et al.*, 2021). A su vez, la producción de IL-4 e IL-13 inhiben la producción normal de algunos péptidos antimicrobianos y el funcionamiento de mecanismos inmunitarios adecuados para la defensa antimicrobiana, como el IFN- γ (Th1) o la IL-17 (Th17). Esto facilita la colonización bacteriana de la piel atópica, agravando más el cuadro inflamatorio (Brunner *et al.*, 2019).

A pesar de que existen resultados inconsistentes sobre la expresión de IL-4 en la piel de perros alérgicos (Pucheu-Huston *et al.*, 2015), en un estudio se observó un incremento en la producción de IL-4 y una disminución del TGF- β en la piel de perros atópicos. Del mismo modo se observó un incremento en la expresión de citoquinas Th1

(IL-2, TNF- α , IFN- δ). Esta respuesta Th1 podría estar justificada en parte por la cronicidad de las lesiones que presentaban los perros incluidos en el estudio, en las que cabría esperar una mayor ratio de respuesta Th1/Th2 (Nuttall *et al.*, 2002). En un estudio posterior se observó un número significativo tanto de Th1 como de Th2 en la piel de perro atópicos, lesionadas o no (Schlotter *et al.*, 2011).

Los queratinocitos juegan un papel fundamental en la fisiopatología de la dermatitis atópica produciendo factores solubles con la capacidad de iniciar y mantener una respuesta inmunológica Th2. Son los principales productores de quimiocinas fundamentales en la dermatitis atópica, como la TARC/CCL17 (*Thymus and activation-regulated chemokine*), que actúa como ligando funcional con las células Th2 (Ashina y Maeda, 2017). Gracias a su capacidad de producir IL-33, estimulan la producción de IL-5 e IL-13 por parte de estas células Th2 (Ashina y Maeda, 2017). Mediante la producción de TSLP inducen a las células Th0 a evolucionar hacia Th2; se ha observado una mayor expresión de TSLP en la piel de perros atópicos, tanto lesionada como no lesionada (Klukowska-Rötzler *et al.*, 2013; Yang *et al.*, 2020). Además, algunos antígenos de las bacterias pueden a su vez estimular la producción de TSLP por parte de los queratinocitos, a través de la estimulación de receptores TLR (*Toll-like receptors*), ilustrando la contribución que pueden ejercer las infecciones bacterianas en el cuadro clínico de la dermatitis atópica, amplificando la respuesta TSLP-Th2 (Sakamoto *et al.*, 2016).

La IL-31 ha sido descrita recientemente como una citoquina con un papel importante en la dermatitis atópica y en el prurito. La producen las células Th2 después de la presentación de los antígenos por parte de las células de Langerhans (Fleck *et al.*, 2021), y se une a receptores específicos situados en una gran variedad de células, como queratinocitos, macrófagos o eosinófilos. Estos receptores se encuentran también en células nerviosas de la raíz del ganglio dorsal, por lo que la IL-31 puede activar señales pruritogénicas directamente sobre nervios periféricos (Gonzales *et al.*, 2013). Cuando IL-31 se une a su receptor se activan vías enzimáticas que inducen a la formación de citoquinas inflamatorias, aumenta la quimiotaxis de otras células inflamatorias, se producen alteraciones en la barrera cutánea y estimula la respuesta de prurito en la piel (Fleck *et al.*, 2021). Al administrar esta citoquina se observó un aumento en el prurito tanto en el perro (Gonzales *et al.*, 2013) como en el gato (Fleck *et al.*, 2013), por lo que se podría considerar una citoquina importante en el curso de la enfermedad alérgica dermatológica en estas especies.

Así como algunas células del sistema inmunitario adaptativo podían ejercer una función reguladora sobre la respuesta alérgica, algunas citoquinas comparten esta capacidad, como la IL-10, TGF- β y FOXP3 (Pucheu-Haston *et al.*, 2016). Por ejemplo, se han observado menores niveles de células B productoras de IL-10 en personas atópicas, siendo estas células capaces de inhibir la producción de IgE (Kader *et al.*, 2021). A pesar de que los resultados obtenidos en los niveles de IL-10 y TGF- β en la piel de perros atópicos son controvertidos (Pucheu-Haston *et al.*, 2016), se ha observado un aumento en los valores de IL-10 y FOXP3 en algunos perros después del uso de inmunoterapia alérgeno-específica. Esto sugiere que la mejoría clínica observada durante dicha terapia podría estar mediada por incrementos en IL-10 y T_{regs} (FOXP3+), y, por tanto, por una modulación en la respuesta inmunitaria (Keppler *et al.*, 2008; Pucheu-Haston *et al.*, 2016).

Existen pocos estudios en los que se hayan llevado a cabo mediciones de las citoquinas implicadas en el FASS. En un trabajo reciente se ha demostrado que en los gatos con FASS existe una sobreproducción de citoquinas inflamatorias tanto Th1 como Th2, así como de algunos factores de crecimiento (Vargo *et al.*, 2021). En este estudio se detectaron concentraciones elevadas de IL-13 en los gatos afectados, siendo esta una citoquina considerada fundamental en muchos procesos inflamatorios y/o alérgicos.

Así mismo, se propuso la implicación de la IL-4 en la patogénesis de las dermatitis alérgicas en el gato, habiéndose observado mayor número de células CD4+ productoras de IL-4 en la piel de gatos alérgicos que en la de gatos sanos, independientemente del grado lesional observado (Roosje *et al.*, 2002).

Dunham *et al.* observaron en 2008 un aumento significativo de la IL-31 circulante en gatos alérgicos. Sin embargo, en un estudio reciente no se han encontrado diferencias en la expresión sistémica y/o cutánea de IL-31 entre gatos sanos y alérgicos (Older *et al.*, 2021).

En un estudio reciente se han observado diferencias significativas entre los niveles de IL-5 entre gatos sanos y alérgicos (Older *et al.*, 2021). A pesar de tratarse de una citoquina relacionada con la proliferación y diferenciación de los eosinófilos, célula ampliamente implicada en las reacciones alérgicas/inflamatorias en el gato, hasta el momento no se habían observado diferencias en la concentración de IL-5 entre gatos alérgicos y gatos sanos, y no había sido posible establecer una relación entre la concentración plasmática de IL-5 y de eosinófilos circulantes (Nakazato *et al.*, 2007;

Taglinger *et al.*, 2008). Así mismo, no se habían observado diferencias entre grupos al medir otras citoquinas (IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-12, IL-18, factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), factor de crecimiento transformante beta (TGF- β) e interferón gamma (IFN- γ), en biopsias de piel de gatos alérgicos (con y sin lesiones) y de gatos sanos (Taglinger *et al.*, 2008).

En definitiva, son necesarios más estudios sobre el perfil de citoquinas implicado en el FASS, y buscar una relación con los diferentes patrones clínicos lesionales clásicos.

Papel de las IgE

A pesar de que en 1921 Prausnitz y Kustner sugirieron la existencia de un componente en el suero implicado en las reacciones alérgicas, no fue hasta 1966 cuando se identificó definitivamente la IgE en el ser humano (Ishizaka e Ishizaka, 1966). En 1968 Walton *et al.* documentaron por primera vez la existencia de la IgE en el gato frente alguna proteína de la leche de vaca. Hasta hace relativamente pocos años, entre finales del siglo XX y principios del XXI, no se consiguió caracterizar y producir un antisuero dirigido específicamente contra la IgE felina, permitiendo el desarrollo de pruebas laboratoriales basadas en el uso de anticuerpos monoclonales para identificar las IgE alérgeno-específicas en el suero de gatos alérgicos (Norris *et al.*, 2003; Bexley *et al.*, 2009).

La IgE está formada por cuatro cadenas, dos pesadas (con cuatro dominios constantes y uno variable) y dos ligeras (con un dominio constante y uno variable). Entre tres dominios de cada una de las cadenas pesadas se forma un dímero que recibe el nombre de fracción cristalizante y que, gracias a la presencia de una región bisagra, le aporta a la IgE un aspecto de Y con dos “brazos móviles” (Bailleau, 2015; Sutton *et al.*, 2019). Los dominios variables son lo que se van a unir al antígeno de forma específica, y reciben el nombre de paratopos. El reconocimiento de los epítomos (lugar de la proteína o glicoproteína antigénica reconocido por los paratopos) dependerá tanto de la composición molecular como de la estructura tridimensional de dicha proteína (Pomés *et al.*, 2020).

Las IgE, tanto en forma soluble como de superficie, son producidas por células B (Xiong *et al.*, 2012). Estas células sufren un cambio de isotipo y dejan de producir IgG para producir IgE con la misma especificidad antigénica que les dio origen. Este cambio está condicionado por un ambiente inmunológico específico (como, por ejemplo, la abundancia de IL-4 e IL-13 producidas por células Th2 CD4+ alérgeno-específicas) y

por el modo en el antígeno es captado y procesado por parte de las células presentadoras de antígeno (CPA) (Bailleau, 2015; Kader *et al.*, 2021). Algunas de estas células B se convertirán en células B de memoria, y responderán produciendo nuevas IgE al volver a tener contacto con el antígeno que les dio origen.

La IgE se encuentra en el suero en muy pequeñas cantidades y su vida media es muy corta (alrededor de 2 días). Cuando se une a sus receptores de alta afinidad (Fc ϵ RI) sobre la superficie de algunas células efectoras, como los mastocitos, su vida media aumenta hasta 12 días. Esta primera fase de la respuesta alérgica es la fase de sensibilización. En esta localización la IgE se comporta como una molécula traductora de señal. Cuando un antígeno se une posteriormente a las IgE de la membrana de la célula efectora se desencadena una cascada de activación celular con la liberación rápida de mediadores inflamatorios preformados, como la histamina, dando lugar a la fase temprana de las reacciones alérgicas. Se necesitan muy pocas moléculas, tanto de IgE como de sus receptores, para iniciar una respuesta alérgica, siendo la afinidad para algunos de sus receptores superior a la observada en otros anticuerpos, como la IgG (Sutton *et al.*, 2019).

Actualmente se conocen dos receptores para la IgE en el ser humano:

- **Receptor de alta afinidad (Fc ϵ RI).** A su vez existen dos formas de este receptor:
 1. Una forma que consta de cuatro cadenas ($\alpha\beta\gamma\gamma$). Se expresa en mastocitos, basófilos, neutrófilos y eosinófilos
 2. Una forma que consta de tres cadenas ($\alpha\gamma\gamma$). Se expresa en células dendríticas presentadoras de antígeno y en monocitos

- **Receptor de baja afinidad (Fc ϵ RII o CD23).** Se encuentra en células más diversas, como las plaquetas, los linfocitos B, células dendríticas, macrófagos y eosinófilos. También existe una forma soluble de este receptor, en forma monomérica o trimérica.

Las IgE actúan de forma distinta sobre ambos receptores y la unión a cada uno de ellos da lugar a funciones diferenciadas. El receptor de alta afinidad tiene preferencia por las IgE libres; y el de baja afinidad, por inmunocomplejos que se forman entre las formas libres de IgE y el antígeno (Engeroff *et al.*, 2020; Engeroff y Vogel, 2021). La unión de

IgE libres a los receptores de alta afinidad de los mastocitos y basófilos activa una vía inflamatoria, a diferencia de la vía no inflamatoria activada en linfocitos B por la unión de los inmunocomplejos IgE-antígeno a los receptores de baja afinidad.

Así, a diferencia de lo que pasa con otras inmunoglobulinas, la formación de complejos entre IgE y el antígeno disminuye la capacidad de unión a receptores de alta afinidad y, por tanto, la capacidad de sensibilizar y/o activar a las células efectoras. Este proceso, a su vez, mejora la unión de las IgE a receptores de baja afinidad (CD23). Cuantas más IgE se unan a CD23 menos podrán unirse a los receptores de alta afinidad de mastocitos y basófilos, y por tanto se producirá menos inflamación alérgica.

Además, los receptores CD23 juegan un papel importante en la regulación de la síntesis de IgE, y la forma soluble del receptor CD23 ayuda a la eliminación de IgE circulantes, así que en global podríamos considerarlo como el receptor “no inflamatorio” de las IgE (Engeroff y Vogel, 2021).

La activación simultánea de los dos tipos de receptores está condicionada por un proceso de inhibición alostérica recíproca, debido a la capacidad de modificación estructural que tiene la propia molécula de IgE. Cuando se une al receptor FcεRI, la región constante de la proteína se encuentra en un estado “abierto”, mientras que cuando se une a CD23 se encuentra en estado “cerrado”, incompatible con la unión a los receptores de alta afinidad (Engeroff y Vogel, 2021).

El papel de la IgE en la patogenia de la enfermedad alérgica cutánea en el gato es controvertido en muchos casos (incluso habiendo recibido el nombre de Síndrome Atópico). Aun así, se considera que en general existe una implicación de las IgE en el FASS por diferentes razones (Halliwell *et al.*, 2021):

- Habitualmente los niveles de IgE alérgeno-específico frente alérgenos ambientales son más elevados en gatos con signos clínicos compatibles con reacciones de hipersensibilidad que en gatos sanos;
- Se obtienen más resultados positivos en las pruebas intradérmicas en gatos enfermos que en gatos sanos;
- Se ha observado mejoría clínica después del uso de inmunoterapia alérgeno-específica.

Sin embargo, en algunos estudios no se han observado diferencias en las concentraciones de IgE específicas frente ácaros del polvo entre gatos sanos y alérgicos (Gilbert y Halliwell, 1998; Taglinger *et al.*, 2005), siendo además las concentraciones séricas de IgE variables en diferentes condiciones fisiopatológicas (Belova *et al.*, 2012). Del mismo modo, animales sin niveles detectables de IgE alérgeno-específicas presentan evidentes signos clínicos (dermatitis alérgica no mediada por IgE). Estos resultados pueden justificarse porque exista falta de correlación entre los niveles de IgE circulantes y las IgE unidas a mastocitos de la piel, o por la posible heterogenicidad funcional en la IgE felina y/o de sus receptores celulares, tal como se ha descrito en perros y humanos (Peng *et al.*, 1997; Halliwell *et al.*, 1998).

Papel de las IgE en otras enfermedades inflamatorias cutáneas

Es importante considerar que, aunque a las IgE no se les atribuyen algunas características propias de otras inmunoglobulinas (como por ejemplo características antimicrobianas, ya que no son capaces de activar el complemento ni producir la opsonización de microorganismos), existen diversas entidades clínicas no alérgicas en las que pueden jugar un papel importante y pueden condicionar el diagnóstico (Bailleau, 2015).

Algunos ectoparásitos pueden producir una respuesta inmunológica mediada por IgE en el hospedador. *Otodectes cynotis* produce un aumento de IgE circulantes (Reinero, 2009), que se normalizan de 3 a 6 meses después de haber instaurado un correcto tratamiento acaricida. Estas IgE pueden reaccionar a su vez frente algunas proteínas alérgicas de otros ácaros ambientales, implicados frecuentemente en la dermatitis alérgica, lo que puede dar lugar a la presencia de resultados falsos positivos en pruebas de alergia (Saridomichelakis *et al.*, 1999). Del mismo modo, es habitual el desarrollo de IgE específicas frente alérgenos de la saliva de los mosquitos y de la pulga (*Ctenocephalides felis*, en la mayoría de los casos), que, junto a una reacción inmunológica celular retardada, dan lugar a un cuadro clínico dermatológico inflamatorio y pruriginoso (Nagata e Ishida, 1997; Kunkle *et al.*, 2003; Halliwell *et al.*, 2021).

Por otra parte, en el gato se han detectado concentraciones mayores de IgE en animales con parasitosis interna que en gatos sanos (Delgado *et al.*, 2010), siendo estos niveles comparables a los hallados en gatos con enfermedad alérgica (asma). Los parásitos del género *Toxocara*, además de tener la capacidad de inducir la producción de IgE, puede dar lugar a un aumento en la sensibilización hacia alérgenos alimentarios (Gillbert y

Halliwell, 2005), que podría comportar la aparición de sintomatología cutánea. Todos estos factores hay que tenerlos presentes en el momento de realizar la lectura de resultados obtenidos tras la medición de IgE en el gato.

Signos clínicos del Síndrome Atópico Cutáneo Felino

La dermatitis atópica es una enfermedad inflamatoria crónica de la piel que cursa con prurito más o menos intenso y lesiones primarias y secundarias. La presentación clínica varía en función de la especie estudiada. En el ser humano es común observar xerosis, eritema y prurito en fases iniciales que evolucionan para producir otros cambios crónicos y secundarios, como liquenificación y excoriaciones, con una distribución variable en función de la edad de presentación (Yang *et al.*, 2020). Suele acompañarse con el compromiso de órganos extra cutáneos, produciendo signos como rinitis, bronquitis, conjuntivitis, blefaritis, y problemas digestivos (Mocanu *et al.*, 2021). La formación de autoanticuerpos (principalmente IgE) durante la progresión de la enfermedad aumenta la incidencia de otras enfermedades autoinmunes concomitantes, como alopecia areata o vitíligo (Holmes *et al.*, 2019; Roesner y Welfer, 2019; Badloe *et al.*, 2020).

En el perro se describe una presentación clásica de prurito que afecta principalmente la región facial, piel de la cara interna de los pabellones auriculares, extremidades distales, axilas e ingle (Favrot *et al.*, 2010; Bizikova *et al.*, 2015), asociado a lesiones primarias y secundarias. La distribución y gravedad puede variar a su vez entre razas y depende de la cronicidad del cuadro clínico (Favrot *et al.*, 2010; Wilhem *et al.*, 2011). Tal como se ha observado en seres humanos, la dermatitis atópica puede acompañarse de signos extra cutáneos en el perro, como rinitis, conjuntivitis, o signos digestivos (Bizikova *et al.*, 2015).

En el caso del gato, los animales afectados de FASS suelen ser jóvenes, con edades comprendidas entre los 6 meses y los 5 años, aunque no se debe descartar la posibilidad de encontrar pacientes que debutan después de los 6 o 7 años de vida. Es una enfermedad más frecuente en hembras que en machos, siendo la proporción encontrada en algunas series de casos de un 60%:40% respectivamente (Santoro *et al.*, 2021).

Cursa con prurito de intensidad variable y lesiones que podemos definir en base a diferentes patrones lesionales, siendo los patrones clásicos (Favrot *et al.*, 2011; Hobi *et al.*, 2011; Santoro *et al.*, 2021):

- **Prurito y excoriaciones cervico-faciales (PCF):** El paciente afectado presenta un elevado nivel de prurito asociado a una conducta intensa de rascado, que induce a la formación de excoriaciones, lesiones erosivo-ulcerativas y costrosas, en muchos casos severas, a nivel de cabeza (a) y cuello (b).



- **Dermatitis miliar (DM):** El paciente afectado presenta una dermatopatía papulo-costrosa que puede afectar a diferentes regiones corporales, siendo la más común la región dorsolumbar, con un grado variable de prurito asociado.



- **Alopecia auto inducida (AAI):** El paciente afectado presenta hipotricosis y falsa alopecia (afeitado), secundarias al exceso de acicalamiento como consecuencia del prurito. Suele afectar a regiones anatómicas más o menos extensas, principalmente zonas ventrales, flancos, tronco y extremidades posteriores.



- **Dermatitis eosinofílicas (DE):** Clásicamente han recibido el nombre de Complejo del Granuloma Eosinofílico (CGE). Se trata de un conjunto heterogéneo de patrones de reacción dermatológica en los que los eosinófilos juegan un papel fundamental. Las presentaciones clásicas son:
 - Úlcera indolente (a): afecta principalmente a los labios superiores, en los que se produce una lesión erosivo-ulcerativa que puede progresar a fibrosis más o menos intensa. No suele existir dolor ni prurito asociado a la lesión, a excepción de aquellos casos en los que se produzca una infección bacteriana secundaria.
 - Placa eosinofílica (b): afecta principalmente a regiones corporales ventrales y son lesiones pruriginosas en forma de placa eritematosa, erosiva y exudativa.

- Granuloma eosinofílico: es la única lesión del grupo que se presenta clínicamente como un granuloma. Las formas clásicas serían el granuloma lineal, que afecta principalmente a la cara caudal de las extremidades posteriores (d), el granuloma del mentón (c) y las formas proliferativas que se presentan principalmente en mucosa oral.



La frecuencia de cada una de estas lesiones puede situarse en valores de hasta el 60% para la alopecia auto inducida, 43% para el prurito cervico-facial, 31% para la dermatitis miliar y el 26% para las dermatitis eosinofílicas (Santoro *et al.*, 2021); confluyendo más de un patrón lesional en el 38% de los casos (Santoro *et al.*, 2021). Las regiones anatómicas más comúnmente afectadas por al menos uno de los patrones lesionales previamente descritos son la cabeza y cuello, pabellones auriculares, extremidades y abdomen ventral (Hobi *et al.*, 2011; Favrot *et al.*, 2012; Scott y Miller, 2013).

Además de estos cuatro patrones, los pacientes afectados de FASS también pueden presentar otras lesiones dermatológicas, menos comunes o atípicas, como pododermatitis y otitis, en alrededor del 21% de los casos. Del mismo modo que en el resto de las especies, se pueden observar signos extra cutáneos como rinoconjuntivitis, asma o signos digestivos (Santoro *et al.*, 2021).

Con el fin de realizar una valoración objetiva de las lesiones relacionadas con la dermatitis alérgica se han propuesto diferentes escalas validadas. En medicina humana

se utilizan escalas como SCORAD (*Severity Scoring Atopic Dermatitis*) y EASI (*Eczema Area and Severity Index*) (Oranje, 2011; Schram *et al.*, 2012). En el perro, se han propuesto escalas como CADLI (*Canine Atopic Dermatitis Lesion Index*) (Plant *et al.*, 2012) y varias iteraciones de una misma escala, CADESI (*Canine Atopic Dermatitis Extent and Severity Index*) (Olivry *et al.*, 2014). En el gato se propuso la escala FEDESI (*Feline Dermatitis Extent and Severity Index*), adaptada de la escala CADESI utilizada en el perro, en la que se valora la severidad de las lesiones en 42 regiones anatómicas diferentes (Nuttal *et al.*, 2004). Posteriormente se ha validado otra escala más práctica para su uso en la clínica diaria (SCORFAD – *SCORing Feline Allergic Dermatitis*) (Steffan *et al.*, 2012). En ésta se valoran sólo 10 regiones anatómicas a las que se les otorga una puntuación del 0-4, según la gravedad de cada uno de los cuatro patrones lesionales típicos en el gato (excoriaciones, dermatitis miliar, dermatitis eosinofílica y alopecia autoinducida). Independientemente de la dificultad de implementación de ambas escalas, la correlación de resultados entre ellas parece ser adecuada (Brame *et al.*, 2021).

Del mismo modo, se utilizan escalas numéricas con el fin de cuantificar el grado de prurito, signo fundamental en las dermatitis alérgicas, tanto en medicina humana como veterinaria (Yosipovitch *et al.*, 2019). En el perro se utiliza una escala análoga visual (VAS), numerada o no, en la que se le da un valor del 0 al 10 al grado de prurito, en base tanto a la intensidad y duración de éste como a las alteraciones que el prurito provoca en el comportamiento diario normal del paciente, como comer, dormir o jugar (Rybníček *et al.*, 2008). Valorar el prurito en el gato puede ser más complejo, debido al comportamiento normal de acicalamiento de la especie. Con el fin de mejorar la medición, recientemente se ha propuesto el uso de un nuevo sistema (VAScat), en el que se utiliza la combinación de dos escalas, una para el lamido y otra para el rascado propiamente dicho. Se demostró que las dos escalas medían diferentes manifestaciones del prurito en el gato, y que la combinación de ambas en la escala VAScat resultaba útil para medir el prurito en el gato y la evolución de éste durante la terapia (Colombo *et al.*, 2021).

Diagnóstico del Síndrome Atópico Cutáneo Felino

El diagnóstico de la dermatitis atópica en el ser humano es clínico, y se basa principalmente en la morfología y distribución de las lesiones, el curso de la enfermedad, la coexistencia de signos extra cutáneos y la presencia de una historia familiar y/o personal de atopia (Salvati *et al.*, 2021).

El diagnóstico del FASS en el gato también es clínico. Se consideran sospechosos aquellos pacientes que se presentan a consulta con prurito y/o uno o varios de los patrones lesionales anteriormente descritos, con o sin otros signos extra cutáneos. El diagnóstico se establece tras descartar otras enfermedades que puedan cursar con un cuadro clínico dermatológico similar.

En muchos casos puede suponer un desafío para el veterinario. Puede ser difícil la valoración del grado y/o presencia de prurito por parte del tutor, debido a la conducta normal de acicalamiento de la especie, por lo que la información recogida durante la anamnesis puede ser confusa. Por otra parte, ninguno de los patrones lesionales descritos es exclusivo de una dermatitis alérgica, y pueden presentarse como consecuencia de otros agentes etiológicos, como por ejemplo en la reacción a ectoparásitos y en algunas dermatopatías víricas. Además, incluso habiendo descartado otras patologías y siendo la dermatitis alérgica el diagnóstico más probable, el cuadro clínico no es indicativo del tipo de alérgeno que pueda estar implicado, por lo que en ocasiones es imposible iniciar una terapia etiológica específica. Así, animales con hipersensibilidad frente alérgenos ambientales y/o alimentarios pueden presentar un cuadro clínico idéntico (Hobi *et al.*, 2011).

Por tanto, el protocolo diagnóstico debe ser completo y ordenado, y empezará por descartar otras causas/etiologías que puedan dar lugar a un cuadro similar, para poder llegar a un correcto diagnóstico clínico y por exclusión de FASS.

Control de Ectoparásitos

En el abordaje a un gato con prurito, el primer paso es descartar la implicación de ectoparásitos en el cuadro clínico, en especial de pulgas. La prevalencia de las reacciones dermatológicas secundarias a la picadura de pulgas es muy variable geográficamente, oscilando entre el 7 y el 29% de aquellos gatos que se presentan a consulta con cuadro dermatológico (Hobi *et al.*, 2011; Scott *et al.*, 2012). A diferencia de lo que ocurre en el perro (Bruet *et al.*, 2012), en el que las dermatitis alérgicas provocadas por la picadura de la pulga se presentan con una distribución lesional característica que nos permite realizar un diagnóstico presuntivo, en el gato la dermatitis alérgica a la picadura de pulga puede provocar cualquiera de los patrones dermatológicos anteriormente descritos (Hobi *et al.*, 2011).

La visualización de pulgas adultas o de heces durante el examen dermatológico en un gato en el que existe un aumento de acicalamiento secundario al picor puede resultar difícil. Por tanto, como parte del protocolo diagnóstico-terapéutico se debe instaurar un adecuado tratamiento antiparasitario, mediante el uso de fármacos tópicos o sistémicos, siendo fundamental realizar tratamiento a todos aquellos animales con los que conviva el paciente, y llevar a cabo un buen control ambiental, siempre que sea posible.

La medición de IgE alérgeno-específicas frente la saliva de la pulga no se considera la prueba de elección para el diagnóstico, ya que se han reportado niveles de especificidad y sensibilidad del 0,77 y del 0,88 respectivamente en pruebas serológicas (Bond *et al.*, 2006).

Del mismo modo hay que considerar otros parásitos capaces de producir dermatopatías clínicamente similares a FASS, como los ácaros del género *Demodex* (Mueller *et al.*, 2020), *Otodectes*, *Notedres*, *Cheyletiella* o *Trombicula* (Santoro *et al.*, 2021). En caso de no ser detectados mediante las pruebas dermatológicas de rutina (por ejemplo, raspados superficiales y profundos o examen microscópico del pelo), y siempre que exista una sospecha razonable, es adecuado realizar un ensayo terapéutico con fármacos eficaces y con un buen perfil de seguridad, como las isoxazolinás (Zhou *et al.*, 2021).

Control de Infecciones bacterianas y fúngicas

Del mismo modo es importante valorar la presencia de infecciones secundarias, que puedan estar agravando y perpetuando el cuadro clínico.

Los defectos en la barrera cutánea, unidos a la expresión de citoquinas inflamatorias en la piel, como la IL-4 o la IL-13, puede producir un descenso en los péptidos antimicrobianos, aumentando así la susceptibilidad de colonización bacteriana (Kobayashi e Imanishi, 2021), la cual exacerba a su vez el cuadro clínico (Elias y Schmuth, 2009). En los perros alérgicos es bien conocida la predisposición a presentar infecciones bacterianas cutáneas secundarias (DeBoer y Marsella, 2001).

A pesar de que la capacidad de adhesión de las bacterias a los corneocitos de los gatos es menor que la que se observa en el caso del perro (Woolley *et al.*, 2008), en el que además se ha visto que dicha adherencia es a su vez mayor en perros atópicos (Simou *et al.*, 2005), existen estudios que sitúan la prevalencia de pioderma secundario en hasta el 49% de los pacientes felinos afectados por dermatitis alérgicas (Yu y Vogelnest, 2012; Ravens *et al.*, 2014). Este valor no difiere tanto de lo observado en el perro, en el que hasta el 68% de pacientes atópicos pueden presentar pioderma, dermatitis piodtraumática y/o dermatitis acral por lamido (Simou *et al.*, 2005), por lo que es fundamental diagnosticar o descartar infecciones bacterianas en los gatos con FASS.

En la mayoría de los casos el agente infeccioso implicado es *Staphylococcus* spp. (Rodrigues, 2017; Older *et al.*, 2021). Mediante técnicas moleculares se ha observado una mayor población de *S. felis* y *S. capitis* en la piel de gatos alérgicos, con respecto al mayor número de *S. epidermitis* en gatos sanos (Older *et al.*, 2021). En ambos casos la diversidad de estafilococos que se encuentra en la piel del gato es mayor que la observada en el perro y en humanos (Weese, 2013; Rodrigues, 2017), pero esta diversidad disminuye en la piel de gatos alérgicos (Older *et al.*, 2017)

El diagnóstico de las infecciones bacterianas pasa por la realización de un estudio citológico de las lesiones. La decisión de instaurar o no un tratamiento específico se basará en los hallazgos citológicos y/o en los resultados obtenidos en el cultivo microbiológico, con el objetivo de hacer un uso responsable de los antibióticos (Hillier *et al.*, 2014)

Del mismo modo, el sobrecrecimiento de levaduras (principalmente aquellas pertenecientes al género *Malassezia* spp.) es frecuente en el perro alérgico, agravando considerablemente el cuadro clínico en muchos pacientes caninos (Bond *et al.*, 2020). Se considera menos frecuente en el gato, a pesar de que en algunos estudios se ha observado una incidencia de hasta el 60% en determinadas regiones anatómicas como la cara (Ordeix *et al.*, 2007). Así mismo, se ha descrito una mejoría significativa de los signos clínicos relacionados con la dermatitis alérgica en gatos en los que se ha utilizado un fármaco antifúngico como monoterapia (Ordeix *et al.*, 2007). Por tanto, aunque clásicamente se ha relacionado el sobrecrecimiento de levaduras en la piel del gato principalmente con la presencia de enfermedades sistémicas (Mauldin *et al.*, 2002), es adecuado realizar un correcto abordaje para detectar la presencia de este microorganismo en todos los gatos con dermatitis alérgica.

El diagnóstico citológico es rápido y sencillo, a partir de muestras de superficie tomadas con cinta adhesiva, en la mayoría de los casos. Hay que tener presente que a pesar de que *Malassezia* spp. es una levadura lipofílica comensal de una gran variedad de mamíferos, no siempre se observan en citologías de superficie de la piel de gatos sanos-no lesionales. Por tanto, detectar más de un microorganismo en una citología tomada de una lesión compatible podría considerarse como un hallazgo significativo (Ordeix *et al.*, 2007).

Por último, y a pesar de ser una enfermedad con una prevalencia menor a la que se ha supuesto históricamente (Moriello *et al.*, 2017), es importante descartar también la presencia de hongos dermatofitos en aquellos pacientes en los que observemos un cuadro compatible tanto con esta patología infecciosa como con una dermatitis alérgica, como por ejemplo dermatitis miliar o dermatitis papular eosinofílica (Colombo *et al.*, 2012). Es importante desde el punto de vista diagnóstico y terapéutico, ya que el uso de inmunosupresores para el control de la dermatitis alérgica podría favorecer la progresión de estos hongos. Además, no debe menospreciarse su capacidad zoonótica, por lo que el diagnóstico adecuado es fundamental (Moriello *et al.*, 2017)

Implicación de alérgenos alimentarios

Siguiendo con el protocolo diagnóstico, es fundamental conocer qué parte del cuadro clínico está relacionado con alérgenos de origen alimentario, principalmente en aquellos pacientes en los que el cuadro clínico no es estacional.

Los gatos que sufren alergia alimentaria debutan a una edad media de 3,9 años, pero con una variabilidad tan alta que puede oscilar desde los pocos meses de vida hasta los 15 años. No se han observado diferencias significativas entre género y razas (Olivry y Mueller, 2019). Aunque se presume una prevalencia baja, se han obtenido resultados muy variables entre estudios, que oscilan entre el 0,2 y el 21% del total de los casos de alergia (Guilford *et al.*, 1998; Hobi *et al.*, 2011; Scott *et al.*, 2012; Olivry y Mueller, 2017).

Los pacientes afectados presentan prurito de intensidad variable y que compromete la región facial en más del 50% de los casos, seguido de las orejas, la región ventral y las extremidades (Olivry y Mueller, 2019). Así mismo, es común observar signos gastrointestinales concomitantes, siendo más frecuentes en el gato los vómitos que las diarreas, lo que puede resultar de ayuda en el diagnóstico presuntivo inicial. Aunque con menor frecuencia, también se le ha asociado conjuntivitis, hipersalivación, signos respiratorios e hiperactividad (Mueller y Olivry, 2018).

No es adecuado el uso de pruebas laboratoriales para el diagnóstico de la alergia alimentaria. La medición de IgE e IgG alérgeno-específicas es muy poco precisa, y están descritos valores de sensibilidad y especificidad en el perro de entre 15-100% y el 61-86%, respectivamente; y de entre el 0 y el 20% en el gato (Mueller y Olivry, 2017). Del mismo modo, el test intradérmico o el uso de parches dérmicos presentan resultados muy imprecisos y altamente variables entre pacientes (Mueller y Olivry, 2017). Desafortunadamente, otras técnicas con mejores valores de sensibilidad y especificidad como la prueba de proliferación de linfocitos son poco prácticas a nivel técnico para su aplicación en la clínica dermatológica veterinaria diaria (Mueller y Olivry, 2017).

Por tanto, la aproximación al diagnóstico pasa por instaurar una estricta dieta de eliminación. Esta dieta puede ser diseñada a base de una fuente de proteína novel para el animal, comercial o casera, o pienso comercial con proteína altamente hidrolizada (Mueller y Unterer, 2018). Para decidir qué proteínas incluir en la dieta de eliminación hay que considerar que aquellas que más comúnmente se asocian a alergias alimentarias en el gato son la proteína de vaca, el pescado y el pollo (Mueller *et al.*,

2016). En todos los casos, además, es fundamental recoger una historia alimentaria previa precisa. Hay que tener en cuenta que entre el 33 y el 83% de las dietas comerciales etiquetadas como “monoproteicas”, presentan otras proteínas que no figuran en la etiqueta (Olivry y Mueller, 2018). Esto puede complicar el diagnóstico de alergia alimentaria por dos razones: es posible que elijamos una proteína presumiblemente novel para el animal, pero con la que haya tenido contacto previo sin saberlo; y no es posible asegurar al 100% que la elección de una dieta comercial monoproteica sea útil para llevar a cabo la dieta de eliminación en muchos casos, por la existencia de otras proteínas desconocidas (Olivry y Mueller, 2018).

La alternativa es utilizar dietas comerciales a base de proteína altamente hidrolizada. Se ha demostrado que la hidrolización total de la proteína puede evitar la reactividad y reconocimiento por parte de las IgE de animales sensibilizados frente dicha proteína (Olivry *et al.*, 2017c). Por tanto, el uso de dietas comerciales altamente hidrolizadas puede ser útil para el diagnóstico, aunque en ocasiones su palatabilidad es baja en el gato, limitando su utilidad potencial. Existen pocos estudios sobre el uso de estas dietas en pacientes felinos, pero se ha observado que alguna de las comercialmente disponibles (con proteína hidrolizada por debajo de los 6 kDa) puede ser útil durante el protocolo diagnóstico (Noli y Beltrando, 2021). Además, prácticamente la totalidad de dietas a base de proteína altamente hidrolizada no presentan contaminación con fuentes de proteínas diferentes a las que figuran en la etiqueta (Olivry y Mueller, 2018).

La dieta de eliminación debería mantenerse durante un mínimo de 8 semanas, con el fin de aumentar la sensibilidad en el diagnóstico (Olivry *et al.*, 2015). En aquellos pacientes en los que el cuadro clínico se controle con la dieta, cabría esperar una recaída de los signos clínicos tras la reintroducción de la dieta anterior, volviendo a controlarse al recuperar de nuevo la dieta de eliminación. En perros con alergia alimentaria, esta recaída se ha observado durante las primeras 3-6 horas en alrededor del 24% de los casos; y en el 61% antes de las 12 horas (Shimakura y Kowano, 2021). A pesar de esto, algunos animales presentan reaparición de los signos clínicos después de varios días (3-10 días), por lo que es adecuado mantener el desafío dietético durante todo este tiempo (Shimakura y Kowano, 2021).

Esta dualidad en la recaída después de volver a forzar el contacto con los alérgenos alimentarios implicados está justificada por la etiopatogenia de la enfermedad. Las alergias alimentarias están comúnmente mediadas por un proceso de hipersensibilidad tipo I en el que, tras un primer contacto con el alérgeno, se produce una respuesta Th2,

con la producción de IL-4, IL-5, IL-13 e IgE alérgeno-específicas. Estas IgE se unen a receptores de membrana en células efectoras, como los mastocitos, lo que desencadena una respuesta inmediata tras un segundo contacto con el alérgeno (Mueller y Unterer, 2018). Paralelamente se produce una respuesta retardada Th1, dirigida por las células dendríticas, que da lugar a la infiltración tisular de mastocitos, linfocitos y células plasmáticas. Este mecanismo inmunológico puede justificar la presencia de una respuesta clínica más tardía en algunos pacientes después del contacto con el alérgeno (Mueller y Unterer, 2018).

Con el fin de mejorar la adherencia del tutor a la dieta de eliminación, se buscan alternativas tanto para mejorar la calidad de vida del paciente como para acortar al máximo las semanas necesarias para sacar conclusiones. Así, algunos autores proponen pautas en el perro en las que durante las primeras semanas se utilizan fármacos antiinflamatorios para el control de los signos clínicos con el objetivo de disminuir la duración de la dieta (Favrot *et al.*, 2019; Fischer *et al.*, 2021). Actualmente no se ha propuesto un protocolo similar que pueda resultar útil en el gato.

Síndrome Atópico Cutáneo Felino

El diagnóstico presuntivo de Síndrome Atópico Cutáneo Felino es clínico, y se basa en la presencia de signos clínicos dermatológicos compatibles y en la exclusión de otras enfermedades que puedan cursar de manera similar, tal como se ha descrito anteriormente. Además, en la mayoría de los animales afectados existe una respuesta adecuada a fármacos antiinflamatorios/inmunodepresores (Favrot *et al.*, 2011).

En medicina humana, debido a la complejidad que implica realizar un diagnóstico clínico en muchos casos, se ha buscado la manera de crear un método objetivo para poder diferenciar entre personas atópicas y sanas. En 1980 se propusieron los primeros criterios para el diagnóstico de la dermatitis atópica en la que se incluyeron 4 criterios mayores y 23 criterios menores. En aquellos pacientes en los que se cumplían al menos 3 criterios de cada grupo, siendo imprescindible la presencia de prurito, era altamente probable que padeciesen la enfermedad, con una sensibilidad y especificidad en el diagnóstico del 93-96% y del 78-94%, respectivamente (Hanifin y Rajka, 1980). Desde entonces, se siguen proponiendo otros criterios, más o menos complejos, con el fin de buscar la manera de definir y diagnosticar la dermatitis atópica, incluyendo principalmente valores objetivos (Andersen *et al.*, 2016).

Se han propuesto sistemas similares tanto en el perro como en el gato, con el fin de facilitar o guiar el diagnóstico clínico. En el caso del perro se han propuesto varios conjuntos de criterios clínicos, pero a pesar de ser una herramienta útil durante el diagnóstico y de que su uso está ampliamente aceptado y extendido, ninguno de ellos presenta unos niveles de especificidad y sensibilidad tan adecuado como para ser utilizados como *gold standard* (Bremont *et al.*, 2019). Favrot *et al.* propusieron unos criterios útiles para guiar el diagnóstico clínico de las dermatitis alérgicas también en el gato. En aquellos pacientes en los que, tras descartar la presencia de pulgas, se cumplían 6 de los 10 criterios clínicos propuestos se obtuvieron valores de sensibilidad y especificidad en el diagnóstico del 90% y 83%, respectivamente (Favrot *et al.*, 2011).

Al tratarse de un diagnóstico clínico, el uso de pruebas laboratoriales no debería tener una finalidad diagnóstica, si no terapéutica. Es decir, la identificación laboratorial de una reacción inmunológica (humoral o celular) frente algún alérgeno ambiental concreto únicamente proporciona más solidez al diagnóstico presuntivo y permite llevar a cabo

abordajes terapéuticos a nivel etiológico (evicción del alérgeno o inmunoterapia alérgeno-específica).

Con este fin se pueden medir las concentraciones de IgE alérgeno-específicas en sangre o utilizar pruebas de intradermorreacción. Mediante la primera técnica se miden las IgE circulantes; mientras que la segunda, valora las IgE unidas a mastocitos cutáneos. En ambos casos podemos encontrar un número variable de pacientes con resultados falsos positivos y falsos negativos (Schleifer y Willemse, 2003; Diesel y DeBoer, 2011; Gentry y Messinger, 2016).

La realización de una **prueba intradérmica** implica la sedación del paciente y el afeitado de una región anatómica más o menos extensa. El estrés que puede suponer este manejo, en especial en el caso del gato, puede interferir en la medida de los habones que deben formarse en la piel al aplicar los alérgenos. Se ha observado que, incluso administrando algunos fármacos que pueden relajar al paciente antes de su visita a la clínica, como la gabapentina, los niveles de cortisol circulantes son elevados (Hudec y Griffin, 2020). Además, la interpretación de los resultados de las pruebas intradérmicas en el gato puede ser especialmente complicada ya que las reacciones observadas suelen ser más débiles en esta especie. Una posible explicación a este problema es que, debido a que no existe una estandarización ni en la concentración ni en la composición de los alérgenos, se podrían estar utilizando concentraciones subóptimas (Scholz *et al.*, 2017). Con el fin de mejorar la lectura de resultados se ha propuesto la utilización intravenosa de fluoresceína inmediatamente después de la aplicación de los alérgenos en la piel (Fluoresceína al 10%, a razón de 5 mg/kg), procedimiento que no está exento de riesgos (Kadoya *et al.*, 2002; Scholz *et al.*, 2017).

A modo de alternativa se ha propuesto el uso de la **prueba percutánea**, en los que los alérgenos se depositan sobre la piel y luego se produce una pequeña laceración con una lanceta adecuada para este fin (Rossi *et al.*, 2013; Gentry y Messinger, 2016). A pesar de ser una técnica que puede realizarse de forma más rápida que la inyección de alérgenos en la prueba intradérmica, también es necesario sedar y afeitar al paciente, por lo que no evitamos el estrés asociado al procedimiento, que es una de las principales barreras.

Por estas razones, las **pruebas serológicas** se utilizan comúnmente en el gato (no es necesario sedar ni afeitar al animal, por lo que minimizamos la situación estresante y debemos dedicarle menos tiempo a la técnica diagnóstica). Desafortunadamente, en los

pocos estudios que existen al respecto (Bexley *et al.*, 2009; Diesel y DeBoer, 2011), los valores obtenidos pueden ser variables y estar condicionados por muchos factores, algunos de ellos tan simples como la edad de los pacientes (Belova *et al.*, 2012) o la mera presencia de algunos alérgenos en el ambiente.

Por tanto, las “pruebas de alergia” deberían realizarse después de un adecuado protocolo diagnóstico de exclusión y considerando el contexto individual de cada paciente, ya que en muchas ocasiones encontraremos animales aparentemente polisensibilizados (Ravens *et al.*, 2014) en los que no necesariamente todos los alérgenos frente los que presenta niveles significativos de IgE son responsables del cuadro clínico.

Manejo terapéutico

Actualmente no existen terapias específicas que puedan controlar y eliminar de modo permanente los signos clínicos de la dermatitis atópica, por lo que su tratamiento debe entenderse como crónico y paliativo (Kader *et al.*, 2021). A pesar de esto, en medicina humana se considera que muchos pacientes consiguen un control adecuado de los síntomas mediante la combinación de terapias que mejoran la hidratación y la estabilidad de la piel, fármacos antiinflamatorios tópicos y/o modificaciones ambientales. Aunque en algunos casos sigue siendo necesario el uso de terapias sistémicas (Sidbury *et al.*, 2015), y gracias al avance en el conocimiento de la fisiopatología de la enfermedad en los últimos años han aparecido opciones terapéuticas más sofisticadas y seguras a largo plazo, como los anticuerpos monoclonales (Salvati *et al.*, 2021).

Del mismo modo existen diferentes alternativas terapéuticas para el control de la dermatitis atópica en el perro, siendo común el uso de fármacos antiinflamatorios tópicos y/o sistémicos, anticuerpos monoclonales y /o inmunoterapia alérgeno-específica con el fin de controlar la inflamación y el prurito (Olivry *et al.*, 2010b).

Lamentablemente no existen guías terapéuticas para el manejo del FASS, y la escasez de estudios adecuados limita la recomendación basada en la evidencia de muchas de las opciones farmacológicas disponibles (Mueller *et al.*, 2021).

En todos los casos, la terapia debería adaptarse al tipo de paciente y a la gravedad de la enfermedad dermatológica, teniendo como objetivos mejorar la barrera cutánea, evitar las infecciones superficiales y ejercer un efecto antiinflamatorio y antipruriginoso (Salvati *et al.*, 2021), siendo las siguientes herramientas las que se utilizan con mayor frecuencia:

Mejora de la integridad y funcionalidad de la barrera cutánea

Considerando la importancia de la barrera cutánea en la fisiopatología de la dermatitis alérgica en el ser humano, mantener su integridad y su correcto funcionamiento debería considerarse uno de los objetivos principales de cualquier tratamiento. En personas atópicas es fundamental el uso de terapias para mejorar la hidratación cutánea con el fin de evitar agudizaciones, principalmente en aquellos pacientes con un cuadro leve-moderado, ya que disminuye la xerosis y el prurito y, por tanto, la necesidad de fármacos antiinflamatorios (Marsella, 2013; Kader *et al.*, 2021; Salvati *et al.*, 2021). De hecho, se ha demostrado que el uso de productos hidratantes desde el nacimiento puede contribuir a la prevención de la dermatitis atópica en niños (Chalmers *et al.*, 2020).

En el perro se recomienda el uso de baños no irritantes y la suplementación dietética con ácidos grasos esenciales con el fin de mejorar la higiene e integridad de la piel (Olivry *et al.*, 2010b). Se ha observado en esta especie que la aplicación tópica de productos con combinaciones de aceites esenciales, ácidos grasos, ceramidas y colesterol mejoran la calidad de la barrera cutánea, actuando a nivel de queratinocitos y de los lípidos intercelulares, con el consiguiente beneficio sobre los signos clínicos (Marsella, 2013). Del mismo modo se ha obtenido una respuesta satisfactoria en perros en los que se utilizó una formulación tópica a base de glucosaminoglicanos y esfingolípidos ricos en esfingomielina (Marsella *et al.*, 2020). Un trabajo reciente ha demostrado que un producto formulado a base de fitoceramidas, ácidos grasos esenciales derivados de plantas y aceites esenciales puede reducir la liberación de IL en la epidermis, así como aumentar en un 52% la expresión de profilagrina y filagrina, sobre cultivos de piel (Darmon-Hadjaje *et al.*, 2021). Del mismo modo, la misma combinación aplicada semanalmente vía tópica es capaz de disminuir la TEWL en una piel dañada (Idee *et al.*, 2021). El propio laboratorio que comercializa este producto recomienda (comunicación personal) su uso en el gato con el objetivo de mejorar la calidad de la barrera cutánea.

En aquellos casos en los que la barrera cutánea está muy dañada de forma secundaria a la inflamación será conveniente iniciar un adecuado tratamiento antiinflamatorio concomitante. En el ser humano está altamente instaurado el uso tópico de glucocorticoides o inhibidores de la calcineurina (Marsella, 2013; Kader *et al.*, 2021; Salvati *et al.*, 2021).

Glucocorticoides

Los glucocorticoides son hormonas secretadas de forma fisiológica por las glándulas adrenales con capacidad de modular múltiples funciones celulares. Suprimen potentemente la respuesta inflamatoria tisular, lo que les ha permitido convertirse en uno de los grupos de fármacos antiinflamatorios más utilizados (Adcock y Mumby, 2017).

Difunden de forma rápida a través de la membrana celular para unirse a receptores citoplasmáticos de glucocorticoides (GR). Estos receptores se encuentran en todas las células, por lo que su efecto se hará evidente en todos los órganos. Una vez se produce la unión, el receptor se activa y migra al núcleo con la ayuda de importinas, donde se unirá a su vez a regiones del ADN que reciben el nombre de elementos de respuesta a glucocorticoides (ERG). Así, se facilita la transcripción de genes activadores, que potencian la respuesta antiinflamatoria aumentando la transcripción de algunas proteínas antiinflamatorias, como la IL-10, la lipocortina-1 o la I κ B. Del mismo modo se facilita la transcripción de genes supresores que inhiben la respuesta inflamatoria celular mediante la interferencia con factores activadores de la transcripción de citoquinas inflamatorias, quimiocinas y moléculas de adhesión, como son el factor nuclear κ B (NF- κ B) y el activador de la proteína-1 (AP-1) (Adcock y Mumby, 2017).

Pero estos mecanismos no explican el rápido efecto que se observa clínicamente tras la administración de glucocorticoides. Así, la unión a otros receptores citosólicos induce la liberación de proteínas de señal que pueden modular la respuesta inflamatoria, como la Src. Esta proteína inhibe la lipocortina-1, disminuyendo así la liberación de ácido araquidónico, con el consiguiente efecto sobre la producción de eicosanoides. Por otra parte, la interacción directa con las membranas celulares, mediada o no por receptores específicos (GR), altera sus características fisicoquímicas. Mediante la inhibición de los canales iónicos se produce una reducción de los niveles de calcio intracitoplasmático con la consiguiente disminución en la activación de células, como los linfocitos (Lowe *et al.*, 2008).

Existen múltiples presentaciones farmacológicas adaptadas a diferentes vías de administración. La naturaleza lipídica de los glucocorticoides sintéticos ha permitido su uso tópico, y en medicina humana esta vía de administración es una opción de primera línea, altamente utilizada y con capacidad para el control de los signos clínicos, principalmente en fases agudas (Kader *et al.*, 2021). Los más utilizados con este fin son

los glucocorticoides de potencia media o clase III (Jacob y Steele, 2006), entre ellos el dipropionato de beclometasona, dipropionato o valerato de betametasona, budesonida o mometasona. Sus efectos varían en función del vehículo utilizado y de características propias del paciente y de la enfermedad (Sauvé, 2019). El uso proactivo, en ocasiones una o dos veces por semana, puede resultar útil también en fases más crónicas con el fin de evitar recaídas (Salvati *et al.*, 2021). Sin embargo, su uso a largo plazo no está exento de riesgos, como el efecto supresor sobre la glándula adrenal y la atrofia cutánea (Kader *et al.*, 2021).

El uso de glucocorticoides sistémicos suele reservarse para pacientes adultos con un cuadro grave y agudo de dermatitis atópica, y habitualmente se utilizan durante un corto periodo de tiempo y a dosis moderadas (no más de 0,5 mg/kg/día) (Salvati *et al.*, 2021). Su uso a largo plazo está condicionado por los potenciales efectos adversos, como glaucoma, cataratas, atrofia tisular y retraso en la cicatrización, supresión adrenal, osteoporosis, hipertensión, úlceras gastrointestinales, diabetes mellitus y cambios comportamentales (Adcock y Mumby, 2017).

En medicina veterinaria el uso de glucocorticoides tópicos está menos extendido debido a la presencia de una alta densidad de pelo y al propio comportamiento de los pacientes, y se limita en muchas ocasiones al tratamiento local de la enfermedad otológica (Sauvé, 2019).

Aún si, en el perro se ha propuesto el uso de preparaciones tópicas de glucocorticoides, como spray de hidrocortisona aceponato al 0,058% o triamcinolona al 0,015%, consiguiendo controlar de forma adecuada las lesiones inflamatorias localizadas (Olivry *et al.*, 2010b; Olivry y Bizikova, 2013; Olivry *et al.*, 2015). A pesar de que resultan opciones seguras, el uso de glucocorticoides tópicos a largo plazo tampoco está exento de riesgo en esta especie, pudiendo presentar atrofia cutánea, comedones y quistes foliculares superficiales (Olivry *et al.*, 2010b; Olivry *et al.*, 2015). De igual manera, pueden producir una supresión de eje hipófisis-hipotálamo-adrenal que puede persistir hasta semanas después de haber interrumpido el tratamiento (Sauvé *et al.*, 2019).

El uso de glucocorticoides sistémicos también debería reservarse para aquellos casos graves y agudos en esta especie, y debería evitarse en la medida de lo posible en pacientes con infecciones bacterianas cutáneas extensas, superficiales o profundas (Olivry *et al.*, 2010b). Es adecuado el uso de prednisolona, metilprednisolona o prednisona a 0,5 mg/kg/día (Olivry *et al.*, 2010b) para el control de los signos clínicos.

Los efectos adversos serán proporcionales a la dosis utilizada y a la duración del tratamiento, siendo común observar poliuria, polidipsia, polifagia, y aumento en la predisposición a infecciones urinarias. En tratamientos más crónicos podremos observar cambios metabólicos sistémicos, calcinosis cutis y/o demodicosis (Olivry *et al.*, 2010b; Olivry *et al.*, 2015). Así mismo, se verá afectada la cicatrización de heridas por efectos a varios niveles, entre ellos la reducción de las mitosis, de la migración y adhesión de neutrófilos, macrófagos y fibroblastos, con la consiguiente disminución en el depósito de colágeno (Lux, 2021). A pesar de que no existe un consenso en la monitorización laboratorial de los perros en tratamiento crónico con glucocorticoides sistémicos, ésta debería adaptarse a la presencia de signos clínicos y parece adecuado realizar urianálisis seriados con el fin de detectar infecciones bacterias secundarias (Olivry *et al.*, 2015).

En el gato existe poca evidencia científica sobre el uso de glucocorticoides tópicos para el control de los signos clínicos de la dermatitis alérgica. A pesar de que podrían resultar también una alternativa terapéutica adecuada a los glucocorticoides sistémicos, es común evitar el uso de fármacos tópicos en esta especie, por las características propias de comportamiento. Se ha propuesto el uso, fuera de registro, de un spray de hidrocortisona aceponato al 0,058% para el control de la dermatitis alérgica, con buenos resultados (Schmidt *et al.*, 2011). Igual que en otras especies, la utilización de glucocorticoides tópicos tampoco está exenta de riesgo en el gato, habiéndose reportado incluso el desarrollo de hipercortisolismo iatrogénico después del uso crónico de una preparación tópica con clobetasol (Chirayath y Shaheena, 2020).

Por tanto, el uso de otras vías de administración, como la oral o parenteral, está más extendido en el gato, a pesar de que, a diferencia del perro (Olivry y Bizikova, 2013) existen pocos estudios aleatorizados y controlados en los que se demuestre la eficacia de los glucocorticoides sistémicos para el control de los signos clínicos de FASS (Wisselink y Willemse, 2009; Ganz *et al.*, 2012; Noli *et al.*, 2019). Aunque en general los glucocorticoides suelen ser bien tolerados por el gato, su uso a largo plazo tampoco está exento de riesgo en esta especie (Lowe *et al.*, 2008b). Se han observados múltiples cambios relacionados con su uso crónico, como incrementos en los niveles de colesterol y triglicéridos, neutrofilia o eosinopenias periféricas (Lowe *et al.*, 2008b). En algunos casos se describe el aumento en los valores de ALT, pero infrecuentemente se observan cambios en el metabolismo hepático que deriven a hepatopatía esteroidea (Lowe *et al.*, 2008; Lowe *et al.*, 2008b).

Además, pueden inducir la aparición de insulino-resistencia por varios mecanismos, como el antagonismo de los efectos de la insulina en el hígado y el aumento de liberación de glucosa por éste (gluconeogénesis), o la disminución de la captación de la glucosa en tejidos periféricos por la inhibición de un transportador de membrana (GLUT4) (Lowe *et al.*, 2008). El aumento de la lipólisis en el tejido adiposo por la acción de los glucocorticoides resulta en un aumento de ácidos grasos libres circulantes, que sirven como sustrato para aumentar también los procesos de gluconeogénesis (Lowe *et al.*, 2008). Debido a estos mecanismos, junto a la capacidad de los glucocorticoides de incidir sobre las células pancreáticas para disminuir la producción de insulina, se ha observado una fuerte relación entre su consumo y el desarrollo de Diabetes Mellitus en el gato (Lowe *et al.*, 2008),

A nivel cardiovascular, los glucocorticoides no sólo pueden producir hipertensión en el gato, tal como se ha observado en personas y perros, sino que además se asocia a enfermedad cardíaca crónica, posiblemente relacionada al aumento de volumen plasmático secundario al efecto hiperosmótico producido por la hiperglucemia (Lowe *et al.*, 2008).

Por otra parte, ejercen efectos supresores sobre queratinocitos y fibroblastos, así como sobre la producción de componentes fundamentales para el buen funcionamiento de la matriz extracelular cutánea, como son el colágeno, el ácido hialurónico, los glucosaminoglicanos o la elastina. Como resultado se observan cambios dermatológicos como atrofia cutánea y folicular, fragilidad cutánea y problemas de cicatrización (Lowe *et al.*, 2008; Lux, 2021).

Existe la percepción extendida de que los gatos presentan una resistencia parcial al efecto de los glucocorticoides. Se observó que, efectivamente, tienen menos receptores de glucocorticoides en la piel y en el hígado que los perros, y además estos receptores tienen menos afinidad que en otras especies (Lowe *et al.*, 2008). Además, el tiempo que pasa el receptor de glucocorticoides activo unido al ADN para modular la transcripción de determinados genes es inferior en el gato. Esto podría justificar que los glucocorticoides presentasen un menor efecto farmacológico en esta especie (Lowe *et al.*, 2008).

Por tanto, la elección tanto de la dosis a administrar como del tipo de glucocorticoide son fundamentales. Se considera que la prednisolona es mejor opción que la prednisona para su uso oral en el gato, ya que sólo el 21% de la prednisona oral aparece

como prednisolona activa en sangre (Graham-Mize *et al.*, 2005). En general la dosis antiinflamatoria recomendada en perros y gatos es de entre 0,55-1 mg/kg/día, aunque algunos autores recomiendan duplicar la dosis en el gato (Lowe *et al.*, 2008; Ganz *et al.*, 2012). Cuando se utilizan fármacos con una potencia superior la dosis debería ser ajustada, como en el caso de la triamcinolona, para la que se recomiendan dosis de alrededor de 0,18 mg/kg/día, ya que se presume que tiene una potencia 7 veces mayor que la metilprednisolona (Ganz *et al.*, 2012). Recientemente se ha propuesto el uso oral de una presentación inyectable de dexametasona fosfato, con un comportamiento farmacocinético y farmacodinámico adecuado en el gato (McClintock *et al.*, 2021) Considerando que no todas las formas farmacéuticas funcionarán del mismo modo, el ajuste de dosis debe adaptarse al fármaco que se esté utilizando y a la vía de administración (McClintock *et al.*, 2021).

Teniendo en cuenta que el uso de glucocorticoides a largo plazo puede comportar números efectos adversos, se recomienda en todos los casos utilizar la dosis y frecuencia mínima eficaz después de conseguir una remisión inicial adecuada de los signos clínicos (Mueller *et al.*, 2021).

Inhibidores de la calcineurina

Los inhibidores de la calcineurina son fármacos con efecto antiinflamatorio e inmunodepresor ampliamente utilizados en medicina humana, principalmente ciclosporina, tacrolimus y pimecrolimus (Kader *et al.*, 2021; Salvati *et al.*, 2021)

Las ciclosporinas son polipéptidos aislados principalmente del hongo *Tolypocladium inflatum*. Entre ellas, la ciclosporina A (CsA) fue la primera molécula desarrollada con fines comerciales (Archer *et al.*, 2014). Sus efectos farmacológicos se consiguen gracias a la inhibición de la actividad de la calcineurina, que es una fosfatasa intracelular que permite la activación de la transcripción genética, por desfosforilación de determinados factores nucleares (Archer *et al.*, 2014). Su impacto sobre el sistema inmunitario se observa a múltiples niveles, siendo mayor sobre la respuesta inmunitaria mediada por células que sobre la respuesta humoral (Colombo y Sartori, 2018). Por un lado, disminuye la producción de citoquinas por parte de los linfocitos y los queratinocitos, entre las que se incluyen IL-2, IL-4, TNF- α e IFN- γ (Archer *et al.*, 2014). Por otro lado, inhibe la proliferación de linfocitos, tanto Th como T citotóxicos, disminuye el número de células de Langerhans en la epidermis, e inhibe la infiltración tisular por parte de células efectoras como mastocitos y eosinófilos, así como sus funciones, siendo su efecto sobre

la inmunidad celular mayor que sobre la inmunidad humoral (Marsella y Olivry, 2011; Archer *et al.*, 2014).

Su absorción oral depende de la formulación galénica. Aun utilizando una fórmula microemulsionada, que le confiere una absorción más consistente y predecible, la biodisponibilidad del fármaco puede oscilar entre el 23 y el 45% (Archer *et al.*, 2014). Tras ser absorbida por difusión pasiva en el intestino, CsA presenta una gran afinidad por la unión con proteínas plasmáticas y glóbulos rojos; y tiene un gran volumen de distribución, acumulándose en piel, hígado, riñones y grasa, donde puede llegar a presentar concentraciones de entre 3-14 veces la concentración plasmática (Archer *et al.*, 2014). La mayor parte de su metabolismo es hepático, por la vía del citocromo P450. Esto ha permitido el uso concomitante de otros fármacos que compiten por esta vía con el objetivo de disminuir la dosis total de ciclosporina, como los imidazoles o los antihistamínicos anti-H2 (Archer *et al.*, 2014; Colombo y Sartori, 2018).

La ciclosporina A oral se ha utilizado para el control de los signos clínicos de la dermatitis atópica en el perro a una dosis de 5 mg/kg/día, obteniendo unos resultados equiparables a la prednisolona después de las tres primeras semanas de tratamiento (Olivry *et al.*, 2002). Algunos estudios confirman también su eficacia para el control de varias enfermedades dermatológicas en el gato, entre ella la dermatitis alérgica (Noli y Scarpella, 2006; Vercelli *et al.*, 2006; Steffan *et al.*, 2013; Colombo y Sartori, 2018). En un estudio controlado con metilprednisolona se observaron tasas de éxito similares entre ambos grupos, resultados similares a su vez a los obtenidos en el perro (Wisselink y Willemse, 2009). La dosis propuesta en el gato es de 7 mg/kg/día, ligeramente superior a la propuesta en el perro (King *et al.*, 2012; Roberts *et al.*, 2016; Colombo y Sartori, 2018), aunque parece ser un fármaco seguro en la mayoría de los casos, incluso a dosis de 20 mg/kg (Latimer *et al.*, 1986).

Una de las principales limitaciones de la CsA oral reside en que su efecto farmacológico se consigue de forma menos rápida que con el uso de otros fármacos, como los glucocorticoides. Esto hace que no suela ser una opción adecuada para el control del cuadro agudo, o de agudizaciones de un cuadro crónico (Olivry *et al.*, 2002; Noli y Scarpella, 2006; Marsella *et al.*, 2020b).

A pesar de postularse como un tratamiento adecuado para el control crónico de la dermatitis atópica, existen algunos efectos adversos asociados a su uso. En personas se ha descrito nefrotoxicidad, hipertensión, hipertrichosis, hiperplasia gingival, y

un incremento en la probabilidad de sufrir infecciones, cáncer de piel y linfoma (Sidbury *et al.*, 2015). En perro, los signos gastrointestinales son los que se observan con más frecuencia y, aunque suelen ser moderados, pueden llegar a afectar a más del 30% de pacientes (Archer *et al.*, 2014). También se ha descrito en esta especie la aparición de hipertricosis e hiperplasia gingival, y aumentos en los valores sanguíneos de creatinina, urea, colesterol y calcio (Archer *et al.*, 2014).

Aunque en el caso del gato los efectos adversos más comunes son también gastrointestinales, autolimitantes en muchos casos (Noli y Scarpella, 2006; Vercelli *et al.*, 2006; Steffan *et al.*, 2013), se han descrito algunos efectos adversos menos indolentes. Puede aumentar la probabilidad de desarrollar algunas enfermedades infecciosas, como la toxoplasmosis, debido a su efecto inmunodepresor (Last *et al.*, 2004; Lappin *et al.*, 2015; Colombo y Sartori, 2018). Del mismo modo se ha observado una disminución global del peso de los animales tratados con ciclosporina, y algunos pueden presentar episodios de anorexia, por lo que es adecuado realizar una correcta monitorización clínica durante el tratamiento, con el fin de evitar complicaciones asociadas, como la aparición de lipidosis hepática (Heinrich *et al.*, 2011).

En un estudio retrospectivo reciente se han observado efectos adversos en el 59% de los gatos tratados con CsA, siendo los más comunes los signos gastrointestinales, disorexia y anorexia, ptialismo e hiperplasia gingival. Curiosamente en el 64% de los casos también se detectaron cambios comportamentales, como modificación en la conducta del sueño y juego o miedo y agresividad dirigida al tutor, que podrían disminuir el éxito terapéutico y la adherencia al tratamiento (Deleporte *et al.*, 2021).

Como con cualquier tratamiento inmunodepresor, el objetivo es intentar disminuir la dosis y/o espaciar la frecuencia de administración tan pronto como sea posible, después de conseguir una remisión de los signos clínicos, con el fin de disminuir los posibles efectos adversos. Se ha observado que después de 4 semanas de tratamiento en un gran porcentaje de gatos (hasta el 70%) es posible empezar a disminuir la frecuencia de administración a cada 48 horas (Steffan *et al.*, 2013). Esta disminución progresiva debe basarse siempre en la evolución clínica del paciente, la presencia de efectos adversos y la necesidad de uso concomitante de otros fármacos.

Con el fin de evitar los efectos adversos potenciales, se han desarrollado fármacos inhibidores de la calcineurina para uso tópico. Tacrolimus y pimecrolimus son dos fármacos utilizados para el control de la dermatitis atópica en el ser humano. Por su alta

capacidad antiinflamatoria y los menores efectos a largo plazo, en comparación con el uso de glucocorticoides tópicos, son eficientes para evitar recaídas en fases crónicas de mantenimiento, incluso en terapias proactivas pulsátiles con aplicaciones sólo 1 o 2 veces por semana (Kader *et al.*, 2021; Salvati *et al.*, 2021; Wohlrab *et al.*, 2021).

Estudios controlados con placebo han demostrado la utilidad de la aplicación de tacrolimus tópico (0,1-0,3%) para el control de lesiones localizadas también en perros atópicos, siendo además una terapia segura y bien tolerada (Marsella y Nicklin, 2002; Marsella *et al.*, 2004). A pesar de su potencial efecto beneficioso, el uso de estos fármacos tópicos es limitado en dermatología felina, y en ocasiones se reserva para el tratamiento de otras enfermedades inflamatorias/inmunomediadas como la dermatitis nasal ulcerativa del bengalí (Bergvall, 2004) o la otitis externa proliferativa y necrotizante (Mauldin *et al.*, 2007).

Para aquellos gatos en los que, tanto la administración oral como tópica es imposible, se ha estudiado la vía subcutánea de administración de CsA con resultados aceptables, (Koch *et al.*, 2018). A pesar de poder ser una alternativa adecuada en términos de manejo, hay que considerar el equilibrio entre riesgos y beneficios en todos los tratamientos subcutáneos aplicados en el gato de forma reiterada (Hartmann *et al.*, 2015).

Antihistamínicos

Los antihistamínicos, principalmente aquellos que actúan como agonistas inversos estabilizando la forma inactiva de los receptores H1 (Leurs *et al.*, 2002), se utilizan para el control de variedad de dermatosis pruriginosas en el ser humano, aunque su uso como monoterapia para el control de la dermatitis atópica es controvertido tanto en personas como en el perro (Olivry y Mueller, 2003; Sidbury *et al.*, 2015; Hur *et al.*, 2020).

Son capaces de inhibir la acción de la histamina, mediador inflamatorio segregado por mastocitos y basófilos como respuesta a antígenos externos, y que tiene la capacidad de estimular vasos sanguíneos y terminaciones nerviosas, provocando vasodilatación y prurito (Sidbury *et al.*, 2015). De forma paralela, la histamina tiene función de neurotransmisor a nivel del sistema nervioso central, y está implicada en la regulación del ciclo de sueño-vigilia, en los procesos de aprendizaje y memoria, y en el apetito (Thurmond *et al.*, 2019).

El potencial efecto beneficioso de los antihistamínicos no sólo se debe a la reducción en la acción de histamina, sino que también disminuyen la producción de otros mediadores como la IL-6, IL-8, IL-31, factor de crecimiento neuronal (NGF) y TNF- α (Hur *et al.*, 2020).

Los antihistamínicos se han utilizado en el gato como alternativa a los glucocorticoides. En base a los resultados obtenidos en estudios de farmacocinética en esta especie, no parecen existir impedimentos farmacocinéticos para su uso, al menos en el caso de la ciproheptadina y la cetirizina (Norris *et al.*, 1998; Papich *et al.*, 2008). Pero en los escasos trabajos en los que se ha estudiado la eficacia clínica de los antihistamínicos para el control de FASS, la respuesta observada fue muy leve o moderada, y los resultados fueron muy dispares entre estudios (Miller y Scott, 1994; Scott *et al.*, 1998; Griffin *et al.*, 2012; Scott *et al.*, 2015). Además, al tratarse de estudios no controlados en los que se utilizaron tanto fármacos como regímenes terapéuticos diferentes, es complejo obtener una conclusión definitiva.

Se ha propuesto el uso de antihistamínicos de segunda generación, como la cetirizina, con el fin de disminuir parcialmente el efecto sedante por su menor capacidad para atravesar la barrera hematoencefálica (Griffin *et al.*, 2012). En el ser humano se ha observado que para conseguir unos efectos beneficiosos sobre la evolución de las lesiones y del prurito, había que doblar o multiplicar por 4 la dosis diaria recomendada de cetirizina y los efectos beneficiosos sobre el prurito se atribuían más al efecto sedante derivado del uso de una dosis elevada (Sidbury *et al.*, 2015). Del mismo modo, en un estudio controlado con placebo, doble ciego y aleatorizado no se observaron diferencias entre el uso de cetirizina y placebo para el control de los signos clínicos de FASS en 19 gatos (Wildermuth *et al.*, 2013).

Los fármacos antihistamínicos que se utilizan con mayor frecuencia actúan sobre los receptores H1, pero los efectos de la histamina pueden estar mediados por 4 receptores diferentes (H1-H4), todos ellos unidos a proteína G (Thurmond *et al.*, 2009). H4 es el último de los receptores identificado (Oda *et al.*, 2000), y parece estar más relacionado en los patrones de respuesta de células implicadas en la enfermedad alérgica, como las células dendríticas, mastocitos, basófilos, eosinófilos y linfocitos, que los receptores H1 (Thurmond *et al.*, 2009). La gran mayoría de fármacos agonistas de los receptores H1 no ejercen ningún efecto sobre H4, lo que podría justificar los resultados poco alentadores observados en los estudios de eficacia (Thurmond *et al.*, 2009). Recientemente se ha desarrollado una molécula pequeña (adriforant) con capacidad de

inhibir los receptores H4 100 veces superior a la inhibición que ejercen sobre H1, H2 o H3. En los ensayos clínicos realizados en personas, adriforant ha presentado efectos antiinflamatorios con una alta tolerabilidad y pocos efectos adversos (Kader *et al.*, 2021).

El buen perfil de seguridad que presentan los antihistamínicos hace que se sigan utilizando ampliamente, a pesar de los resultados obtenidos. Existen pocos efectos adversos asociados a su uso, y los más comunes son diversos grados de sedación y efectos anticolinérgicos, como sequedad de boca, visión borrosa y taquicardia (Sidbury *et al.*, 2015). En el caso del gato, sólo en algunos pacientes se han observado signos gastrointestinales y/o sedación u otros cambios de comportamiento (Miller y Scott, 1994; Scott *et al.*, 1998), mientras que otros estudios no reportaron efectos adversos de ningún tipo (Griffin *et al.*, 2012; Wildermuth *et al.*, 2013).

A pesar de que los antihistamínicos podrían ser una opción terapéutica segura para el control de FASS, es necesario un conocimiento más profundo de la fisiopatología de la enfermedad en esta especie con el fin de conocer cuál es el papel de la histamina, y justificar la falta de respuesta clínica observada en muchos casos con el uso de fármacos anti-H1 (Wildermuth *et al.*, 2013). Del mismo modo, debido a la falta de suficientes estudios de farmacocinética y farmacodinámica no es posible concluir cuál es el fármaco, la dosis y la pauta ideales a utilizar.

Inhibidores de la cinasa Jano (*Janus Kinase* o **JAK)**

Cuando una citoquina I/II se une a su receptor de membrana se produce un cambio conformacional en éste que permite que se aproximen unas tirosinquinazas asociadas a su porción citoplasmática, las cinasas Jano (JAK). Se inicia entonces un proceso mediante el cual estas JAK se autofosforilan, permitiendo así que se unan proteínas citoplasmáticas con capacidad de traducir la señal y activar la transcripción génica, los STAT (*Signal Transducer and Activator of Transcription*). Una vez unidas, estas proteínas sufren a su vez un proceso de fosforilación, lo que les permite translocarse al núcleo en forma de dímeros. Una vez allí, se unen al ADN para inducir la transcripción genética, ejerciendo un importante efecto sobre múltiples mecanismos celulares implicados en procesos inflamatorios, inmunitarios, metabólicos, de hematopoyesis, crecimiento y desarrollo neuronal (Lou *et al.*, 2021). Actualmente se conocen 4 JAK (JAK1, JAK2, JAK3, TYK2) y 7 familias de STAT (1-4, 5A, 5B y 6) (Lou *et al.*, 2021) que conforman la vía enzimática JAK-STAT.

Considerando que existen muchas citoquinas Th2 de tipo I/II implicadas en la etiopatogenia de la dermatitis atópica, los fármacos inhibidores de JAK (*JAKinhibs*) se han postulado como una alternativa terapéutica adecuada para el control de esta patología en el ser humano (Chovatiya y Paller, 2021; McLornan *et al.*, 2021). Estos fármacos ejercen su acción sobre uno de los cuatro dominios que comparten las 4 JAK, el dominio de proteína tirosinquinasa, que es el que les confiere la actividad catalítica (Lou *et al.*, 2021). Así, producen un bloqueo de la vía enzimática JAK-STAT, disminuyendo la función de múltiples citoquinas, como IL-4, IL-13 o IL-31.

Se ha observado además que existe una fuerte activación de JAK1 y JAK2 en células dendríticas de pieles atópicas, que son fundamentales para iniciar y perpetuar la respuesta alérgica/inflamatoria, por lo que su inhibición puede derivar en la reducción de la maduración de estas células y la consiguiente disminución en la liberación de citoquinas proinflamatorias como IL-4 e IL-13 (Kader *et al.*, 2021; Klaeschen *et al.*, 2021). Así mismo, la inhibición de todas las JAKs resulta además en una menor expresión de FcεRI por parte de los mastocitos (Klaeschen *et al.*, 2021).

Los *JAKinhibs* son moléculas pequeñas, por lo que es posible su uso tanto por vía tópica como sistémica. La administración por vía tópica se presenta en medicina humana como alternativa a las terapias clásicas con glucocorticoides, con el fin de disminuir algunos de los efectos potenciales relacionados con el uso crónico éstos, como atrofia cutánea o telangiectasia (Solimani *et al.*, 2019), por lo que se han desarrollado diversas moléculas con este fin. Tofacitinib, inhibidor de JAK1 y JAK3, es eficaz y seguro para el control de las lesiones localizadas relacionadas con la dermatitis atópica mediante el uso de preparaciones tópicas al 2% (Chovatiya y Paller, 2021). Del mismo modo, ruxolitinib (inhibidor de JAK1 y JAK2) y delgocitinib (pan-inhibidor de JAKs) han mostrado eficacia para el control de signos moderados de dermatitis atópica mediante el uso preparaciones tópicas al 1,5% y al 0,5%, respectivamente, con muy pocos efectos adversos asociados (Chovatiya y Paller, 2021).

Es más, en un estudio realizado en 2015 sobre el uso tópico de JTE-052 (posteriormente nombrado como delgocitinib) se consiguió restaurar la expresión de filagrina y loricrina cutánea, incluso en un ambiente rico en IL-4 e IL-13 (citoquinas que disminuyen la producción de estas proteínas y son abundantes en dermatitis atópica), por lo que se considera que este fármaco no sólo controla la respuesta inflamatoria local sino que además puede potenciar la diferenciación terminal de queratinocitos, mejorando así la calidad de la barrera cutánea (Amano *et al.*, 2015).

Así mismo, se ha propuesto el uso de algunos *JAKinhibs* por vía sistémica para el control de la dermatitis atópica en personas, como baricitinib (inhibidor JAK1 y JAK2), upacitinib y abrocitinid (inhibidores selectivos de JAK1) (Chovatiya y Paller, 2021).

En general se considera que los efectos adversos en personas, asociados al uso sistémico de *JAKinhibs* son leves o moderados, predecibles y fáciles de manejar (McLornan *et al.*, 2021). Aun así, algunos pacientes pueden presentar de forma minoritaria alteraciones en la funcionalidad hepática y renal, alteraciones en el metabolismo lipídico, aumento del riesgo de trombosis, citopenias y riesgo de infecciones, principalmente a nivel de tracto respiratorio y urinario, o reactivación de herpes zoster (Mc Lornan *et al.*, 2021).

Actualmente sólo existe un *JAKinhib* registrado para su uso en medicina veterinaria, el oclacitinib. Es un *JAKinhib* de primera generación, de administración oral, registrado para el control de los signos clínicos relacionados con la dermatitis alérgica en el perro (Cosgrove *et al.*, 2013, Cosgrove *et al.*, 2013b; Gonzales *et al.*, 2014). A pesar de tener la capacidad de inhibir la función de las cuatro JAK, presenta una mayor selectividad hacia JAK1 (Gonzales *et al.*, 2014), la cual está implicada en gran medida en los procesos de autoinflamación, autoinmunidad y alergia (Lou *et al.*, 2021). Ejerce su efecto principalmente sobre la respuesta Th2, y no tanto sobre Th1, ya que no inhibe las funciones de las células T CD4+ y CD8+ productoras de IL-17 e IFN- γ , pero sí de aquellas células T CD4+ encargadas de producir IL-4 (Jasiecka-Mikołajczyk *et al.*, 2021). Además, a la dosis registrada es capaz de inhibir las funciones de otras citoquinas como IL-2, IL-6, IL-13, IL-31, siendo su acción menos potente sobre la eritropoyetina y GM-SGF (factor estimulador de colonias de granulocitos y macrófagos) que dependen de la acción de otras JAK (JAK1/JAK2) (Gonzales *et al.*, 2014). Se ha observado que oclacitinib tiene capacidad inmunosupresora, pero a dosis muy superiores a las registradas (8-10x), por inhibición de la proliferación de linfocitos T y de la secreción de citoquinas activadoras como (IL-2, IL-15) y proinflamatorias (IL-18, IFN- γ) (Banovic *et al.*, 2019).

La capacidad que presenta oclacitinib para inhibir JAK2 y/o TYK2 es mucho menor. Así, su acción es mínima sobre algunas citoquinas que producen las células presentadoras de antígeno al tener contacto con patógenos como virus, bacterias o parásitos, que inician la respuesta inmunitaria adaptativa y juegan un papel fundamental en el control de las infecciones, como la IL-12 o la IL-23 (Gonzales *et al.*, 2014).

Desde un punto de vista clínico, en un estudio aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo sobre el uso de oclacitinib en el perro se observó una disminución del $\geq 50\%$ del prurito al séptimo día de tratamiento en alrededor del 70% de los animales incluidos. Así mismo, el grado de dermatitis valorada por el veterinario era significativamente menor en el grupo que recibió oclacitinib ($P < 0,0001$) (Cosgrove *et al.*, 2013). Además de ser eficaz, oclacitinib permite un control rápido de los signos clínicos, incluso durante la primera hora después de haber recibido el fármaco (Fleck *et al.*, 2012; Weehler *et al.*, 2012; Cosgrove *et al.*, 2013).

A diferencia de lo observado con el uso de *JAKinhibs* en personas (Amano *et al.*, 2015), y a pesar de que oclacitinib retrasó la aparición de dermatitis en perros después de tener contacto con el alérgeno al que estaban sensibilizados, no se ha podido relacionar su uso con un efecto directo sobre la calidad de la barrera cutánea (Marsella y Ahrens, 2018; Marsella *et al.*, 2020b).

Comparado con otros fármacos utilizados para el control de las dermatitis alérgicas en el perro, la eficacia clínica y la velocidad de acción de oclacitinib es similar a la observada con el uso de metilprednisolona (Gadeyne *et al.* 2014; Marsella *et al.*, 2020b). En cambio, al compararlo con CsA, oclacitinib es superior en el control de los signos clínicos a corto plazo, no siendo igual de eficaces ambos fármacos hasta que no transcurren 56 días de tratamiento (Little *et al.*, 2015; Marsella *et al.*, 2020b).

Oclacitinib se considera un fármaco seguro en el perro, ya que se le atribuyen efectos adversos leves o moderados y fáciles de controlar, como vómitos, diarrea o disminución del apetito con el uso a corto plazo (28 días) (Cosgrove *et al.*, 2013).

En un estudio en el que se utilizó oclacitinib en 152 perros durante un período de tiempo más largo (112 días), se observó una mayor variedad de efectos adversos supuestamente relacionados con el tratamiento, entre los que se incluyeron algunos tan inespecíficos como letargia, cambios de comportamiento, polidipsia y pérdida de peso (entre el 0,5 y el 3,5% de los casos), junto a efectos gastrointestinales como vómitos y diarreas. Así mismo, se reportaron eventos dermatológicos tales como otitis y/o pododermatitis, los cuales podían estar directamente relacionados con la dermatitis atópica más que con el propio tratamiento; y dos animales abandonaron el estudio (0,7%) por la aparición de neoplasias malignas (Cosgrove *et al.*, 2013b).

Posteriormente se realizó un estudio abierto y no controlado sobre el uso de oclacitinib a largo plazo en el perro (la media de días de tratamiento fue de 401, con un máximo de 672 días), y los efectos adversos observados con más frecuencia fueron cistitis (11,3%), vómitos (10,1%) y diarrea (6,1%). Otros eventos reportados durante el tratamiento fueron la aparición de demodicosis (1 de los 247 perros incluidos en el estudio), infecciones severas (2/247) o anorexia y pérdida de peso (2/247). 47 perros desarrollaron masas dérmicas o subcutáneas sin diagnóstico ni tratamiento específico, mientras que en 16 animales se reportó el diagnóstico o sospecha de neoplasias (0,07%) (Cosgrove *et al.*, 2015).

A pesar de estos resultados, en un estudio realizado en 2017 se observó que ninguno de los 55 animales incluidos presentaba infecciones del tracto urinario inferior después de 180 días de tratamiento con oclacitinib. La diferencia es que en este estudio sólo se incluyeron animales en los que se descartó la presencia de infecciones urinarias antes de iniciar la terapia, por lo que las cistitis observadas en estudios anteriores podían no ser debidas al tratamiento con oclacitinib (Simpson *et al.*, 2017).

A diferencia de lo observado en pacientes humanos, no se han registrado alteraciones en los niveles de transaminasas relacionados con el uso de oclacitinib en el perro, aunque sí un aumento en los niveles de colesterol y lipasa, y una disminución en los valores de leucocitos, aunque manteniéndose dentro de rangos de referencia (Cosgrove *et al.*, 2013b).

Aun considerando que los efectos adversos más comúnmente descritos son los gastrointestinales, si se compara con otros fármacos utilizados para el control de las dermatitis alérgicas en el perro, el oclacitinib produjo menos eventos digestivos que la CsA (Little *et al.*, 2015); mientras que éstos fueron similares a los relacionados con el uso de metilprednisolona a corto plazo (28 días) (Gadeyne *et al.*, 2014).

Considerando la eficacia, velocidad de acción y perfil de seguridad observados en el perro, se ha planteado la posibilidad de que oclacitinib pueda ser una buena alternativa terapéutica en el gato, a pesar de que no existe registro para su uso en esta especie. Así, se han publicado varios estudios en los que se han propuestos diversas dosis y regímenes de administración a criterio del investigador, ya que no existen estudios farmacocinéticos de oclacitinib en esta especie.

En un estudio prospectivo y abierto se utilizó la misma dosis y pauta terapéutica registrada en el perro (0,4-0,6 mg/kg/12h durante 14 días, y luego 0,4-0,6 mg/kg/día durante 14 días más), y tanto el prurito (VAS) como las lesiones (SCORFAD) mejoraron sólo en 5 de los 12 gatos incluidos (Ortalda *et al.*, 2015). En un estudio posterior se trató a un grupo de 15 gatos con una dosis superior, de entre 0,5 y 0,8 mg/kg /12h durante 2 semanas para luego continuar con 0,5-0,8 mg/kg/24 h durante dos semanas más, y se obtuvieron mejores resultados clínicos, mejorando los valores de VAS y SCORFAD en el 66% de los animales (Pandolfi *et al.*, 2016). En un estudio aleatorizado, doble ciego y controlado con prednisolona, en el que se utilizaron dosis de 0,77-1,2 mg/kg/12h (media de 0,9 mg/kg) durante 4 semanas, se consiguió una reducción del $\geq 50\%$ en los valores de VAS y SCORFAD en el 70% y 60% respectivamente. Estos valores, a su vez, fueron ligeramente inferiores a los observados en el grupo control que recibió prednisolona a una dosis media de 0,77 mg/kg/24h durante el mismo periodo (Noli *et al.*, 2019).

Considerando los datos publicados en estos estudios, oclacitinib parece ser un fármaco bien tolerado por los gatos. En el estudio realizado por Ortalda *et al.* no se observaron efectos adversos relacionados con el fármaco, mientras que Noli *et al.* reportaron aumentos ligeros de urea, creatinina y albúmina en 4 de los 20 animales tratados con oclacitinib. Paralelamente, se reportó un caso clínico en el que un gato recibió una dosis de 1 mg/kg/12 h durante 14 días, para luego continuar durante 300 días más con 1 mg/kg al día. A pesar de sufrir una enfermedad renal preexistente, no se observaron efectos adversos ni cambios analíticos relacionados con la medicación (Fernandes *et al.*, 2019).

Sólo se ha publicado un estudio aleatorizado doble ciego y controlado con placebo para valorar la seguridad de oclacitinib a diferentes dosis durante 28 días (Lopes *et al.*, 2019). A un grupo de gatos (n=10) se le administró fármaco a 1 mg/kg/12h; a otro (n=10), a 2 mg/kg/12h; y al tercero (n=10), se le administró placebo. Los gatos que recibieron 1 mg/kg no presentaron efectos adversos, mientras 4 de los 10 animales que recibieron 2 mg/kg presentaron signos gastrointestinales. Del mismo modo no se observaron cambios analíticos en ninguno de los grupos del estudio. A pesar de esto, recientemente se ha publicado un caso clínico en el que un gato de 6 años positivo a inmunodeficiencia desarrolló una toxoplasmosis fatal después de 5 meses de tratamiento con oclacitinib (Moore *et al.*, 2022)

A pesar de que no se han realizado estudios de farmacocinética y de que son necesarios más estudios de seguridad a largo plazo, el oclacitinib a dosis superiores a las registradas en el perro, podría ser una alternativa adecuada para el control de los signos clínicos de FASS, permitiendo un rápido inicio de la acción terapéutica (Noli *et al.*, 2019).

Inmunoterapia alérgeno-específica

La inmunoterapia alérgeno-específica (ITAE) consiste en la administración gradual de cantidades cada vez mayores de extractos de alérgenos con el fin de desensibilizar al individuo frente a ellos y, por tanto, disminuir los síntomas que se producen en posteriores exposiciones. Actualmente se considera que la ITAE es la única opción terapéutica que puede cambiar el curso de la enfermedad alérgica y que permite reducir la necesidad de fármacos a largo plazo, disminuyendo así el riesgo asociado (Bousquet *et al.*, 1998; DeBoer, 2017; Moote *et al.*, 2018).

La primera vez que se utilizó la ITAE fue en 1911 en pacientes humanos con rinoconjuntivitis alérgica producida por el polen de la hierba/césped (Noon *et al.*, 1911). Desde entonces, el control de la enfermedad alérgica respiratoria sigue siendo el principal objetivo del uso de la ITAE en medicina humana. Por el contrario, su utilidad para el control de la dermatitis atópica es controvertida (DeBoer, 2017; Wanh *et al.*, 2019), y desde 1970 se han publicado múltiples trabajos al respecto. En estos estudios, la mayoría aleatorizados, a doble ciego y controlados con placebo, se utilizó la ITAE administrada por vía subcutánea durante periodos que oscilaban entre 1 y 3 años y se observaron diferencias clínicas significativas entre grupos ($P < 0,001$), reportándose un beneficio en hasta el 80% de los pacientes (Slavyanakaya *et al.*, 2016). Del mismo modo, la ITAE administrada por vía sublingual consiguió mejorar de forma significativa los signos clínicos relacionados con la dermatitis atópica, mejorando la calidad de vida y disminuyendo la necesidad de fármacos, incluso ya desde el noveno mes de tratamiento, principalmente en pacientes con enfermedad moderada (Slavyanakaya *et al.*, 2016).

Wittich publicó en 1941 el primer estudio en el que se utilizó con éxito la ITAE en un perro con un cuadro clínico de rinoconjuntivitis. Posteriormente, se ha postulado como una opción terapéutica adecuada para el control de las dermatitis alérgicas en medicina veterinaria, a pesar de que existen relativamente pocos estudios al respecto y la mayoría de ellos no están controlados y/o estandarizados. En diferentes estudios se ha reportado una mejoría $\geq 50\%$ de los signos clínicos en alrededor del 50-70% de los perros tratados

con ITAE (Willemse *et al.*, 1984; Loewenstein y Mueller, 2009; DeBoer, 2017; Fennis *et al.*, 2022) En el caso concreto del gato, los pocos estudios que existen sobre el uso de ITAE para el control de FASS son abiertos y no controlados, y reportan tasas de éxito similares a las obtenidas en el perro (50%-75%) (Halliwell, 1997; Bettenay *et al.*, 1998; Trimmer *et al.*, 2005; Schnabl *et al.*, 2005; Loewenstein y Mueller, 2009; Martini *et al.*, 2019; Mueller *et al.*, 2021).

El principal objetivo de la ITAE es potenciar la inmunotolerancia del paciente, regulando la actividad de algunas células efectoras implicadas en los procesos alérgicos y modificando el ambiente inmunológico; y, además, que todos estos cambios se mantengan a largo plazo, incluso después de parar el tratamiento, así como el beneficio clínico derivado de ellos (Keppler *et al.*, 2008; Komlosi *et al.*, 2020).

Ya desde las primeras dosis de ITAE, se consigue una disminución de la actividad de algunas células efectoras como eosinófilos, basófilos y mastocitos (Akdis y Akdis, 2015) y, por tanto, un control rápido de la reacción inflamatoria. Además, se consigue un ambiente inmunológico no pro-inflamatorio que hace que las células presentadoras de antígeno (CPA), entre ellas las células dendríticas (CD), sean parcialmente maduras al captar los alérgenos y den lugar al desarrollo de células T reguladoras (T_{reg}) en el tejido linfoide; a diferencia de lo que se observa en CPA maduras, que cuando presentan el antígeno dan lugar a la formación de células T efectoras.

Estas células T_{reg} que se han formado producen IL-10 (Interleucina antiinflamatoria) y TGF- β . IL-10 ejerce una actividad reguladora sobre muchas células efectoras, entre ellas células Th1 y Th2 alérgeno-específicas, mastocitos y eosinófilos, disminuyendo así la gravedad de la respuesta inflamatoria (Canonica *et al.*, 2014; Akdis y Akdis, 2015). Del mismo modo, la IL-10 disminuye la producción de IgE alérgeno-específicas (Moote *et al.*, 2018), aunque durante las primeras fases de la ITAE puede producirse un aumento transitorio en los niveles circulantes, para luego disminuir progresivamente durante la terapia (Hochfelder y Ponda, 2013; Akdis y Akdis, 2015). Por su parte, TGF- β es fundamental para mantener adecuados niveles de autotolerancia inmunológica y de tolerancia frente antígenos esencialmente inocuos (Sanjabi *et al.*, 2017).

Así mismo, la ITAE induce a la formación de células B reguladoras (B_{regs}) que, además de producir también IL-10, liberan IgG alérgeno-específicas. Estas IgG compiten con las IgE por su unión con los alérgenos, capturándolos antes de que

puedan unirse a sus receptores en las células efectoras, por lo que reciben el nombre de anticuerpos bloqueantes (Hou *et al.*, 2008; Pfaar *et al.*, 2021). Además, compiten con IgE por los mismos receptores celulares. Puesto que la afinidad de las IgE por sus receptores celulares es mayor que la que puedan presentar las IgG, éstas compiten con ellas en cantidad y no en calidad (Wachholz *et al.*, 2003; Akdis y Akdis, 2015).

Muchos de estos mecanismos de acción de la ITAE son desconocidos actualmente en medicina veterinaria y se asume que deberían ser similares a los observados en el ser humano.

Tanto en perro como en gato se ha demostrado un aumento en la producción de IFN- γ y una disminución de las interleucinas pro-inflamatorias IL-4 e IL-5 tras la terapia con ITAE. Esta combinación da lugar a un ambiente de inmunotolerancia no inflamatorio, afectado a su vez a la maduración de la CPA, como se ha descrito previamente. En el perro se han observado también cambios en los niveles de IL-10, IgG y T_{reg} durante el tratamiento con ITAE (Keppler *et al.*, 2008; DeBoer, 2017).

Existe controversia sobre la relación existente entre la cantidad de IgG que se producen y la respuesta clínica a la ITAE en medicina veterinaria. Aunque se han observado aumentos mayores de IgG1 en perros con buena respuesta a la inmunoterapia, en comparación con aquellos en los que la respuesta podría considerarse pobre (Fraser *et al.*, 2004), se considera que la producción de IgG no es estrictamente necesaria para que la ITAE sea eficaz en esta especie (Loewenstein y Mueller, 2009).

La bibliografía sobre la producción de IgG en los pacientes felinos en tratamiento con ITAE es prácticamente inexistente, y de forma anecdótica se ha reportado el incremento de IgG alérgeno específica en un grupo de gatos asmáticos tratados con ITAE (Reinero *et al.*, 2006). Así mismo, se desconoce el efecto de ITAE sobre los niveles de IL-10 y T_{reg} en el gato.

Algunos de estos cambios a nivel de respuesta inmunitaria pueden ser útiles como biomarcadores, con el fin de valorar la eficacia de la ITAE y establecer un seguimiento adecuado y objetivo de la respuesta clínica e inmunológica, permitiendo una mejor monitorización de la enfermedad. A pesar de que la medición de muchas citoquinas puede representar un reto técnico (Breiteneder *et al.*, 2020), en medicina humana se ha observado que los cambios en los niveles de IL-10 pueden servir como predictores de un potencial beneficio clínico del uso de la ITAE (Gueguen *et al.*, 2019). En cambio,

utilizar la evolución de los niveles de IgE e IgG alérgeno-específicas como marcadores de eficacia durante el tratamiento con ITAE parece más controvertido (Breiteneder *et al.*, 2020). A pesar de que en el perro también se ha reportado aumento en los niveles de IgG, IL-10 y T_{reg} durante la terapia, su uso como biomarcadores de eficacia clínica es todavía muy limitado (Keppler *et al.*, 2008).

Vías de administración de la ITAE

Con el fin de conseguir estos cambios inmunológicos, la ITAE se puede administrar por diferentes vías y utilizando diversas pautas terapéuticas, lo que puede condicionar la velocidad, intensidad y tipo de respuesta inmunitaria esperada, así como la aparición de efectos adversos.

- **La vía subcutánea (SCIT)** es la que se emplea con más frecuencia, tanto en medicina humana como veterinaria (DeBoer, 2017). Generalmente se utiliza una pauta de inducción en la que se empieza administrando dosis muy pequeñas de alérgenos separadas por cortos periodos de tiempo, que progresan a dosis e intervalos de tiempo mayores, hasta llegar a una fase de mantenimiento. Esto implica que esta primera fase de inducción sea prolongada, lo que puede condicionar la adherencia al tratamiento por parte del paciente/responsable (Dorofeeva *et al.*, 2020).

Se ha propuesto el uso de pautas rápidas de administración que permiten llegar a la fase de mantenimiento mucho antes. En éstas se inicia el tratamiento con concentraciones mayores de alérgenos y/o se disminuyen los intervalos iniciales de aplicación (Mueller *et al.*, 2004; Ramió-Lluch y Puigdemont, 2020). Un estudio reciente ha puesto a prueba la seguridad de la administración rápida (*Rush*) de la ITAE por vía subcutánea en dos gatos, con la administración de difenidramida intramuscular 30 minutos antes de empezar la terapia. Ninguno de los dos pacientes presentó efectos adversos asociados y el beneficio clínico de la ITAE se observó entre 1 y 2 meses después del inicio de la terapia (Jones y Bloom, 2021).

La frecuencia de administración en la fase de mantenimiento dependerá del tipo de ITAE, ya que en algunas se utilizan extractos de alérgenos en solución acuosa (Estados Unidos) y en otras, en una solución con adyuvantes (Europa) (Jensem-Jarolin, 2015; DeBoer, 2017).

Esta última presentación permite una administración más espaciada en el tiempo, mejorando el manejo del paciente y la adherencia al tratamiento a largo plazo.

Se han descrito efectos adversos asociados al uso de SCIT, que pueden variar desde signos clínicos leves y locales hasta reacciones que pongan en peligro la vida del paciente, y son más probables cuando se utilizan pautas rápidas de inicio (James y Bernstein, 2017). Entre el 26 y el 86% de las personas que reciben SCIT presentan reacciones locales, mientras que un 0,1-0,2% desarrollan reacciones sistémicas de más o menos gravedad, el 14% de las cuales son visibles durante los 30 minutos posteriores a la inyección (James y Bernstein, 2017).

En el caso del gato parecería adecuado evitar en la medida de lo posible esta vía de administración, considerando que la aplicación subcutánea inyectable de algunos fármacos puede producir una respuesta inflamatoria inadecuada en esta especie, que puede dar pie a la aparición de sarcomas en el punto de inoculación (Hartmann *et al.*, 2015). Esta consideración sería de mayor importancia en la fase de inducción del tratamiento donde la frecuencia de aplicación de la ITAE es elevada.

- **La vía sublingual (SLIT)** es una vía alternativa de administración de la ITAE ya que la mucosa oral se considera un tejido con capacidad para producir inmunotolerancia. La expresión de mRNA de IL-10, TGF- β e IFN- γ es mayor en la mucosa oral que en la piel, así como la cantidad de células T, monocitos y células de Langerhans productoras de IL-10 y TGF- β , todas ellas con capacidad inmunomoduladora (Novak *et al.*, 2011; Canonica *et al.*, 2014). Además, las células dendríticas de la mucosa oral expresan el receptor de alta afinidad para IgE, que le permite captar los alérgenos de forma rápida, en cantidades variables según su concentración y el tiempo de contacto con la mucosa (Novak *et al.*, 2011; Canonica *et al.*, 2014). Esta captación induce a una maduración atenuada de estas células dendríticas, favoreciendo la proliferación de T_{regs} en la mucosa oral (Novak *et al.*, 2011; Akdis y Akdis, 2015). Además, se ha observado que el beneficio clínico e inmunológico que se consigue después de 1-2 años de terapia con SLIT (Yukselen *et al.*, 2013; Yukselen *et al.*, 2021), permanece incluso después de interrumpirla (Canonica *et al.*, 2014).

Cabe señalar que, en la mucosa oral, por lo general, no se producen respuestas inflamatorias/inmunológicas exageradas, a pesar de ser un lugar de contacto continuo con proteínas alimentarias y microorganismos (Novak *et al.*, 2011; Canonica *et al.*, 2014). Así, en medicina humana se le atribuyen muchos menos efectos adversos a la SLIT que a la SCIT. Se ha reportado una media de 1,4 efectos graves cada 100.000 dosis de SLIT, la mayoría a nivel local y ninguno de ellos letales (Canonica *et al.*, 2014).

Desde que en 1986 Scadding y Brostoff publicaron el primer estudio aleatorizado y controlado con placebo sobre el uso de la SLIT para el control de la rinoconjuntivitis en personas, se han llevado a cabo múltiples trabajos en los que se han obtenido resultados variables tanto para el control de la enfermedad alérgica respiratoria como de la dermatitis atópica (Canonica *et al.*, 2014; Langer *et al.*, 2021). A pesar de estos resultados, la SLIT es altamente aceptada en la actualidad en medicina humana, principalmente en Europa (DeBoer, 2017; Incorvaia *et al.*, 2020).

En medicina veterinaria el uso de la SLIT está menos extendido y existen pocos trabajos en los que se haya probado su eficacia y seguridad. En un estudio no controlado sobre el uso de la SLIT en un grupo de 10 perros con dermatitis atópica y sensibilizados a los ácaros del polvo, se observó una disminución significativa de la necesidad de fármacos antipruriginosos, de los valores de CADESI y VAS, y de las concentraciones de IgE alérgeno-específicas después de los 6 meses que duró la terapia. Del mismo modo, las concentraciones de IgG alérgeno-específicas aumentaron durante los meses de estudio (DeBoer *et al.*, 2016). Así mismo, se ha estudiado el uso de la SLIT para el control de las reacciones adversas al alimento en perros, mejorando los signos clínicos y dando lugar a un incremento de la tolerancia frente los alérgenos alimentarios implicados, pudiendo conferir protección en casos de ingesta accidental de pequeñas cantidades de dichos alérgenos, tal como se ha observado en estudios realizados en niños (Maina y Cox, 2016; Kim *et al.*, 2019).

En el caso del gato no se han publicado estudios sobre el uso de esta vía de administración de la ITAE, a pesar de poder ser una alternativa adecuada, fácil de administrar y segura, con el fin de evitar el uso de repetido de inyecciones.

- **La administración intraoral** de la ITAE se ha propuesto como alternativa a la SLIT, sin mucho éxito, ya que muchos de los alérgenos utilizados son degradados en el tubo digestivo. En medicina humana se ha utilizado para el control de reacciones alérgicas causadas por alérgenos alimentarios, pero se asocia a un nivel de riesgo lo suficientemente elevado como para no considerarla una alternativa adecuada a la evicción del alérgeno en la mayoría de los pacientes (Dorofeeva *et al.*, 2020). En un estudio piloto controlado realizado en perros no se observaron cambios significativos ni en los signos clínicos ni en los niveles de IgE alérgeno específicas después de 7 meses de inmunoterapia intraoral frente ácaros del polvo (Marsella, 2010).
- **La vía intralinfática (ILIT)** puede ser adecuada con el fin de disminuir la frecuencia de administración y aumentar la adherencia al tratamiento. Además, cabría esperar que la aplicación directa de los alérgenos en el linfonodo produjese una adecuada inmunorregulación de forma más rápida y potente que por otras vías (Senti *et al.*, 2008). Lamentablemente, en la actualidad no existe un número de estudios suficientes que la comparen con otras vías de administración como para poder confirmarlo, y los resultados obtenidos en diferentes trabajos sobre el uso de la ILIT en medicina humana son contradictorios. A modo ilustrativo, en una revisión sistemática y metaanálisis llevada a cabo recientemente por Aini *et al.* no se han encontrado diferencias clínicas significativas entre los pacientes que recibieron ILIT y los que recibieron placebo (Aini *et al.*, 2021), mientras que Hoang *et al.* han observado que ILIT mejora los signos clínicos a corto plazo más que el placebo, y produce un incremento en las IgG alérgeno-específicas (Hoang *et al.*, 2021). En lo que sí que coinciden ambas publicaciones es en que ILIT es una vía segura de administración de la ITAE.

En medicina veterinaria se dispone de muy poca información sobre el uso de la ILIT. Un estudio que comparaba las vías de administración subcutánea, sublingual y intralinfática en el perro concluyó que tanto la vía subcutánea como la intralinfática conseguían tasas de éxito similares, pero el uso inicial de la vía intralinfática consiguió que un mayor número de animales volviesen a un estado de normalidad (signos clínicos leves o nulos) (Fischer *et al.*, 2020).

A pesar de que se ha observado que la administración de pocas aplicaciones de ILIT puede inducir a cambios inmunológicos a largo plazo en medicina humana

(Senti *et al.*, 2012), en medicina veterinaria se ha reportado la recaída de los síntomas después de algunos meses de haber interrumpido el tratamiento, a pesar de que los signos clínicos mejoran entre el primer y tercer mes de tratamiento (Fischer *et al.*, 2016; Timm *et al.*, 2018). Así, en el estudio de Fischer realizado en 2020 los pacientes recibieron 4 dosis iniciales mensuales de inmunoterapia intralinfática para luego continuar con inmunoterapia subcutánea (Fischer *et al.*, 2020).

En el gato actualmente no existen estudios sobre el uso de la ILIT, posiblemente debido a problemas de manejo, ya que en la mayoría de los casos implicaría la sedación del paciente.

- **La vía epicutánea (EPIT)** consiste en la aplicación directa sobre la piel de parches impregnados con los alérgenos implicados en el cuadro clínico. Antes de la aplicación se eliminan las capas más externas de queratinocitos para permitir el paso de los alérgenos y activar la actividad antiinflamatoria y presentadora de antígenos de los propios queratinocitos y de otras células residentes, como las células de Langerhans. A pesar de que los efectos adversos observados son pocos y generalmente a nivel local, no parece una vía alternativa especialmente eficaz en la mayoría de los estudios llevados a cabo en pacientes humanos (Hochfelder y Ponda, 2013). Se han propuesto acciones sobre EPIT con el fin de mejorar su eficacia clínica, como el uso de nuevos sistemas de liberación de los alérgenos en la piel y/o preparar la piel con el uso de láser o la aplicación de microagujas, potenciando la respuesta inflamatoria y mejorando el paso de alérgenos a través de la epidermis (Wang *et al.*, 2021).

Recientemente se ha publicado un trabajo en el que se estudió la EPIT en el perro. Tras la aplicación semanal de parches (12 horas), durante 3 meses, el prurito y las lesiones mejoraron en el 86,67% y en el 66,67% de los perros incluidos en el estudio, respectivamente. Paralelamente las concentraciones de IgE disminuyeron en el 66% de los perros, aunque no se observaron diferencias significativas en las concentraciones de IL-10 antes y después de la terapia. Considerando que no se registraron efectos adversos asociados en ninguno de los pacientes, la vía epicutánea podría considerarse beneficiosa para su uso en esta especie (Pinto *et al.*, 2021).

Actualmente no han sido publicados estudios sobre el beneficio de la EPIT en el gato.

La elección de una u otra vía de administración puede condicionar la respuesta inmunológica y, por tanto, el beneficio clínico. Por ejemplo, cuando se utiliza la vía sublingual en medicina humana se ha observado que los niveles de IgG aumentan de forma mucho más discreta que cuando se utiliza la vía subcutánea (Yukselen *et al.*, 2012). Así mismo, se han observado disminuciones mayores de IL-5 en pacientes tratados con SCIT que con SLIT, mientras que los niveles de IL-10 aumentan en ambas vías, pero de forma más marcada en la sublingual (Schulten *et al.*, 2016).

Estas diferencias podrían deberse a la activación específica de rutas inmunológicas diferentes según el punto de inoculación, por diferencias en el tejido linfoide regional (Novak *et al.*, 2011; Komlosi *et al.*, 2020). Aunque es importante señalar que existen diferencias, a su vez, en las características de inmunoterapia utilizada para cada vía (tipo de alérgeno utilizado, concentración, presencia de coadyuvante, frecuencia de aplicación), lo que podría justificar también algunas de las diferencias observadas en la respuesta inmunológica (Dunham *et al.*, 2006; Novak *et al.*, 2011).

Limitaciones del uso de la ITAE

La principal limitación que existe en el uso de la ITAE en medicina veterinaria es la falta de estandarización, tanto en el **tipo**, la **concentración** y el **número** de los alérgenos utilizados, como en la **frecuencia de administración**. Así, la comparación de los resultados obtenidos entre estudios es compleja y la recomendación del uso de la ITAE en animales se basa todavía en una evidencia científica limitada (Olivry *et al.*, 2015b).

Tipo de alérgenos

A pesar de que se conocen algunas discrepancias entre especies respecto los alérgenos mayores implicados en las reacciones alérgicas, en veterinaria en la mayoría de los casos se siguen utilizando inmunoterapias realizadas a base de epítomos alérgicos específicos del ser humano (Mueller *et al.*, 2016). Esto podría condicionar la eficacia observada en algunos estudios realizados sobre el uso de la ITAE en animales, ya que la elección de los alérgenos mayores es fundamental para conseguir una buena respuesta clínica. De hecho, un estudio reciente ha demostrado una mayor potencia biológica alérgica con el uso de extractos específicos de *D. farinae* en el perro (Derf

15 y Derf 18) (Moya *et al.*, 2021). Es de interés recordar que en esta especie se observó que algunas de las proteínas de alto peso molecular (Derf 15, Derf 18 y Zen-1) que actuaban como alérgenos mayores del ácaro del polvo (*Dermatophagoides farinae*), eran diferentes a los alérgenos mayores identificados en medicina humana (McCall *et al.*, 2001; Weber *et al.*, 2003; Olivry *et al.*, 2017b). Es más, un estudio reciente ha reconocido una variedad todavía mayor de posibles alérgenos mayores de *D. farinae* en esta especie, y sólo algunos coinciden con los que se consideran alérgenos mayores en el ser humano (Derf 1, Derf 2, Derf 10, Derf 11, Derf 14, Derf 15, Derf 16, Derf 18, Derf 25, Derf 29 y Derf 30). Además, algunos de estos epítomos difieren entre sí tanto en peso molecular como estructura, por lo que es probable que no den lugar a una respuesta inmunitaria adecuada (Kathavee *et al.*, 2021).

En el gato, lamentablemente, no se dispone de información sobre estos alérgenos mayores, ni tan siquiera de la saliva de la pulga (McDermott *et al.*, 2000), a pesar de ser una reacción alérgica común en esta especie. Por tanto, se utilizan los mismos extractos que en el perro o en las personas para la confección de la ITAE (Mueller *et al.*, 2016).

Las ITAE que se utilizan en la actualidad se basan en extractos de alérgenos que han sido obtenidos a partir de fuentes naturales (Dorofeeva *et al.*, 2020). Dependiendo de la pureza y la calidad de la materia prima utilizada como fuente natural, así como de los métodos de extracción, pueden existir diferencias significativas entre laboratorios, e incluso entre diferentes lotes dentro de un mismo laboratorio. Estas diferencias pueden dar lugar a diferencias en la inmunogenicidad y, por tanto, en la eficacia clínica entre diferentes inmunoterapias. El uso de alérgenos recombinantes, sintetizados mediante técnicas de biotecnología a partir de sus fuentes naturales, permite una mayor estandarización en su composición (Dorofeeva *et al.*, 2020).

La adsorción de los alérgenos en determinados adyuvantes también condiciona la respuesta inmunológica a la inmunoterapia, ya que tienen la capacidad de activar otras vías del sistema inmunitario innato, como el inflamasoma o los receptores tipo *Toll* (TLR) (Sokolowska *et al.*, 2019). Recientemente se ha presentado un trabajo en el que se administró inmunoterapia a base de Derf 2 recombinante unida a pululano en gatos sensibilizados a *Dermatophagoides farinae*, una vez a la semana durante 6 semanas y luego una vez al mes durante 3 meses. En el 80% de los gatos incluidos en el estudio se observó una mejoría $\geq 50\%$ tanto en el nivel de prurito como en la severidad de las lesiones a partir de la sexta semana de tratamiento (Martini *et al.*, 2021).

Concentración de los alérgenos

Además del tipo de alérgeno a utilizar, y la decisión de añadir coadyuvantes, otra limitación es la falta de estandarización de las **concentraciones de los alérgenos** a incluir en la composición de las inmunoterapias. Considerando que es más común encontrar animales polisensibilizados que monosensibilizados, igual que en medicina humana (Calderon *et al.*, 2012), estandarizar dichas concentraciones es todavía más complejo. A pesar de que en medicina humana se ha observado que la inmunoterapia frente un alérgeno dominante en un paciente polisensibilizado produce resultados clínicos tan buenos como si se hace una combinación de ellos (Calderon *et al.*, 2012), es común observar preparaciones con un número elevado y variable de alérgenos.

Número de alérgenos

El **número de alérgenos** incluidos en la ITAE suele ser mayor en Estados Unidos que en Europa, tendencia que se refleja también en medicina veterinaria. Con todo esto, las diferencias en la composición de las diferentes ITAE pueden ser infinitas, haciendo muy compleja la comparación entre ellas a nivel de eficacia clínica (Calderon *et al.*, 2012).

Pautas de aplicación

Por último, tampoco se han estandarizado las **pautas de aplicación**, existiendo diferencias geográficas y entre alergólogos/dermatólogos. El hecho de que además existan las diferentes vías de administración previamente descritas hace que el número de posibles variables sea todavía mayor (DeBoer, 2017).

Considerando que la eficacia de la inmunoterapia puede depender tanto de los alérgenos elegidos como de las concentraciones, frecuencia, duración y vía de aplicación, parece fundamental establecer protocolos que permitan realizar comparaciones adecuadas entre diferentes estudios para obtener una evidencia científica consistente sobre la eficacia de la ITAE para el control de las dermatitis alérgicas en animales.

Otros fármacos

La evolución en el conocimiento de la fisiopatología de la alergia ha permitido el desarrollo de terapias biológicas destinadas al bloqueo de dianas terapéuticas muy específicas. Así, en los últimos años se han desarrollado **anticuerpos monoclonales**, con la capacidad de bloquear la acción de algunos mediadores inflamatorios implicados en el cuadro alérgico. Actualmente existen anticuerpos monoclonales registrados para su uso en medicina humana con capacidad para bloquear a IL-4 (Dupilumab), IL-13 (Lebrikizumab o Tralokinumab), la subunidad alfa de IL-31 (Nemolizumab), IL-22 (Fezakinumab y ustekinumab), IL-23 (ustekinumab), IL-33 (Etokimab) o TSLP (Texepelumab). Así mismo, omalizumab es capaz de bloquear las IgE; e ISB830 bloquea a O40 (CD135), que es una molécula coestimuladora expresada en las células T (Kader *et al.*, 2021; Salvati *et al.*, 2021).

En medicina veterinaria actualmente sólo existe un anticuerpo monoclonal registrado para el control de la dermatitis atópica en el perro, lokivetmab, anticuerpo caninizado que bloquea la IL-31 tras su aplicación subcutánea (Michels *et al.*, 2016), permitiendo un control del prurito y de las lesiones de forma eficaz (Moyaert *et al.*, 2017; Brussel *et al.*, 2021). El efecto beneficioso se alcanza a las pocas horas de su aplicación ($\leq 3h$), y la duración depende de la dosis administrada, pudiendo llegar hasta los 42 días a dosis de 2 mg/kg (Fleck *et al.*, 2021). Además, y tal como se ha observado en medicina humana con el uso de los anticuerpos monoclonales, lokivetmab presenta un buen perfil de seguridad (Moyaert *et al.*, 2017). En la mayoría de los casos no se observan efectos adversos o son leves y autolimitantes. En el 8,3% de perros que recibieron el fármaco se han registrado eventos como letargia, vómitos, hiperexcitabilidad, incontinencia urinaria y dolor en el punto de inyección (Souza *et al.*, 2018).

Todas estas características hacen de lokivetmab una opción terapéutica muy atractiva en la mayoría de los casos de dermatitis atópica, ya que la frecuencia de administración es baja (mensualmente), la eficacia elevada y los efectos adversos son casi inexistentes. A pesar de que resultaría una alternativa terapéutica muy adecuada en el gato todavía no se han desarrollado anticuerpos monoclonales para el control del prurito en los casos de FASS.

Otra diana terapéutica ha sido la **neuroquinina**. Esta molécula se une a la sustancia P, neuropéptido mediador del prurito, dando lugar al desarrollo de señales de prurito por una vía no histaminérgica. Así, se ha propuesto el uso de fármacos inhibidores de los

receptores de la neuroquinina para el control del prurito asociado a la dermatitis atópica en personas. En estudios realizados con serlopitant no se han obtenido resultados concluyentes sobre el efecto ejercido sobre el prurito, mientras que tradipitant sí que produce una mejora significativa del prurito después de un día de tratamiento (Kader *et al.*, 2021).

Actualmente existe poca información sobre el papel de la sustancia P en el prurito del perro y del gato. De hecho, en un estudio realizado sobre el uso de la capsaicina (inhibidor de la sustancia P) para el control de los signos clínicos de la dermatitis atópica en el perro, las concentraciones de sustancia P no se correlacionaron con la gravedad de las lesiones, y fueron incluso mayores en pieles no lesionadas (Marsella *et al.*, 2002).

Aun así, se realizó un estudio abierto sobre el uso de maropitant (registrado para el tratamiento de los vómitos en medicina veterinaria) en gatos con FASS, en el que se consiguió el control del prurito y las lesiones asociadas a FASS en el 91,7% de los gatos incluidos en el estudio (n=12), sin efectos adversos asociados, a las dosis registradas para el control de los vómitos (Maina y Fontaine, 2019). Por tanto, y a pesar de que serían necesarios más estudios al respecto, maropitant podría considerarse una alternativa segura en aquellos gatos en los que otros fármacos antiinflamatorios/inmunodepresores son ineficaces o están contraindicados (Maina y Fontaine, 2019).

Otra diana terapéutica ha sido la **fosfodiesterasa 4 (PDE4)**, que es un enzima intracelular capaz de modular la inflamación y la integridad epitelial, y que se encuentra sobre expresada en pacientes con enfermedades inflamatorias (Li *et al.*, 2018). La inhibición de la PDE4 produce un amplio espectro de efectos antiinflamatorios, actuando sobre la actividad de macrófagos, células dendríticas y linfocitos. Del mismo modo, mejora la calidad de barrera cutánea (Li *et al.*, 2018). En medicina humana se han desarrollado fármacos inhibidores de la PDE4, como el crisaborol, que administrado tópicamente en una formulación al 2% es capaz de controlar los síntomas leves o moderados de la dermatitis atópica (Salvati *et al.*, 2021; Wohlrab *et al.*, 2021).

En medicina veterinaria, se ha propuesto de forma anecdótica el uso de la pentoxifilina oral a altas dosis para el control de las dermatitis alérgicas en el perro (Olivry *et al.*, 2015) pero actualmente no hay estudios publicados sobre el uso de este inhibidor de la PDE4 en el gato.

Se ha propuesto el uso de **ácidos grasos** por vía oral como tratamiento adyuvante con el objetivo de disminuir la necesidad de otros fármacos antiinflamatorios, como los glucocorticoides. En el perro no se considera una opción adecuada para el control del cuadro agudo, aunque a largo plazo puede ayudar a mejorar la estructura del estrato córneo y de los lípidos intercelulares, mejorando así la barrera cutánea (Olivry *et al.*, 2015). Un estudio doble ciego, aleatorizado y controlado con placebo realizado en el gato (Logas y Kunkle, 1993) concluyó que los suplementos de aceite de onagra utilizados no consiguieron un beneficio mayor que el placebo sobre los signos clínicos de los pacientes incluidos en el estudio. En estudios posteriores se obtienen tasas de éxito moderadas sin efectos adversos asociados, aunque el uso de fuentes de ácidos grasos y las concentraciones son diferentes en todos ellos, lo que dificulta la comparación de los resultados y la extracción de conclusiones (Mueller *et al.*, 2021).

La **palmitoiletanolamida ultramicronizada (PEA-um)** es un lípido bioactivo que tiene características antiinflamatorias, antialérgicas, analgésicas y neuroprotectoras por su acción directa e indirecta sobre la actividad de diversos receptores y mediadores inflamatorios (Cerrato *et al.*, 2011; Petrosino *et al.*, 2015), algunos de ellos sobrerrepresentados en la piel de los gatos alérgicos, como los receptores de cannabinoides 1 y 2 (Miragliotta *et al.*, 2018). Se ha demostrado la capacidad de la PEA de disminuir la liberación de mediadores inflamatorios por parte de los mastocitos cutáneos en el perro, por lo que su uso oral puede resultar una opción adecuada para el control de los signos clínicos de la dermatitis alérgica en esta especie (Cerrato *et al.*, 2012b). Del mismo modo, se ha demostrado que la administración tópica de derivados de la PEA como el adelmidrol puede resultar igual de útil (Cerrato *et al.*, 2012). En un estudio doble ciego, aleatorizado y controlado con placebo realizado en el gato, se postuló la PEA-um como una opción eficaz y segura para aumentar el tiempo entre recaídas de los síntomas relacionados con FASS, pero después de estabilizar el cuadro clínico mediante el uso de metilprednisolona (Noli *et al.*, 2019b).

Con el objetivo de encontrar alternativas terapéuticas se ha llegado a proponer el uso de masitinib, antineoplásico inhibidor de la tirosinquinasa para el manejo de la dermatitis atópica crónica en el perro. Al no ser un fármaco exento de riesgo, ya que se le atribuyen efectos adversos a nivel renal, siempre hay que valorar el equilibrio entre riesgos y beneficios (Olivry *et al.*, 2015). En el gato no está indicado el uso de masitinib, así que no resulta una opción adecuada.

HIPÓTESIS

En la actualidad, muchos gatos con Síndrome Atópico Cutáneo se controlan con glucocorticoides o ciclosporina oral, con los riesgos que el uso de estos tratamientos puede implicar a largo plazo. Nuestra hipótesis es que estrategias terapéuticas que han demostrado ser eficaces y seguras para el control de las dermatitis alérgicas en el perro y en el ser humano, son igual de útiles en el gato; en concreto:

- 1) La inmunoterapia alérgeno-específica administrada por vía sublingual es una opción terapéutica adecuada para el control de la enfermedad a largo plazo, disminuir la necesidad de fármacos antiinflamatorios/inmunodepresores, y evitar la aplicación reiterada de inyecciones que implica su uso por vía subcutánea.
- 2) El inhibidor de la JAK oclacitinib presenta un comportamiento farmacocinético adecuado en el gato y resulta efectivo para el control de los signos clínicos relacionados con el Síndrome Atópico Cutáneo Felino.

OBJETIVOS

Para validar nuestra hipótesis, nos hemos planteado dos grupos de investigaciones:

1. Estudiar la eficacia de la inmunoterapia sublingual alérgeno-específica en el gato:

- 1.1. Estudiar su eficacia clínica para el control del prurito y las lesiones asociados al Síndrome Atópico Cutáneo Felino.
- 1.2. Determinar la evolución de las concentraciones séricas de IgE e IgG alérgeno-específicas durante la terapia, con el objetivo de valorar su implicación en el mecanismo de acción de la inmunoterapia.

2. Estudiar la eficacia del oclacitinib para el control del Síndrome Atópico Cutáneo Felino:

- 2.1. Realizar un estudio de los parámetros farmacocinéticos del oclacitinib en el gato tras su administración oral e intravenosa.
- 2.2. Estudiar la eficacia del oclacitinib administrado por vía oral y correlacionarla con los niveles plasmáticos de oclacitinib a diferentes tiempos tras su administración.

ESTUDIOS

ESTUDIO 1:

Clinical efficacy of sublingual allergen-specific immunotherapy in 22 cats with atopic dermatitis

Rubén Foj, Isaac Carrasco, Federica Clemente, Fabia Scarpella, Anna Calvet, Ana Prats, Susana Vivancos, Pilar Brazís and Anna Puigdemont.

Veterinary Dermatology 2021; 32: 67–e12

DOI: 10.1111/vde.12926

Abstract

Background – Sublingual immunotherapy (SLIT) has been deployed in humans and dogs; to the best of the authors' knowledge, there are no published studies about the use of SLIT in cats.

Objectives – Evaluate the clinical efficacy of SLIT in atopic cats sensitized to dust and storage mites, assessing immunological changes associated with SLIT treatment.

Animals – Twenty-two client-owned cats with clinical signs compatible with feline atopic dermatitis (fAD) and serum allergen-specific IgE against house dust and storage mites.

Methods – Prospective, multicentre, open-label clinical trial. Individualized mite-specific SLIT was administered orally for 12 months. All cats underwent clinical examination to record SCORing feline allergic dermatitis (SCORFAD), Pruritus Visual Analog Scale (PVAS) and serum allergen-specific IgE and IgG, every 3 months for 12 months.

Results – Sixteen out of 22 cats (73%) completed the study and three of six cats withdrawn from the study were included in an intention-to-treat analysis. SCORFAD and PVAS values decreased significantly from baseline (T0) to the third month of treatment ($p=0.0004$ and $p=0.0013$, respectively), with median total values ranging from 19 (6-44) (T0) to 2.5 (0-17) (T12) ($p=0.0001$), and from 8 (6-10) (T0) to 2.3 (0-8) (T12) ($p=0.0001$), respectively. Allergen-specific IgE values decreased significantly from the ninth month (T9) of treatment ($p=0.0032$), with median scores decreasing from 56 (12-729) (T0) to 34 (0-158) (T12) ($p=0.0208$). No significant differences in allergen-specific IgG values were observed throughout the study. No adverse effects related to the use of SLIT were reported.

Conclusions and clinical importance – SLIT should be considered a rapid, effective, safe, and well-tolerated treatment in cats with atopic dermatitis.

Introduction

Feline atopic dermatitis (fAD) is a common inflammatory pruritic disease, caused by an exaggerated immunological reaction against environmental allergens and affecting 12% to 32% of all feline dermatological cases.^{1,2} The main clinical manifestation is pruritus associated with one or more of the following dermatological lesion patterns: military dermatitis, self-induced alopecia, eosinophilic dermatitis, and cervicofacial pruritus.^{3,4}

Many questions about the aetiopathogenesis of this disease in cats remain unanswered, and pharmacological treatment is the most common strategy to control clinical signs of fAD. This option carries some risks, mainly associated with the chronic use of certain drugs such as glucocorticoids and ciclosporin.^{5,6}

Allergen-specific immunotherapy (ASIT) has been shown to be of benefit in controlling clinical signs of allergic respiratory and cutaneous diseases in humans and dogs; also, in reducing or even eliminating the use of other long-term treatments.^{7,8} Few studies have been published on the use of ASIT in cats. These have all examined the subcutaneous route of administration, since this is the most widely used administration route for ASIT in veterinary medicine.^{7,9-11}

Sublingual allergen-specific immunotherapy (SLIT) has been shown to be an effective alternative to subcutaneous immunotherapy.¹² Several studies report on the efficacy and safety of SLIT for allergic diseases in humans.^{13,14} The efficacy and safety of SLIT in dogs has also been reported.¹⁵ To best of the authors knowledge, no studies have been published evaluating SLIT in cats. The effects of ASIT on the immune system, in terms of cellular response, cytokine pattern and IgE/IgG production, have been reported in humans and dogs;¹⁶⁻¹⁹ there is a lack of information about these effects in cats.

The main objective of the present study was to evaluate the clinical efficacy and safety of SLIT in cats with atopic dermatitis due to house dust and storage mite hypersensitivity. A secondary objective was to assess immunological changes induced by the SLIT, quantifying serum allergen-specific IgE and IgG levels over the course of the study.

Material and methods

Study design and cat population

This prospective, multi-centre, open-label, uncontrolled field trial was carried out in four veterinary referral clinics (study sites) in Spain and Italy. The study was conducted following the UAB Institutional Animal Care and Use Committee requirements. Owners provided written informed consent and were advised of their right to withdraw from the trial at any time.

Twenty-two client-owned cats aged more than 12 months, of both sexes (intact or neutered) and belonging to any breed (pure or mixed) were recruited. Inclusion criteria included non-seasonal dermatological signs compatible with skin hypersensitivity reactions unrelated to fleas or food.^{3,4} Cats presenting with at least one of the following clinical patterns were selected: miliary dermatitis, cervical-facial excoriations, self-induced alopecia, and feline eosinophilic complex lesions. The clinical signs had to be present for at least one year before the start of the study. Positive IgE values for house dust or storage mites and negative IgE values for pollens and fungi (at time of inclusion) were required.

Prior to inclusion, other possible causes of pruritus were ruled out. Cats were fed with a commercial hypoallergenic diet or a home-cooked novel protein diet for at least eight weeks to rule out an adverse food reaction. All cats received external parasite treatment and prevention both before inclusion and during the study. Product choice was at the discretion of the attending veterinarian.

Bacterial and fungal infections were ruled out at the time of inclusion by cytology, trichoscopy and fungal culture, if necessary. Other exclusion criteria included treatment with one of the following compounds before enrolment: topical glucocorticoids (one to two weeks), oral antihistamines (one week), oral glucocorticoids or ciclosporin (four weeks), allergen-specific immunotherapy (four weeks) and injectable glucocorticoids (eight weeks). Pregnant and lactating females and cats with severe concurrent diseases were excluded.

Sublingual immunotherapy

For SLIT formulation a serum allergen-specific IgE testing panel (including mites, pollens, and fungi) using the high-affinity IgE receptor (Allercept®, Heska, Fribourg, Switzerland) was used. An aqueous sublingual allergen solution was formulated and prepared, containing glycerinated extracts of *Dermatophagoides farinae*, *D. pteronyssinus*, *Acarus siro* and/or *Tyrophagus putrescentiae* (30 HEP_L/mL) (LETIPharma, Barcelona, Spain) in pump-type dispenser bottles and based on the test results for each cat. The cat owners administered the mite-specific SLIT, following instructions included in the therapeutic guide with one drop (45 µL) of the solution per day, from Monday to Friday, in the first two weeks of treatment, followed by two drops (90 µL) per day for the rest of the study (one year). The owners were trained to administer SLIT as close as possible to the sublingual mucosa through the lower arcade of the teeth. No eating or drinking was allowed for at least 5 minutes after administration.

At the beginning of the administration of SLIT, and in any relapse in clinical signs during maintenance treatment, methylprednisolone tablets at decreasing doses (0.4 mg/kg twice daily for five days, once daily for five days and every other day for five more days) were allowed. The dose and duration of methylprednisolone treatment was decided upon by the attending veterinarian. The number of tablets administered and the corresponding periods were recorded. When cats required methylprednisolone during the study period, owners were instructed to discontinue the drug one month before the clinical and immunological assessment.

Other treatments that could potentially interfere with the evaluation of SLIT efficacy were not allowed during the entire study period. These included ciclosporin, oclacitinib, glucocorticoids apart from methylprednisolone acetate and antihistamines.

Assessment of treatment efficacy

At inclusion time (T0), a general physical examination and complete dermatological examination was performed by the investigator; weight, age, breed, sex, and other relevant data were recorded. The dermatological examination was carried out after three, six, nine and 12 months. To assess the presence and severity of skin lesions (eosinophilic dermatitis, head and neck excoriations, self-induced alopecia and miliary dermatitis) in 10 body regions, the specific SCORing Feline Allergic Dermatitis (SCORFAD) was used.²⁰ Briefly, a score from 0 to 4 was assigned to each of the four

aforementioned lesions, leading to a maximum total score of 16 per evaluated body region. A minimum total SCORFAD of 4 was required to enrol a cat in the study. Additionally, the intensity of pruritus was also assessed by the owners using Pruritus Visual Analog Scale (PVAS), as reported for evaluation of atopic dogs;²¹ it was adapted to the cat's unique behavioural characteristics, comprising a 10 cm long line on which the owner indicated the intensity of pruritus (Figure S1). A minimum PVAS value of 6 was required at the first visit to include the cat in the study.

To assess the immunological changes during SLIT treatment, allergen specific IgE and IgG were analysed. IgE was measured using the same high-affinity receptor ELISA technique previously used at the time of inclusion (Allercept®, Heska, Fribourg, Switzerland). The IgG measure was made with an unvalidated ELISA using the same antigen coated plates with a commercial monoclonal antibody against feline IgG (Sigma) as detecting reagent (non-commercial IgG test by Heska, Fribourg).

Statistical analysis

Intention-to-treat-analysis was performed for 19 cats. Three cats were excluded from the statistical analysis because they were withdrawn prior to six months of treatment. SCORFAD, PVAS and IgE/IgG results were expressed as median with data range (Min-Max, IQR) at any time point. Differences between study times were evaluated with a non-parametric test because data did not follow a normal distribution (Shapiro-Wilk test; $\alpha < 0.05$). The Friedman test was used to determine if there were significant differences among groups and Dunn's multiple comparison test was subsequently performed, only if the main test (Friedman) was significant, to look for differences between pairs (each treatment time versus T0). All statistical analyses were carried out using Prism v. 8.1.2. (GraphPad Software inc., San Diego, CA, USA). A P-value < 0.05 was considered statistically significant.

Results

Characterization of cats

Twenty-two client-owned cats diagnosed with non-seasonal allergic skin disease were enrolled in the study. The average age and weight were 4.8 (± 2.78) years and 4.8 (± 1.83) kg, respectively. Twelve cats were males and 10 females (55% vs 45%). Three

(14%) were purebred (Maine Coon, Siamese and Scottish fold), while 19 (86%) were European domestic shorthair cats.

At the time of inclusion, cats presented with one or more lesions with different degrees of severity, compatible with cutaneous hypersensitivity reactions, with median SCORFAD and PVAS scores of 19 (6-44, IQR 13-29) and 8 (6-10, IQR 7-9), respectively. All cats enrolled in the study had positive serum levels for mite-specific IgE. Ten cats (45%) had positive IgE levels against a single mite, while the remaining 12 cats (55%) had positive test results for multiple mite spp.

Withdrawal

Six of twenty-two cats (27.3%) were withdrawn from the study, three of them after six months of treatment. The reasons for withdrawal included lack of efficacy in one case (owner's decision), difficulty of administration in one case due to pre-existing gingivostomatitis and in the remaining four cases reasons unrelated to the SLIT treatment (bladder tumour and lack of owner adherence).

Clinical signs

The Friedman test showed a significant decrease in skin lesions ($p < 0.0001$). Pairwise analyses showed that SCORFAD was significantly reduced between T0 and T3 ($p = 0.0004$) and T0 and T6 ($p < 0.0001$). This improvement continued over the course of the study, with median SCORFAD values decreasing from 19 (6-44, IQR 13-29) (T0) to 0.5 (0-12, IQR 0-2) (T9) ($p < 0.0001$) and 2.5 (0-17, IQR 0-5) (T12) ($p = 0.0001$) (Figure 1).

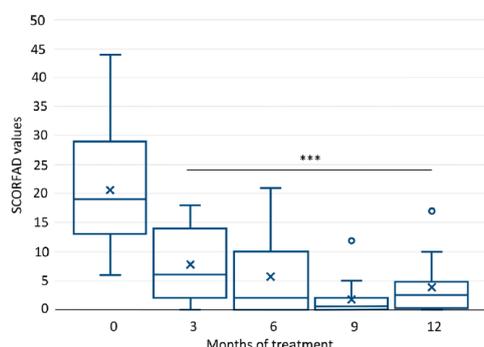


Figure 1. SCORing feline allergic dermatitis (SCORFAD) scores recorded by the investigator over 12 months of sublingual immunotherapy (SLIT) treatment in cats ($n = 19$). Median values [Min – Max, IQR (interquartile range)] are represented, X is the mean and circles are outliers. Significant differences were observed between the initial scores and those obtained at three, six, nine and 12 months ($***P < 0.001$).

The Friedman test also reflected a significant reduction in pruritus ($p < 0.0001$). Pairwise analyses showed that PVAS was significantly reduced between T0 and T3 ($p = 0.0013$) and T0 and T6 ($p < 0.0001$). This improvement continued over the course of the study, with median PVAS values evolving from 8 (6-10, IQR 7-9) (T0) to 0.5 (0-6, IQR 0-2.5) (T9) ($p < 0.0001$) and 2.3 (0-8, IQR 0-5) (T12) ($p = 0.0001$) (Figure 2).

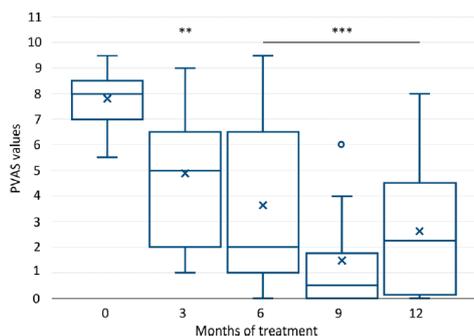


Figure 2. Pruritus Visual Analog Scale (pVAS) scores assessed by the owners at the beginning and after three, six, nine and 12 months of sublingual immunotherapy (SLIT) treatment in cats ($n = 19$). Median values [Min – Max, IQR (interquartile range)] are represented, X is the mean and circles are outliers. Significant differences were observed between the initial scores in comparison with those obtained at three, six, nine and 12 months ($***P < 0.001$, $**P < 0.01$).

Assessment of lesions

The percentage of cases with lesions in each body area, prior to and following treatment, are represented in Figure 3. Head and neck were the most commonly affected anatomical areas, with 86% and 77% of affected animals, respectively, followed by abdomen in 50% of cases. Erythema and self-induced alopecia were the most frequent and severe lesions in most affected areas and cases, followed by miliary dermatitis and eosinophilic dermatitis (Figure 4). After three months of SLIT treatment lesions were markedly reduced or absent in all areas.

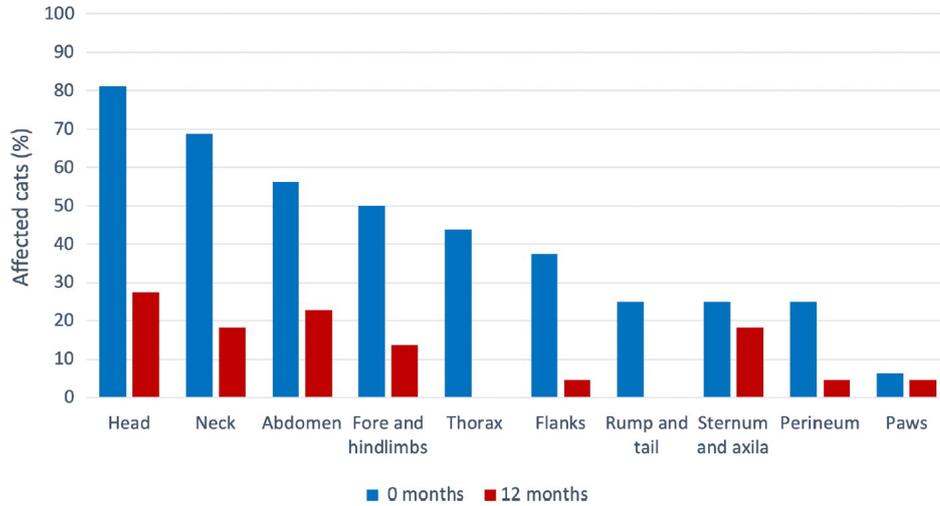


Figure 3. Percentage of cats (%) showing skin lesions in the different body areas evaluated by SCORing feline allergic dermatitis (SCORFAD) before and after 12 months of treatment

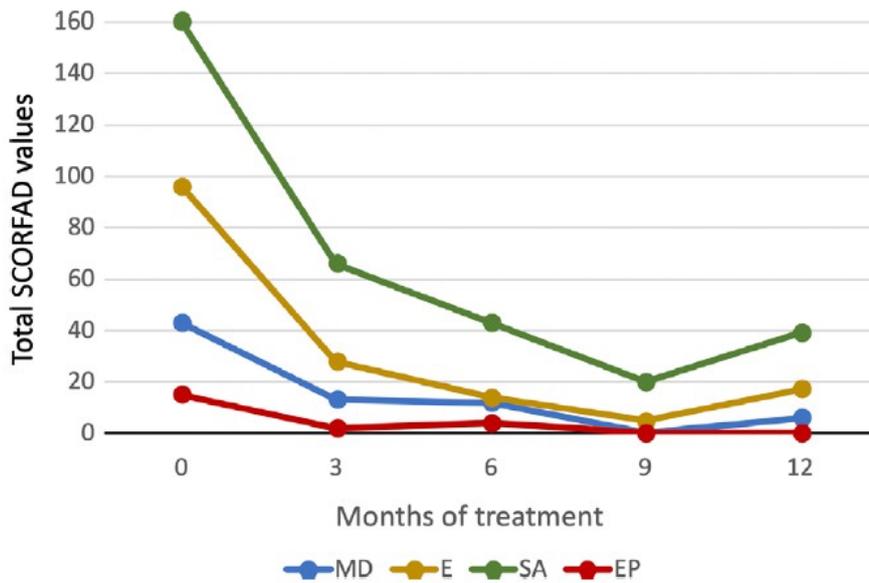


Figure 4. Skin lesion resolution obtained by adding all the SCORing feline allergic dermatitis (SCORFAD) scores for all animals in each lesion, after three, six, nine and 12 months of treatment. MD, miliary dermatitis; E, excoriations; SA, self-induced alopecia; EP, eosinophilic dermatitis.

Serum mite-specific IgE and IgG levels

The Friedman tests showed that allergen-specific IgE levels decreased significantly from the ninth month (T9) of treatment ($p=0.0032$), with median scores decreasing from 56 (12-729, IQR 24-146) (T0) to 34 (0-158, IQR 1-77) (T12) ($p=0.0208$) (Figure 5). Mite-specific IgG levels were not significantly altered at any time during the treatment ($p=0.38$) (Figure 6).

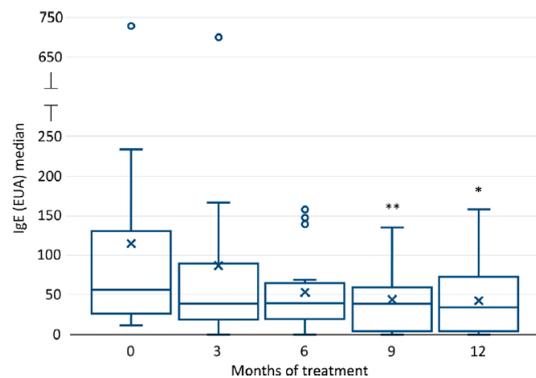


Figure 5. Serum mite-specific immunoglobulin (IgE) values obtained over the 12 months of sublingual immunotherapy (SLIT) treatment in cats. Median values [Min – Max, IQR (interquartile range)] are represented, X is the mean and circles are outliers. Significant differences were observed between the initial IgE values (EUA units) and those obtained at nine and 12 months (** $P < 0.01$, * $P < 0.05$).

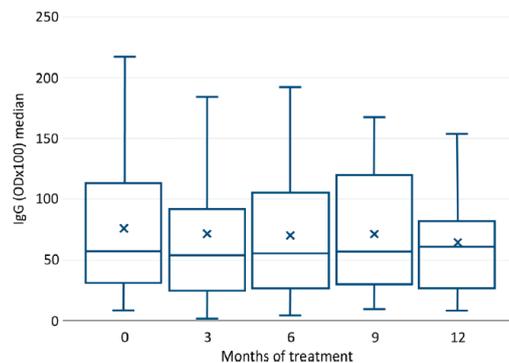


Figure 6. Serum mite-specific immunoglobulin (IgG) values obtained over the 12 months of sublingual immunotherapy (SLIT) treatment in cats. Median values [Min – Max, IQR (interquartile range)] are represented, X is the mean and circles are outliers. No significant differences were observed for IgG values (OD*100 units) during the course of the study.

Cats with positive pollen specific-IgE at T0 were not enrolled in order to evaluate the efficacy of mite-specific SLIT over the study period and to analyse more accurately the

effects of SLIT. Positive pollen-specific IgE was detected during the study at 13 times in different cats (four cats at T3, six at T6 and three at T9) but no changes in immunotherapy composition were made.

Concomitant medication

Seven out of 22 cats (32%) required oral methylprednisolone administration at the beginning of the study (average dose: 0.81 mg/kg/day). After the first three months of treatment only five cats required oral methylprednisolone (average dose: 0.43 mg/kg/day). At the end of the study only four cats required oral medication with methylprednisolone to control clinical signs (final average dose 0.33 mg/kg/day). The remaining 12 cats showed adequate control of clinical signs without medication, other than SLIT, for the duration of the study.

Adverse effects

None of the cats demonstrated adverse effects attributable to the administration of SLIT (either local or systemic). Moreover, no problems were reported regarding SLIT oral administration except in one case, probably due to the acceptable palatability of the SLIT formulation for cats.

Discussion

Mite-specific SLIT treatment in this group of cats was well tolerated and effective in reducing clinical signs related to fAD in a short period of time and without associated adverse effects. Concomitant medication, both in number of animals treated and in the average dose of methylprednisolone administered, was progressively reduced from baseline to the end of the study, suggesting that SLIT was effective in reducing corticosteroid usage and in maintaining this improvement over time.

Despite the fact that the subcutaneous route (SCIT) has been widely used in human, canine and feline allergen immunotherapy, oral treatment was chosen in this study because the sublingual route (SLIT) has not previously been reported in cats and it could improve owner adherence to treatment, avoiding stressful visits to the clinic and potential development of local adverse effects.²²

In previous studies it has been reported that SLIT produces clinical improvement during the first 12 months of treatment in allergic human beings,^{23,24} and around the sixth month of treatment in atopic dogs.¹⁹ Although more studies are required to assess differences with other species, the oral route was fast-acting in the cats included in our study since clinical improvement was observed during the first three months of treatment in the vast majority of them (SCORFAD values improved in almost all included cats (19/22) and PVAS scores improved in 17 cats. The prompt improvement was observed even though the cats were enrolled at different times of the year, so that seasonal variations in the concentrations of environmental mites were expected.²⁵ This trend continued throughout the study to the 12-month end-point.

Assessment of pruritus improvement is difficult in cats due to their behavioural characteristics; it is certainly not as objective as lesion evaluation. Some bias in results is to be expected considering the subjective evaluation of owners. Using an adapted PVAS scale score from dogs and considering that the observer (owner) did not change during the study in any of the cases, the expected bias should be reduced, and the values obtained at different times would be reliable.

The role of IgE in allergic dermatitis has previously been suggested in cats although it has not always been possible to establish a relationship between allergen-specific IgE and disease pathogenesis,²⁶⁻²⁸ or a relationship between changes observed in IgE levels and clinical success during allergen-specific immunotherapy.^{7,13} To address this point, a serological test was included in our study to assess changes in IgE levels during the entire SLIT treatment. Despite intradermal testing (IDT) being regarded as the gold standard for allergen formulation in ASIT for many years, the serological test was used to reduce interobserver variability inherent in IDT, over the one-year study.^{29,30} The IgE serological test used contains the alpha chain of the Fc-epsilon receptor (FcεR1α) that binds IgE with very high affinity (10^{-10} M). Other types of allergen-reactive antibodies, such as IgG, are not able to bind to this receptor. Even high levels of IgG antibodies fail to bind FcεR1α, nor do they inhibit the binding of IgE to this receptor (Heska, personal communication). The proposed high sensitivity and specificity test in cats reduces false positive and negative responses and improves the reliability of the results. As previously observed in human beings on ASIT treatment,^{7,13} in our study IgE values clearly decreased from the beginning to the end of the treatment but, owing to the variability of results observed at T0, this reduction was only significant at T9 and T12. These results imply that mite-specific IgE could have played an important role in the disease

pathogenesis of the cats included in this study, since IgE levels decreased in parallel to improvements in clinical signs.

To avoid misleading improvements or worsening due to environmental allergen changes, the authors decided to extend the duration of the study for a full year. Unlike the case of mites, no relationship between pollen-specific IgE and clinical signs was observed during the study. Some of the cats flared with seasonal exacerbations of pruritus with no obvious relationship to changes in pollen-specific IgE levels, while in other cats increases in pollen-specific IgE levels were not associated with changes in clinical signs.

Unlike IgE levels, mite-specific IgG remained stable throughout the study, in contrast to what has been observed in dogs and humans after ASIT administration.^{7,12,15} It has been theorized that immunotherapy induces protective allergen-specific IgG production. The results obtained do not support this theory for cats. Other mechanisms, such as production of IL-10 and changes in cell-mediated immunity,^{7,12} could be involved in the observed clinical response. In humans with allergic respiratory problems, both subcutaneous and sublingual routes show similar immunological changes (reduction of the allergen-specific IgE and elevation of IL-10), but it was only with SCIT that significant increases in IgG4-HDM-specific levels were observed.³¹ Thus, the route of administration could explain the results obtained in the present study with cats.

At the beginning of SLIT treatment in humans, 60-85% of patients show mild local and self-limiting reactions; only a small number of patients (0.05-7%) show more severe adverse reactions that lead to discontinuation of the treatment.^{16,32} In dogs, only very mild and self-limiting adverse effects have been reported, such as pruritus, vomiting, lethargy and decreased appetite.¹⁹ In the present study no systemic or local adverse effects were observed, though one cat was withdrawn due to treatment difficulty related to pre-existing stomatitis. Therefore, SLIT showed an excellent safety profile in the cats included in this study.

One limitation of the study is the small number of animals included. Finding cases that met all inclusion requirements was a real challenge; in more than one-third of cats with fAD-compatible signs no positive allergen-specific IgE levels were detected, in keeping with previous reports.^{33,34} Another limitation is the lack of a control group. A control-placebo group was considered unethical, and a positive control group would require a larger number of animals, with the aforementioned difficulty in finding cats that met the

inclusion criteria. For this reason, each cat was studied before and after SLIT treatment, as their own control.

In conclusion, mite-specific SLIT was a rapid, effective, safe, and well tolerated treatment for the control of pruritus and cutaneous signs in this group of atopic cats. It appears to be suitable for reducing or possibly eliminating the need for corticosteroid treatment. Further studies should be performed to evaluate the efficacy of SLIT in a larger number of cats and compared to other treatments for atopic dermatitis.

References

1. Ravens PA, Xu BJ, Vogelnest LJ. Feline atopic dermatitis: a retrospective study of 45 cases (2001–2012). *Vet Dermatol* 2014; 25: 95–e28.
2. Scott DW, Miller WH, Erb HN. Feline dermatology at Cornell University: 1407 cases (1988–2003). *J Feline Med Surg* 2013; 15: 307–316.
3. Hobi S, Linek M, Marignac G *et al*. Clinical characteristics and causes of pruritus in cats: a multicentre study on feline hypersensitivity-associated dermatoses. *Vet Dermatol* 2011; 22: 406–413.
4. Favrot C, Steffan J, See-Wald W *et al*. Establishment of diagnostic criteria for feline nonflea- induced hypersensitivity dermatitis. *Vet Dermatol* 2011; 23: 45–e11.
5. Lowe AD, Campbell KL, Graves T. Glucocorticoids in the cat. *Vet Dermatol* 2008; 19: 340–347.
6. Heinrich NA, McKeever PJ, Eisenschenk MC. Adverse events in 50 cats with allergic dermatitis receiving ciclosporin. *Vet Dermatol* 2011; 22:511–520.
7. Loewenstein C, Mueller RS. A review of allergen-specific immunotherapy in human and veterinary medicine. *Vet Dermatol* 2009; 20:84-98.
8. DeBoer DJ. The future of immunotherapy for canine atopic dermatitis: a review. *Vet Dermatol* 2017; 28: 25-e6.

9. Bettenay S. Response to hyposensitization in 29 atopic cats. In: Kwochka KW, Willemse A, von Tscharner C, eds. *Advances in Veterinary Dermatology, volume 3*. Oxford, UK: Butterworth/Heinemann, 1998: 517-518 (abstract).
10. Trimmer AM, Griffin GE, Boord MJ *et al*. Rush allergen specific immunotherapy protocol in feline atopic dermatitis: a pilot study of four cats. *Vet Dermatol* 2005; 16: 324–329.
11. Trimmer AM, Griffin GE, Rosenkrantz WS. Feline immunotherapy. *Clin Tech in Small Anim Pract* 2006; 21: 157-161.
12. Canonica GW, Cox L, Pawankar R *et al*. Sublingual immunotherapy: World Allergy Organization position paper 2013 update. *World Allergy Organ J* 2014; 7: 6.
13. Cox LS, Larenas-Linnemann D, Nolte H *et al*. Sublingual immunotherapy: a comprehensive review. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 117: 1,021-1,035.
14. Choi J-S, Ryu H-R, Yoon C-H *et al*. Treatment of patients with refractory atopic dermatitis sensitized to house dust mites by using sublingual allergen immunotherapy. *Ann Dermatol* 2015; 27: 82-86.
15. DeBoer DJ, Verbrugge M, Morris M. Clinical and immunological responses of dust mite sensitive, atopic dogs to treatment with sublingual immunotherapy (SLIT). *Vet Dermatol* 2016; 27: 82-e24.
16. Akdis C, Akdis M. Mechanisms of allergen-specific immunotherapy and immune tolerance to allergens. *World Allergy Organ J* 2015; 8: 17.
17. Griffin CE, Hillier A. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XXIV): allergen-specific immunotherapy. *Vet Immunol Immunopathol* 2001; 81: 363-383.
18. Heeringa JJ, McKenzie CI, Varese N *et al*. Induction of IgG2 and IgG4 B-cell memory following sublingual immunotherapy for ryegrass pollen allergy. *Allergy* 2020; 75: 1,121-1,132.

19. Hou CC, Griffin CE, Hill PB. *Dermatophagoides farinae*-specific IgG responses in atopic dogs undergoing allergen-specific immunotherapy with aqueous vaccines. *Vet Dermatol* 2008; 19: 215-220.
20. Steffan J, Olivry T, Forster SL *et al*. Responsiveness and validity of the SCORFAD, an extent and severity scale for feline hypersensitivity dermatitis. *Vet Dermatol* 2012; 23: 410–e77.
21. Rybníček J, Lau-Gillard PJ, Harvey R *et al*. Further validation of a pruritus severity scale for use in dogs. *Vet Dermatol* 2008; 20: 115-122.
22. Hartmann K, Day MJ, Thiry E *et al*. Feline injection-site sarcoma, ABCD guidelines on prevention and management. *J Feline Med and Surg* 2015; 17: 606-613.
23. Horak F, Zieglmayer P, Zieglmayer R *et al*. Early onset of action of a 5-grass-pollen 300-IR sublingual immunotherapy tablet evaluated in an allergen challenge chamber. *J Allergy Clin Immunol* 2009; 124: 471-477.
24. Blanco C, Bazire R, Argiz L *et al*. Sublingual allergen immunotherapy for respiratory allergy: a systematic review. *Drugs Context* 2018; 7: 212552.
25. Demoly P, Matucci A, Rossi O *et al*. The disease burden in patients with respiratory allergies induced by house dust mites: a year-long observational survey in three European countries. *Clin Transl Allergy* 2020; 10: 27.
26. Taglinger K., Helps CR, Day MJ *et al*. Measurement of serum immunoglobulin E (IgE) specific for house dust mite antigens in normal cats and cats with allergic skin disease. *Vet Immunol Immunopathol* 2005; 105: 85-93.
27. Gilbert S., Halliwell R. Feline immunoglobulin E: induction of antigen-specific antibody in normal cats and levels in spontaneously allergic cats. *Vet Immunol Immunopathol* 1998; 63: 235-252.
28. Halliwell RE, Gilbert SM, Lian TM. Induced and spontaneous IgE antibodies to *Dermatophagoides farinae* in dogs and cats: evidence of functional heterogeneity of IgE. *Vet Dermatol* 1998; 9: 179-184.

29. Rossi MA, Messinger L, Olivry T *et al.* A pilot study of the validation of percutaneous testing in cats. *Vet Dermatol* 2013; 24: 488-e115.
30. Gentry C, Messinger L. Comparison of intradermal and percutaneous testing to histamine, saline and nine allergens in healthy adult cats. *Vet Dermatol* 2016; 27: 370-e92.
31. Yukselen A, Kendirli SG, Yilmaz M *et al.* Effect of one-year subcutaneous and sublingual immunotherapy on clinical and laboratory parameters in children with rhinitis and asthma: a randomized, placebo-controlled, double-blind, double-dummy study. *Int Arch Allergy Immunol* 2012; 157: 288-298.
32. Bernstein DI, Klein-Tebbe S, Nelson HS *et al.* SQ house dust mite sublingual immunotherapy tablet subgroup efficacy and local application site reaction duration. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2018; 121: 105-110.
33. Bexley J, Hogg JE, Hammerberg B *et al.* Levels of house dust mite-specific serum immunoglobulin E (IgE) in different cat populations using a monoclonal based anti-IgE enzyme-linked immunosorbent assay. *Vet Dermatol* 2009; 20: 562-568.
34. Belova S, Wihelm S, Linek M *et al.* Factors affecting allergen specific IgE serum levels in cats. *Can J Vet Res* 2012; 76: 45-51.

ESTUDIO 2:

A pharmacokinetic study of oclacitinib maleate in six cats

Lluís Ferrer, Isaac Carrasco, Carles Cristòfol and Anna Puigdemont

Veterinary Dermatology 2020; 31: 134–137

DOI: 10.1111/vde.12819

Abstract

Background – Oclacitinib is a Janus kinase (JK)1 inhibitor that has been shown to be effective and safe for the treatment of allergic dermatitis in dogs. Its use in cats has been limited by the absence of pharmacokinetic data.

Objective – To determine the pharmacokinetic parameters of oclacitinib in cats after oral and intravenous administration.

Animals – Six adult domestic short hair cats.

Methods and materials – A two period, two treatment design was used in which cats received oclacitinib maleate i.v. and p.o., at a dose of 0.5 mg/kg and 1 mg/kg, respectively. There was a one-week interval of washout between the two treatments. Cats received each treatment only once. The plasma concentration of oclacitinib was determined by high-performance liquid chromatography at 0 min, 5 min, 15 min, 30 min, 1 h, 4 h, 6 h, 10 h and 24 h after intravenous administration, at 0 min, 15 min, 30 min, 1 h, 2 h, 4 h, 6 h, 10 h and 24 h after p.o. administration.

Results – After p.o. administration, oclacitinib was absorbed rapidly and almost completely, as shown by an absolute bioavailability of 87% and a T_{max} of 35 min. The elimination of the drug also was very rapid as shown by a half-life of 2.3 h and a clearance calculated as 4.45 mL/min/kg (after i.v. administration).

Conclusions and clinical importance – The pharmacokinetic parameters of oclacitinib in the cat are similar to those described for the dog, although absorption and elimination are somewhat faster and variability between individuals is somewhat greater. Larger doses and/or shorter dosing intervals would be recommended in cats to achieve similar blood concentrations to those in dogs.

Introduction

Oclacitinib is a selective inhibitor of Janus kinase (JK) 1 that is currently licensed and marketed for the treatment of the clinical signs of canine atopic dermatitis and allergic pruritus in the dog.¹ Janus kinases are tightly bound to cytokine receptors and play a major role in cytokine signaling through the signal transducers and activators of transcription (STATs).²⁻⁵

Current drugs used for the control of pruritus in the cat are not free of adverse effects with both short- and long-term use. Diabetes mellitus, for instance, has been reported in cats treated with glucocorticoids and vomiting, diarrhoea and anorexia have been associated with ciclosporin treatment in cats.⁶ The high efficacy and the few clinically observed adverse effects of oclacitinib for the treatment of canine allergic dermatitis have led numerous veterinarians to consider the use of this drug in the treatment of allergic dermatitis in cats. Noncontrolled open studies reported promising results⁷⁻⁹ and a double-blinded, randomized, methylprednisolone-controlled study concluded that oclacitinib appeared to be effective for treating pruritus and lesions in cats with nonflea and or nonfood-induced hypersensitivity dermatitis.¹⁰ Apart from its off-label use, one of the main obstacles to prescribing oclacitinib in cats is the lack of pharmacokinetic (PK) data in this species. The pharmacokinetics of oclacitinib in the dog have been well-studied.¹¹ To the best of the authors' knowledge, similar data regarding the PK of oclacitinib in the cat are lacking.

The objective of this study was to determine the pharmacokinetic parameters of oclacitinib in cat, after both i.v. and p.o. administration.

Methods and materials

Experimental animals

Six adult, male, domestic short hair cats were used. The cats were housed in an Animal Research Facility (Isoquimen, Sant Feliu de Codines, Spain) and the study was conducted following the approval of the Animal Care and Use Committee of the Departament de Territori i Sostenibilitat, Generalitat de Catalunya, Spain (procedure no. 10187).

Experimental design and dosage forms

A two-period, two-treatment design was used in which cats received two treatments, first oclacitinib maleate i.v. and later the same drug p.o., at a dosage of about 0.5 mg/kg and 1 mg/kg, respectively. A one-week washout interval was allowed between the two treatments, and the cats received each treatment only once. For the i.v. dose, a 5 mg/mL oclacitinib maleate (Selleckchem; Houston, TX, USA) solution in saline was prepared. The dose was given via bolus (over a 1 min period) through a catheter placed in the cephalic vein. For the p.o. treatment, cats received a single 3.6 mg or 5.4 mg oclacitinib commercial tablet (Apoquel, Zoetis; Parsippany, NJ, USA), depending on body weight, to result in a mean dose of approximately 1 mg/kg (0.8–1.2 mg/kg). This was followed by an oral flush with 1–2 mL of tap water to ensure that the tablet was swallowed. The order of treatments was the same in all cats. For both treatments, animals were fasted 6h before dosing and were fed 2h post-dose with a standard commercial dry food (Advance Cat Sterilized Turkey and Barley, Affinity Petcare; Barcelona, Spain) and provided water ad libitum.

Blood sampling

For sample collection, a jugular or cephalic vein was catheterized before each study. For the p.o. administration, blood samples (1 mL) were drawn at 0, 15 and 30 min; then 1, 2, 4, 6, 10 and 24 h after completion of the oral administration (nine sampling time-points). For the i.v. dose, the times were 0, 5, 15 and 30 min; then 1, 4, 6, 10 and 24 h after completion of the i.v. administration of the drug (nine sampling time-points). Blood samples were collected into EDTA-K2 anticoagulant tubes and kept on ice until plasma separation. Plasma was separated after centrifugation (at 4°C for 10 min at 3500 g) and stored at -20°C until analysis. All samples were assayed not later than one week after collection.

Plasma oclacitinib determination

The concentration of oclacitinib in plasma was determined using a high-performance liquid chromatography (HPLC) system (1290 series, Agilent; Darmstadt, Germany) coupled to a triple quadrupole mass spectrometer (6420, Agilent; Santa Clara, CA, USA). An Agilent Zorbax Infinity Lab EC-C18 (1.9 µm, 2.1 x 50 mm) chromatographic column was used. The chromatographic mobile phase, pumped at a 0.5 mL/min flow rate, consisting of a gradient mixture of acetonitrile and water, both with 0.1% formic acid of

the following proportions: the initial conditions were 5% of acetonitrile: 95% water; after injection (20 μ L), the proportions were linearly changed to 50:50 during 4 min and maintained at 50:50 for 1 min; and finally returned to initial conditions. Under these conditions, the oclacitinib retention time was 2.6 min. The detection was performed using positive electrospray ionization (ESI+) with multiple reaction monitoring of the transitions 338.2 to 148.9 atomic mass units (amu) for the quantifying transition and 338.2 to 134.0 amu for the qualifying transition.

For each sample, 50 μ L plasma was placed in an Eppendorf tube and spiked with 10 μ L oclacitinib standard if needed. After a brief vortex agitation, 100 μ L ice cold (-20_{C}) acetonitrile was added for protein precipitation. The samples were vortexed for 5 min in a multivortex agitator and then centrifuged at 20,000g for 10 min at 4°C. After centrifugation, the supernatant was transferred to an HPLC conical polypropylene tube, which was then capped and placed in the autosampler for its injection.

The method was validated in accordance with international guidelines.¹² The limit of detection was established in 0.15 ng/mL, the limit of quantification at 1 ng/mL and the linearity was demonstrated between 1 and 1,000 ng/mL. The intraday and inter-day precision were <20% at the limit of quantification and <15% for the rest of levels of the calibration curve. The intraday and inter-day accuracy were within a $\pm 20\%$ range at the limit of quantification and within a $\pm 15\%$ range at the rest of concentration levels. The recovery (95%), matrix effect (90%) and stability of the analyte in standard solutions (Three months at -20°C) and matrix (at least four months) also were studied. The calibration curves used for the validation and sample analysis were constructed by spiking blank plasma samples with different amounts of oclacitinib (seven concentrations) and extracted as samples. Each day of analysis sets of quality control samples were prepared and extracted as the test samples at four different levels of concentration.

Pharmacokinetic analysis

Pharmacokinetic analyses were performed with computer software PKSolver v2,¹³ Initial estimates were determined using the residual method¹³ and then refitted by nonlinear regression. Pharmacokinetic parameters were calculated using classic equations associated with noncompartmental analysis, except maximum plasma concentration (C_{max}) and time to maximum concentration (T_{max}), which were determined by visual inspection of plasma concentration–time curves. The main parameters for each animal

were statistically compared for the two assayed administration routes, applying a paired Student's t-test to the data. The level of significance was set at 0.05 ($P < 0.05$).

Results

Figure 1 shows the plasma concentrations of oclacitinib maleate after i.v. and p.o. administration in cats. The main pharmacokinetic data are presented in Table 1. After p.o. administration, oclacitinib was absorbed rapidly and almost completely, as shown by an absolute bioavailability of 87% (coefficient of variation of 15%; range from 64.4% to 98.1%) and a T_{max} of 35 min.

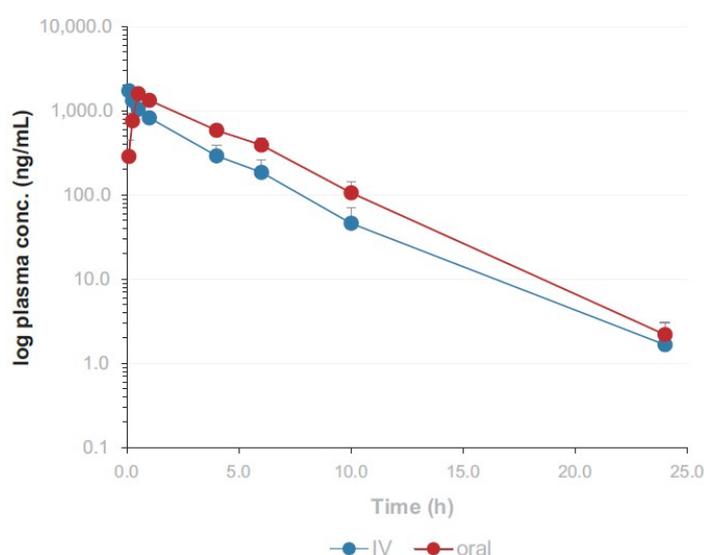


Figure 1. Plasma levels of oclacitinib maleate (Mean \pm SEM) after intravenous (blue line) and oral (red line) administration in the cat ($n = 6$).

The C_{max} was 1,631 ng/mL while plasma concentrations decreased rapidly, with an elimination half-life ($t_{1/2\lambda}$) of 2.3 h and a clearance calculated as 4.45 mL/min/kg (after i.v. administration). Ten hours after p.o. administration, the mean plasma concentration was 122.9 ng/mL, although the variability in the cat ranged from 20.2 to 232.3 ng/mL.

The 0.5 mg/kg i.v. $AUC_{0-\infty}$ values were dose-adjusted to 1 mg/kg assuming dose proportionality. The differences between area under curve (AUC) and $t_{1/2k}$ values from the p.o. and i.v. routes did not show statistical differences ($P = 0.099$ and $P = 0.424$ respectively).

Table 1. Mean (\pm SEM) pharmacokinetic parameters following a single oral or intravenous administration of oclacitinib in the cat (n = 6)

Pharmacokinetic parameter	Intravenous	Per os
	Mean \pm Standard error of the mean	Mean \pm Standard error of the mean
Dose (mg/kg)	0.5	1
T _{max} (h)	Not calculated	0.58 \pm 0.08
C _{max} (ng/mL)	Not calculated	1,631.6 \pm 172.4
C ₀ (ng/mL)	1,985.1 \pm 146.0	Not calculated
AUC _{0-inf} (ng/mL)·h Area under the curve	3,715.2 \pm 736.0	5,999.5 \pm 861.0
MRT _{0-inf} (h) mean residence time	2.74 \pm 0.56	2.99 \pm 0.4
Cl (mL/min/kg) clearance	4.45 \pm 0.05	Not calculated
V _{ss} (L/kg) distribution volume	0.67 \pm 0.11	Not calculated
t _{1/2λ} (h) elimination half-life	2.00 \pm 0.41	2.30 \pm 0.12

Discussion

The present study determined the major pharmacokinetic parameters of oclacitinib in cats (Table 1). After p.o. administration, the drug was absorbed quickly, as shown by a T_{max} of approximately 35 min and a mean bioavailability of 87%. Once absorbed, the apparent distribution of oclacitinib was good and the elimination of the drug was fast, with a t_{1/2 λ} of 2 h following the intravenous route. Twenty-four hours after administration the drug had been almost completely eliminated from the blood plasma.

The pharmacokinetic parameters of oclacitinib in cats are similar to those of dogs.¹⁴ Bioavailability is very high in both species (87% in the cat versus 89% in the dog), although in the cat it appears that individual variability is greater (from 64.4% to 98.1%). The half-life in the cat (t_{1/2} = 2.3 h) is shorter than the reported half-life for the dog (t_{1/2} = 3.45 h). The C_{max} (1,631.6 ng/mL) was much higher than the C_{max} reported for the dog (259 ng/mL), although it is important to note that the dose used in the present study was higher.

According to these results, therefore, there are no pharmacokinetic impediments to the use of oclacitinib p.o. in the cat. It is true that absorption and elimination are faster than in the dog and therefore it is possible that orally the drug has to be administered twice

daily. In fact, this was the frequency of administration of the drug in another study.¹⁰ The optimum dose is more difficult to determine because the therapeutic range of oclacitinib in allergic cats, to the best of the authors' knowledge, has not been established. Nevertheless, considering that the bioavailability is slightly lower in the cat than in dogs and that the clearance in the cat is higher than in the dog (4.45 mL/min/kg versus 4.05 mL/min/kg), it seems appropriate to recommend a higher dose in cats than in dogs.

Obviously, before recommending prolonged use of oclacitinib in cats it would be necessary to have safety data. In the study previously mentioned study,¹⁰ the investigators used a dose of 1 mg/kg twice daily, which is similar to the results herein, and they reported a mild increase in kidney function tests after one month of treatment. One study has reported that cats receiving oclacitinib at the doses of 1 mg/kg and 2 mg/kg twice daily for one month did not show any clinical signs or clinicopathological changes.¹⁴ In both cases, the studies were of short duration. Longer studies are needed to assess the safety of long-term use of oclacitinib in cats.

According to the few published studies, oclacitinib seems to be less effective in cats with signs of allergic disease than in allergic dogs.^{7,10} The high variability in the pharmacokinetic parameters observed in the cat in the present study might explain, at least in part, the lower efficacy of the drug in cats in comparison to dogs. Furthermore, it also is likely that other factors, probably related to disease pathogenesis account for the lower efficacy reported in the feline species. Oclacitinib has a complex mechanism of action. It inhibits the signal transmission of multiple cytokines involved in the allergic reaction [interleukin (IL)-2, IL-4, IL-6, IL-13] and the genesis of pruritus (IL-31)⁷, and it also inhibits the TRPV1 receptor, which is responsible for pruritus signal generation.⁵ It is possible that in the cat, or at least in some cats with allergic dermatitis, some of these molecular mechanisms do not play the same role as they do in dogs.

Pharmacokinetic–pharmacodynamic studies should be performed in allergic cats in order to correlate plasma concentrations of oclacitinib with clinical efficacy.

In conclusion, the pharmacokinetic parameters of oclacitinib in the cat are similar to those described for the dog, although absorption and elimination are somewhat faster and variability between individuals is somewhat greater. Larger doses and/or shorter dosing intervals would be recommended in cats to achieve similar blood concentrations to those in dogs.

References

1. Cosgrove SB, Cleaver DM, King VL *et al.* Long-term compassionate use of oclacitinib in dogs with atopic and allergic skin disease: safety, efficacy and quality of life. *Vet Dermatol* 2015; 26: 171– e35.
2. Damsky W, King BA. JAK inhibitors in dermatology: The promise of a new drug class. *J Am Acad Dermatol* 2017; 76: 736–744.
3. Stark GR, Wang CY. Responses to cytokines and interferons that depend upon JAKs and STATs. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2018; 10: a028555.
4. Gonzales AJ, Bowman JW, Fici GJ *et al.* Oclacitinib (APOQUEL®) is a novel Janus kinase inhibitor with activity against cytokines involved in allergy. *J Vet Pharmacol Therap* 2014; 37: 317–324.
5. Fukuyama T, Ganchingco JR, Mishra SK *et al.* Janus kinase inhibitors display broad anti-itch properties: A possible link through the TRPV1 receptor. *J Allergy Clin Immunol* 2017; 140: 306–309.
6. Heinrich NH, McKeever PJ, Eisenschenck MC. Adverse events in 50 cats with allergic dermatitis receiving ciclosporin. *Vet Dermatol* 2011; 22: 511–520.
7. Ortalda C, Noli C, Colombo S *et al.* Oclacitinib in feline nonflea, nonfood-induced hypersensitivity dermatitis: results of a small prospective pilot study of client-owned cats. *Vet Dermatol* 2015; 26: 235–e52.
8. Loft KE, Simon B. Feline idiopathic ulcerative dermatosis treated successfully with oclacitinib. *Vet Dermatol* 2015; 26: 134 (abstract).
9. Pandolfi P, Beccati M. Head and neck feline dermatitis: response to oclacitinib treatment. *Vet Dermatol* 2016; 27 (Supp 1): 58 (abstract).
10. Noli C, Matricoti I, Schievano C. A double-blinded, randomized, methylprednisolone-controlled study on the efficacy of oclacitinib in the management of pruritus in cats with nonflea nonfood-induced hypersensitivity dermatitis. *Vet Dermatol* 2019; 30: 110–e30.

11. Collard WT, Hummel BD, Fielder AF *et al.* The pharmacokinetics of oclacitinib maleate, a Janus kinase inhibitor, in the dog. *J Vet Pharmacol Therap* 2013; 37: 279–285.
12. European Medicines Agency. Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP). Guideline on bioanalytical method validation. CHMP/EWP/192217/2009 Rev. 1 Corr. 2.; London, 2011. Available at: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-bioanalytical-method-validation_en.pdf. Accessed 11 November 2019.
13. Zhanga Y, Huoa M, Zhoua J *et al.* PK Solver: An add-in program for pharmacokinetic and pharmacodynamic data analysis in Microsoft Excel. *Comput Methods Programs Biomed* 2010; 99: 306–314.
14. Lopes NL, Campos DR, Machado MA *et al.* A blinded, randomized placebo-controlled trial of the safety of oclacitinib in cats. *BMC Vet Res* 2019; 15: 137.

ESTUDIO 3:

Efficacy of oclacitinib in the control of feline atopic skin syndrome: plasma concentration and clinical effect correlation

Isaac Carrasco, Lluís Ferrer, and Anna Puigdemont

Journal of Feline Medicine and Surgery 2021

doi: 10.1177/1098612X211048458.

Abstract

Objectives: To assess the efficacy of a new therapeutic regimen of oclacitinib for the control of feline atopic skin syndrome (FASS) and to correlate plasma levels of this drug with clinical effects.

Methods: Twenty-eight client-owned cats with a clinical diagnosis of FASS were recruited. Oclacitinib was administered at 1 mg/kg/q12 h for two weeks, and then at 1 mg/kg/q24 h for a further two weeks. At the study outset (D0), and 7 (D7) and 28 (D28) days after starting treatment, clinical lesions were assessed using a validated scoring system (SCORFAD) and pruritus was graded through an adapted visual analogue scale (PVAS). At the same time points, plasma oclacitinib levels and haematological variables were measured.

Results: Among 18 cats completing the study, PVAS and SCORFAD improved by $\geq 50\%$ in 61% and 88% of animals, respectively. Mean PVAS decreased significantly between D0 and D7 and between D0 and D28 (both $P < 0.001$), but not between D7 and D28. Likewise, mean SCORFAD values decreased significantly between D0 and D7 and between D0 and D28 (both $P < 0.001$), but not between D7 and D28.

On Days 7 and 28, plasma oclacitinib concentrations varied widely from 0 to 1443.2 ng/mL and 38 from 0 to 1177.7 ng/mL, respectively. Oclacitinib concentrations showed no correlation with clinical effects (SCORFAD and PVAS).

Conclusions and relevance: Oclacitinib emerged as safe and effective to control clinical signs of FASS. A mean dose of 1 mg/kg, even without extending twice daily treatment beyond the first two weeks, could be a suitable therapeutic regimen. Plasma drug levels do not seem useful to predict clinical response during treatment.

Introduction

Feline atopic skin syndrome (FASS) is an inflammatory skin disease, triggered by an abnormal complex immunologic reaction against environmental allergens, that affects some 12-32% of feline dermatological patients.¹⁻⁵ Clinically, is characterized by pruritus and at least one of the classic dermatological patterns: head and neck pruritus and excoriations, eosinophilic dermatitis, auto-induced alopecia and miliary dermatitis.⁶

Effective control of clinical signs is desirable as FASS reduces the quality of life of both cat and owner.^{7,8} An etiopathogenic approach (whereby contact with the allergen is avoided) or specific allergen immunotherapy are often not possible,⁹⁻¹¹ because allergy tests are not performed or, even doing the test, the obtained result does not allow to make a specific immunotherapy. Anti-inflammatory/immunosuppressive drugs such as prednisolone or cyclosporine are then needed.¹² However, this option carries risks and must be avoided in patients with certain concomitant diseases.^{13,14}

In the search for safer therapeutic options, Janus kinase (JAK) inhibitors have recently sparked the interest of clinicians and researchers. These drugs interfere with the intracellular signalling pathway JAK-STAT (Signal Transducer and Activator of Transcription) exerting a wide range of anti-inflammatory and immunosuppressive effects. In human medicine, JAK inhibitors have been used to control malignant, myeloproliferative and allergic diseases, usually with associated mild to moderate adverse effects.^{15,16}

Oclacitinib (Apoquel, Zoetis) is a JAK inhibitor registered for the control of pruritus and lesions associated with allergic dermatitis in dogs,^{17,18} although it has also proven useful for other canine immune-mediated diseases.¹⁹⁻²¹ In controlled clinical studies in dogs, oclacitinib has shown a profound antipruritic effect with only a few described mild or moderate self-limiting adverse effects.^{22,23}

In cats, oclacitinib has been used off-label for the control of both allergic and non-allergic diseases.²⁴⁻³⁰ Success rates for controlling feline hypersensitivity dermatitis have been variable at around 40% and 67%.²⁸⁻³⁰ This, along with the good tolerance and only mild and self-limiting adverse effects shown, makes oclacitinib a feasible therapeutic option in cats.¹² However, standardized doses and dosage regimens have not yet been established.

The highly variable pharmacokinetics of oclacitinib observed in the cat could explain the clinical response observed in this species.³¹ To date, the scientific literature lacks reports of studies examining the relationship between plasma levels of this drug and clinical outcome able to explain the lack of response produced in some cats (33-60%).²⁸⁻³⁰

The objectives of the present study were: (i) to assess the efficacy of a new therapeutic regimen of oclacitinib used to treat cats with FASS, and (ii) to address the relationship between clinical response and plasma oclacitinib concentrations.

Materials and Methods

Study design and cat population

This was a prospective, multicentric, non-controlled study carried out by veterinarians with expertise in feline dermatology. Twenty-eight cats of any breed and of both sexes (intact or neutered) that were older than 12 months were initially recruited. All the cats had a sound diagnosis of FASS based on criteria described in the literature.⁶ Briefly, they all had pruritus and showed at least one of the classic lesion patterns: head and neck excoriations, eosinophilic dermatitis, self-inflicted alopecia and/or miliary dermatitis. Over a period of at least three months before the study start, the animals were checked and treated if necessary for fleas. Allergic food reactions were ruled out through dietary exclusion based on commercial hydrolysed diets given over at least 8 weeks. Bacterial and fungal infections were also controlled through cytological examinations, Wood's lamp examination, microscopic examination of plucked hairs and, if necessary, fungal culture.

Exclusion criteria were concomitant diseases, bloodwork abnormalities or animals testing serologically positive for feline immunodeficiency or leukaemia viruses. We also excluded cats that had been treated with one or more of the following compounds: topical glucocorticoids or oral glucocorticoids (in the previous two weeks), injectable glucocorticoids (in the previous eight weeks), oral antihistamines (in the previous week), and cyclosporine or oclacitinib (in the previous four weeks). Oral and/or topical antiparasitic drugs were allowed.

Oclacitinib treatment

Cats enrolled were given oral oclacitinib at 1 mg/kg/q12 h for two weeks, and then 1 mg/kg/q24 h for a further two weeks. The dose received was estimated based on the weight of the animal and the commercial oclacitinib formulation (3.6 mg, 5.4 mg, and 16 mg).

Clinical assessment

At the time points baseline (D0, before treatment), and seven (D7) and 28 (D28) days after starting treatment, participants underwent a dermatological examination. Lesions in eleven established anatomical regions were assessed for severity and extent using a validated scale (SCORing Feline Allergic Dermatitis - SCORFAD).³² Each lesion was graded on a scale of 0 to 4. At the established time points, owners assessed the level of pruritus using a visual analogue scale ranging from 0 to 10 adapted for use in cats (Pruritus Visual Analogue Scale - PVAS).³³ For inclusion of a patient, the minimum baseline scores required were 4 in SCORFAD and 7 in PVAS.

Analytical assessment

On the pre-established days (0, 7 and 28), blood samples were obtained from the jugular or cephalic veins and collected into heparin- and EDTA coated tubes one hour after treatment. Plasma was separated and frozen at 20°C within 30 min of blood collection.

Plasma oclacitinib levels

Oclacitinib was determined in plasma using the HPLC method described by Collard et al. (2013)³⁴ with some modification.³¹ Briefly, a 50 µL-volume of each sample was transferred to a well of a 96-well plate. To all samples, 200 µL of an internal standard M + 4 stable label solution (Pfizer) (98.9% purity) (IS, 10 ng/mL) in acetonitrile were added. The plate was sealed, vortexed and then centrifuged at approximately 100 g for 10 min to precipitate the proteins. Next, a 20 µL aliquot of each sample was transferred to each well of a clean 96-well plate, diluted with 180 µL of 0.1% ammonium hydroxide, sealed, and gently mixed. The plate was then placed in the autosampler for LC-MS/MS analysis. A 10 µL volume of each prepared sample was injected into a 5 lm Zorbax Extend C18 50 9 2-mm HPLC column and eluted at 0.300 mL/min using a gradient. The HPLC mobile phases were A: 0.1% ammonium hydroxide in water (pH = 10.7) and B: 0.1% ammonium

hydroxide in acetonitrile. Oclacitinib was detected using a Sciex API 4000 mass spectrometer (MDS Sciex). Established limits were detection 0.15 ng/mL and quantification 1 ng/mL. Linearity was observed from 1 to 1000 ng/mL.

Biochemistry and haematological assessment

At each time point, creatinine and ALT levels were determined and a complete blood cell count was performed in-house with analyzers from Catalyst and Procyte (IDEXX)

Adverse events and withdrawal

Reasons for withdrawal were recorded along with adverse effects observed during treatment regardless of whether or not they were related to oclacitinib.

Statistical analysis

SCORFAD and PVAS results were expressed as medians, ranges (minimum [Min] – maximum [Max]), and interquartile ranges (IQR). For the PVAS data, ANOVA and the Tukey test were used to compare medians and identify differences between pairs, respectively. For the SCORFAD data, ANOVA-Welch and Games-Howell tests were used for the same purpose. All statistical tests were performed using the software package Minitab™ v19.2020.1.0 (Minitab). Significance was set at $P < 0.05$.

Results

Cat population

The 28 cats initially enrolled were 14 males and 14 females, aged 1 to 13 years and weighing 1.5 to 8.4 kg. Breeds were domestic shorthair (n=27) and Maine Coon (n=1).

Withdrawal

Ten of the 28 cats enrolled were withdrawn from the study at different times. Five cats dropped out because of lack of owner compliance due to difficulties in oral administration of the tablets; two cats, due to vomiting after treatment administration; two cats, because

the caregivers considered lack of treatment efficacy; and the last cat dropped out because the development of anaemia.

Of these 10 cats, four dropped out during the first week of the study, and the remaining six cats were withdrawn at different times between D7 and D28.

Oclacitinib treatment

The mean doses of oclacitinib used were 0.96 mg/kg/q12 h (0.84-1.11) in the first two weeks, and 0.96 mg/kg/q24 h in the second two weeks.

Clinical assessment

The four cats withdrawn before D7 were excluded from the statistical analysis. The data compared were those recorded at D0 and D7 in 24 cats and those recorded at D0, D7 and D28 data in the 18 cats that completed the whole study. As the result of an appropriate analytical method for each case, variances were equal among PVAS scores but not among SCORFAD values.

When the 18 cats finishing the study were considered, PVAS values were 8 (7-9, IQR 7-9), 3.5 (1-8, IQR 1-5), and 2.5 (0-7, IQR 0-5) on Days 0, 7 and 28, respectively. Tukey's test revealed significant differences between D0 and D7 ($P<0.001$) and between D0 and D28 ($P<0.001$), but not between D7 and D28 (**Figure 1**). From Days 0 to 7 ($n=24$), PVAS scores varied significantly ($P<0.001$) (8 [7-10, IQR 8-9] vs 3 [1-9, IQR 2-5]). In these 18 cats, SCORFAD values were 12.5 (4-26, IQR 7.7-16.2), 5.0 (1-19, IQR 2-8) and 1 (0-16, IQR 0-5.2) at D0, D7 and D28, respectively. The Games-Howell test identified significant differences between D0 and D7 ($P<0.001$), D0 and D28 ($P<0.001$), but not between D7 and D28 (**Figure 2**). From days 0 to 7 ($n=24$), SCORFAD scores were found to differ significantly ($P<0.001$) (12.5 [4-26, IQR 8-16] vs 5 [1-23, IQR 2.2-8]).

Among the 18 cats completing the course of treatment, improvements in PVAS and SCORFAD $\geq 50\%$ were observed in 11 (61%) and 16 (88%) cats, respectively.

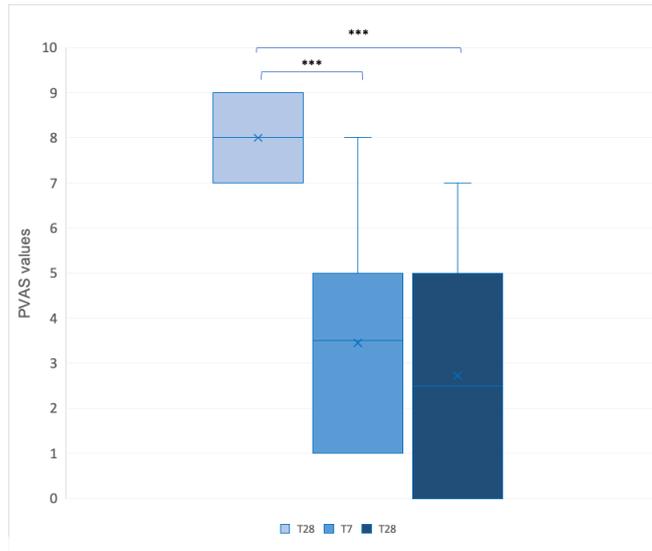


Figure 1. Pruritus Visual Analog Scale (PVAS) scores assessed by the owners at T0, T7 and T28 of the study (n=18). Median values (Min – Max, IQR [interquartile range]) are represented, X is the mean. Significant differences (P<0.001) were observed between the initial scores (T0) and those obtained at T7 and T28

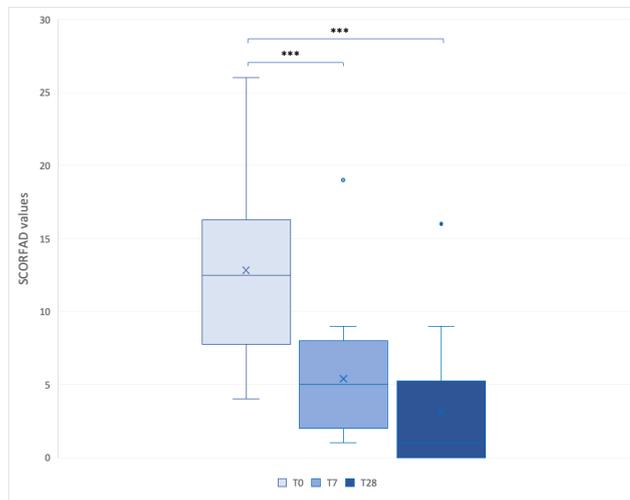


Figure 2. SCORing Feline Allergic Dermatitis (SCORFAD) recorded at T0, T7 and T28 of the study (n=18). Median values (Min – Max, IQR [interquartile range]) are represented, X is the mean and dots are outliers. Significant differences (P<0.001) were observed between the initial scores (T0) and those obtained at T7 and T28

Plasma oclacitinib levels

Plasma oclacitinib levels measured on Days 7 (n=24) and 28 (n=18) varied widely: from 0 to 1443.2 ng/mL and from 0 to 1177.7 ng/mL, respectively. Hence, changes in SCORFAD and PVAS could not be correlated with oclacitinib levels (**Figure 3**).

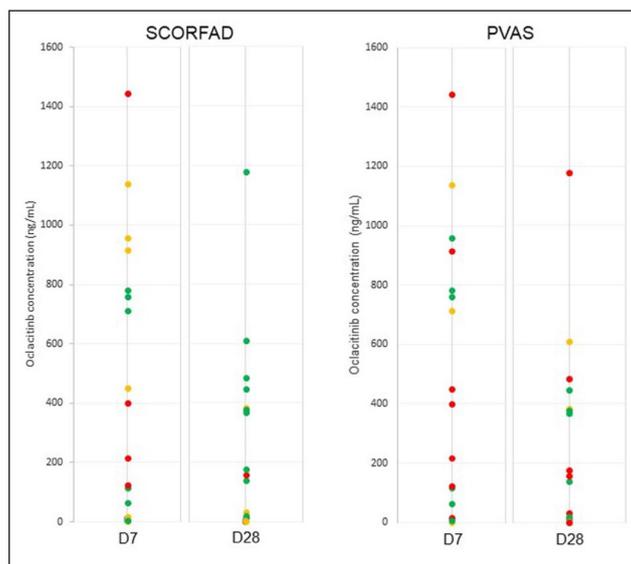


Figure 3 Plasma oclacitinib concentrations recorded on days 7 (D7) and 28 (D28) post-treatment onset. Every dot represents one cat. Clinical improvement and SCORing Feline Allergic Dermatitis (SCORFAD) and Pruritus Visual Analogue Scale (PVAS) scores are represented as: green >75%; yellow 50–75%; red <50%

Biochemistry and blood work

In only one cat did the haematocrit decrease in the first week from 34% recorded at baseline to 19%. After stopping treatment, this value returned to 29%. Leukocyte levels remained stable throughout the study in all animals but one, in which levels fell from 5.5 K/ μ L (D0) to 2.3 K/ μ L (D7) yet returned to 5.03 K/ μ L on Day 28 without specific treatment. Biochemistry tests revealed an elevated plasma ALT concentration in two animals at D28 (288 and 473 U/L) with no associated clinical signs. Creatinine levels were stable during the study.

Adverse events

Besides the haematocrit changes produced in one cat, which prompted its withdrawal from the study, vomiting after treatment administration was observed in two cats that resolved after discontinuation of oclacitinib.

Discussion

The mean dose of 1 mg/kg of oclacitinib used during the study was based on previous works, in which better clinical effects were observed using higher doses than those recommended in dogs,²⁹ and on reported pharmacokinetic data, in which higher doses seemed to be necessary in cats.³¹ Furthermore, oclacitinib seemed mostly well tolerated in cats even when used in the long-term and at high doses.^{34,35}

In the present study, patients received a dose of 1 mg/kg every 12 h during the first two weeks, and then the same dose of 1 mg/kg every 24 h for the remaining two weeks of the study, looking for an easier once-a-day therapeutic regimen for both the patient and the caregiver.

With this therapeutic regimen, pruritus and lesion severity decreased significantly already from the first week, and this improvement was maintained over the remaining weeks of treatment (**Figures 1 and 2**). In fact, owners reported the resolution of pruritus even after the first or second days of treatment (data not shown). These observations are similar to those reported in dogs, in which oclacitinib has proven to be a good option for the pharmacological control of allergic pruritus.^{18,22-23}

As expected, the present success rates were improved over rates related to the use of lower doses of oclacitinib (0.4-0.6 mg/kg) to control clinical signs of FASS in cats. Nevertheless, for a similar mean dose used, our outcomes were still better than those described by Noli *et al.* (2019) in that greater decreases were observed in both SCORFAD (76% vs 61%) and PVAS (66% vs 54%) scores, despite a lower frequency of administration in the present study (**Table 1**).

Reference and type of study	n	Mean dose	Regimen	Improvement		
					% of cats that improved \geq 50%	Improvement in SCORFAD and PVAS
Fernandes <i>et al.</i> 2019 ³⁵ case report	1	1 mg/kg	1 mg/kg/SID 2 weeks	SCORFAD	100%	N/R
			1 mg/kg/BID 300 days	PVAS	100%	N/R
Ortalda <i>et al.</i> 2015 ²⁷ case series	12	0.47 mg/kg	0.47 mg/kg/BID 2 weeks	SCORFAD	42%	22%
			0.47 mg/kg/SID 2 weeks	PVAS	42%	17%
Pandolfi <i>et al.</i> 2016 ²⁹ case series	15	0.65 mg/kg	0.65 mg/kg/BID 2 weeks	SCORFAD	66%	N/R
			0.65 mg/kg/SID 2 weeks	PVAS	66%	N/R
Noli <i>et al.</i> 2019 ²⁸ RCT	20	0.9 mg/kg	0.9 mg/kg/BID 4 weeks	SCORFAD	60%	61%
				PVAS	70%	54%
Carrasco <i>et al.</i> 2021 case series	18	0.96 mg/kg	0.96 mg/kg/BID 2 weeks	SCORFAD	88%	76%
			0.96 mg/kg/SID 2 weeks	PVAS	61%	66%

Table 1. Results of the present study in comparison with previous studies, considering different oclacitinib doses and therapeutic regimens. SCORFAD SCOring Feline Allergic Dermatitis, PVAS Pruritus Visual Analog Score, RCT randomized controlled trial, N/R not reported.

Based on our results, it seems not necessary to continue treatment q12 h beyond the first two weeks, thus reducing costs, possible adverse effects, and improving patient management. Although only three of the 28 cats dropped out because of difficulties in oral administration, indicating that oclacitinib was overall well-tolerated, a once-a-day basis is more desirable for both owners and patients.⁸

We also tried to correlate plasma levels of oclacitinib with clinical outcome as this could help explain why some cats do not respond to therapy even at higher doses, allowing for individualized dosing and follow-up. Unfortunately, we detected no relationship between these two factors in our participants. In effect, some animals with low blood oclacitinib concentrations showed a remarkable clinical response, while others with high concentrations at the time of measurement showed only mild clinical improvement (**Figure 3**).

The absorption and elimination of oclacitinib is faster in cats than dogs.³¹ This means that in cats the exact timing of blood sampling could be especially important, even within few minutes. We collected blood one hour post drug administration, on the basis that, in a pharmacokinetic study, the C_{max} of oral oclacitinib in the cat was detected at 0.58 h (± 0.08).³¹ As we worked with client-owned cats, some variation or inaccuracy in timing would be expected as owners were instructed to administer the drug at home and then take the cat to the hospital for oclacitinib determination. Other pharmacokinetic and pharmacodynamic factors could also have contributed to the lack of correlation detected

between plasma concentrations of the drug and its pharmacological activity, such as interindividual variation in occupied drug receptors.

To assess the safety of oclacitinib, clinical signs and analytical changes were recorded during the study. While gastrointestinal events have been the adverse effects most often related to oclacitinib,¹² only two cats dropped out the study because of vomiting likely attributable to treatment.

When we monitored complete blood counts, a drop in the haematocrit after one week of treatment was detected in only one cat. In the following week, this value returned to normal after stopping the therapy. In human medicine, cytopenias have been well recognized during JAK-inhibitor treatment, mainly in those exerting a greater influence on JAK2¹⁶ involved in haematopoiesis. As oclacitinib shows around two-fold selectivity toward JAK1 vs. JAK2,¹⁷ we could speculate that this was inherently different in this particular cat.

As seen in other studies,¹² levels of ALT increased during treatment in two of our patients, yet with no associated clinical signs. No hepatic ultrasound and/or biopsies were performed because ALT values returned to normal after stopping the treatment.

Conclusions

The results of this study indicate that oclacitinib was an effective and mostly safe and well tolerated therapeutic option for controlling the clinical signs of FASS of the cats included. A mean dose of 1 mg/kg was found to return results as good as those observed in dogs, even when a twice daily induction dose was given over only two weeks.

Plasma levels of oclacitinib could not be related to the clinical response to treatment. While this finding needs to be confirmed in a larger population of cats, further work is needed to examine why oclacitinib is not effective in some animals.

It is appropriate to highlight that the use of oclacitinib in cats has not been yet approved and long-term safety studies should also be carried out including a larger population of cats. Until more information on the safety of oclacitinib use in cats is available, it is probably appropriate to perform routine blood tests during the first two weeks of treatment and periodically thereafter if treatment is continued.

Conflict of interest

Isaac Carrasco has received unrelated payment from Zoetis, Leti-Pharma, MSD Animal-Health, Dechra and Vetnova for lecturing and/or consulting. Lluís Ferrer has also received unrelated payment from Zoetis, Elanco Animal Health, CEVA Animal Health, Leti-Pharma and Affinity Petcare for lecturing and/or consulting. The authors declare no other conflicts of interest.

Funding

The authors received no financial support for the research, authorship, and/or publication of this article.

Ethics approval

This work involved the use only of privately owned cats. non-experimental animals only (including owned or unowned animals and data from prospective or retrospective studies). Established internationally recognized high standards ('best practice') of individual veterinary clinical patient care were followed. Ethical approval from a committee was therefore not specifically required for publication in *JSFM*.

Informed consent

Informed consent (either verbal or written) was obtained from the owner or legal custodian of all animal(s) described in this work (either experimental or non-experimental animals) for the procedure(s) undertaken (either prospective or retrospective studies). No animals or humans are identifiable within this publication, and therefore additional informed consent for publication was not required

References

1. Hobi S, Linek M, Maignac G *et al.* Clinical characteristics and causes of pruritus in cats: a multicentre study on feline hypersensitivity-associated dermatoses. *Vet Dermatol* 2011; 22: 406–413
2. Scott DW, Miller WH, Erb HN. Feline dermatology at Cornell University: 1407 cases (1988–2003). *J Feline Med Surg* 2012; 15(4):307–316

3. Ravens PA, Xu BJ, Vogelnest LJ. Feline atopic dermatitis: a retrospective study of 45 cases (2001–2012). *Vet Dermatol* 2014; 25: 95–e28
4. Halliwell R, Pucheu-Haston CM, Olivry T, *et al.* Feline allergic diseases: introduction and proposed nomenclature. *Vet Dermatol* 2021; 32: 8–e2
5. Halliwell R, Banovic F, Mueller RS, *et al.* Immunopathogenesis of the feline atopic. *Vet Dermatol* 2021; 32: 13–e4
6. Santoro D, Puchey-Haston C, Prost C, *et al.* Clinical signs and diagnosis of feline atopic syndrome: detailed guidelines for a correct diagnosis. *Vet Dermatol* 2021; 32: 26–e6
7. Spitznagel MB, Solc M, Chapman KR *et al.* Caregiver burden in the veterinary dermatology client: comparison to healthy controls and relationship to quality of life. *Vet Dermatol* 2019; 30:3-e2
8. Noli C, Borio S, Varina A *et al.* Development and validation of a questionnaire to evaluate the Quality of Life of cats with skin disease and their owners, and its use in 185 cats with skin disease. *Vet Dermatol* 2016; 27:247-e58
9. Foj R, Carrasco I, Clemente F, *et al.* Clinical efficacy of sublingual allergen-specific immunotherapy in 22 cats with atopic dermatitis. *Vet Dermatol* 2020; 31:134-e24
10. Trimmer AM, Griffin GE, Boord MJ *et al.* Rush allergen specific immunotherapy protocol in feline atopic dermatitis: a pilot study of four cats. *Vet Dermatol* 2005; 16:324–329
11. Trimmer AM, Griffin GE, Rosenkrantz WS. Feline immunotherapy. *Clin Tech in Small Anim Pract* 2006; 21:157-161
12. Mueller RD, Nuttal T, Prost C, *et al.* Treatment of the feline atopic syndrome – a systematic review. *Vet Dermatol* 2021; 32: 43–e8
13. Lowe AD, Campbell KL, Graves T. Glucocorticoids in the cat. *Vet Dermatol* 2008;19: 340–347
14. Heinrich NA, McKeever PJ, Eisenschenk MC. Adverse events in 50 cats with allergic dermatitis receiving ciclosporin. *Vet Dermatol* 2011; 22:511–520
15. Solimani F, Meier K, Ghoreschi K. Emerging Topical and systemic JAK inhibitors in dermatology. *Front Immunol* 2019; 10:2847

16. Virtanen AT, Haikarainen T, Raivola J *et al.* Selective JAKinibs: Prospects in inflammatory and autoimmune diseases. *BioDrugs* 2019; 33 :15-32
17. Gonzales AJ, Bowman JW, Fici GJ *et al.* Oclacitinib (Apoquel®) is a novel Janus kinase inhibitor with activity against cytokines involved in allergy. *J Vet Pharmacol Therap.* 2014; 37: 317-324
18. Cosgrove SB, Wren JA, Cleaver DM *et al.* Efficacy and safety of oclacitinib for the control of pruritus and associated skin lesions in dogs with canine allergic dermatitis. *Vet Dermatol* 2013; 24 :479-e114
19. Aymeric E, Bensignor E. A case of presumed autoimmune subepidermal blistering dermatosis treated with oclacitinib. *Vet Dermatol* 2017; 28: 512-e123
20. Levy BJ, Linder KE, Olivry T. The role of oclacitinib in the management of ischaemic dermatopathy in four dogs. *Vet Dermatol* 2019; 30 :201-e6
21. High EJ, Linder KE, Mamo LB *et al.* Rapid response of hyperkeratotic erythema multiforme to oclacitinib in two dogs. *Vet Dermatol* 2020; 31: 330-e86
22. Cosgrove SB, Wren JA, Cleaver DM *et al.* A blinded, randomized, placebo-controlled trial of the efficacy and safety of the Janus kinase inhibitor oclacitinib (Apoquel®) in client-owned dogs with atopic dermatitis. *Vet Dermatol* 2013; 24: 587-e142
23. Cosgrove SB, Cleaver DM, King VI *et al.* Long-term compassionate use of oclacitinib in dogs with atopic dermatitis and allergic skin disease: safety, efficacy and quality of life. *Vet Dermatol* 2015; 26 :171-e35
24. Reinero C. An experimental janus kinase (JAK) inhibitor suppresses eosinophilic airway inflammation in experimental feline asthma. Proceedings of the American College of Veterinary Internal Medicine Forum; 2013 June 12-15; Seattle, WA, USA. NY:pp 475-476
25. Frank RK, Galvan BA, Schoell RA *et al.* The use of oclacitinib (Apoquel®; Zoetis) for treatment of cutaneous mastocytosis in a cat [abstract]. *Vet Dermatol* 2014; 25: 145-162
26. Loft K, Simon B. Feline idiopathic ulcerative dermatosis treated successfully with oclacitinib [abstract]. *Vet Dermatol* 2015; 26:133-159
27. Carrasco I, Martínez M, Albinyana G. Beneficial effect of oclacitinib in a case of feline pemphigus foliaceus. *Vet Dermatol* 2021; 32:299-301

28. Ortalda C, Noli C, Colombo S *et al.* Oclacitinib in feline nonflea-, nonfood-induced hypersensitivity dermatitis: results of small prospective study of client-owned cats. *Vet Dermatol* 2015; 26: 235-e52
29. Noli C, Matricoti I, Schievano C. A double-blinded, randomized, methylprednisolone-controlled study on the efficacy of oclacitinib in the management of pruritus in cats with nonflea nonfood-induced hypersensitivity dermatitis. *Vet Dermatol* 2019; 30 :110-e30
30. Pandolfi P, Beccati M. Head and neck feline dermatitis: response to oclacitinib treatment [abstract]. *Vet Dermatol* 2016; 27 (Suppl.1): 6-121
31. Ferrer L, Carrasco I, Cristòfol C *et al.* A pharmacokinetic study of oclacitinib maleate in six cats. *Vet Dermatol* 2020; 31: 134–137
32. Steffan J, Olivry T, Forster SL *et al.* Responsiveness and validity of the SCORFAD, an extent and severity scale for feline hypersensitivity dermatitis. *Vet Dermatol* 2012; 23: 410–e77
33. Rybnicek J, Lau-Gillard PJ, Harvey R *et al.* Further validation of a pruritus severity scale for use in dogs. *Vet Dermatol* 2008; 20: 115–122
34. Lopes NL, Campos DR, Machado MA *et al.* A blinded, randomized, placebo-controlled trial of the safety of oclacitinib in cats. *BMC Vet Res* 2019; 15:137
35. Fernandes KSBR, Ferreira MB, da Silva AM *et al.* Eficacia do oclacitinib no manejo da síndrome da atopia felina. *Acta Sci Vet* 2019; 47: 374–379.

DISCUSIÓN

El síndrome atópico cutáneo felino (FASS) es un motivo de consulta frecuente (Hobi *et al.*, 2011; Scott *et al.*, 2012; Ravens *et al.*, 2014), ya que produce signos clínicos que pueden llegar a ser graves y recalcitrantes, mermando significativamente la calidad de vida tanto del paciente como del tutor o responsable (Noli *et al.*, 2016).

A pesar de los avances conseguidos en el conocimiento de la etiopatogenia de la dermatitis atópica tanto en el ser humano como en el perro, todavía quedan muchas preguntas por contestar sobre los mecanismos fisiopatológicos implicados en el gato. Esto limita el desarrollo de terapias destinadas a modificar la enfermedad desde un punto de vista etiológico o con la capacidad de inhibir determinados mediadores o vías inflamatorias/inmunológicas de forma específica (Halliwell *et al.*, 2021).

Como consecuencia, es común el uso de tratamientos farmacológicos que controlan los signos clínicos de manera inespecífica. Esto implica, en muchas ocasiones, el uso repetido y/o crónico de fármacos inmunosupresores orales o inyectables, como los glucocorticoides o la ciclosporina, no exentos de riesgos para el animal (Last *et al.*, 2004; Noli y Scarpella, 2006; Vercelli *et al.*, 2006; Lowe *et al.*, 2008; Heinrich *et al.*, 2011; Steffan *et al.*, 2013; Deleporte *et al.*, 2021). Además, conforme aumenta la esperanza de vida de nuestros pacientes, es más frecuente que el FASS conviva con otras enfermedades crónicas. Estas comorbilidades pueden limitar todavía más las opciones terapéuticas (Lowe *et al.*, 2008).

Cabe recordar que existen algunas particularidades específicas que pueden condicionar la elección de la vía de administración de fármacos en el gato. Así, se ha reportado el desarrollo de neoplasias en el punto de inoculación, relacionado con una gran variedad de preparaciones farmacológicas inyectables, por lo que las guías internacionales recomiendan que siempre que sea posible se elija la vía oral o intravenosa en esta especie (Hartmann *et al.*, 2015). Del mismo modo la administración de fármacos por vía tópica está condicionada por el comportamiento normal de acicalamiento del gato, a pesar de que en otras especies el uso de antiinflamatorios o inmunosupresores tópicos se considera una estrategia terapéutica de primera línea, eficaz y segura para el control de lesiones localizadas (Kader *et al.*, 2021).

Esta tesis se centró en el estudio de la eficacia de la inmunoterapia alérgeno-específica sublingual (SLIT) y del oclacitinib para el control del FASS, con el objetivo de encontrar alternativas terapéuticas efectivas, con un buen perfil de seguridad, fáciles de utilizar y con una alta aceptación y palatabilidad para su administración oral.

La SLIT es una terapia efectiva y segura para el síndrome atópico cutáneo felino

La inmunoterapia alérgeno-específica (ITAE) tiene la capacidad de cambiar el curso de la enfermedad alérgica, ya que su objetivo es modificar la respuesta inmunológica del paciente frente los alérgenos implicados en el cuadro clínico, pudiendo suponer una disminución significativa de la necesidad de fármacos a medio-largo plazo (Bousquet *et al.*, 1998; DeBoer, 2017; Moote *et al.*, 2018).

En medicina humana se ha utilizado la ITAE principalmente para el tratamiento de cuadros alérgicos respiratorios, pero también se han observado beneficios significativos cuando se ha empleado como parte del manejo de la dermatitis atópica (Slavyanakaya *et al.*, 2016; Wollenberg *et al.*, 2018; Liu *et al.*, 2019).

En estudios realizados en el perro, la mayoría de ellos no controlados, se observó una mejoría del $\geq 50\%$ de los signos clínicos relacionados con la dermatitis atópica en alrededor del 70% de los pacientes tratados con ITAE (Willemse *et al.*, 1984; Loewenstein y Mueller, 2009; DeBoer, 2017; Fennis *et al.*, 2022), siendo considerada como una de las opciones terapéuticas adecuadas en esta especie (Olivry *et al.*, 2010b).

El uso de la ITAE está menos extendido en el gato, a pesar de que muchos estudios describen tasas de éxito similares a las observadas en pacientes caninos (Halliwell, 1997; Bettenay *et al.*, 1998; Trimmer *et al.*, 2005; Schnabl *et al.*, 2005; Loewenstein y Mueller, 2009; Martini *et al.*, 2019; Mueller *et al.*, 2021).

Así, teniendo en cuenta el potencial beneficio de la ITAE, se consideró adecuado estudiar su eficacia para el control de los signos clínicos de FASS. Con este fin, se realizó un estudio prospectivo (Estudio 1) en el que se incluyeron 22 gatos con tutor,

con diagnóstico clínico de FASS, habiendo descartado previamente otras causas de prurito (Favrot *et al.*, 2012; Santoro *et al.*, 2021), y sensibilizados frente ácaros.

Los pacientes fueron incluidos en el estudio en base a los resultados obtenidos en una prueba serológica en la que se detectaron las IgE alérgeno-específicas, utilizando la cadena α de los receptores de alta afinidad para estos anticuerpos (Fc ϵ RI), siendo un método muy selectivo que minimiza las interferencias con otras inmunoglobulinas (Heska®).

A pesar de que históricamente se considera la prueba intradérmica como el *Gold standard* para decidir qué alérgenos incluir en una inmunoterapia (Rossi *et al.*, 2013; Gentry y Messinger, 2016), consideramos que la serología podía ser una opción mejor aceptada por los tutores durante el periodo de inclusión por ser una prueba que requiere un manejo menos invasivo del animal.

Hay que recordar que todavía hay pocos estudios sobre el uso de la serología (IgE) en el gato (Bexley *et al.*, 2009; Diesel y DeBoer, 2011) y los valores obtenidos de IgE pueden ser variables y estar condicionados por muchos factores, algunos de ellos tan simples como la edad de los pacientes o la presencia de alérgenos en el ambiente (Belova *et al.*, 2012).

Pero por otro lado las pruebas intradérmicas no están estandarizadas para el gato y además existen dificultades asociadas a su realización y a la lectura e interpretación de los resultados (Schleifer y Willemse, 2003; Diesel y DeBoer, 2011; Gentry y Messinger, 2016; Scholz *et al.*, 2017).

En un trabajo reciente se obtuvo una buena correlación entre los resultados de la serología y las pruebas intradérmicas en gatos sensibilizados a ácaros (Lefrançois *et al.*, 2021). Cabría esperar esta misma correlación en nuestro estudio, ya que sólo se incluyeron animales sensibilizados a este alérgeno.

La ITAE formulada de forma individualizada para cada paciente se administró por vía sublingual (SLIT). Esta vía de administración no había sido estudiada hasta el momento en el gato, a pesar de haberse demostrado su eficacia en el perro como alternativa a la vía subcutánea (SCIT) (DeBoer *et al.*, 2016). Por una parte, se consideró que la administración oral, en casa, podría evitar el estrés derivado de visitas repetidas a la

clínica veterinaria, y mejorar la calidad de vida tanto del paciente como del tutor (Noli *et al.*, 2016), aumentando así la adherencia al tratamiento y facilitando la inclusión y mantenimiento de pacientes en el estudio.

El perfil de seguridad fue otro de los motivos para elegir la vía sublingual durante el estudio. En medicina humana se asocian menos reacciones adversas a esta vía de administración que a la vía subcutánea (James y Bernstein, 2017; Incorvaia *et al.*, 2020), por lo que su uso es altamente aceptado para el manejo de la enfermedad alérgica respiratoria, principalmente en Europa (DeBoer, 2017; Incorvaia *et al.*, 2020). Así mismo, en los estudios publicados sobre la eficacia de la SLIT en el perro para el control de la dermatitis atópica y de las reacciones adversas al alimento sólo se observaron algunos efectos adversos leves y autolimitantes (DeBoer *et al.*, 2016; Maina y Cox, 2016).

Cabe señalar, en cualquier caso, que la gran mayoría de efectos adversos graves asociados al uso de SCIT en personas se deben al agravamiento de los signos respiratorios relacionados con la propia enfermedad alérgica, ya que la ITAE se utiliza principalmente para el tratamiento de rinoconjuntivitis y/o asma (Canonica *et al.*, 2014; James y Bernstein, 2017). En el caso del gato, como el objetivo principal de la ITAE es controlar los signos dermatológicos, cabe pensar que la posibilidad de que se produzcan efectos adversos sistémicos graves debería ser menor. En todo caso, se podría esperar un agravamiento de la enfermedad dermatológica, que rara vez pondría en peligro la vida del animal.

Recientemente se ha publicado un estudio retrospectivo y multicéntrico sobre el uso de la SCIT en el gato, realizado tras encuestar a 116 veterinarios (Zuzzi-Krebitz *et al.*, 2021). Se reportaron efectos adversos desde muy leves hasta tan graves como muerte súbita, colapso, disnea y anafilaxis. Sólo un veterinario reportó la aparición de un posible sarcoma en el punto de inyección. Cabe destacar que en el estudio fueron incluidos gatos con cuadros clínicos diferentes dentro del Síndrome Atópico Felino (dermatológicos y respiratorios), lo que justificaría alguno de los efectos adversos observados, como la disnea. Además, no todas las inmunoterapias utilizadas contenían adyuvantes, disminuyendo así la posibilidad teórica de aparición de sarcoma en el punto de inoculación. En cualquier caso, el hecho de evitar inyecciones repetidas, práctica no exenta de riesgo en el gato (Hartmann *et al.*, 2015), justificaría la elección de SLIT en esta especie.

Ninguno de los gatos incluidos en nuestro estudio presentó efectos adversos locales o sistémicos atribuibles directamente a la SLIT, por lo que podemos concluir que esta vía de administración de la inmunoterapia parece segura también en esta especie. Además, no se observaron problemas en la administración de la SLIT durante el estudio, siendo su palatabilidad ampliamente aceptada, lo que sin duda mejoró la adherencia a un tratamiento tan prolongado.

Como el principal objetivo del estudio era valorar la eficacia de la SLIT para el control del FASS, se hizo un seguimiento trimestral de la intensidad del prurito y de las lesiones, utilizando escalas numéricas subjetivas (PVAS y SCORFAD, respectivamente) (Rybníček *et al.*, 2008; Steffan *et al.*, 2012). La evolución clínica durante el tratamiento con la SLIT fue muy positiva, observándose diferencias significativas (mejoría \geq 50% de los signos clínicos) tanto en el prurito como en las lesiones ya desde el tercer mes de tratamiento. Además, este rápido beneficio clínico se mantuvo hasta el fin del estudio.

Es importante tener presente que, a pesar de realizar una correcta acción pedagógica, en ocasiones es difícil conseguir un buen cumplimiento por parte del tutor en un tratamiento en el que se esperan beneficios a largo plazo. Es bien sabido que, incluso en medicina humana, la adherencia al tratamiento crónico con inmunoterapia es mucho menor al deseado (Incorvaia *et al.*, 2020). Así, conseguir efectos rápidos es fundamental para mejorar el correcto seguimiento de las pautas de tratamiento por parte del tutor, y contribuye a disminuir lo antes posible la necesidad de otros fármacos y mejorar la calidad de vida del paciente.

El rápido beneficio clínico observado con el uso de la SLIT en los gatos incluidos en el estudio contrasta con los datos descritos en otras especies. En medicina humana se han reportado mejorías clínicas significativas después unos plazos muy variables de tiempo, que oscilan desde los 2 hasta los 12 meses. Estos datos se obtuvieron con el uso de la SLIT para el control de enfermedades alérgicas respiratorias (Horak *et al.*, 2009; Blanco *et al.*, 2018), siendo los tiempos medios de respuesta algo más prolongados cuando se utiliza para el control de la dermatitis atópica (6-12 meses) (Pajno *et al.*, 2007; Choi *et al.*, 2015; Slavyanakaya *et al.*, 2016; You *et al.*, 2017; Mastrandrea *et al.*, 2020).

Así mismo, en los estudios realizados en el perro sobre el uso de la SLIT para el control de dermatitis atópica y de reacción adversa al alimento, se observó mejoría a partir de los 6 meses de tratamiento (DeBoer *et al.*, 2016; Maina y Cox, 2016). Lamentablemente

la falta de homogeneidad entre los estudios realizados en esta especie, tanto en el tipo como en la naturaleza y concentración de los alérgenos incluidos en la ITAE, dificulta una comparación adecuada entre ellos.

En cualquier caso, las diferencias observadas entre especies podrían explicarse por varias razones, entre las que podríamos considerar algunas como:

- La existencia de diferencias en las características inmunológicas propias de la mucosa oral entre especies, y por tanto diferencias en la respuesta inmunitaria producida por la SLIT.
- Las diferencias en la etiopatogenia de la propia dermatitis alérgica entre especies, a pesar de considerarlas todas como una única entidad patológica. Estas diferencias podrían justificar la disparidad en la respuesta no sólo a la SLIT, si no a cualquier otra vía de administración de ITAE y/u otros fármacos.

En medicina humana se han observado diferencias fenotípicas en la dermatitis atópica, relacionadas con factores como la edad, que pueden condicionar el manejo y el pronóstico de la enfermedad (Bieber *et al.*, 2017; Cabanillas *et al.*, 2017; Girolomoni *et al.*, 2021). Considerando el gran polimorfismo clínico que presenta el FASS, podríamos llegar a especular incluso que cada uno de los patrones lesionales clásicos deba abordarse como una entidad patológica diferente, tanto a nivel diagnóstico como terapéutico.

Cabe señalar que durante el estudio se registraron las lesiones que presentaban los pacientes, tanto por tipo de lesión como por la región anatómica implicada. Las más representadas fueron el eritema y la alopecia auto inducida, seguidas por la dermatitis miliar y eosinofílica, afectando éstas principalmente la cabeza y el cuello, seguidos del abdomen. Lamentablemente, no se pudo establecer una relación entre el tipo y localización de las lesiones y la respuesta observada con la SLIT. Por tanto, con los resultados obtenidos no podemos concluir que un tipo determinado de patrón clínico responda de mejor o peor manera a la ITAE. Sería adecuado valorar la respuesta a SLIT en grupos más homogéneos, tanto en el tipo como en la cronicidad del patrón lesional.

Así mismo, podrían existir diferencias entre razas de gato, tanto en la expresión del FASS como en la respuesta a determinados tratamientos. En medicina humana se han observado diferencias raciales en la expresión clínica de la dermatitis atópica (Kaufman *et al.*, 2018; Croce *et al.*, 2021; Girolomoni *et al.*, 2021). Del mismo modo, se han

reportado diferencias raciales en el perro en la expresión de la dermatitis atópica (Jaeger *et al.*, 2010; Wilhem *et al.*, 2011). Estas diferencias pueden condicionar el éxito o fracaso de determinadas estrategias terapéuticas tanto en el perro como en el ser humano (Czarnowicki *et al.*, 2019; Girolomoni *et al.*, 2021). Lamentablemente, como la mayoría de los gatos incluidos en nuestro estudio (86%) fueron clasificados como “doméstico de pelo corto”, no se pudo establecer una relación entre determinadas razas y la respuesta a la ITAE.

Durante el estudio se permitió el uso controlado de metilprednisolona. Durante el primer trimestre del estudio, 7 de los 22 (32%) gatos necesitaron ser medicados con metilprednisolona (con una dosis media de 0,81 mg/kg/día); mientras que 4 de los 16 (25%) gatos que finalizaron los 12 meses de estudio recibieron una dosis media de 0,33 mg/kg/día. De estos 4 animales, sólo dos necesitaron el fármaco durante todo el estudio. En uno de ellos se tuvo que mantener una dosis de 0,52 mg/kg/día durante los 12 meses, mientras que el otro empezó el estudio recibiendo 0,44 mg/kg/día, pero se pudo disminuir la dosis a 0,22 mg/kg/día a partir del tercer mes de tratamiento con SLIT.

En el resto de los animales (12) que finalizaron los 12 meses de estudio los signos clínicos se controlaron de forma adecuada únicamente con la SLIT, consiguiendo así uno de sus principales objetivos, que era disminuir la necesidad del uso de fármacos inmunosupresores para el control de los signos clínicos de FASS.

Cabría esperar que, tal como se ha observado en medicina humana (Akdis y Akdis, 2015), las concentraciones plasmáticas de IgE descendieran durante el tratamiento, disminuyendo así la sensibilización de algunas células efectoras responsables de parte del cuadro clínico, como los mastocitos. La decisión de utilizar la serología como método de detección y medida de las IgE alérgeno-específicas durante la inclusión de los pacientes nos permitió monitorizar estos valores trimestralmente durante el estudio.

Así, se observó una disminución progresiva de IgE desde el inicio de la terapia, pero no se obtuvieron diferencias significativas ($P < 0,001$) hasta después de 9 meses de tratamiento. Por tanto, igual que en el ser humano, esta disminución tardía de IgE podría explicar parte de los beneficios observados en el medio y largo plazo con el uso de la SLIT en el gato, aunque no explicaría los cambios clínicos observados desde el primer trimestre (Hochfelder y Ponda, 2013; Akdis y Akdis, 2015; Moote *et al.*, 2018).

Con estos resultados podemos suponer, además, que las IgE alérgeno-específicas tenían un papel importante en la patogenia de la enfermedad en los gatos incluidos en el estudio, ya que los niveles plasmáticos disminuyeron en paralelo a la mejoría de los signos clínicos.

Tanto en medicina humana como en el perro se ha observado que durante el tratamiento con ITAE aumentan los niveles de IgG (Hou *et al.*, 2008; Akdis y Akdis, 2015; Pfaar *et al.*, 2021). Así, durante el estudio también se midieron las concentraciones séricas de IgG alérgeno-específica en los mismos tiempos que las IgE. A diferencia de lo observado con los valores de IgE, las IgG alérgeno específicas se mantuvieron estables durante todos los meses de tratamiento. Por tanto, la producción de IgG bloqueantes no explicaría la mejoría clínica observada en los gatos incluidos en el estudio.

Aunque existe controversia sobre el papel de las IgG en la respuesta clínica observada tras la ITAE en medicina veterinaria, se han observado mayores incrementos de IgG1 en perros con buena respuesta a la terapia que en aquellos que presentan una respuesta pobre (Fraser *et al.*, 2004). Aun así, se considera que la producción de IgG no es estrictamente necesaria para que la ITAE sea eficaz en esta especie (Loewenstein y Mueller, 2009); y, considerando los resultados obtenidos, podemos suponer que tampoco lo fue en los gatos incluidos en nuestro trabajo.

En base al conocimiento sobre el funcionamiento de la ITAE en personas, se podría especular que el beneficio clínico en el gato esté mediado por otros mecanismos inmunológicos, como la producción de T_{reg} , IL10 o TGF- β (Canonica *et al.*, 2014; Akdis y Akdis, 2015; Sanjabi *et al.*, 2017). Es adecuado recordar que la ITAE consigue disminuir, desde el principio de la terapia, la actividad de algunas células efectoras como los eosinófilos, ampliamente implicados en las reacciones alérgicas en el gato (Akdis y Akdis, 2015). Esto podría explicar en parte la rápida respuesta clínica observada durante el estudio. Del mismo modo, la producción de IL10 explicaría también la disminución en la actividad de estas células efectoras, los cambios en los niveles de IgE alérgeno-específicas (Moote *et al.* 2018), y la modificación progresiva del perfil de citoquinas (Loewenstein y Mueller, 2009). Son necesarios más estudios para conocer cuáles de estos mecanismos de acción son más importantes en el gato, siendo de especial interés el estudio del perfil de citoquinas y su evolución durante el tratamiento, así como del tipo y número de células efectoras en el transcurso de la terapia.

No hay que olvidar que los cambios inmunológicos conseguidos con la ITAE dependen en muchos casos de la vía de administración. Por ejemplo, en medicina humana se ha observado que las concentraciones de IgG alérgeno-específicas incrementan de forma más evidente cuando se utiliza la vía subcutánea (Yukselen *et al.*, 2012), lo que podría explicar que no se observasen cambios en esta inmunoglobulina durante nuestro estudio. Sería adecuado realizar un estudio incluyendo un grupo de gatos que recibiesen SCIT.

Otro factor condicionante en la respuesta a la inmunoterapia es el tiempo de administración. En medicina humana se ha observado que algunos de los cambios inmunológicos producidos por la ITAE se consiguen durante el segundo año de tratamiento (Yukselen *et al.*, 2013).

En los gatos incluidos en el estudio se administró SLIT durante 12 meses, independientemente del momento del año en el que fueron incluidos, con el fin de evitar alteraciones de los resultados relacionadas con la estacionalidad de las reacciones alérgicas, incluso aquellas producidas por ácaros (Demoly *et al.*, 2016; Demoly *et al.*, 2020). A pesar de tratarse de un periodo de tiempo adecuado, es posible que algunos de los animales incluidos en el estudio hubiesen presentado mejorías todavía mayores si se hubiese prolongado la terapia, y algunos de los cambios inmunológicos esperables habrían sido más evidentes durante este periodo. Del mismo modo, la necesidad de fármacos podría haber disminuido todavía más. Por tanto, se deberían realizar estudios con SLIT durante un periodo de tiempo mayor a un año para valorar si existe una mayor eficacia.

Por otra parte, se debería estudiar si los cambios inmunológicos conseguidos (en nuestro caso, la disminución de los valores circulantes de IgE alérgeno-específicas) se mantienen en el tiempo una vez finalizado el tratamiento, tal como se ha observado en medicina humana (Keppler *et al.*, 2008; Komlosi *et al.*, 2020). La monitorización de los valores de IgE después de interrumpir la ITAE sería útil para recomendar un periodo de tratamiento específico en el gato.

Además, la posibilidad de conseguir un efecto prolongado, incluso después de interrumpir la terapia, mejoraría significativamente los costes económicos atribuibles directamente al control del FASS. Un animal controlado solamente con SLIT necesitará menos visitas veterinarias y el consumo de fármacos para el control sintomático

disminuirá considerablemente. Al tratarse de un beneficio claro para el tutor, esto podría mejorar la adherencia al tratamiento.

Las principales limitaciones del estudio fueron las siguientes:

- El número limitado de animales: La inclusión de pacientes fue compleja debido a los estrictos criterios de reclutamiento aplicados. Debían ser gatos con diagnóstico clínico de FASS y niveles plasmáticos elevados de IgE específicas frente ácaros. Así mismo, se necesitaba la colaboración y compromiso por parte del tutor, que en muchas ocasiones es difícil de conseguir en estudios clínicos que se alargan en el tiempo.
- La ausencia de un grupo control: Llevar a cabo un estudio controlado con placebo se rechazó por razones éticas, considerando que FASS es una enfermedad que merma considerablemente la calidad de vida del paciente y de su cuidador. Por otra parte, la inclusión de un grupo de control positivo (por ejemplo, con metilprednisolona) implicaría aumentar de forma significativa el número de pacientes, con la dificultad que eso implicaba.

El oclacitinib es una alternativa para el control de los signos clínicos del síndrome atópico cutáneo felino

Conocer en más profundidad la etiopatogenia de las enfermedades alérgicas e inmunomediadas ha permitido el desarrollo de fármacos dirigidos a dianas terapéuticas mucho más específicas, evitando así parte de los efectos adversos indeseados relacionados con algunos de los fármacos antiinflamatorios y/o inmunosupresores clásicos.

Las funciones de las diferentes citoquinas y mediadores inflamatorios son posibles gracias a la activación de diferentes vías enzimáticas. Entre éstas, la vía de la JAK-STAT es empleada por las citoquinas tipo I y II para llevar a cabo sus funciones en los procesos inflamatorios e inmunitarios, así como otros procesos metabólicos, de hematopoyesis, y de crecimiento y desarrollo neuronal (Virtanen *et al.*, 2019; Lou *et al.*, 2021).

Mediante el uso de fármacos inhibidores de la JAK (*JAKinhibs*) es posible modificar muchas de las reacciones inflamatorias e inmunomediadas dependientes de estas citoquinas. Estos fármacos se utilizan en medicina humana para el control de algunas neoplasias mieloproliferativas y enfermedades inmunomediadas, como la artritis reumatoide o la colitis ulcerativa (Solimani *et al.*, 2019; Virtanen *et al.*, 2019; Kalantari *et al.*, 2022). Así mismo, los *JAKinhibs* se han postulado como una buena alternativa terapéutica para el control de la dermatitis atópica en las personas (Chovatiya y Paller, 2021; McLornan *et al.*, 2021).

A pesar del efecto ejercido sobre la función inmunológica, los fármacos inhibidores de la JAK se consideran seguros en el ser humano (Levy *et al.*, 2015; Schwartz *et al.*, 2017; Virtanen *et al.*, 2019). Los efectos adversos asociados a su uso sistémico son dependientes del grado de inhibición que ejerza el fármaco sobre cada tipo de JAK y generalmente leves o moderados (Schwartz *et al.*, 2017; Solimani *et al.*, 2019; McLornan *et al.*, 2021).

En medicina veterinaria sólo se ha registrado un fármaco inhibidor de la JAK, el oclacitinib, utilizado para el control de las dermatitis alérgicas en el perro (Cosgrove *et al.*, 2013; Cosgrove *et al.*, 2013b). Es un *JAKinhib* de primera generación, con capacidad para inhibir la función de las cuatro JAK, pero con una mayor preferencia por JAK1 (Gonzales *et al.*, 2014), la cual está implicada en gran medida en los procesos de alergia

(Lou *et al.*, 2021). Su eficacia en perro es elevada (Cosgrove *et al.*, 2013), incluso cuando se compara con metilprednisolona (Gadeyne *et al.*, 2014; Marsella *et al.*, 2020b), y el beneficio clínico se consigue de forma muy rápida (Fleck *et al.*, 2012; Weehler *et al.*, 2012; Cosgrove *et al.*, 2013).

Además, se considera un fármaco seguro, ya que se le atribuyen pocos efectos adversos, la mayoría de ellos leves o moderados, como vómitos, diarrea o disminución del apetito (Cosgrove *et al.*, 2013; Simpson *et al.*, 2017), siendo estos efectos menores que los reportados con otros fármacos orales como la ciclosporina (Little *et al.*, 2015). Al tratarse de un inhibidor selectivo de JAK1, cabe esperar menos efectos relacionados con la inhibición de JAK2 y JAK3, como citopenias o aumento en la susceptibilidad a infecciones (Cosgrove *et al.*, 2013; Virtanen *et al.*, 2019).

Considerando su perfil de seguridad, se ha reportado el uso de oclacitinib de forma anecdótica para el control de algunas enfermedades inmunomediadas que en ocasiones requieren altas dosis de fármacos inmunosupresores, como por ejemplo dermatosis vesiculares autoinmunes, dermatopatía isquémica y eritema multiforme hiperqueratótico (Aymeric y Besignor, 2017; Levy *et al.*, 2019; High *et al.*, 2020).

A pesar de que actualmente oclacitinib está registrado para su uso exclusivo en el perro, considerando los datos de eficacia y seguridad observados en esta especie se ha utilizado fuera de registro en el gato para el control de la dermatitis alérgica (Ortalda *et al.*, 2015; Pandolfi *et al.*, 2016; Noli *et al.*, 2019), y de forma anecdótica para el control de otras enfermedades como el asma, mastocitosis, dermatitis ulcerativa idiopática y pénfigo foliáceo (Reinero, 2013; Frank *et al.*, 2014; Loft y Simon, 2015; Carrasco *et al.*, 2021). Tanto la dosis como las pautas de administración aplicadas varían entre los diferentes estudios, y en muchos casos son similares a las que se utilizan en el perro, debido a la falta de información sobre la farmacocinética del oclacitinib en el gato.

Así, uno de los objetivos de la tesis fue estudiar el comportamiento cinético del oclacitinib en el gato mediante el desarrollo de un estudio en el que se administró el fármaco por vía oral e intravenosa (Estudio 2). En este estudio se observó una rápida absorción después de la administración oral (T_{max} de 35 minutos), y una biodisponibilidad media del 87%. La distribución del fármaco fue buena y la eliminación rápida ($t_{1/2}$ de 2,3 horas), incluso mayor que en el perro ($t_{1/2}$ de 3,45 horas) (Collard *et al.*, 2013). Veinticuatro horas después de la administración prácticamente todo el fármaco había sido eliminado en sangre. La variabilidad observada en gatos fue algo mayor que la que se observó en

el perro, lo que podría explicar en parte las diferencias reportadas en la respuesta clínica a oclacitinib entre los pacientes felinos.

En consecuencia, a pesar de esta variabilidad, y en base a los resultados obtenidos, no parecen existir impedimentos farmacocinéticos para el uso de oclacitinib en el gato. Aunque, considerando que tanto la absorción como la eliminación son más rápidas, parece adecuado recomendar un intervalo de dosificación menor en esta especie. Del mismo modo, teniendo en cuenta que la biodisponibilidad fue algo menor que en el perro se podría justificar la administración de una dosis mayor de fármaco en el gato.

Con esta información, se diseñó un estudio clínico para valorar la eficacia de oclacitinib en el control del FASS, intentando establecer una correlación entre los niveles plasmáticos del fármaco y la evolución de los signos clínicos (Estudio 3). Para ello se reclutaron 28 gatos con diagnóstico clínico de FASS. En este caso la inclusión de animales fue menos compleja que en el Estudio 1 debido a que, tras el correcto protocolo diagnóstico para descartar otras causas de purito, no era necesario demostrar una sensibilización específica.

A partir de los resultados obtenidos en el estudio de farmacocinética del oclacitinib (Estudio 2), a los gatos incluidos en el estudio clínico se les administró una dosis media oral de fármaco de 0,96 mg/kg, mayor a la registrada en el perro (0,4-0,6 mg/kg) (Collard *et al.*, 2013; Cosgrove *et al.*, 2013). Pero a pesar de que la absorción y la eliminación del fármaco fueron más rápidas en el gato, se administró el fármaco siguiendo la misma pauta que se ha propuesto para el perro: cada 12 horas durante las dos primeras semanas de tratamiento, para luego pasar a administrarlo una única vez al día (Collard *et al.*, 2013; Cosgrove *et al.*, 2013). Nuestro objetivo era encontrar una pauta terapéutica lo más cómoda posible para el paciente y el cuidador, con el fin de mejorar el manejo, la adherencia al tratamiento y la calidad de vida de ambos.

Los resultados clínicos obtenidos fueron muy positivos. Se observaron diferencias significativas en los valores medios de PVAS y SCORFAD desde la primera semana de tratamiento y esta mejoría clínica se mantuvo hasta el final del estudio (28 días) a pesar de disminuir la frecuencia de administración a una sola vez al día. Al finalizar el estudio los valores de PVAS y de SCORFAD mejoraron $\geq 50\%$ en el 61% y en el 89% de los gatos, respectivamente.

En estudios previos sobre el uso de oclacitinib para el control de FASS, tanto las dosis utilizadas como los resultados obtenidos habían sido muy variados. Se observó que utilizando la misma dosis y pauta terapéutica registrada en el perro (0,4-0,6 mg/kg/12h durante 14 días, y luego 0,4-0,6 mg/kg/día durante 14 días más), sólo 5 de los 12 gatos incluidos en estudio mejoraron a nivel de lesiones y prurito (Ortalda *et al.*, 2015). Posteriormente se realizó un estudio en el que 15 gatos recibieron una dosis mayor, de entre 0,5 y 0,8 mg/kg/12h durante 2 semanas para luego continuar con 0,5-0,8 mg/kg/24h durante dos semanas más, y se observó mejoría clínica en un número superior de animales (66%) (Pandolfi *et al.*, 2016). Tal como se esperaba, y avalado por los hallazgos del estudio de farmacocinética, nuestros resultados clínicos fueron mejores, probablemente debido al empleo de una dosis mayor.

Sin embargo, en un estudio aleatorizado, doble ciego y controlado con prednisolona realizado por Noli *et al.* en 2019, utilizando una dosis similar (0,9 mg/kg) y una pauta de dos veces al día durante 4 semanas se consiguió una reducción del $\geq 50\%$ en los valores de PVAS y SCORFAD en el 70% y 60% de los gatos, una eficacia inferior a la observada en el presente estudio. Una razón para explicar estas diferencias en los resultados puede ser el hecho de que las escalas utilizadas en ambos estudios para la monitorización de los pacientes son escalas subjetivas. Este factor individual de variabilidad, independiente tanto del fármaco como de los pacientes incluidos en el estudio, es difícil de evitar incluso utilizando escalas en las que el prurito se valore de una manera más precisa, como la escala VasCAT propuesta recientemente (Colombo *et al.*, 2021).

Así, los resultados clínicos observados sugieren que no sería necesario alargar la administración de oclacitinib dos veces al día más allá de las dos primeras semanas, reduciendo la posibilidad de aparición de efectos adversos, y mejorando el manejo del paciente y por tanto la adherencia al tratamiento por parte del tutor.

Es importante tener en cuenta que el éxito en la administración oral de fármacos en el gato depende de muchos factores ajenos al propio fármaco, tanto a nivel de características propias del paciente como de la destreza y/o paciencia del tutor. En el presente estudio se reportaron pocos problemas de administración durante el tratamiento, pero aun así 3 gatos abandonaron el estudio por esta causa.

Uno de los objetivos de la tesis era encontrar terapias alternativas eficaces y que además fueran seguras para el control del FASS. En base a los hallazgos reportados

en estudios previos, tanto en el gato como en otras especies, se llevó a cabo la medición de algunos parámetros bioquímicos marcadores de función renal y hepática, así como un recuento completo de células sanguíneas antes de empezar el tratamiento, y una y cuatro semanas después (Cosgrove *et al.*, 2013b; Noli *et al.*, 2019; Mc Lornan *et al.*, 2021). Del mismo modo se registraron todos los eventos clínico-patológicos que pudiesen asociarse directamente a la administración del oclacitinib.

En general, y tal como se ha observado en el perro (Cosgrove *et al.*, 2013; Simpson *et al.*, 2017), el oclacitinib fue bien tolerado por la mayoría de los gatos. Sólo dos de ellos tuvieron que abandonar el estudio por la aparición de vómitos, aparentemente relacionados con la administración del fármaco. En ninguno de los animales incluidos se observó un aumento en los niveles de creatinina, a diferencia de lo observado en estudios previos (Noli *et al.*, 2019). Los niveles de ALT aumentaron solamente en dos de los gatos, pero sin cambios clínicos asociados. En ninguno de ellos se realizaron pruebas complementarias ya que estos niveles se normalizaron al interrumpir el tratamiento.

Por otra parte, el hematocrito disminuyó después de la primera semana de tratamiento sólo en uno de los gatos (desde el 34% al 19%). Este valor volvió a la normalidad al interrumpir la administración del fármaco. Cabe recordar que oclacitinib es un inhibidor de la JAK, con el doble de especificidad sobre JAK1 que sobre JAK2, pero no exclusivo de JAK1. Podríamos especular que el oclacitinib ejerció un efecto mayor de lo esperado sobre JAK2 en este gato en particular, ya que esta cinasa está implicada en la hematopoyesis y su inhibición podría justificar un descenso observado en el hematocrito (Gonzales *et al.*, 2014; Mc Lornan *et al.*, 2021). En medicina humana las citopenias son unos de los efectos adversos reconocidos durante el uso de los *JAKinhibs*, principalmente aquellos que ejercen un mayor efecto sobre JAK2 (Virtanen *et al.*, 2019). A pesar de haber observado estos cambios sólo en uno de los animales incluidos, parecería adecuado recomendar la monitorización más o menos temprana y repetida del hemograma de todos aquellos gatos que vayan a recibir oclacitinib.

Otro de los objetivos del estudio era establecer una relación entre los niveles plasmáticos de oclacitinib y la respuesta clínica observada en cada uno de los gatos, con el fin de encontrar una justificación a la falta de eficacia observada en algunos animales en estudios previos. Así pues, se obtuvieron muestras de plasma a los 7 y a los 28 días de tratamiento, en las que se midió la concentración del fármaco mediante

el mismo método de cromatografía líquida utilizado en el estudio de farmacocinética (Estudio 2).

Se obtuvo una elevada variabilidad al medir los niveles plasmáticos de oclacitinib, por lo que lamentablemente no se pudo establecer una correlación entre estos niveles y respuesta clínica. Estos resultados podrían estar condicionados por varios factores; entre ellos: las variaciones en el tiempo de toma de la muestra (debía hacerse una hora después de recibir el tratamiento y dependía directamente del tutor) y una administración inadecuada del tratamiento.

A pesar de que se consiguió una mejoría clínica significativa en una gran mayoría de gatos, las diferencias observadas entre pacientes podrían estar justificadas por factores relacionados con la propia enfermedad, como el patrón lesional predominante o la cronicidad. Debido al desconocimiento sobre algunos aspectos de la etiopatogenia del FASS, asumimos que existe la misma implicación de respuesta Th1 y Th2 en todos los gatos con dermatitis alérgica, y que a su vez es similar a la observada en el perro y en el ser humano, pero no tiene que ser así necesariamente. Por ejemplo, un estudio reciente ha demostrado que no existen diferencias significativas de IL31 entre gatos alérgicos y controles sanos, a diferencia de lo observado en las otras especies (Older *et al.*, 2021). Así mismo, a pesar de que el infiltrado celular inflamatorio observado en las muestras de piel de gatos alérgicos es similar el observado en otras especies, el patrón de citoquinas que producen no son las citoquinas Th2 esperables (Taglinger *et al.*, 2008; Older *et al.*, 2021b). Por otra parte, sería adecuado valorar cada uno de los pacientes en función del grado de cronicidad de las lesiones. En otras especies se ha visto que la respuesta inmunológica cambia en el tiempo, dando lugar a diferencias en la respuesta a determinados fármacos (Czarnowicki *et al.*, 2019; Kader *et al.*, 2021; Salvati *et al.*, 2021).

Todo esto, unido al complejo mecanismo de acción de oclacitinib, puede explicar en parte la falta de correlación observada entre los niveles plasmáticos del fármaco y la eficacia clínica observada. Un mejor conocimiento de la respuesta inmunológica y los cambios cutáneos observados en cada uno de los patrones lesionales clásicos de FASS ayudaría a mejorar las estrategias terapéuticas, pudiendo individualizarlas todavía más. Así mismo, sería adecuado realizar estudios con grupos más homogéneos de gatos, tanto en el tipo de lesión como en su cronicidad.

Como cualquier estudio, el nuestro tuvo también algunas limitaciones, entre las cuales podemos destacar:

- El número limitado de animales: podría justificar la mayor variabilidad observada en la medición de los niveles plasmáticos de oclacitinib, teniendo en cuenta la variabilidad interindividual observada durante el estudio de cinética, que fue mayor que la observada en el perro.
- La falta de un grupo controlado con placebo: sería adecuado para valorar qué parte de la mejoría clínica observada depende de otras causas, como por ejemplo algunos cambios en los factores ambientales o la propia subjetividad inherente a las escalas utilizadas para valorar y monitorizar el prurito y las lesiones.

CONCLUSIONES

En base a los estudios realizados, podemos concluir que:

1. La inmunoterapia alérgeno-específica administrada por vía sublingual (SLIT) puede considerarse una alternativa eficaz para el control de los signos clínicos relacionados con el Síndrome Atópico Cutáneo Felino (FASS). Sus efectos beneficiosos se consiguen de forma rápida durante el primer trimestre de tratamiento, y se mantienen al menos durante el primer año de terapia.
2. La SLIT es una opción terapéutica segura y bien tolerada para el control de los signos clínicos relacionados con el FASS, no observándose efectos adversos graves directamente atribuibles a la misma.
3. Los niveles de IgE alérgeno-específicas disminuyen durante la terapia con SLIT, en paralelo a la mejoría clínica observada. Por el contrario, los niveles de IgG alérgeno-específicas se mantienen estables durante el tratamiento, por lo que no se puede atribuir la mejoría clínica a la producción de IgG bloqueantes.
4. El comportamiento farmacocinético del oclacitinib en el gato es adecuado, siendo la absorción y la eliminación más rápidas que en el perro, por lo que sería adecuado recomendar mayores dosis o menores intervalos de administración en esta especie.
5. El oclacitinib puede considerarse una opción terapéutica adecuada para el control farmacológico del FASS, ya que con una dosis de 1 mg/kg cada 12 horas se obtuvo un control casi inmediato del picor y de las lesiones en >60% y >80% de los gatos, respectivamente. Control que se mantuvo en el tiempo a pesar de disminuir la frecuencia de administración a una única vez al día después de las 2 primeras semanas de tratamiento.
6. La medición de las concentraciones de oclacitinib en el plasma de los gatos incluidos en el estudio no resultó ser un marcador útil para valorar el éxito de la terapia.

BIBLIOGRAFÍA

Adcock IM, Mumby S. Glucocorticoids. *Handb Exp Pharmacol* 2017; 237:171-196.

Aini NR, Noor NM, Daud MK, *et al.* Efficacy and safety of intralymphatic immunotherapy in allergic rhinitis: A systematic review and meta-analysis. *Clin Transl Allergy* 2021;11(6): e12055.

Akdis C, Akdis M. Mechanisms of allergen-specific immunotherapy and immune tolerance to allergens. *World Allergy Organ J* 2015; 8:17.

Amano W, Nakajima S, Kunugi H, *et al.* The Janus kinase inhibitor JTE-052 improves skin barrier function through suppressing signal transducer and activator of transcription 3 signaling. *J Allergy Clin Immunol* 2015;136(3):667-677.e7.

Andersen RM, Thyssen JP, Maibach HI. Qualitative vs. quantitative atopic dermatitis criteria - in historical and present perspectives. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2016;30(4):604-18.

Archer TM, Boothe DM, Langston CL, *et al.* Oral Cyclosporine Treatment in Dogs: A Review of the Literature. *J Vet Intern Med* 2014; 28:1–20.

Ashina R, Maeda S. A review of the roles of keratinocyte-derived cytokines and chemokines in the pathogenesis of atopic dermatitis in humans and dogs. *Vet Dermatol* 2017; 28: 16–e5.

Aymeric E, Bensignor E. A case of presumed autoimmune subepidermal blistering dermatosis treated with oclacitinib. *Vet Dermatol* 2017; 28: 512–e123.

Badloe FMS, Shauni DV, Coolens K, *et al.* IgE autoantibodies and autoreactive T cells and their role in children and adults with atopic dermatitis. *Clin Transl Allergy* 2020; 10:34.

Baillieau F. Inmunoglobulina E: Revisión y actualización de su rol en la salud y en la enfermedad. *Archivos de Alergia e Inmunología Clínica* 2015; 46:2.

Banovic F, Tarigo J, Gordon H, *et al.* Immunomodulatory in vitro effects of oclacitinib on canine T-cell proliferation and cytokine production. *Vet Dermatol* 2019; 30: 17–e6.

Belova S, Wilhelm S, Linek M, *et al.* Factors affecting allergen specific IgE serum levels in cats. *Can J Vet Res* 2012; 76:45-51.

Bergvall K. A novel ulcerative nasal dermatitis of Bengal cats. *Vet Dermatol* 2004; 15(1):20-40.

Bettenay S. Response to hyposensitization in 29 atopic cats. In: Kwochka KW, Willemse A, von Tscharner C, eds. *Advances in Veterinary Dermatology, volume 3*. Oxford, UK: Butterworth/Heinemann, 1998: 517-518 (abstract).

Bexley J, Hogg JE, Hammerberg B, *et al.* Levels of house dust mite-specific serum immunoglobulin E (IgE) in different cat populations using a monoclonal based anti-IgE enzyme-linked immunosorbent assay. *Vet Dermatol* 2009; 20:562-568.

Bieber T, D'Erme AM, Akdis CA, *et al.* Clinical phenotypes and endophenotypes of atopic dermatitis: Where are we, and where should we go?. *J Allergy Clin Immunol* 2017;139(4S): S58-S64.

Bizikova P, Santoro D, Marsella R, *et al.* Review: Clinical and histological manifestations of canine atopic dermatitis. *Vet Dermatol* 2015; 26: 79–e24.

Blanco C, Bazire R, Argiz L, *et al.* Sublingual allergen immunotherapy for respiratory allergy: a systematic review. *Drugs Context* 2018; 7:212552.

Bond R, Hutchinson MJ, Loeffler A. Serological, intradermal, and live flea challenge tests in the assessment of hypersensitivity to flea antigens in cats (*Felis domesticus*). *Parasitol Res* 2006; 99:392–397.

Bond R, Morris DO, Guillot J, *et al.* Biology, diagnosis, and treatment of *Malassezia* dermatitis in dogs and cats. Clinical Consensus Guidelines of the World Association for Veterinary Dermatology. *Vet Dermatol* 2020; 31:27-e4.

Bousquet J, Lockey R, Malling HJ, *et al.* Allergen immunotherapy: Therapeutic vaccines for allergic diseases. A WHO position paper. *J Allergy Clin Immunol* 1998; 102(4):558-62.

Brame BE, Canning P, Morris DO, *et al.* Interobserver reliability of Feline Dermatitis Extent and Severity Index (FEDESI) and Scoring Feline Allergic Dermatitis (SCORFAD) and the relationship between lesion scores and pruritus. *Vet Dermatol* 2021; 32(5):492-e135.

Breiteneder H, Peng YQ, Agache I, *et al.* Biomarkers for diagnosis and prediction of therapy responses in allergic diseases and asthma. *Allergy* 2020; 75:3039–3068.

Brement T, Laly MJ, Combarros D, *et al.* Reliability of different sets of criteria in diagnosing canine atopic dermatitis applied to a population of 250 dogs seen in a veterinary teaching hospital. *Vet Dermatol* 2019; 30: 188–e59.

Bruet V, Bourdeau PJ, Roussel A, *et al.* Characterization of pruritus in canine atopic dermatitis, flea bite hypersensitivity and flea infestation and its role in diagnosis. *Vet Dermatol* 2012; 23: 487–e93.

Brunner PM, Guttman-Yassky E, Leung DYM. The Immunology of AD and its reversibility with broad spectrum and targeted therapies. *J Allergy Clin Immunol* 2017; 139 (4): S65-S76.

Bylund S, Von Kobyletski LB, Svalsted M, *et al.* Prevalence and incidence of Atopic Dermatitis: A systematic review. *Acta Derm Venereol* 2020; 100: adv00160.

Cabanillas B, Brehler AC, Novak N. Atopic dermatitis phenotypes and the need for personalized medicine. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2017;17(4):309-315.

Cabanillas B, Novak N. Atopic dermatitis and filaggrin. *Curr Opin Immunol* 2016; 42:1-8.

Calderon M, Cox L, Casale TB, *et al.* Multiple-allergen and single-allergen immunotherapy strategies in polysensitized patients: Looking at the published evidence. *J Allergy Clin Immunol* 2012; 129(4):929-934.

Canonica GW, Cox L, Pawankar R, *et al.* Sublingual immunotherapy: World Allergy Organization position paper 2013 update. *World Allergy Organ J* 2014;7(1):6.

Cepelak I, Dodig S, Pavic I. Filaggrin and atopic march. *Biochem Med (Zagreb)* 2019;29(2):020501.

Cerrato S, Brazis P, Miolo A *et al.* Effects of palmitoylethanolamide on immunologically induced histamine, PGD₂ and TNF α release from canine skin mast cells. *Vet Immunol Immunopathol* 2010; 133: 9–15.

Cerrato S, Brazis P, Della Valle MF, *et al.* Effects of palmitoylethanolamide on the cutaneous allergic inflammatory response in *Ascaris* hypersensitive Beagle dogs. *Vet J* 2012;191(3):377-82.

Cerrato S, Brazis P, Della Valle MF, *et al.* Inhibitory effect of topical adelmidrol on antigen-induced skin wheal and mast cell behavior in a canine model of allergic dermatitis. *BMC Vet Res* 2012; 8:230.

Chalmers JR, Haines RH, Bradshaw LE, *et al.* Daily emollient during infancy for prevention of eczema: the BEEP randomized controlled trial. *Lancet* 2020; 395(10228): 962–972.

Chirayath D, Shaheena S. Iatrogenic hypercortisolism in a Persian kitten after topical application of a skin lotion containing clobetasol. *Vet Dermatol* 2020; 31:486-488.

Choi JS, Ryu HT, Yoon CH, *et al.* Treatment of patients with refractory atopic dermatitis sensitized to house dust mites by using sublingual allergen immunotherapy. *Ann Dermatol* 2015;27(1):82-6.

Collard WT, Hummel BD, Fielder AF, *et al.* The pharmacokinetics of oclacitinib maleate, a Janus kinase inhibitor, in the dog. *J Vet Pharmacol Ther* 2014; 37(3):279-85.

Colombo S, Scarpella F, Ordeix L, *et al.* Dermatophytosis and papular eosinophilic/mastocytic dermatitis (urticaria pigmentosa-like dermatitis) in three Devon Rex cats. *J Feline Med Surg* 2012; 14:498–502.

Colombo S, Sartori R. Ciclosporin and the cat: Current understanding and review of clinical use. *J Feline Med Surg* 2018;20(3):244-255.

Colombo S, Borio S, Sartori R, *et al.* Development and validation of an owner-assessed Visual analog Scale (VAScat) for feline pruritus severity scoring (Abstract). *Vet Dermatol* 2021; 32:419-433.

Combarros D, Cadiergues MC, Simon M. Update on canine fillagrin: a review. *Vet Q* 2020; 40(1):162-168.

Combarros D, Godouneche D, Cadiergues MC, *et al.* The upper epidermis of atopic dogs is altered at the functional and structural levels. *Vet Dermatol* 2021; 32(6):620-e165.

Cork MJ, Danby SG, Ogg GS. Atopic dermatitis epidemiology and unmet need in the United Kingdom. *J Dermatolog Treat* 2020; 31(8):801-809.

Cosgrove SB, Wren JA, Cleaver DM, *et al.* A blinded, randomized, placebo-controlled trial of the efficacy and safety of the Janus kinase inhibitor oclacitinib (Apoquel®) in client-owned dogs with atopic dermatitis. *Vet Dermatol* 2013; 24: 587–e142.

Cosgrove SB, Wren JA, Cleaver DM, *et al.* Efficacy and safety of oclacitinib for the control of pruritus and associated skin lesions in dogs with canine allergic dermatitis. *Vet Dermatol* 2013; 24: 479–e114.

Cosgrove S, Cleaver DM, King VL, *et al.* Long-term compassionate use of oclacitinib in dogs with atopic and allergic skin disease: safety, efficacy, and quality of life. *Vet Dermatol* 2015; 26: 171–e35.

Croce EA, Levy ML, Adamson AS, *et al.* Reframing racial and ethnic disparities in atopic dermatitis in Black and Latinx populations. *J Allergy Clin Immunol* 2021;148(5):1104-1111.

Darmon-Hadjaje C, Dellacasagrande J, Amalric N. Effect of a natural spot-on based on phytoceramides, plant-extracted essential fatty acids and essential oils on reconstructed canine epidermis. *Vet Dermatol* 2021; 32:419-433.

DeBoer DJ, 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. *Vet Immunol Immunopathol* 2001; 81:239-249.

DeBoer DJ, Verbrugge M, Morris M. Clinical and immunological responses of dust mite sensitive, atopic dogs to treatment with sublingual immunotherapy (SLIT). *Vet Dermatol* 2016; 27: 82–e24.

DeBoer DJ. The future of immunotherapy for canine atopic dermatitis: a review. *Vet Dermatol* 2017; 28: 25–e6.

Deleporte S, Briand A, Prelaud P. Compliance and adverse effects of oral ciclosporin A administration in cats: a four-year retrospective survey of long-term administration in referral practice (Abstract). *Vet Dermatol* 2021; 32:419-433.

Delgado C, Lee-Fowler TM, DeClue AE, *et al.* Feline-specific serum total IgE quantitation in normal, asthmatic and parasitized cats. *J Feline Med Surg* 2010; 12:991e994.

Demoly P, Matucci A, Rossi O, *et al.* A year-long, fortnightly, observational survey in three European countries of patients with respiratory allergies induced by house dust mites: Methodology, demographics and clinical characteristics. *BMC Pulm Med* 2016;16(1):85.

Demoly P, Matucci A, Rossi O, *et al.* The disease burden in patients with respiratory allergies induced by house dust mites: a year-long observational survey in three European countries. *Clin Transl Allergy* 2020; 10:27.

Diesel A, DeBoer DJ. Serum allergen-specific immunoglobulin E in atopic and healthy cats: comparison of a rapid screening immunoassay and complete-panel analysis. *Vet Dermatol* 2010; 22: 39–45.

Dorofeeva Y, Shilovskiy I, Tulaeva I, *et al.* Past, present, and future of allergen immunotherapy vaccines. *Allergy* 2021; 76:131–149.

Dunham S, Messamore J, Bessey L, *et al.* Evaluation of circulating interleukin-31 levels in cats with a presumptive diagnosis of allergic dermatitis. *Vet Dermatol* 2018; 29: 267–287.

Durham SR, Yang WH, Pedersen MR, *et al.* Sublingual immunotherapy with once daily grass allergen tablets: A randomized controlled trial in seasonal allergic rhinoconjunctivitis. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 117(4):802-809.

Elias PM, Schmuth M. Abnormal skin barrier in the etiopathogenesis of atopic dermatitis. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2009; 9(5): 437–446.

Engeroff P, Caviezel F, Mueller D, *et al.* CD23 provides a noninflammatory pathway for IgE-allergen complexes. *J Allergy Clin Immunol* 2020; 145(1):301-311e4.

Engeroff P, Vogel M. The role of CD23 in the regulation of allergic responses. *Allergy* 2021;76(7):1981-1989.

Fanton N, Santoro D, Corneigliani L, *et al.* Increased filaggrin-metabolizing enzyme activity in atopic skin: a pilot study using a canine model of atopic dermatitis. *Vet Dermatol* 2017; 28: 479–e111.

Favrot C, Steffan J, Seewald W, *et al.* A prospective study on the clinical features of chronic canine atopic dermatitis and its diagnosis. *Vet Dermatol* 2010; 21:23-31.

Favrot C, Steffan J, Seewald W, *et al.* Establishment of diagnostic criteria for feline nonflea-induced hypersensitivity dermatitis. *Vet Dermatol* 2012;23(1):45-50.

Favrot C, Bizikova P, Fischer N, *et al.* The usefulness of short-course prednisolone during the initial phase of an elimination diet trial in dogs with food-induced atopic dermatitis. *Vet Dermatol* 2019; 30: 498–e149.

Favrot C, Fischer N, Olivry T, *et al.* Atopic dermatitis in West Highland white terriers – part I: natural history of atopic dermatitis in the first three years of life. *Vet Dermatol* 2020; 31: 106–e16.

Fennis EM, van damme CM, Schlotter YM, *et al.* Efficacy of subcutaneous allergen immunotherapy in atopic dogs: A retrospective study of 664 cases. *Vet Dermatol* 2022; doi: 10.1111/vde.13075. Online ahead of print.

Fernandes K, Ferreira M, Moreira da Silva A, *et al.* Eficácia do oclacitinib no manejo da síndrome da atopia felina. *Acta Scientiae Veterinariae* 2019; 47(1): 374.

Filep S, Tsay A, Vailes LD, *et al.* Specific allergen concentration of WHO and FDA reference preparations measured using a multiple allergen standard. *J Allergy Clin Immunol* 2012; 129(5):1408–1410.

Fischer N, Rostaher A, Favrot C. Intralymphatische Immuntherapie: Eine sichere und effektive Methode zur Desensibilisierung der caninen atopischen Dermatitis. *Schweiz Arch Tierheilkd* 2016;158(9):646-652.

Fischer N, Rostaher A, Favrot C. A comparative study of subcutaneous, intralymphatic and sublingual immunotherapy for the long-term control of dogs with nonseasonal atopic dermatitis. *Vet Dermatol* 2020; 31: 365–e96.

Fleck T, Humphrey W, Coscarelli E *et al.* Comparison of the janus kinase (JAK) inhibitor, oclacitinib, and prednisolone in canine models of pruritus. *Vet Dermatol* 2012; 23(1): 38.

Fleck T, Aleo M, Galvan B, *et al.* Oclacitinib reduces itch in a novel IL-31 induced pruritus model in the cat. In Proceedings of 18th AAVPT Biennial Symposium - Potomac, MD, USA – 2013.

Fleck TJ, Norris LR, Mahabir S, *et al.* Onset and duration of action of lokivetmab in a canine model of IL-31 induced pruritus. *Vet Dermatol* 2021; 32(6):681-e182.

Foster AP, Duffus WPH, Shaw SE, *et al.* Studies on the isolation and characterization of a reaginic antibody in a cat. *Res Vet Sci* 1995;58(1):70-4.

Frank RK, Galvan BA, Schoell AR, *et al.* Use of oclacitinib (Apoquel®; Zoetis) for treatment of cutaneous mastocytosis in a cat (Abstract). *Vet Dermatol* 2014; 25:145-162.

Fraser MA, McNeil PE, Gettinby G. Examination of serum total IgG1 concentration in atopic and non-atopic dogs. *Small Anim Pract* 2004;45(4):186-90.

Gadeyne C, Little P, King VL, *et al.* Efficacy of oclacitinib (Apoquel®) compared with prednisolone for the control of pruritus and clinical signs associated with allergic dermatitis in client-owned dogs in Australia. *Vet Dermatol* 2014; 25: 512–e86.

Ganz EC, Griffin CE, Keys DA, *et al.* Evaluation of methylprednisolone and triamcinolone for the induction and maintenance treatment of pruritus in allergic cats: a double-blinded, randomized, prospective study. *Vet Dermatol* 2012; 23: 387–e72.

Gedon N, Mueller R. Atopic dermatitis in cats and dogs: a difficult disease for animals and owners. *Clin Transl Allergy* 2018; 8:41.

Gentry CM, Messinger L. Comparison of intradermal and percutaneous testing to histamine, saline and nine allergens in healthy adult cats. *Vet Dermatol* 2016; 27: 370–e92.

Gilbert S, Halliwell REW. Production and characterisation of polyclonal antisera against feline IgE. *Vet Immunol Immunopathol* 1998;63(3):223-33.

Gilbert S, Halliwell REW. Feline immunoglobulin E: induction of antigen-specific antibody in normal cats and levels in spontaneously allergic cats. *Vet Immunol Immunopathol* 1998;63(3):235-52.

Gilbert S, Halliwell REW. The effects of endoparasitism on the immune response to orally administered antigen in cats. *Vet Immunol Immunopathol* 2005;106(1-2):113-20.

Girolomoni G, Bruin-Weller M, Aoki V, *et al.* Nomenclature and clinical phenotypes of atopic dermatitis. *Ther Adv Chronic Dis* 2021; 12: 20406223211002979.

Gonzales AJ, Humphrey WR, Messamore JE *et al.* Interleukin-31: its role in canine pruritus and naturally occurring canine atopic dermatitis. *Vet Dermatol* 2013; 24: 48–53, e11–e12.

Gonzales AJ, Bowman JW, Fici GJ, *et al.* Oclacitinib (Apoquel®) is a novel Janus kinase inhibitor with activity against cytokines involved in allergy. *J Vet Pharmacol Ther* 2014;37(4):317-24.

Graham-Mize CA, Rosser EJ. Bioavailability and activity of prednisone and prednisolone in the feline patient. *Vet Dermatol* 2004; 15(1):1–19.

Griffin JS, Scott DW, Miller WH, *et al.* An open clinical trial on the efficacy of cetirizine hydrochloride in the management of allergic pruritus in cats. *Can Vet J* 2012;53(1):47-50.

Gross TL, Ihrke PJ, Walder EJ *et al.* Skin Diseases of the Dog and Cat, Clinical and histopathologic diagnosis, 2nd edition. Oxford: Blackwell Science, 2005.

Guéguen C, Luce S, Lombardi V, *et al.* IL-10 mRNA levels in whole blood cells correlate with house dust mite allergen immunotherapy efficacy. *Allergy* 2019;74(11):2223-2226.

Guilford WG, Markwell PJ, Jones BR, *et al.* Prevalence and causes of food sensitivity in cats with chronic pruritus, vomiting or diarrhea. *J Nutr* 1998;128(12):2790S-2791S.

Halliwell RE. Efficacy of hyposensitization in feline allergic diseases based upon results of in vitro testing for allergen-specific immunoglobulin E. *J Am Anim Hosp Assoc* 1997; 33(3): 282–288.

Halliwell RE. Revised nomenclature for veterinary allergy. *Vet Immunol Immunopathol* 2006;114(3-4):207-8.

Halliwell R, Pucheu-Haston CM, Olivry T, *et al.* Feline allergic diseases: introduction and proposed nomenclature. *Vet Dermatol* 2021; 32: 8–e2.

Halliwell R, Banovic F, Mueller RS, *et al.* Immunopathogenesis of the feline atopic syndrome. *Vet Dermatol* 2021; 32: 13–e4.

Halliwell RW, Gilbert SM, Lian TM. Induced and spontaneous IgE antibodies to *Dermatophagoides farinae* in dogs and cats: evidence of functional heterogeneity of IgE. *Vet Dermatol* 1998; 9:179-184.

Hanifin J, Rajka G. Diagnostic features of atopic dermatitis. *Acta Derm Venereol* 1980; 92(Suppl): 44–47.

Hartmann K, Day MJ, Thiry E, *et al.* Feline injection-site sarcoma. ABCD guidelines on prevention and management. *J Feline Med Surg* 2015; 17:606–613.

Heinrich NA, McKeever PJ, Eisenschenk MC. Adverse events in 50 cats with allergic dermatitis receiving ciclosporin. *Vet Dermatol* 2011; 22:511–520.

High EJ, Linder KE, Mamo LB, *et al.* Rapid response of hyperkeratotic erythema multiforme to oclacitinib in two dogs. *Vet Dermatol* 2020; 31: 330–e86.

Hill PB, Lo A, Eden CAN, *et al.* Survey of the prevalence, diagnosis and treatment of dermatological conditions in small animals in general practice. *Vet Rec* 2006; 158: 533-539.

Hillier A, Griffin CE. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (I): incidence and prevalence. *Vet Immunol Immunopathol* 200;81(3-4):147-51.

Hillier A, Lloyd DH, Wesse JS, *et al.* Guidelines for the diagnosis and antimicrobial therapy of canine superficial bacterial folliculitis (Antimicrobial Guidelines Working Group of the International Society for Companion Animal Infectious Diseases). *Vet Dermatol* 2014; 25: 163–e43.

Hirt R, Iben C. Possible food allergy in a colony of cats. *J Nutr* 1998;128(12):2792S-2794S.

Hoang MP, Seresirikachorn K, Chitsuthipakorn W, *et al.* Intralymphatic immunotherapy for allergic rhinoconjunctivitis: a systematic review and meta-analysis. *Rhinology*. 2021;59(3).

Hobi S, Linek M, Marignac G, *et al.* Clinical characteristics and causes of pruritus in cats: a multicentre study on feline hypersensitivity associated dermatoses. *Vet Dermatol* 2011; 22:406–413.

Hochfelder JL, Ponda P. Allergen immunotherapy: routes, safety, efficacy, and mode of action. *Immunotargets Ther* 2013; 2:61-71.

Holmes J, Fairclough LC, Tood I. Atopic dermatitis and autoimmunity: the occurrence of autoantibodies and their association with disease severity. *Arch Dermatol Res* 2019;311(3):141-162.

Horak F, Zieglmayer P, Zieglmayer R, *et al.* Early onset of action of a 5-grass-pollen 300-IR sublingual immunotherapy tablet evaluated in an allergen challenge chamber. *J Allergy Clin Immunol* 2009;124(3):471-7.

Hou CC, Griffin CE, Hill PB. Dermatophagoides farinae-specific IgG responses in atopic dogs undergoing allergen-specific immunotherapy with aqueous vaccines. *Vet Dermatol* 2008;19(4):215-20.

Hudec CP, Griffin CE. Changes in the stress markers cortisol and glucose before and during intradermal testing in cats after single administration of pre-appointment gabapentin. *J Feline Med Surg* 2020;22(2) 138–145.

Hur MS, Choe YB, Ahan KJ, *et al.* Synergistic Effect of H1-Antihistamines on topical corticosteroids for pruritus in Atopic Dermatitis: A systematic review and meta-analysis. *Ann Dermatol* 2019; 31(4):420-425.

Idee A, Mosca M, Pin D. Skin barrier reinforcement effect of a spot-on based on natural ingredients in a dog model of tape-stripping. *Vet Dermatol* 2021; 32:419-433.

Incorvaia C, Ciprandi G, Nizi MC, *et al.* Subcutaneous and sublingual allergen-specific immunotherapy: a tale of two routes. *Eur Ann Allergy Clin Immunol* 2020;52(6):245-257.

Ishizaka K, Ishizaka T. Identification of IgE. *J Allergy Clin Immunol* 2016;137(6):1646-1650.

Jacob SE, Steele T. Corticosteroid classes: a quick reference guide including patch test substances and cross-reactivity. *J Am Acad Dermatol* 2006;54(4):723-7.

Jaeger K, Linke M, Powe HT, *et al.* Breed and site predispositions of dogs with atopic dermatitis: a comparison of five locations in three continents. *Vet Dermatol* 2010;21: 119–123.

James C, Bernstein DI. Allergen immunotherapy: an updated review of safety. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2017;17(1):55-59.

Jasiecka-Mikolajczyk A, Jaroszewski JJ, Maslanja T. Oclacitinib, a Janus Kinase inhibitor, reduces the frequency of IL-4- and IL-10-, but not IFN- γ -, producing murine CD4⁺ and CD8⁺ T Cells and counteracts the induction of Type 1 Regulatory T Cells. *Molecules* 2021;26(18):5655.

Jensen-Jarolim E. Aluminium in allergies and allergen immunotherapy. *World Allergy Organ J* 2015;8(1):7.

Johansson SGO. The discovery of IgE. *J Allergy Clin Immunol* 2016;137(6):1671-1673.

Jones S, Bloom P. Rush immunotherapy in two cats with atopic skin syndrome. *JFMS Open Rep* 2021;7(1):20551169211023327.

Kader HA, Azeem M, Jwayed SA, *et al.* Current insights into immunology and novel therapeutics of Atopic Dermatitis. *Cells* 2021;10(6): 1392.

Kadoya-Minegishi M, Park SJ, Sekiguchi M, *et al.* The use of fluorescein as a contrast medium to enhance intradermal skin tests in cats. *Aust Vet J* 2002;80(11):702-3.

Kalantari Y, Sadeghi S, Asadi D, *et al.* A literature review on Janus kinase (JAK) inhibitors for the treatment of immunobullous disorders. *Int Immunopharmacol* 2022; 110:108923.

Kanda S, Sasaki T, Shiohama A, *et al.* Characterization of canine filaggrin: gene structure and protein expression in dog skin. *Vet Dermatol* 2013; 24: 25–e7.

Kaufman BP, Guttman-Yassky E, Alexis AF. Atopic dermatitis in diverse racial and ethnic groups-Variations in epidemiology, genetics, clinical presentation, and treatment. *Exp Dermatol* 2018; 27(4):340-357.

Keppel KE, Campbell KL, Zuckermann FA, *et al.* Quantitation of canine regulatory T cell populations, serum interleukin-10 and allergen-specific IgE concentrations in healthy control dogs and canine atopic dermatitis patients receiving allergen-specific immunotherapy. *Vet Immunol Immunopathol* 2008;123(3-4):337-44.

Khantavee N, Reamtong O, Sookrung N, *et al.* Allergen components of *Dermatophagoides farinae* recognised by serum immunoglobulin (Ig)E in Thai dogs with atopic dermatitis. *Vet Dermatol* 2021; 32: 338–e94.

Kim JE, Kim JS, Cho DH, *et al.* Molecular mechanisms of cutaneous inflammatory disorder: Atopic Dermatitis. *Int J Mol Sci* 2016 ;17(8):1234.

Kim EH, Yang L, Ye P, *et al.* Long-term sublingual immunotherapy for peanut allergy in children: clinical and immunologic evidence of desensitization. *J Allergy Clin Immunol* 2019;144(5):1320-1326.e1.

King S, Favrot C, Messinger L, *et al.* A randomized double-blinded placebo-controlled study to evaluate an effective ciclosporin dose for the treatment of feline hypersensitivity dermatitis. *Vet Dermatol* 2012; 23: 440–e84.

Kobayashi T, Imanishi I. Epithelial-immune crosstalk with the skin microbiota in homeostasis and atopic dermatitis – a mini review. *Vet Dermatol* 2021; 32(6):533-e147.

Koch SN, Torres SMF, Díaz S, *et al.* Subcutaneous administration of ciclosporin in 11 allergic cats – a pilot open-label uncontrolled clinical trial. *Vet Dermatol* 2018; 29: 107–e43.

Komlósi ZI, Kovács N, Sokolowska M, *et al.* Mechanisms of subcutaneous and sublingual aeroallergen immunotherapy: What is new? *Immunol Allergy Clin North Am* 2020;40(1):1-14.

Klaeschen AS, Nümm TJ, Herrmann N, *et al.* JAK1/2 inhibition impairs the development and function of inflammatory dendritic epidermal cells in atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 2021;147(6):2202-2212.e8.

Klukowska-Rötzler J, Chervet L, Müller EJ, *et al.* Expression of thymic stromal lymphopoietin in canine atopic dermatitis. *Vet Dermatol* 2013; 24: 54–e14.

Kunkle GA, McCall CA, Stedman KE, *et al.* Pilot study to assess the effects of early flea exposure on the development of flea hypersensitivity in cats. *J Feline Med Surg* 2003; 5:287–294.

Langer S, Melo J, Cardili R, *et al.* Effect of house dust mite sublingual immunotherapy in patients with atopic dermatitis: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *J Allergy Clin Immunol* 2021; 147(2): AB170.

Lappin MR, VanLare KA, Seewald W, *et al.* Effect of oral administration of cyclosporine on *Toxoplasma gondii* infection status of cats. *Am J Vet Res* 2015;76(4):351-7.

Last RD, Suzuki Y, Manning T, *et al.* A case of fatal systemic toxoplasmosis in a cat being treated with cyclosporin A for feline atopy. *Vet Dermatol* 2004; 15:194–198.

Latimer KS, Rakich PM, Purswell BJ, *et al.* Effects of cyclosporin A administration in cats. *Vet Immunol Immunopathol* 1986;11(2):161-73.

Lauber B, Molitor V, Meury S, *et al.* Total IgE and allergen-specific IgE and IgG antibody levels in sera of atopic dermatitis affected and non-affected Labrador- and Golden retrievers. *Vet Immunol Immunopathol* 2012;149(1-2):112-8.

LeFrançois J, Troncy E, Gonzales A, *et al.* Characterization of clinical phenotype (cutaneous lesion score and central sensitization) and comparison of serological allergen-specific immunoglobulin E and intradermal testing in a colony of atopic-like cats (Abstract). *Vet Dermatol* 2021; 32: 419–433.

Leistra WHG, Van Oost BA, Willemse T. Non-pruritic granuloma in Norwegian forest cats. *Vet Rec* 2005;156(18):575-7.

Leurs R, Church MK, Taglialatela M. H1-antihistamines: inverse agonism, anti-inflammatory actions and cardiac effects. *Clin Exp Allergy* 2002; 32: 489–98.

Levy LL, Urban J, King BA. Treatment of recalcitrant atopic dermatitis with the oral Janus kinase inhibitor tofacitinib citrate. *J Am Acad Dermatol* 2015;73(3):395-9.

Levy BJ, Linder KE, Olivry T. The role of oclacitinib in the management of ischaemic dermatopathy in four dogs. *Vet Dermatol* 2019; 30: 201–e63.

Li H, Zuo J, Tang W. Phosphodiesterase-4 Inhibitors for the treatment of inflammatory diseases. *Front Pharmacol* 2018; 9:1048.

Little PR, King VL, Davis KR, *et al.* A blinded, randomized clinical trial comparing the efficacy and safety of oclacitinib and ciclosporin for the control of atopic dermatitis in client-owned dogs. *Vet Dermatol* 2015; 26: 23–e8.

Liu L, Chen J, Xu J, *et al.* Sublingual immunotherapy of atopic dermatitis in mite-sensitized patients: a multi-centre, randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Artif Cells Nanomed Biotechnol* 2019;47(1):3540-3547.

Loewenstein C, Mueller RS. A review of allergen-specific immunotherapy in human and veterinary medicine. *Vet Dermatol* 2009; 20:84–98.

Loft K, Simon B. Feline idiopathic ulcerative dermatosis treated successfully with oclacitinib (Abstract). *Vet Dermatol* 2015; 26:133-159.

Logas DB, Kunkle GA. Double-blinded study examining the effects of evening primrose oil on feline pruritic dermatitis. *Vet Dermatol* 1993; 4:181-184.

Lopes NL, Campos DR, Machado MA, *et al.* A blinded, randomized, placebo-controlled trial of the safety of oclacitinib in cats. *BMC Vet Res* 2019 ;15(1):137.

Lou Y, Alexander M, Gadina M, *et al.* JAK-STAT signaling in human disease: From genetic syndromes to clinical inhibition. *J Allergy Clin Immunol* 2021;148(4):911-925.

Lowe AD, Campbell KL, Barger A, *et al.* Clinical, clinicopathological and histological changes observed in 14 cats treated with glucocorticoids. *Vet Rec* 2008;162(24):777-83.

Lowe AD, Campbell KL, Graves T. Glucocorticoids in the cat. *Vet Dermatol* 2008;19(6):340-7.

Lux CN. Wound healing in animals: a review of physiology and clinical evaluation. *Vet Dermatol* 2021; 33(1):91-e27.

Mastrandrea F, Serio G, Minelli M, *et al.* Specific sublingual immunotherapy *Allergol Immunopathol (Madr)* 2000;28(2):54-62.

Maina E, Fontaine J. Use of maropitant for the control of pruritus in non-flea, non-food induced feline hypersensitivity dermatitis: an open-label, uncontrolled pilot study. *J Feline Med Surg* 2019;21(10):967-972.

Maina E, Cox E. A double blind, randomized, placebo-controlled trial of the efficacy, quality of life and safety of food allergen-specific sublingual immunotherapy in client owned dogs with adverse food reactions: a small pilot study. *Vet Dermatol* 2016; 27: 361–e91.

Marsella R, Olivry T. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XXII): nonsteroidal anti-inflammatory pharmacotherapy. *Vet Immunol Immunopathol* 2001;81(3-4):331-45.

Marsella R, Nicklin CF, Melloy C. The effects of capsaicin topical therapy in dogs with atopic dermatitis: a randomized, double-blinded, placebo-controlled, cross-over clinical trial. *Vet Dermatol* 2002;13(3):131-9.

Marsella R, Nocklin CF. Investigation on the use of 0.3% tacrolimus lotion for canine atopic dermatitis: a pilot study. *Vet Dermatol* 2002; 13, 203–210.

Marsella R, Nicklin CF, Saglio S, *et al.* Investigation on the clinical efficacy and safety of 0.1% tacrolimus ointment (Protopic®) in canine atopic dermatitis: a randomized, double-blinded, placebo-controlled, cross-over study. *Vet Dermatol* 2004; 15, 294–303.

Marsella R. Tolerability and clinical efficacy of oral immunotherapy with house dust mites in a model of canine Atopic dermatitis: a pilot study. *Vet Dermatol* 2010; 21:566–571.

Marsella R, Olivry T, Carlotti DN. Current evidence of skin barrier dysfunction in human and canine atopic dermatitis. *Vet Dermatol* 2011; 22, 239–248.

Marsella R. Fixing the skin barrier: past, present and future – man and dog compared. *Vet Dermatol* 2013; 24: 73–e18.

Marsella R, Ahrens K. A pilot study on the effect of oclacitinib on epicutaneous sensitization and transepidermal water loss in a colony of atopic beagle dogs. *Vet Dermatol* 2018; 29: 439–e146.

Marsella R, Ahrens K, Wilkes R, *et al.* Comparison of various treatment options for canine atopic dermatitis: a blinded, randomized, controlled study in a colony of research atopic beagle dogs. *Vet Dermatol* 2020; 31: 284–e69.

Marsella T, Segarra S, Ahrens K, *et al.* Topical treatment with Sphingolipid and Glycosaminoglycans for canine atopic dermatitis. *BMC Vet Res* 2020; 16:92.

Marsella R. Advances in our understanding of canine Atopic dermatitis. *Vet Dermatol* 2021; 32(6):547-e151.

Martini F, Favrot C, Baumann F, *et al.* Compassionate use of Allermune immunotherapy in a cat with mite associated skin and respiratory hypersensitivity. *Vet Dermatol* 2019; 30: 453–469.

Martini F, Favrot C, Rostaher A, *et al.* Allermune immunotherapy in feline atopic syndrome. *Vet Dermatol* 2021; 32:419-433.

Mauldin EA, Morris DO, Goldschmidt MH. Retrospective study: the presence of *Malassezia* in feline skin biopsies. A clinicopathological study. *Vet Dermatol* 2002; 13:7–14.

Mauldin EA, Ness TA, Goldschmidt MH. Proliferative and necrotizing otitis externa in four cats. *Vet Dermatol* 2007; 18:370–377.

McCall C, Hunter S, Stedman K, *et al.* Characterization and cloning of a major high molecular weight house dust mite allergen (Der f 15) for dogs. *Vet Immunol Immunopathol* 2001;78(3-4):231-47.

McClintock D, Austel M, Gogal RM, *et al.* Oral dexamethasone sodium phosphate solution significantly reduces pruritus and clinical lesions in feline hypersensitivity dermatitis: an open-label study. *Vet Dermatol* 2021; 32(5):497-e137.

McDermott MJ, Weber E, Hunter S, *et al.* Identification, cloning, and characterization of a major cat flea salivary allergen (Cte f 1). *Mol Immunol* 2000;37(7):361-75.

McLornan DP, Pope JE, Gotlib J, *et al.* Current and future status of JAK inhibitors. *Lancet* 2021;398(10302):803-816.

Michels GM, Ramsey DS, Walsh KF, *et al.* A blinded, randomized, placebo-controlled, dose determination trial of lokivetmab (ZTS-00103289), a caninized, anti-canine IL-31 monoclonal antibody in client owned dogs with atopic dermatitis. *Vet Dermatol* 2016; 27: 478–e129.

Miller WH, Scott DW. Clemastine fumarate as an antipruritic agent in pruritic cats: results of an open clinical trial. *Can Vet J* 1994;35(8):502-4.

Miragliotta V, Ricci PL, Albanese F, *et al.* Cannabinoid receptor types 1 and 2 and peroxisome proliferator-activated receptor- α : distribution in the skin of clinically healthy cats and cats with hypersensitivity dermatitis. *Vet Dermatol* 2018; 29: 316–e111.

Mocanu M, Vata D, Alexa AI, *et al.* Atopic Dermatitis—Beyond the Skin. *Diagnostics (Basel)* 2021; 11(9):1553.

Momota Y, Shimada K, Gin A, *et al.* Measurement of transepidermal water loss (TEWL) in cats with experimental skin barrier dysfunction using a closed chamber system. *Vet Dermatol* 2016; 27: 428–e110.

Moore A, Burrows, AK, Malik R, *et al.* Fatal disseminated toxoplasmosis in a feline immunodeficiency virus-positive cat receiving oclacitinib for feline atopic skin syndrome. *Vet Dermatol* 2022; doi: 10.1111/vde.13097.

Moote W, Kim H, Ellis AK. Allergen-specific immunotherapy. *Allergy Asthma Clin Immunol* 2018;14(2):53.

Moriello KA, Coyner K, Paterson S, *et al.* Diagnosis and treatment of dermatophytosis in dogs and cats. Clinical Consensus Guidelines of the World Association for Veterinary Dermatology. *Vet Dermatol* 2017; 28: 266–e68.

Moriello KA. Feline atopy in three littermates. *Vet Dermatol* 2001; 12:177–181.

Moya R, Ramió-Lluch L, Parody N, *et al.* Specific *Dermatophagoides farinae* extract for canine immunotherapy. *Vet Dermatol* 2021; 32:131–e29.

Moyaert H, Van Brussel L, Borowski S, *et al.* A blinded, randomized clinical trial evaluating the efficacy and safety of lokivetmab compared to ciclosporin in client-owned dogs with atopic dermatitis. *Vet Dermatol* 2017; 28: 593–e145.

Mueller RS, Janda J, Jensen-Jarolim E, *et al.* Allergens in veterinary medicine. *Allergy* 2016;71(1):27-35.

Mueller RS, Rosenkrantz W, Besignor E, *et al.* Diagnosis and treatment of demodicosis in dogs and cats. Clinical consensus guidelines of the World Association for Veterinary Dermatology. *Vet Dermatol* 2020; 31: 4–e2.

Mueller RS, Nuttal T, Prost C, *et al.* Treatment of the feline atopic syndrome – a systematic review. *Vet Dermatol* 2021; 32: 43–e8.

Mueller RS, Jensen-Jarolim E, Roth-Walter F, *et al.* Allergen immunotherapy in people, dogs, cats and horses - differences, similarities and research needs. *Allergy* 2018;73(10):1989-1999.

Mueller RS, Olivry T. Critically appraised topic on adverse food reactions of companion animals (6): prevalence of noncutaneous manifestations of adverse food reactions in dogs and cats. *BMC Vet Res* 2018; 14: 341.

Mueller RS, Unterer S. Adverse food reactions: Pathogenesis, clinical signs, diagnosis and alternatives to elimination diets. *Vet J* 2018; 236:89-95.

Mueller RS, Olivry T, Prelaud P. Critically appraised topic on adverse food reactions of companion animals (2): common food allergen sources in dogs and cats. *BMC Vet Res* 2016; 12:9.

Mueller RS, Fieseler KV, Zabel S, *et al.* Conventional and rush immunotherapy in canine atopic dermatitis (Abstract). *Vet Dermatol* 2004, 15 (S1), 1–19.

Nagata M, Ishidat T. Cutaneous reactivity to mosquito bites and its antigens in cats. *Vet Dermatol* 1997; 8:19-26.

Nakazato A, Momoi Y, Kadoya M, *et al.* Measurement of feline serum interleukin-5 level. *J Vet Med Sci* 2007;69(8):843-6.

Nedoszytko B, Reszka E, Gutowska-Owsiak D, *et al.* Genetic and Epigenetic Aspects of Atopic Dermatitis. *Int J Mol Sci* 2020;21(18):6484.

Noli C, Scarpella F. Prospective open pilot study on the use of ciclosporin for feline allergic skin disease. *J Small Anim Pract* 2006;47(8):434-8.

Noli C, Cena T. Comparison of FEDESI and SCORFAD scoring systems for the evaluation of skin lesions in allergic cats. *Vet Dermatol* 2015; 26: 481–e113.

Noli C, Della Valle MF, Miolo A, *et al.* Effect of dietary supplementation with ultramicronized palmitoylethanolamide in maintaining remission in cats with nonflea hypersensitivity dermatitis: a double-blind, multicentre, randomized, placebo-controlled study. *Vet Dermatol* 2019;30(5):387-e117.

Noli C, Borio S, Varina A, *et al.* Development and validation of a questionnaire to evaluate the Quality of Life of cats with skin disease and their owners, and its use in 185 cats with skin disease. *Vet Dermatol* 2016; 27: 247–e58.

Noli C, Matricoti I, Schievano C. A double-blinded, randomized, methylprednisolone controlled study on the efficacy of oclacitinib in the management of pruritus in cats with nonflea nonfood induced hypersensitivity dermatitis. *Vet Dermatol* 2019; 30: 110–e30.

Noli C, Beltrando G. The usefulness of a hydrolysed fish and rice starch elimination diet for the diagnosis of adverse food reactions in cats: an open clinical trial. *Vet Dermatol* 2021; 32: 326–e90.

Noon L. Prophylactic inoculation against hay fever. *Lancet* 1911; 4580(177):1572-1573.

Norris CR, Boothe DM, Esparza T *et al.* Disposition of cyproheptadine in cats after intravenous or oral administration of a single dose. *Am J Vet Res* 1998; 59: 79–81.

Norris CR, Decile KC, Byerly JR, *et al.* Production of polyclonal antisera against feline immunoglobulin E and its use in an ELISA in cats with experimentally induced asthma. *Vet Immunol Immunopathol* 2003;96(3-4):149-57.

Novak N, Bieber T, Allam JP. Immunological mechanisms of sublingual allergen-specific Immunotherapy. *Allergy* 2011; 66:733–739.

Nuttal TJ, Knight PA, McAlesse SM, *et al.* T-helper 1, T-helper 2 and immunosuppressive cytokines in canine atopic dermatitis. *Vet Immunol Immunopatol* 2002; 87:379-384.

Nuttal TJ, Steen RV, Cawood MI, *et al.* Feline dermatitis extent and severity index: a pilot study. *Vet Dermatol* 2004; 15 (1): 20–40.

Oda T, Morikawa N, Saito Y, *et al.* Molecular cloning and characterization of a novel type of histamine receptor preferentially expressed in leukocytes. *J Biol Chem* 2000;275(47):36781-6.

Okada H, Kuhn C, Feillet H, *et al.* The 'hygiene hypothesis' for autoimmune and allergic diseases: an update. *Clin Exp Immunol* 2010;160(1):1-9.

Older CE, Diesel AB, Heseltine JC, *et al.* Cytokine expression in feline allergic dermatitis and feline asthma. *Vet Dermatol* 2009; 31(1):6–109.

Older CE, Diesel A, Patterson AP, *et al.* The feline skin microbiota: The bacteria inhabiting the skin of healthy and allergic cats. *PLoS One* 2017;12(6): e0178555.

Older CE, Diesel AB, Lawhon SD, *et al.* The feline cutaneous and oral microbiota are influenced by breed and environment. *PLoS One* 2019;14(7): e0220463.

Older CE, Diesel AB, Starks JM, *et al.* Characterization of staphylococcal communities on healthy and allergic feline skin. *Vet Dermatol* 2021; 32: 61–e10.

Older CE, Diesel AB, Heseltine JC, *et al.* Cytokine expression in feline allergic dermatitis and feline asthma. *Vet Dermatol* 2021; 32(6):613-e163.

Olivry T, Rivierre C, Jackson HA, *et al.* Cyclosporine decreases skin lesions and pruritus in dogs with atopic dermatitis: a blinded randomized prednisolone-controlled trial. *Vet Dermatol* 2002; 13:77–87.

Olivry T, Mueller RS. Evidence-based veterinary dermatology: a systematic review of the pharmacotherapy of canine atopic dermatitis. *Vet Dermatol* 2003; 14: 121–46.

Olivry T, Wofford J, Paps JS, *et al.* Stratum corneum removal facilitates experimental sensitization to mite allergens in atopic dogs. *Vet Dermatol* 2010; 22:188–196.

Olivry T, DeBoer DJ, Favrot C, *et al.* Treatment of canine atopic dermatitis: 2010 clinical practice guidelines from the International Task Force on Canine Atopic Dermatitis. *Vet Dermatol* 2010; 21: 233–248.

Olivry T. Is the skin barrier abnormal in dogs with atopic dermatitis?. *Vet Immunol Immunopathol* 2011;144(1-2):11-6.

Olivry T, Bizikova P. A systematic review of randomized controlled trials for prevention or treatment of atopic dermatitis in dogs: 2008–2011 update. *Vet Dermatol* 2013; 24: 97–e26.

Olivry T, Saridomichelakis M, Nuttal T, *et al.* Validation of the Canine Atopic Dermatitis Extent and Severity Index (CADESI)-4, a simplified severity scale for assessing skin lesions of atopic dermatitis in dogs. *Vet Dermatol* 2014; 25: 77–e25.

Olivry T, DeBoer DJ, Favrot C, *et al.* Treatment of canine atopic dermatitis: 2015 updated guidelines from the International Committee on Allergic Diseases of Animals (ICADA). *BMC Vet Res* 2015; 11:210.

Olivry T, Mueller RS, Prelaud P. Critically appraised topic on adverse food reactions of companion animals (1): duration of elimination diets. *BMC Vet Res* 2015; 11:225.

Olivry T, Mueller RS. Critically appraised topic on adverse food reactions of companion animals (3): prevalence of cutaneous adverse food reactions in dogs and cats. *BMC Vet Res* 2017; 13:51.

Olivry T, Dunston SM, Favrot C, *et al.* The novel high molecular weight Dermatophagoides farinae protein Zen-1 is a major allergen in North American and European mite allergic dogs with atopic dermatitis. *Vet Dermatol* 2017; 28: 177–e38.

Olivry T, Bexley J, Mougeot I. Extensive protein hydrolyzation is indispensable to prevent IgE-mediated poultry allergen recognition in dogs and cats. *BMC Vet Res* 2017; 13:251.

Olivry T, Mueller RS. Critically appraised topic on adverse food reactions of companion animals (5): discrepancies between ingredients and labeling in commercial pet foods. *BMC Vet Res* 2018; 14:24.

Olivry T, Mueller RS. Critically appraised topic on adverse food reactions of companion animals (7): signalment and cutaneous manifestations of dogs and cats with adverse food reactions. *BMC Vet Res* 2019; 15:140.

Olivry T, Paps JS, Amalric N. Transient and reversible reduction of stratum corneum filaggrin degradation products after allergen challenge in experimentally mite-sensitized atopic dogs. *Vet Dermatol* 2021; 33(1):62-e20.

Oranje A. Practical issues on interpretation of scoring atopic dermatitis: SCORAD Index, objective SCORAD, patient-oriented SCORAD and Three-Item Severity score. *Curr Probl Dermatol* 2011; 41:149-155.

Ordeix L, Galeotti F, Scarampella F, *et al.* *Malassezia* spp. overgrowth in allergic cats. *Vet Dermatol* 2007; 18: 316–323.

Ortalda C, Noli C, Colombo S, *et al.* Oclacitinib in feline nonflea-, nonfood-induced hypersensitivity dermatitis: results of a small prospective pilot study of client-owned cats. *Vet Dermatol* 2015; 26: 235–e52.

Pajno GB, Caminiti L, Vita D, *et al.* Sublingual immunotherapy in mite-sensitized children with atopic dermatitis: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *J Allergy Clin Immunol* 2007;120(1):164-70.

Palomares O, Akdis M, Martin-Fontecha M, *et al.* Mechanisms of immune regulation in allergic diseases: the role of regulatory T and B cells. *Immunol Rev* 2017;278(1):219-236.

Pandolfi P, Beccati M. Head and neck feline dermatitis: response to oclacitinib treatment. *Vet Dermatol* 2016; 27(1):6-121.

Papich MG, Schooley EK, Reiner CR. Pharmacokinetics of cetirizine in healthy cats. *Am J Vet Res* 2008; 69: 670–674.

Parys M, Yuzbasiyan-Gurkan V, Kruger JM. Serum cytokine profiling in cats with acute idiopathic cystitis. *J Vet Intern Med* 2018; 32:274–279.

Passalacqua G, Albano M, Fregonese L, *et al.* Randomised controlled trial of local allergoid immunotherapy on allergic inflammation in mite-induced rhinoconjunctivitis. *Lancet* 1998;351(9103):629-32.

Peng Z, Arthur G, Rector ES, *et al.* Heterogeneity of polyclonal IgE characterized by differential charge, affinity to protein A, and antigenicity. *J Allergy Clin Immunol* 1997;100(1):87-95.

Petrosino S, Moriello AS, Cerrato S, *et al.* The anti-inflammatory mediator palmitoylethanolamide enhances the levels of 2-arachidonoyl-glycerol and potentiates its actions at TRPV1 cation channels. *Br J Pharmacol* 2016;173(7):1154-62.

Pfaar O, Bousquet J, Durham SR, *et al.* One hundred and ten years of Allergen Immunotherapy: A journey from empiric observation to evidence. *Allergy* 2022;77(2):454-468.

Pierezan F, Olivry T, Paps JS, *et al.* The skin microbiome in allergen-induced canine atopic dermatitis. *Vet Dermatol* 2016; 27: 332–e82.

Pinto M, Marto J, Ramio-Lluch L, *et al.* Epicutaneous immunotherapy as a novel route of allergen administration in dogs with atopic dermatitis: a proof-of-concept study. *Vet Dermatol* 2021; 32:419-433.

Plant JD, Gortel K, Kovalk M, *et al.* Development and validation of the Canine Atopic Dermatitis Lesion Index, a scale for the rapid scoring of lesion severity in canine atopic dermatitis. *Vet Dermatol* 2012; 23: 515–e103.

Pomés A, Mueller GA, Chruszcz M. Structural Aspects of the Allergen-Antibody Interaction. *Front Immunol* 2020; 11:2067.

Preziosi DE, Goldschmidt MH, Greek JS, *et al.* Feline pemphigus foliaceus: a retrospective analysis of 57 cases. *Vet Dermatol* 2003; 14:313-321.

Pucheu-Haston CM, Bizikova P, Marsella R, *et al.* Review: Lymphocytes, cytokines, chemokines and the T-helper 1–T-helper 2 balance in canine atopic dermatitis. *Vet Dermatol* 2015; 26: 124–e32.

Puigdemont A, D'Andreano S, Ramió-Lluch L, *et al.* Effect of an anti-inflammatory pomegranate otic treatment on the clinical evolution and microbiota profile of dogs with otitis externa. *Vet Dermatol* 2021; 32: 158–e37.

Ramió-Lluch L, Puigdemont A. Safety and efficacy of two accelerated schedules of subcutaneous allergen immunotherapy in canine atopic dermatitis (Poster). In Digital Congress of European Academy of allergy and clinical immunology (EACCI) 2020.

Ravens PA, Xu BJ, Vogelnest LJ. Feline atopic dermatitis: a retrospective study of 45 cases (2001–2012). *Vet Dermatol* 2014; 25: 95–e28.

Reinero CR, Bywely JR, Berghaus RD, *et al.* Rush immunotherapy in an experimental model of feline allergic asthma. *Vet Immunol Immunopathol* 2006;110(1-2):141-53.

Reinero CR. Feline immunoglobulin E: historical perspective, diagnostics and clinical relevance. *Vet Immunol Immunopathol* 2009;132(1):13-20.

Reinero, C. An experimental janus kinase (JAK) inhibitor suppresses eosinophilic airway inflammation in experimental feline asthma. In Proceedings of the American College of Veterinary Internal Medicine Forum; 2013 June 12–15; Seattle, WA. New York: Currant Associated, 2013, pp 475–476.

Ribatti D. The discovery of immunoglobulin E. *Immunol Lett* 2016; 171:1-4.

Roberts ES, Speranza C, Friberg C, *et al.* Confirmatory field study for the evaluation of ciclosporin at a target dose of 7.0 mg/kg (3.2 mg/lb) in the control of feline hypersensitivity Dermatitis. *J Feline Med Surg* 2016; 18(11):889–897.

Roesner LM, Werfel T. Autoimmunity (or Not) in Atopic Dermatitis. *Front Immunol* 2019; 10:2128.

Rodrigues A. The cutaneous ecosystem: the roles of the skin microbiome in health and its association with inflammatory skin conditions in humans and animals. *Vet Dermatol* 2017; 28: 60–e15.

Roosje PJ, Whitaker-Menezes D, Goldschmidt MH, *et al.* Feline atopic dermatitis. A model for Langerhans cell participation in disease pathogenesis. *Am J Pathol* 1997;151(4):927-32.

Roosje PJ, van Kooten PJ, Thepen T, *et al.* Increased numbers of CD4+ and CD8+ T cells in lesional skin of cats with allergic dermatitis. *Vet Pathol* 1998;35(4):268-73.

Roosje PJ, Dean GA, Willemse T, *et al.* Interleukin 4–producing CD4+ T Cells in the skin of cats with allergic dermatitis. *Vet Pathol* 2002; 39:228–233.

Roosje PJ, Koeman JP, Thepen T, *et al.* Mast cells and eosinophils in feline allergic dermatitis: a qualitative and quantitative analysis. *J Comp Pathol* 2004;131(1):61-9.

Rossi MA, Messinger L, Olivry T, *et al.* A pilot study of the validation of percutaneous testing in cats. *Vet Dermatol* 2013; 24: 488–e115.

Rostaher A, Fischer NM, Urwyler A, *et al.* Circulating CD4(+) CD25(+) Foxp3(+) T regulatory cell levels in an experimental model of canine atopic dermatitis. *Vet Dermatol* 2018; 29: 511–e171.

Rostaher A, Zwickl L, Akdis C, *et al.* The role of early life exposures to house dust mite allergens and endotoxins in the development of canine atopy: a birth cohort study from West Highland white terriers. *Vet Dermatol* 2021; 32:419-433.

Rybníček J, Lau-Gillard PJ, Harvey R, *et al.* Further validation of a pruritus severity scale for use in dogs. *Vet Dermatol* 2009;20(2):115-22.

Sakamoto M, Asahina R, Kamishina H, *et al.* Transcription of thymic stromal lymphopoietin via Toll-like receptor 2 in canine keratinocytes: a possible association of *Staphylococcus* spp. in the deterioration of allergic inflammation in canine atopic dermatitis. *Vet Dermatol* 2016; 27: 184–e46.

Salvati L, Cosmi L, Annunziato F. From emollients to biologicals: targeting Atopic Dermatitis. *F Int J Mol Sci* 2021;22(19):10381.

Sanjabi S, Oh SA, Li MO. Regulation of the immune response by TGF- β : From conception to autoimmunity and infection. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2017;9(6): a022236.

Santoro D, Marsella R, Ahrens K, *et al.* Altered mRNA and protein expression of filaggrin in the skin of a canine animal model for atopic dermatitis. *Vet Dermatol* 2013; 24: 329–e73.

Santoro D, Marsella R, Pucheu-Haston CM, *et al.* Review: Pathogenesis of canine atopic dermatitis: skin barrier and host–micro-organism interaction. *Vet Dermatol* 2015; 26: 84–e25.

Santoro D, Pucheu-Haston CM, Prost C, *et al.* Clinical signs and diagnosis of feline atopic syndrome: detailed guidelines for a correct diagnosis. *Vet Dermatol* 2021; 32: 26–e6.

Saridomichelakis MN, Koutinas AF, Gioulekas D, *et al.* Sensitization to dust mites in cats with *Otodectes cynotis* infestation. *Vet Dermatol* 1999; 10:89-94.

Sauvé F. Use of topical glucocorticoids in veterinary dermatology. *Can Vet J* 2019;60(7):785-788.

Shimakura H, Kowano K. Results of food challenge in dogs with cutaneous adverse food reactions. *Vet Dermatol* 2021; 32: 293–e80.

Scadding GK, Brostoff J. Low dose sublingual therapy in patients with allergic rhinitis due to house dust mite. *Clin Allergy* 1986;16(5):483-91.

Schleifer SG, Willemse T. Evaluation of skin test reactivity to environmental allergens in healthy cats and cats with atopic dermatitis. *Am J Vet Res* 2003 Jun;64(6):773-8.

Schlotter YM, Ruttenb V, Riemersa FM, *et al.* Lesional skin in atopic dogs shows a mixed type-1 and type-2 immune responsiveness. *Vet Immunol Immunopatol* 2011; 143:20-26

Schmidt V, Buckley LM, McEwan A, *et al.* Efficacy of a 0.0584% hydrocortisone aceponate spray in presumed feline allergic dermatitis: an open label pilot study. *Vet Dermatol* 2011; 23, 11–e4.

Scholz FM, Burrows AK, Griffin CE, *et al.* Determination of threshold concentrations of plant pollens in intradermal testing using fluorescein in clinically healthy nonallergic cats. *Vet Dermatol* 2017; 28: 351–e78.

Schram ME, Spuls PI, Leeflang MMG, *et al.* EASI, (objective) SCORAD and POEM for atopic eczema: responsiveness and minimal clinically important difference. *Allergy* 2012;67(1):99-106.

Schulten V, Tripple V, Aasbjerg K, *et al.* Distinct modulation of allergic T cell responses by subcutaneous versus sublingual allergen-specific immunotherapy. *Clin Exp Allergy* 2016; 46(3):439-448.

Schmidt V, Buckley LM, MacEwan NA, *et al.* Efficacy of a 0.0584% hydrocortisone aceponate spray in presumed feline allergic dermatitis: an open label pilot study. *Vet Dermatol* 2011; 23, 11–e4.

Scott DW, Edginton HD, Miller WH, *et al.* An open clinical trial of the efficacy of loratadine for the management of allergic pruritus in 27 cats. *Jpn J Vet Dermatol* 2015; 21(1):7-9.

Scott DW, Rothstein E, Beningo KE, *et al.* Observations on the use of cyproheptadine hydrochloride as an antipruritic agent in allergic cats. *Can Vet J* 1998;39(10):634-7.

Scott DW, Miller WH, Erb HN. Feline dermatology at Cornell University: 1407 cases (1988–2003). *J Feline Med Surg* 2012; 15(4):307–316.

Scott DW, Miller WH. Feline Atopic dermatitis: a retrospective study of 194 cases (1988-2003). *Jpn J Vet Dermatol* 2013; 19(3):135-147.

Senti G, Vavricka BMP, Erdmann I, *et al.* Intralymphatic allergen administration renders specific immunotherapy faster and safer: a randomized controlled trial. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008 ;105(46):17908-12.

Senti G, Cramer R, Kuster D, *et al.* Intralymphatic immunotherapy for cat allergy induces tolerance after only 3 injections. *J Allergy Clin Immunol* 2012;129(5):1290-6.

Shaw SC, Wood JLN, Freeman J, *et al.* Estimation of heritability of atopic dermatitis in Labrador and Golden Retrievers. *Am J Vet Res* 2004;65(7):1014-20.

Shimakura H, Kawano K. Results of food challenge in dogs with cutaneous adverse food reactions. *Vet Dermatol* 2021;32(3):293-e80.

Sidbury R, Davod DM, Cohen DE, *et al.* Guidelines of care for the management of atopic dermatitis. Part 3: Management and treatment with phototherapy and systemic agents. *J Am Acad Dermatol* 2014; 71(2):327-349.

Simou C, Thoday KL, Forsythe PJ, *et al.* Adherence of *Staphylococcus intermedius* to corneocytes of healthy and atopic dogs: effect of pyoderma, pruritus score, treatment, and gender. *Vet Dermatol* 2005; 16, 385–39.

Simpson AC, Schissler JR, Rosychuk RAW, *et al.* The frequency of urinary tract infection and subclinical bacteriuria in dogs with allergic dermatitis treated with oclacitinib: a prospective study. *Vet Dermatol* 2017; 28: 485–e113.

Sinke JD, Thepen T, Bihari IC, *et al.* Immunophenotyping of skin infiltrating T-cell subsets in dogs with atopic dermatitis. *Vet Immunol Immunopathol* 1997; 57: 13–23.

Slavyanakaya TA, Derkach VV, Sepiashvili RI. Debates in allergy medicine: specific immunotherapy efficiency in children with atopic dermatitis. *World Allergy Organ J* 2016; 9:15.

Sokolowska M, Boonpiyathad T, Escribese MM, *et al.* Allergen-specific immunotherapy: Power of adjuvants and novel predictive biomarkers. *Allergy* 2019;74(11):2061-2063.

Solimani F, Meier K, Ghoreschi. Emerging topical and systemic JAK Inhibitors in dermatology. *Front Immunol* 2019; 10:2847.

Souza CP, Rosychuk RAW, Contreras ET, *et al.* A retrospective analysis of the use of lokivetmab in the management of allergic pruritus in a referral population of 135 dogs in the western USA. *Vet Dermatol* 2018; 29: 489–e164.

Sptiznagel MB, Hillier A, Gober M, *et al.* Treatment complexity and caregiver burden are linked in owners of dogs with allergic/atopic dermatitis. *Vet Dermatol* 2021; 32: 192–e50.

Steffan J, Roberts E, Cannon A, *et al.* Dose tapering for ciclosporin in cats with nonflea-induced hypersensitivity dermatitis. *Vet Dermatol* 2013; 24: 315–e70.

Steffan J, Olivry T, Forster SL, *et al.* Responsiveness and validity of the SCORFAD, an extent and severity scale for feline hypersensitivity dermatitis. *Vet Dermatol* 2012; 23: 410–e77.

Sutton BJ, Davies AM, Bax HJ, *et al.* IgE Antibodies: From structure to function and clinical translation. *Antibodies (Basel)* 2019;8(1):19.

Schwartz DM, Kanno Y, Villarino A, *et al.* JAK inhibition as a therapeutic strategy for immune and inflammatory diseases. *Nat Rev Drug Discov* 2017;17(1):78.

Szczepanik MP, Wilkołek PM, Adamek LR, *et al.* The examination of biophysical parameters of skin (transepidermal water loss, skin hydration and pH value) in different body regions of normal cats of both sexes. *J Feline Med Surg* 2011; 13:224-230.

Szczepanik MP, Wilkołek PM, Adamek LR, *et al.* Evaluation of the correlation between Scoring Feline Allergic Dermatitis and Feline Extent and Severity Index and skin hydration in atopic cats. *Vet Dermatol* 2018; 29: 34–e16.

Szczepanik MP, Wilkołek PM, Adamek LR, *et al.* Correlation between transepidermal water loss (TEWL) and severity of clinical symptoms in cats with atopic dermatitis. *Can J Vet Res* 2018;82(4):306-311.

Szczepanik MP, Wilkołek PM, Adamek LR, *et al.* Transepidermal water loss and skin hydration in healthy cats and cats with non-flea non-food hypersensitivity dermatitis (NFNFD). *Pol J Vet Sci* 2019;22(2):237-242.

Taglinger K, Helps CR, Day MJ, *et al.* Measurement of serum immunoglobulin E (IgE) specific for house dust mite antigens in normal cats and cats with allergic skin disease. *Vet Immunol Immunopathol* 2005;105(1-2):85-93.

Taglinger K, Day MJ, Foster AP. Characterization of inflammatory cell infiltration in feline allergic skin disease. *J Comp Pathol* 2007;137(4):211-223.

Taglinger K, Van Nguyen N, Helps CR, *et al.* Quantitative real-time RT-PCR measurement of cytokine mRNA expression in the skin of normal cats and cats with allergic skin disease. *Vet Immunol Immunopathol* 2008;122(3-4):216-30.

Tham HK, Olivry T. Determination of the efficacy rate and time-to-efficacy of subcutaneous immunotherapy in dogs with atopic dermatitis. *Vet Dermatol* 2021; doi: 10.1111/vde.13048 (Online ahead of print).

Thurmond RL, Gelfand EW, Dunford PJ. The role of histamine H1 and H4 receptors in allergic inflammation: the search for new antihistamines. *Nat Rev Drug Discov* 2008;7(1):41-53.

Thyssen JP, Kezic S. Causes of epidermal filaggrin reduction and their role in the pathogenesis of atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 2014; 134(4):792-799.

Timm K, Mueller RS, Nett-Mettler CS. Long-term effects of intralymphatic immunotherapy (ILIT) on canine atopic dermatitis. *Vet Dermatol* 2018; 29: 123–e49.

Trimmer AM, Griffin GE, Boord MJ, *et al.* Rush allergen specific immunotherapy protocol in feline atopic dermatitis: a pilot study of four cats. *Vet Dermatol* 2005; 16:324-329.

Tunhikorn M, Scott DW, Erb HN. The significance of the numbers of mast cells in the evaluation of skin-biopsy specimens from cats with inflammatory dermatoses. *Jpn J Vet Dermatol* 2015; 21(2):63-69.

Vapalahti K, Virtala AM, Joensuu TA, *et al.* Health and behavioral survey of over 8000 Finnish cats. *Front Vet Sci* 2016; 3:70.

Vargo C, Gogal R, Barber J, *et al.* Characterisation of the serum cytokine profile in feline atopic skin syndrome. *Vet Dermatol* 2021; 32(5):485-e133.

Vercelli A, Raviri G, Cornegiani L. The use of oral cyclosporin to treat feline dermatoses: a retrospective analysis of 23 cases. *Vet Dermatol* 2006; 17:201–206.

Virtanen AT, Haikarainen T, Raivola J, *et al.* Selective JAKinibs: Prospects in inflammatory and autoimmune diseases. *BioDrugs* 2019;33(1):15-32.

Wachholz PA, Soni NK, Till SJ, *et al.* Inhibition of allergen-IgE binding to B cells by IgG antibodies after grass pollen immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 2003;112(5):915-22.

Wahn U, Bachert C, Heinrich J, *et al.* Real-world benefits of allergen immunotherapy for birch pollen-associated allergic rhinitis and asthma. *Allergy* 2019;74(3):594-604.

Wang Y, Kong Y, Wu MX. Innovative systems to deliver allergen powder for epicutaneous immunotherapy. *Front Immunol* 2021; 12:647954.

Weber ER, Helps CR, Foster AP, *et al.* Molecular cloning and phylogenetic analysis of a cDNA encoding the cat (*Felis domesticus*) Ig epsilon constant region. *Vet Immunol Immunopathol* 2000;76(3-4):299-308.

Weber E, Hunter S, Stedman K, *et al.* Identification, characterization, and cloning of a complementary DNA encoding a 60-kd house dust mite allergen (Der f 18) for human beings and dogs. *J Allergy Clin Immunol* 2003;112(1):79-86.

Weese JS. The canine and feline skin microbiome in health and disease. *Vet Dermatol* 2013; 24: 137–e31.

Wheeler DW, Civil J, Payne-Johnson M *et al.* Oclacitinib for the treatment of pruritus and lesions associated with canine flea allergic dermatitis. *Vet Dermatol* 2012; 23(Suppl 1): 38–39.

Wildermuth K, Zabel S, Rosychuk RAW. The efficacy of cetirizine hydrochloride on the pruritus of cats with atopic dermatitis: a randomized, double-blind, placebo-controlled, crossover study. *Vet Dermatol* 2013; 24: 576–e138.

Wilhem S, Kovalik M, Favrot C. Breed-associated phenotypes in canine atopic dermatitis. *Vet Dermatol* 2010; 22:143–149.

Willemse A, Van den Brom WE, Rijnberk A. Effect of hyposensitization on atopic dermatitis in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 1984;184(10):1277-80.

Wisselink MA, Willemse T. The efficacy of cyclosporine A in cats with presumed atopic dermatitis: a double blind, randomised prednisolone-controlled study. *Vet J* 2009;180(1):55-9.

Wittich FW. Spontaneous allergy (atopy) in the lower animal. Seasonal hay fever (fall type) in a dog. *Allergy* 1941; 12(3):247-251.

Wohlrab J, Kreft B, Scholz LS. Anti-inflammatory topical medication – new developments in the treatment of atopic dermatitis. *Allergol Select* 2021; 5: 260–264.

Wolf R, Wolf D. Abnormal epidermal barrier in the pathogenesis of atopic dermatitis. *Clin Dermatol* 2012;30(3):329-34.

Wollenberg A, Barbarot S, Bieber T, *et al.* Consensus-based European guidelines for treatment of atopic eczema (atopic dermatitis) in adults and children: part II. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2018;32(6):850-878.

Woolley KL, Kelly RF, Fazakerley J, *et al.* Reduced in vitro adherence of Staphylococcus species to feline corneocytes compared to canine and human corneocytes. *Vet Dermatol* 2007; 19:1–6.

Worm M, Francuzik W, Kraft M, *et al.* Modern therapies in atopic dermatitis: biologics and small molecule drugs. *J Dtsch Dermatol Ges* 2020;18(10):1085-1092.

Xiong H, Curotto de Lafaille MA, Lafaille JJ. What is unique about the IgE response?. *Adv Immunol* 2012; 116:113-41.

Yang G, Seok JK, Kang HC, *et al.* Skin barrier abnormalities and immune dysfunction in Atopic Dermatitis. *Int J Mol Sci* 2020;21(8):2867.

You HS, Yang MY, Kim GW, *et al.* Effectiveness of specific sublingual immunotherapy in Korean patients with Atopic Dermatitis. *Ann Dermatol* 2017;29(1):1-5.

Yu HW, Vogelnest LJ. Feline superficial pyoderma: a retrospective study of 52 cases (2001–2011). *Vet Dermatol* 2012; 23: 448–e86.

Yukselen A, Kendirli SG, Yilmaz M, *et al.* Effect of one-year subcutaneous and sublingual immunotherapy on clinical and laboratory parameters in children with rhinitis and asthma: a randomized, placebo-controlled, double-blind, double-dummy study. *Int Arch Allergy Immunol* 2012;157(3):288-98.

Yukselen A, Kendirli SG, Yilmaz M, *et al.* Two year follow-up of clinical and inflammation parameters in children monosensitized to mites undergoing subcutaneous and sublingual immunotherapy. *Asian Pac J Allergy Immunol* 2013;31(3):233-41.

Zhou X, Hohman AE, Hsu WH. Current review of isoxazoline ectoparasitocides used in veterinary medicine. *J Vet Pharmacol Ther* 2022;45(1):1-15.

Zinkernagel RM, Ehl S, Aichele P, *et al.* Antigen localisation regulates immune responses in a dose- and time-dependent fashion: a geographical view of immune reactivity. *Immunol Rev* 1997; 156:199-209.

Zuzzi-Krebitz AM, Herrmann I, Skalova N, *et al.* Adverse effects in cats treated with subcutaneous allergen-specific immunotherapy: results of a worldwide survey of 116 veterinarians. *Vet Dermatol* 2021; 32:419-433.

