



UNISUL

UNIVERSIDADE DO SUL DE SANTA CATARINA

GERMANA SLOMSKI JOLY

**AVALIAÇÃO DE PH CUTÂNEO DE CÃES DA RAÇA SHIH TZU
COM DERMATITE ATÓPICA**

**Tubarão
2018**

UNIVERSIDADE DO SUL DE SANTA CATARINA

GERMANA SLOMSKI JOLY

**AVALIAÇÃO DE PH CUTÂNEO DE CÃES DA RAÇA SHIH TZU
COM DERMATITE ATÓPICA**

Resultados do Projeto de Pesquisa apresentado ao Curso de Medicina Veterinária, da Universidade do Sul de Santa Catarina, como requisito parcial à aprovação na disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso II.

Orientador: Prof. Adriano de Souza Neto, Me.

**Tubarão
2018**

UNIVERSIDADE DO SUL DE SANTA CATARINA

GERMANA SLOMSKI JOLY

**AVALIAÇÃO DE PH CUTÂNEO DE CÃES DA RAÇA SHIH TZU
COM DERMATITE ATÓPICA**

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado, como requisito parcial à aprovação na disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso II do Curso Medicina Veterinária da Universidade do Sul de Santa Catarina.

Tubarão, 06 de junho de 2018.

Professor e orientador Adriano de Souza Neto, Me.
Universidade do Sul de Santa Catarina

Professora Silvia Resende Terra, Dr^a.
Universidade do Sul de Santa Catarina

Raniere Gaertner, Me.
Médico veterinário autônomo

RESUMO

A dermatite atópica canina (DAC) é uma dermatose inflamatória que leva a uma deficiência na barreira cutânea tornando-a mais susceptível a prurido e infecções secundárias. O aumento do pH cutâneo contribui para a inflamação epitelial, intensificando as alterações ocorridas na DAC. Este estudo mensurou os valores de pH cutâneo em 18 diferentes regiões anatômicas de cães da raça Shih Tzu diagnosticados com DAC. Foram avaliados 24 cães, sendo 14 fêmeas e 10 machos. Os cães selecionados estavam na faixa etária entre 1 a 10 anos de idade. A mensuração dos valores de pH foi realizada através de pHmetro cutâneo portátil, avaliando os seguintes parâmetros: região do corpo, sexo e castrado/inteiro. A análise comparativa nas regiões corporais de fêmeas e machos, apresentaram resultado médio mais alcalino para ambos os grupos na região perilabial com pH de 7,18 nas fêmeas e 7,69 nos machos, com significância estatística ($p < 0,0001$). Na avaliação comparativa de fêmeas versus machos e castrados versus inteiros não houve diferença estatística ($p > 0,9999$). Na comparação de locais do corpo dos castrados e inteiros os valores mais elevados também ficaram na região perilabial, com alteração estatística significativa ($p < 0,0001$), e pH médio de 7,38 nos castrados e 7,43 nos inteiros. No entanto no presente estudo, nem todas as regiões anatômicas aferidas o pH foi alcalino com significância estatística em cães com DAC. Por se tratar de uma síndrome complexa, e que diversos outros fatores concomitantes podem influenciar na etiopatogenia da doença, se faz necessário a realização de mais investigações e estudos amplos sobre este tema.

PALAVRAS-CHAVE: piodermite. pele alcalina. barreira da pele

ABSTRACT

Canine atopic dermatitis (CAD) is an inflammatory dermatosis that leads to a deficiency in the skin barrier making it prone to pruritus and secondary infections. Increased cutaneous pH contributes to epithelial inflammation, enhancing changes in CAD. The purpose of this study is to measure the values of cutaneous pH at 18 different anatomic areas of the dog breed Shih Tzu diagnosed with CAD. During the study, 24 dogs were evaluated, 14 females and 10 males. The selected dogs ranged between 1 and 10 years. Portable skin pH-meter was used as a tool to determine the pH value. The following parameters were evaluated: different body parts of females, males, castrated/intact. The comparative analysis of the body parts of females and males presented alkaline mean result for both groups in the perioral region with pH of 7.18 in females and 7.69 in males, that presented significantly differing statistics ($p < 0.0001$). In the evaluation of the parameters female versus male and castrated versus intact, there were no statistical difference ($p > 0.9999$). In the comparison between castrated and intact body parts, the highest values were likewise found in the perioral region, with significantly differing statistics ($p < 0.0001$) with a mean pH of 7.38 in the castrated and 7.43 in the intact. Nonetheless in this study not all anatomic regions evaluated presented alkaline pH values with no significantly differing statistics in dogs with CAD. Due to the complexity of the syndrome and that several other associated factors could influence the etiopathogeny of the disease, further investigation and studies on this subject are necessary.

KEYWORDS: pyodermitis. alkaline pH. skin barrier.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Camadas da Epiderme.....	8
Figura 2 - Estrato Córneo.....	9
Figura 3 – Distribuição comum de lesões clínicas e prurido associados com dermatite canina.....	17
Figura 4 – Áreas anatômicas que serão mensuradas o pH cutâneo.....	22

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Fatores que afetam o PH do estrato córneo.....	11
Tabela 2 – Fatores ambientais que podem estar associados com o desenvolvimento da dermatite atópica canina.....	16
Tabela 3 – Doenças pruriginosas de pele que afetam cães.....	18

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	4
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	5
2.1	HISTÓRICO.....	5
2.2	ELETRODO DE VIDRO	5
2.3	A ORIGEM DO PH.....	6
2.4	MORFOLOGIA E FUNÇÃO DA PELE	6
2.5	EPIDERME	7
2.6	ESTRATO CÓRNEO.....	9
2.7	FUNÇÕES DO PH DA PELE.....	10
2.8	PH FISIOLÓGICO DA PELE.....	10
2.9	PH E A INTEGRIDADE DO ESTRATO CÓRNEO	11
2.10	MENSURAÇÃO DO PH CUTÂNEO	12
2.11	MICROBIOTA E PH	13
2.12	DERMATITE ATÓPICA.....	13
2.13	FISIOPATOGÊNESE DA DERMATITE ATÓPICA	14
2.14	FATORES AMBIENTAIS.....	15
2.15	PH DA PELE NA DERMATITE ATÓPICA	16
2.16	SINAIS CLÍNICOS DA DERMATITE ATÓPICA.....	16
2.17	MICROBIOTA CUTÂNEA NA DERMATITE ATÓPICA	17
2.18	DIAGNÓSTICO DA DERMATITE ATÓPICA.....	18
2.19	TRATAMENTO.....	18
3	MATERIAL E MÉTODOS	21
3.1	MATERIAL E MÉTODOS PROPOSTO	21
3.2	MATERIAL E MÉTODOS REALIZADO.....	22
3.3	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	23
4	RESULTADOS	23
5	ARTIGO CIENTÍFICO.....	24
6	CONCLUSÃO.....	39
	REFERÊNCIAS	40
	ANEXO.....	43
	ANEXO A – Aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA/UNISUL...	44

ANEXO B – Normas para Publicação na Revista MEDVEP (Revista Científica De Medicina Veterinária – Pequenos Animais E Animais De Estimação)	45
--	-----------

1 INTRODUÇÃO

Parâmetros biofísicos são medidos para avaliar as funções da barreira cutânea na pele de mamíferos, sendo que uma dessas mensurações realizadas é o valor do pH cutâneo.

A mensuração do pH é um parâmetro muito útil para monitorar pacientes com doenças de pele, uma vez que se observa que a maioria das dermatoses são acompanhadas de uma alcalinização da superfície cutânea. Esta aferição fornece importantes informações sobre o mecanismo de regulação para a manutenção da integridade e coesão do estrato córneo, bem como da homeostasia e função antimicrobiana. O conhecimento das alterações do pH na pele e os fatores que os influenciam é, portanto, essencial para compreensão das mudanças fisiológicas na função da barreira cutânea.

O papel fisiológico de uma superfície acidificada da pele é um mecanismo de defesa contra microrganismos invasores, sendo que a síntese e a manutenção de uma pele competente dependem de diversas enzimas que também são alteradas pelo pH.

Cães com dermatite atópica apresentam alteração na barreira cutânea que pode levar à penetração de microrganismos que por sua vez estimulam a resposta imune e aumentam o processo inflamatório. Muitos dos defeitos na barreira cutânea que têm sido descritos na dermatite atópica têm origem no estrato córneo. Portanto, é preciso ter uma visão mais ampla das variações no pH de cães com dermatite atópica e sua relação com a barreira cutânea.

Este trabalho tem como principal objetivo realizar a mensuração do pH cutâneo de cães da raça Shih Tzu com dermatite atópica, a aferição será feita em momento de crise alérgica, ou seja, com presença de prurido, eritema e infecções bacterianas secundárias. Os valores de pH serão coletados de regiões específicas anatômicas, quantificando e demonstrando estes valores de acordo com a idade e sexo do cão.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 HISTÓRICO

A medição do pH da pele teve início no século XIX, uma vez que Heuss foi o primeiro a encontrar evidências de substâncias ácidas nas camadas superiores da pele humana. Os indicadores de pH nesta época eram realizados por determinação colorimétrica (SCHMID-WENDTNER e KORTING, 2006).

No século XX, Schade e Marchionini foram os primeiros a utilizar o termo "manto ácido" para descrever a natureza ácida inerente do estrato córneo. Utilizaram um eletrodo de hidrogênio denominado "Glockenelektrode" para as suas investigações (ALI e YOSIPOVITCH, 2013).

Os métodos de mensuração e equipamento para medir o pH da superfície da pele foram significativamente desenvolvidos durante o último século. No final da década de 40, Blank introduziu o eletrodo de vidro na dermatologia, tornando possível as medições de pH de forma rotineira. (EHLERS et al., 2001; SCHMID-WENDTNER e KORTING, 2006).

É um método fácil, rápido e econômico, o aparelho possui uma sonda constituída por um eletrodo de medida, sensível aos íons de hidrogênio e por um eletrodo de referência. Para requisitos específicos de medidas de pH da pele, um eletrodo plano foi desenvolvido, obtendo assim maior contato entre o eletrodo e a superfície da pele mensurada (EHLERS et al., 2001; SCHMID-WENDTNER e KORTING, 2006).

2.2 ELETRODO DE VIDRO

O eletrodo de vidro é baseado em potenciometria, ocorre a produção de um potencial na zona de interface entre a solução teste e a membrana de vidro. O eletrodo de vidro é preenchido por uma solução tampão interna onde é feita a determinação da atividade dos íons de hidrogênio utilizando eletrodo de medida, de referência e dispositivo, transformando a atividade química dos íons em sinais elétricos. O eletrodo de referência transmite o potencial a membrana de vidro e faz o transporte de íons entre a solução de teste e a solução tampão interna, portanto é importante lembrar que a pele do paciente não deve estar totalmente seca durante as medições (EHLERS et al., 2001; SCHMID-WENDTNER e KORTING, 2006).

As variações elétricas de ambos os eletrodos mostra a diferença de potencial elétrico até atingir o equilíbrio entre o potencial eletroquímico dos íons de hidrogênio na solução e a membrana de vidro (SCHMID-WENDTNER e KORTING, 2006).

É um método não invasivo, a corrente elétrica formada é pequena e constante, não causando nenhum dano ao paciente. É produzida uma pequena tensão elétrica que é medida e exibida como um valor do pH (EHLERS et al., 2001).

2.3 A ORIGEM DO PH

O termo pH é uma abreviatura do termo latim “*pondus hydrogenii*” que significa peso do hidrogênio. O símbolo pH é usado para indicar a concentração de íons de hidrogênios (H⁺) em uma solução. Especificamente, o pH representa o recíproco logarítmico da concentração de H⁺ ($\text{pH} = \log 1 / \text{H}^+$). Um pH 7,0 é considerado neutro. Já o pH < 7,0 é considerado ácido, enquanto um pH > 7,0 é considerado alcalino. Portanto, a medida que o número de pH aumenta a concentração de H⁺ diminui (MATOUSEK e CAMPBELL, 2002).

É importante lembrar que o pH é medido em uma escala logarítmica com 10 como base, o que significa que cada alteração de 1 unidade de pH corresponde a uma alteração de 10 vezes na concentração de H⁺. A diferença entre um pH de 5,0 e 5,3 ($0,5 \times 10^{-5}$ gramas de íons por litro) é maior que a diferença entre um pH de 7,0 e 7,3 ($0,5 \times 10^{-7}$ gramas por litro). Além disso, devido à escala logarítmica, a concentração de H⁺ a um pH de 5,0, é duas vezes maior que a pH de 5,3 (MATOUSEK e CAMPBELL, 2002).

Durante várias décadas após sua descoberta, o valor ácido do pH do estrato córneo era considerado resultado das glândulas sebáceas na superfície da pele. As evidências agora mostram que os produtos secretados pelas glândulas sebáceas não são necessários para a acidificação do estrato córneo e pode até não afetar o pH da superfície da pele (ELIAS, 2015).

2.4 MORFOLOGIA E FUNÇÃO DA PELE

A pele dos mamíferos se adapta constantemente as alterações do meio ambiente. As funções realizadas pela pele incluem as estruturais, sensoriais, imunológicas e fisiológicas e fornecem uma barreira essencial contra insultos ambientais externos (WON-SEOK OH, 2009).

A pele é composta por arranjos complexos de células do ectoderma, crista neural e endoderma e tem três camadas principais: a epiderme, a derme e a hipoderme. A função mais

importante da pele é tornar possível um ambiente interno para todos os outros órgãos mantendo uma barreira efetiva contra perda de água, eletrólitos e macromoléculas (MILLER et al., 2013).

2.5 EPIDERME

A epiderme é a camada mais externa da pele e é subdividida em cinco camadas: estrato córneo, lúcido, granuloso, espinhoso e camada germinativa (basal). A função de barreira física é desempenhada principalmente pelo estrato córneo. A pele está em constante auto renovação, a proliferação celular se inicia na camada basal e progride ascendentemente para originar o estrato córneo. À medida que os queratinócitos migram através da epiderme, sofre proliferação, diferenciação e, finalmente, morte celular ou cornificação. (WICKELL e VISSCHER, 2006; AGRAWAL e WOODFOLF, 2014). A barreira bioquímica consiste em lipídios, ácidos, enzimas hidrolíticas, peptídeos antimicrobianos e macrófagos. A barreira imunológica é composta por constituintes humorais e celulares do sistema imunológico (PROKSCH et al., 2008).

Há quatro tipos diferentes de células na epiderme: queratinócitos (~85%), que sintetizam a queratina da pele e se unem uns aos outros por estruturas chamadas desmossomos; melanócitos (~5%), que são responsáveis pela produção de melanina, que resulta na pigmentação da pele e pelos; células de Langerhans (3-8%), que são parte do sistema imunológico e desempenham um papel importante na resposta da pele contra substâncias estranhas; e as células de Merkel (~2%), que são células especializadas e associadas aos órgãos sensoriais da pele (WICKETT e VISSCHER, 2006; MILLER et al., 2013).

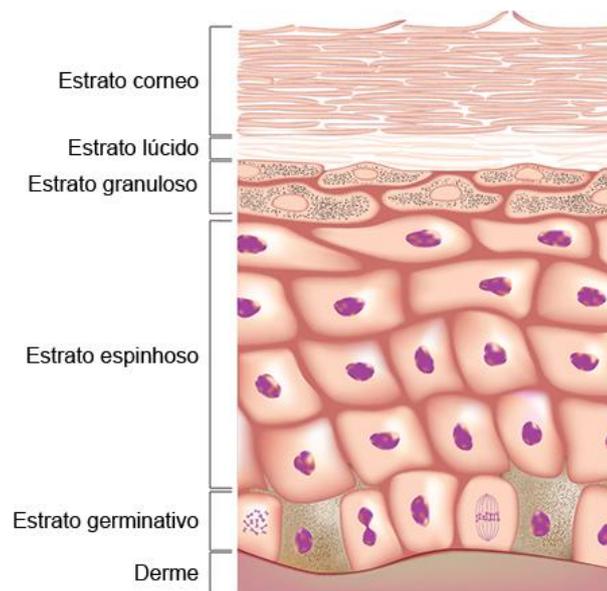
A camada da epiderme mais interna é a camada germinativa (Figura 1), que é constituída por uma única fileira de células prismáticas ou cubóides, que repousam sobre a membrana basal que separa a epiderme da derme. A maioria dessas células são queratinócitos em intensa atividade de divisão mitótica. Logo acima da camada germinativa encontra-se o estrato espinhoso, que é formado por células que passam de cúbicas ou cilíndricas para pavimentosas e estão ligadas entre si por pontes intercelulares. Dentro da camada espinhosa, os queratinócitos perdem sua capacidade mitótica, alteram seu perfil de queratina e adquirem grânulos lamelares que contêm uma variedade de precursores e enzimas lipídicas (MILLER et al., 2013; AGRAWAL e WOODFOLF, 2014). As células de Langerhans originam-se da linhagem monocítica e funcionam como apresentadoras de antígenos na pele. Em conjunto com os linfócitos T epidermotrópicos, as células de Langerhans formam o tecido linfóide associado à pele (MILLER et al., 2013).

Na parte superior do estrato espinhoso encontra-se a camada granulosa que é assim denominada pois os queratinócitos possuem grande quantidade de grânulos de querato-hialina que transportam as proteínas estruturais e os precursores da proteína filagrina, como a loricrina e profilagrina. Também é nessa camada que estão presentes os corpos lamelares, estruturas ricas em lipídios que são secretados para formar a camada lipídica ou vedação hidrofóbica (HARGIS e GINN, 2007; MILLER et al., 2013).

A camada granulosa é um importante componente da epiderme, pois é nela que ocorre a transformação para formar a barreira do estrato córneo. Nessa camada os queratinócitos tornam-se desidratados, perdem suas organelas celulares e sofrem mudanças no perfil protéico em preparação para cornificação ou morte celular, dessa forma os corneócitos se tornam achatados em uma matriz lipídica tornando o estrato córneo mais impermeável (AGRAWAL e WOODFOLF, 2014).

Acima da camada granulosa está o estrato lúcido (Figura 1), o qual é constituído por células pavimentosas, translúcidas e anucleadas. Em cães e gatos, essa camada existe somente nas regiões mais espessas da pele, como coxins e plano nasal. O estrato córneo é a camada mais externa da epiderme e desempenha papel fundamental como barreira em mamíferos. (MILLER et al., 2013).

Figura 1–Divisão da epiderme em 5 estratos: estratos córneo, lúcido, granuloso, espinhoso e germinativo.

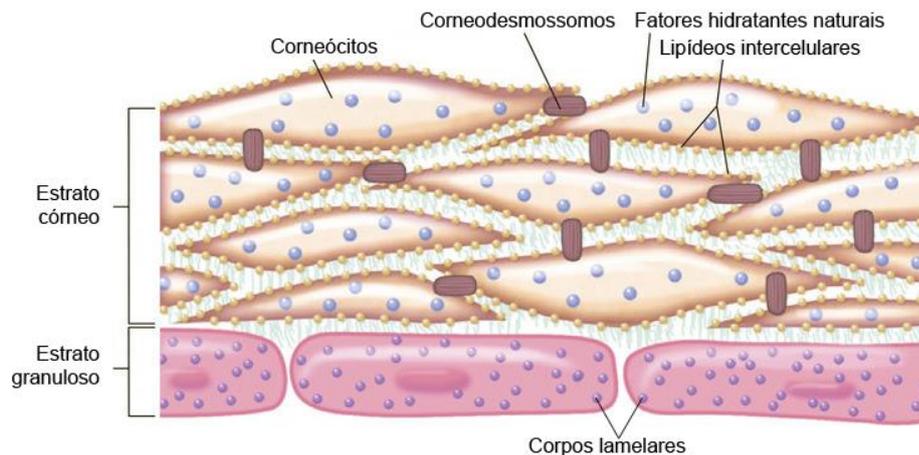


Fonte: MILLER et al., 2013.

2.6 ESTRATO CÓRNEO

Para melhor entender o pH da pele é preciso conhecer a morfofisiologia do estrato córneo. Essa camada é uma estrutura metabolicamente ativa, formada por corneócitos com proteínas infiltradas em uma matriz extracelular enriquecida por camadas lipídicas, e tem grande interação com as camadas epidérmicas subjacentes (Figura 2). O estrato córneo engloba água e solutos essenciais para manter a homeostase, dessa forma evita a perda de água e faz proteção contra agressões físicas, químicas e biológicas (POPA et al., 2015).

Figura 2 - Estrato córneo formado por corneócitos, ligados por corneodesmosossomos, contendo fatores hidratantes naturais e lipídeos intercelulares. Logo abaixo do estrato córneo está os estrato granuloso, contendo corpos lamelares.



Fonte: MILLER et al., 2013.

Sendo a camada mais externa da epiderme, uma das funções mais importantes da camada córnea é formar uma barreira de permeabilidade que permita a sobrevivência em um ambiente externo potencialmente dessecante. Do ponto de vista da permeabilidade, foi proposto um modelo esquemático onde os corneócitos são como “tijolos” e os lipídeos são o “cimento” (VIDÉMONT et al., 2012; MILLER et al., 2013).

Os corpos lamelares contêm mistura de colesterol, ceramidas e ácidos graxos livres, os quais são exocitados para o espaço intercelular, cimentando as células e formando uma barreira impermeável à água, que impedem a dessecação. Entre os corneócitos encontram-se os corneodesmosossomos (principal estrutura adesiva desta camada), que são degradados por proteases, durante a descamação. Através da descamação é que se mantém a integridade e espessura do estrato córneo (NISHIFUJI e YOON, 2013).

A proteína estrutural filagrina é fundamental para manter a força física do estrato córneo e minimizar a entrada de antígenos e a perda de água transepidermica. A filagrina, quando degradada pela caspase-14 e outras proteases leva a formação de aminoácidos livres, ácido urocânico e ácido fmalidônico carboxílico. Esses ácidos são conhecidos como fatores hidratantes naturais, pois promovem captação de água e aumenta a atividade dos hidrogênios mantendo o pH ácido, integridade da barreira cutânea e inibindo o crescimento bacteriano (CARDILLI et al., 2013).

Estudos demonstraram que qualquer alteração na barreira da pele desencadeia uma resposta reparatória, iniciando a secreção de corpos lamelares pré-formados na camada granulosa fazendo com que ocorra um aumento da síntese dos lipídeos, assim como aumento das enzimas. Muitos dos defeitos da barreira cutânea que têm sido descritos sobre a dermatite atópica tem origem no estrato córneo (AGRAWAL e WOODFOLK, 2014; ELIAS, 2015).

2.7 FUNÇÕES DO PH DA PELE

O pH da pele é um importante parâmetro a se avaliar uma vez que se observa em praticamente todas as dermatoses, pois estas são acompanhadas de uma alcalinização da superfície cutânea. O pH ácido pode ajudar a proteger a pele da invasão por microorganismos e ainda fornece informações importantes sobre o mecanismo de regulação para a manutenção da integridade e coesão do estrato córneo (ALI e YOSIPOVITCH, 2013; ELIAS, 2015).

Recentemente foi demonstrado que várias enzimas estão envolvidas na síntese e manutenção da barreira cutânea e são fortemente impactadas pelo pH. Um estudo feito experimentalmente em ratos mostrou que a manutenção ácida do estrato córneo é importante para evitar o desenvolvimento da dermatite atópica (ALI e YOSIPOVITCH, 2013).

Além de regulador de defesa antimicrobiana, o "manto ácido" do estrato córneo é também um regulador de pelo menos três outras funções críticas como a homeostase da permeabilidade da barreira, integridade e coesão do estrato córneo e restrição da sinalização de citocinas pró-inflamatórias (ELIAS, 2015).

2.8 PH FISIOLÓGICO DA PELE

O pH do estrato córneo normal em humanos varia entre 4,5 a 5,5, com níveis mais baixos ocorrendo em indivíduos hiperpigmentados, independentemente de raça ou etnia. Além

disso, regiões extracelulares do estrato córneo são ainda mais ácidas do que no citosol dos corneócitos, com níveis de pH <5 (ELIAS, 2015).

O pH normal da pele canina varia entre 4,84 a 9,95. Em um estudo dinâmico do pH da superfície da pele em cães, observou-se que os valores de pH variaram em diferentes locais na pele, assim como de um dia para o outro; os machos tinham valores de pH significativamente maiores do que as fêmeas em todos os locais, as fêmeas esterilizadas apresentaram valores de pH significativamente maiores em todos os locais do que fêmeas intactas, e os Labradores Retrievers pretos apresentaram valores de pH significativamente maiores do que os amarelos (MILLER et al., 2013).

Uma série de fatores incluindo elementos endógenos e exógenos podem afetar o pH cutâneo, alguns exemplos estão citados na Tabela 1.

Tabela 1– Fatores que afetam o pH do estrato córneo.

Fatores fisiológicos	Raça
	Idade
	Sexo
	Locais anatômicos
	Suor
	Dieta
	Exercício
Fatores exógenos	Irritantes da pele
	Produtos tópicos
Fatores patológicos	Bactérias
	Fungos
	Dermatite atópica
	Dermatite de contato
	Diabetes mellitus
Exemplos de ácidos	Ácido lácteo
	Aminoácidos livres
	Ácido urocânico
	Ácido pirrolidona carboxílico
	Ácidos graxos

Fonte: MILLER et al., 2013.

2.9 PH E A INTEGRIDADE DO ESTRATO CÓRNEO

O pH não só influencia a homeostase da barreira cutânea, mas também afeta a integridade, coesão e descamação do estrato córneo. As proteases serinas e as enzimas

quimiotrípicas (calicreína, do inglês, *kallikrein5*) e trípicas (calicreína, do inglês, *kallikrein 7*) têm um pH ótimo, neutro e ajudam na degradação de corneodesmosomos, facilitando assim o desprendimento dos corneócitos do estrato córneo, sem comprometer a integridade da barreira cutânea (ALI e YOSIPOVITCH, 2013).

A medida que o pH aumenta, as serinas são ativadas, enquanto as enzimas responsáveis pela geração de ceramidas, que tem um pH ácido, são inativadas, comprometendo assim a estrutura e a função do estrato córneo. A atividade da serina é mantida e dessa forma é bloqueada a secreção dos corpos lamelares (ALI e YOSIPOVITCH, 2013).

2.10 MENSURAÇÃO DO PH CUTÂNEO

O Grupo Europeu Sobre Medição de Eficácia de Cosméticos e Outros Produtos Tópicos (EEMCO) criaram um guia prático para que as medições *in vivo* sejam feitas de forma para que se tenha melhores resultados na mensuração do pH (STEFANIAK et al., 2013).

Sugerem que a temperatura ambiente deve estar entre 20-22°C e a umidade relativa entre 40-60%. Portanto, os animais devem ser ambientados ao local onde irá ocorrer as medições durante pelo menos 20 minutos. Também indicam evitar fazer medições durante as condições de calor ou frio extremos (STEFANIAK et al., 2013).

Também recomendam que as medições sejam feitas três vezes na mesma posição anatômica, com um tempo consistente e razoável entre as medidas (STEFANIAK et al., 2013).

A limpeza da pele deve ser evitada, pois pode afetar as medições. Se a pele foi lavada com sabonete ou xampu alcalinos, deve-se esperar pelo menos 10 horas para que sejam realizadas as medições. As mensurações não devem ser realizadas em pele clinicamente inflamada. Caso as áreas desejadas para medição estiverem lesionadas, é preciso medir em locais próximos, não afetados (STEFANIAK et al., 2013).

Durante os intervalos entre as medições, o eletrodo deve ser imerso numa solução de cloreto de potássio ou em água destilada. Deve-se evitar contaminações do eletrodo. O medidor de pH deve ser calibrado antes das medições. Também é necessário evitar a pressão excessiva sobre a pele, para que não ocorra eliminação de água entre esta e a membrana da sonda (STEFANIAK et al., 2013).

2.11 MICROBIOTA E PH

O corpo humano é colonizado por uma grande variedade de microorganismos, incluindo bactérias, fungos e vírus. Esses microorganismos residentes vivem em uma relação simbiótica com o hospedeiro. No entanto, um desequilíbrio desta microbiota pode resultar em danos ao seu hospedeiro (HOFFMANN e SANTORO, 2016).

Essas populações de microorganismos são submetidas a diversas pressões, incluindo umidade, temperatura, alterações de pH e da composição de peptídeos antimicrobianos e lipídios (SCHOMMER e GALLO, 2013).

A microbiota normal da pele é necessária para otimizar as funções cutâneas, modulando a resposta imune inata e prevenindo a colonização com microorganismos potencialmente patogênicos (HOFFMANN e SANTORO, 2016).

Estudos mostram que o pH da pele influencia na composição da microflora cutânea, a virulência do organismo e a susceptibilidade do hospedeiro à infecção. O pH baixo age como um tampão. Embora os valores de pH possam flutuar durante o curso de doenças, medidas elevadas em pacientes humanos com dermatite atópica são associadas ao aumento do isolamento do *Staphylococcus sp.* da superfície da pele e exacerbação subsequente dos sinais clínicos (BREATHNACH et al., 2010).

A microbiota cutânea difere sua densidade nas diferentes regiões anatômicas, portanto o pH pode ter um papel importante na seleção da população bacteriana e de leveduras residentes na pele (MATOUSEK e CAMPBELL, 2002).

2.12 DERMATITE ATÓPICA

A dermatite atópica canina é definida como uma doença inflamatória pruriginosa da pele, crônica e recorrente, com predisposição genética, que afeta muitas raças puras, entre elas a Shih Tzu, uma das mais acometidas. É associada mais comumente a resposta exarcebada por Imunoglobulina E (IgE) aos alérgenos ambientais (MILLER et al., 2013; HENSEL et al. 2015). A prevalência da dermatite atópica corresponde a aproximadamente 20% dos casos dermatológicos atendidos em cães (CARLOTTI, 2012).

A dermatite atópica está relacionada à perda da função de barreira cutânea e sensibilização a alérgenos ambientais, alimentares e microorganismos, incluindo os colonizadores da pele. A barreira anormal da pele em pacientes atópicos facilita a penetração de alérgenos, aumentando portanto, o contato da epiderme com estes. Em caso de estimulação

excessiva, a liberação de mediadores inflamatórios é desencadeada, agravando ainda mais a disfunção da barreira (AGRAWAL e WOODFOLF, 2014; SANTORO et al., 2015).

A maioria dos defeitos de barreira que foram descritos originam-se no estrato córneo, o qual se torna menos compacto e com menor coesão intercelular nos pacientes atópicos. Esses pacientes também apresentam maior perda de água transepidérmica, que leva ao aumentados espaços intercelulares, e possuem baixa produção e distribuição irregular de lipídios, tornando a pele xerótica (AGRAWAL e WOODFOLF, 2014).

2.13 FISIOPATOGÊNESE DA DERMATITE ATÓPICA

A fisiopatogenia desta doença é multifatorial e complexa, abrangendo muitos aspectos, como fatores genéticos (interação de múltiplos genes), extensão das lesões (localizadas versus generalizadas), estágio da doença (aguda versus crônica), e presença de infecções microbianas secundárias, além de outros fatores (HENSEL et al., 2015).

A mais importante associação genética entre a disfunção de barreira e dermatite atópica em humanos foi a descoberta da mutação do gene filagrina (FLG), que codifica a proteína filagrina, a qual tem papel fundamental na barreira cutânea. Essa mutação aumenta a sensibilidade alérgica levando ao agravamento da doença (PENG e NOVAK, 2015).

A filagrina faz agregação dos filamentos de queratina em feixes compactos, modifica a composição dos queratinócitos, interage com os corpos lamelares e atua também nos fatores hidratantes naturais levando a mudanças na hidratação e no pH da pele. O aumento do pH da pele aumenta a atividade das serinas proteases e das enzimas calicreínas (do inglês, *kallikreins*), levando a degradação de corneodesmosomos. Também atenua a atividade de outras enzimas responsáveis pelas ceramidas levando ao menor teor destas. Finalmente, esses mecanismos resultam no comprometimento da barreira cutânea, aumento de inflamação e maior penetração de alérgenos. (PENG e NOVAK, 2015; SANTORO et al., 2015).

Nos cães com dermatite atópica também ocorre a mutação desse gene, porém mais estudos são necessários para a identificação da região do DNA alterada que é responsável pela expressão alterada da filagrina (SANTORO et al., 2015). Os defeitos da barreira cutânea facilitam o contato dos alérgenos ambientais com as células imunitárias presentes na epiderme. Na dermatite atópica, ocorre uma hipersensibilidade do tipo I a qual é mediada pelas imunoglobulinas E (IgE), porém nesses pacientes essa reação ocorre de forma exacerbada. As IgE's são produzidas predominantemente na superfície dos tecidos, como a pele. Quando os alérgenos penetram no hospedeiro, são englobados por células dendríticas, que migram com o

antígeno até os linfonodos regionais. O antígeno então é apresentado para os linfócitos T, induzindo sua ativação e iniciando a produção de citocinas que fazem sinalização para Th2 (*T helper 2*), e estimulam os linfócitos B a produzirem IgE's específicas para o alérgeno que desencadeou a resposta (OLIVRY et al., 2010; PENG e NOVAK, 2015).

Além dos linfócitos, outras células também participam do processo inflamatório, como as células de Langerhans, que desempenham papel de apresentadoras de antígenos para os linfócitos Th2, queratinócitos que quando ativados, liberam quimiocinas e citocinas, eosinófilos, que são degranulados e aumentam o número de mastócitos, e ainda ocorre um aumento da produção de prostaglandina E2 pelos monócitos (OLIVRY et al., 2010; GERSHWIN, 2015).

Nas membranas dos mastócitos as IgE's específicas ficam aderidas e, quando ocorrer um novo contato com alérgeno, este se liga ao receptor da IgE, induzindo à degranulação dos mastócitos, liberando principalmente histamina, proteases, quimiocinas e citocinas. Os mediadores inflamatórios estimulam a via do ácido araquidônico, que leva à produção de prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos que são importantes indutores da inflamação (GERSHWIN, 2015).

2.14 FATORES AMBIENTAIS

Muitos fatores ambientais podem colaborar com o desenvolvimento da dermatite atópica, conforme listados na tabela 2:

Tabela 2 – Fatores ambientais que podem estar associados com o desenvolvimento da dermatite atópica canina.

Riscos	Fator ambiental
Aumento	Vida urbana
	Alta densidade da população humana
	Aumento da média anual de chuva
	Adoção entre 8 e 12 semanas de idade
Redução	Banho regular de cães saudáveis jovens
	Vida rural
	Convivência com outros animais
	Caminhada em florestas
Sem efeito	Alimentos não comerciais à cadelas lactantes
	Sexo
	Época de nascimento
	Ambiente caseiro
	Vacinação
	Desparasitação

Fonte: NUTTAL et al., 2013.

2.15 PH DA PELE NA DERMATITE ATÓPICA

Os fatores hidratantes naturais (aminoácidos livres, ácido urocânico e ácido pirrolidônico carboxílico) promovem o equilíbrio da umidade e pH da pele, fortalecendo assim a barreira do estrato córneo não só contra insultos ambientais, mas também contra agentes patogênicos. Em pacientes com dermatite atópica que carregavam a mutação do gene filagrina foi demonstrado haver uma redução desses ácidos (AGRAWAL e WOODFOLK, 2014).

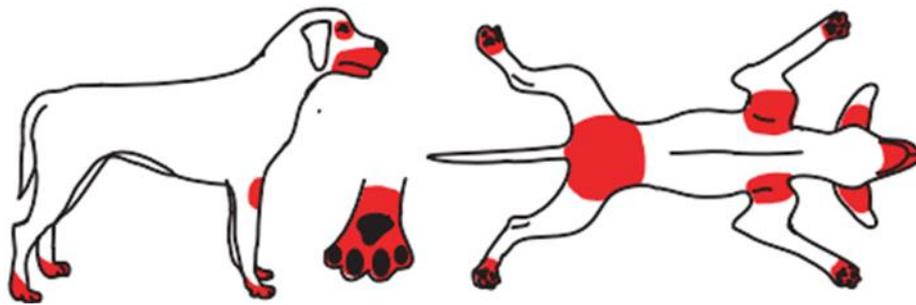
O aumento do pH nos cães atópicos pode estar relacionado com distúrbios lipídicos na barreira da pele e ou infecções secundárias. No estrato córneo, o pH aumenta na inflamação e em dermatoses devido à associação com uma anomalia da barreira, distúrbios que são inevitavelmente acompanhados de anormalidades na homeostase da permeabilidade da barreira, coesão do estrato córneo, defesa antimicrobiana defeituosa e aumento da inflamação iniciada por citocinas (ELIAS, 2015; ZAJAC et al., 2015).

2.16 SINAIS CLÍNICOS DA DERMATITE ATÓPICA

O principal sinal clínico da dermatite atópica é o prurido, o qual se manifesta pelo paciente canino através de lambeduras, atos de coçar e mordiscar, ou até mesmo roçar as regiões

afetadas. O autotraumatismo leva a lesões, podendo estar associadas a piodermite secundária, malasseziose e disqueratose. A distribuição das lesões é variável e depende do caráter crônico da doença. As regiões frequentemente afetadas estão apresentadas na Figura 3. O animal ainda pode apresentar outros sinais clínicos menos comuns, como anorexia e agressividade. As lesões podem levar a alopecia, eritema, pápulas, pústulas, hiperpigmentação e liquenificação cutânea (MULLER et al., 2013; OLIVRY et al., 2015).

Figura 3 – Distribuição comum de lesões clínicas e prurido associados com dermatite canina.



Fonte: Hensel et al., 2015.

2.17 MICROBIOTA CUTÂNEA NA DERMATITE ATÓPICA

Os microrganismos da superfície cutânea podem não apenas infectar a pele de pacientes atópicos, mas podem contribuir diretamente para a resposta inflamatória fazendo a ativação de células T. Existe uma forte correlação entre desequilíbrios na microbiota cutânea (disbiose) e a barreira alterada da pele. O aumento do pH cria um círculo vicioso de anormalidades que predispõem os atópicos a uma série de anormalidades funcionais. Um estudo feito com ratos mostrou que o pH ácido da pele basicamente impediu o desenvolvimento de dermatite atópica (ELIAS, 2015).

Estudos feitos em seres humanos e cães demonstraram diferenças entre a microbiota cutânea de indivíduos saudáveis e aqueles com dermatite atópica, tendo uma diversidade reduzida nos afetados pela dermatite, além do aumento das bactérias patogênicas, como *Staphylococcus pseudintermedius* em cães, que induzem exacerbação e reativação dos sinais clínicos (PIEREZAN et al., 2016; SANTORO e HOFFMANN, 2016).

Infecções bacterianas da pele causadas por *Staphylococcus pseudintermedius* são comuns em cães com dermatite atópica. As lesões típicas de pioderma superficial, como lesões pustulares e erupções, são frequentemente suficientes para fazer um diagnóstico clínico. No entanto, o diagnóstico inicial deve ser confirmado pela análise de amostras citológicas (HENSEL et al., 2015).

Segundo Santoro et al. (2015), é frequente a ocorrência de leveduras como *Malassezia* spp. em cães atópicos comparados com animais saudáveis. Ademais, relata que 100% dos cães com DA são colonizados por *M. Pachydermatis* em áreas interdigitais (70,7%) e ouvidos (63,4%), locais mais comumente envolvidos.

Os isotipos de *Malassezia* isolados de peles saudáveis foram muito diversos, enquanto na população de atópicos era quase monogênica (91 % do Isotipo 3D) e mais ativo do que outros isotipos em pH alcalinos (SANTORO et al., 2015).

2.18 DIAGNÓSTICO DA DERMATITE ATÓPICA

O diagnóstico da dermatite atópica canina baseia-se principalmente nos sinais clínicos apresentados pelo paciente e seu histórico. Exames laboratoriais não são capazes de diagnosticar essa doença. O diagnóstico da dermatite atópica só deve ser estabelecido após o descarte de outras dermatopatias pruriginosas (Tabela3) (FORSYTHE, 2014; OLIVRY et al., 2015).

Portanto, o diagnóstico de dermatite atópica é clínico, e segue os critérios estabelecidos por Favrot et al., (2010), tendo 85% de sensibilidade e 79% de especificidade para cães que cumprirem pelo menos cinco ou seis dos oito critérios. Os critérios que devem ser seguidos são: aparecimento dos sinais antes de três anos de idade; cães domiciliados a maior parte do tempo; histórico de prurido crônico, perene, primário e responsivo a corticóides; lesões nas porções distais de membro torácico; lesões em pavilhões auriculares; ausência de lesões nas bordas dos pavilhões auriculares; ausência de lesões em região lombo-sacral.

Tabela 3–Doenças pruriginosas de pele que afetam cães.

Doenças parasitárias	Infecções	Alergias
Escabiose	Malasseziose	Dermatite a saliva de pulda
Ácaros	Piodermites	Alergia/reações alimentares
Piolhos		Dermatite atópica
Demodicose		

Fonte: Forsythe, 2014.

2.19 TRATAMENTO

A dermatite atópica não tem cura. O tratamento baseia-se no controle dos sinais clínicos. Os tratamentos tópicos que restauram a barreira cutânea são de extrema importância,

já que defeitos na barreira contribuem para a patogênese desta doença. O uso de xampus hidratantes e suplementação oral com ácidos graxos essenciais são descritos como importantes fatores para restabelecimento da barreira cutânea (FORSYTHE, 2014).

O principal foco do tratamento é diminuir a inflamação e o prurido. Os glicocorticóides sistêmicos são os medicamentos mais utilizados, tanto na fase aguda como na crônica, pois tem grande eficácia na redução da inflamação e no alívio do prurido, porém a utilização deve ser feita de forma cautelosa, pois o uso prolongado desses medicamentos pode levar a problemas sistêmicos (NUTTALL et al., 2013; OLIVRY et al., 2015).

Na fase crônica da doença é administrado glicocorticóides associados a outros imunomoduladores (como a ciclosporina, por exemplo) até que estes iniciem seu efeito. Quando o quadro está associado a foliculite bacteriana, devem ser administrados antimicrobianos antes dos glicocorticóides, já que o prurido causado por essa condição responde bem ao medicamento antimicrobiano (OLIVRY et al., 2015).

A identificação dos alérgenos envolvidos na hipersensibilidade é de extrema importância, para que dessa forma se possa diminuir a exposição do cão aos alérgenos desencadeadores da resposta imunológica e ocorra o controle da doença (FORSYTHE, 2014).

Há dois testes que são muito úteis para identificação dos alérgenos e para diferenciar a dermatite atópica de outra doença com sinais clínicos semelhantes: teste intradérmico (teste padrão ouro), e sorologia pelo ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA, do inglês *enzyme-linked immunosorbent assay*). O teste intradérmico consiste na aplicação intradérmica de extratos produzidos a partir dos alérgenos suspeitos. Reações no local da aplicação indicam hipersensibilidade. A sorologia é bastante utilizada e detecta a presença das IgE's séricas em pacientes alérgicos. Esses testes são também importantes como base para imunoterapia alérgeno-específica. É importante lembrar que, embora esses testes sejam úteis, não existe evidências de que possam determinar a hipersensibilidade aos alérgenos alimentares (OLIVRY et al., 2010; MILLER et al., 2013; FORSYTHE, 2014).

A imunoterapia é um tratamento eficaz e modifica a progressão da doença, não apenas aliviando os sintomas, mas também prevenindo a recorrência de eczema após exposições futuras aos alérgenos desencadeadores. Essa técnica consiste na administração do alérgeno ao qual o paciente é sensível, de forma progressiva e gradual, ocorrendo uma estimulação do sistema imunológico, diminuindo a sensibilidade do indivíduo ao alérgeno. A desvantagem é que esse tratamento é longo (mínimo três anos) e o tutor precisa dispor de tempo e de meios econômicos para obter os efeitos esperados (OLIVRY et al., 2010).

Recentemente o tratamento com oclacitinib (Apoquel[®], Zoetis, Parsippany, EUA), que é um inibidor seletivo das enzimas Janus quinase presente em receptores de determinadas citocinas, tem se mostrado eficaz no tratamento de pacientes alérgicos. Sua ação leva ao bloqueio de estímulos neurais específicos resultando no controle do prurido de cães com dermatite atópica (COSGROVE et al., 2013).

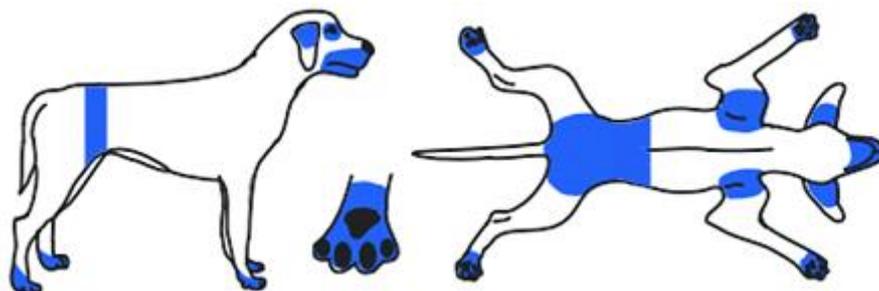
3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 MATERIAL E MÉTODOS PROPOSTO

Serão avaliados 30 cães da rotina do Hospital Veterinário da Universidade do Sul de Santa Catarina (HV-UNISUL), localizada na cidade de Tubarão/ SC e na Vet Village Clínica Veterinária (Florianópolis/SC) atendidos no serviço de dermatológica veterinária. Só serão selecionados pacientes que por exclusão dietética de proteína original (ração hipoalergênica), sem resposta positiva a dieta, e foram diagnosticados com dermatite atópica seguindo os critérios de Favrot et al. (2010). Os cães selecionados serão da raça Shih Tzu, adultos entre 1 a 7 anos de idade, de ambos os sexos, divididos em 2 grupos: grupo 1:15 machos e grupo 2: 15 fêmeas. Serão excluídas lactantes e prenhas. O trabalho estará sob aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), seguindo princípios e normas estabelecidas.

Os animais serão contidos manualmente e será mensurado o pH cutâneo em 7 áreas diferentes do corpo: perilabial, face interna e externa dos pavilhões auriculares, regiões interdigitais dorsais e ventrais, axilas, pescoço, abdômen, regiões inguinais e dos flancos (Figura 4). O procedimento tem duração de apenas alguns minutos e é indolor. As medições serão realizadas sem tosa prévia ou banho (este realizado há mais de 24 horas), e sem que tenham sido usados quaisquer produtos para a pele ou pelo. Para melhor resultado as regiões da pele que serão mensuradas será umedecida com 1ml de água destilada com pH 7,0 antes do procedimento. Serão efetuadas três medições em cada região anatômica, seguindo as sugestões do Grupo Europeu Sobre Medição de Eficácia de Cosméticos e Outros Produtos Tópicos (EEMCO) para as medições *in vivo*. O pH da pele será medido usando um aparelho medidor de pH cutâneo portátil (modelo HI 99181, *Hanna Instruments*[®], *Woonsocket*, EUA). Para melhor acurácia o aparelho será calibrado com os fluidos calibradores antes de cada procedimento, se a sonda estiver seca será umedecida com solução para eletrodo HI 70300 durante uma hora antes da mensuração, de acordo com o manual de instrução do aparelho. Após o uso será feito a limpeza e desinfecção da sonda com solução HI 7061. Os valores de pH encontrados pela mensuração serão analisados em cada região e os dados obtidos serão tabulados e analisados estatisticamente.

Figura 4 – As 7 áreas anatômicas que serão mensuradas o pH cutâneo dos cães: perilabial, face interna e externa dos pavilhões auriculares, regiões interdigitais dorsais e ventrais, axilas, pescoço, abdome, regiões inguinais e dos flancos.



Fonte: Hensel et al. 2015.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS REALIZADO

Foram avaliados 24 cães da raça Shih Tzu diagnosticados com dermatite atópica seguindo os critérios de Favrot et al. (2010). Só foi incluso no estudo os pacientes passaram por exclusão dietética de proteína original (ração hipoalergênica), sem resposta positiva a dieta. Os cães selecionados estavam na faixa etária entre 1 a 10 anos de idade, de ambos os sexos, divididos em 2 grupos, 14 fêmeas e 10 machos. Foram excluídas lactantes e prenhas.

Os animais foram contidos manualmente para a mensuração do pH cutâneo em áreas diferentes do corpo: periocular, perilabial, pescoço, face interna e externa dos pavilhões auriculares (direito e esquerdo), regiões interdigitais dorsais e ventrais (direita e esquerda), axilas (direita e esquerda), abdome, regiões inguinais (direita e esquerda) e dos flancos (direita e esquerda). O procedimento é indolor e teve duração de apenas alguns minutos. As medições foram realizadas sem tosa prévia ou banho (este realizado há mais de 24 horas), e sem que tenham sido usados quaisquer produtos para a pele ou pelo. Foram efetuadas três medições em cada região anatômica selecionada, seguindo as sugestões do Grupo Europeu Sobre Medição de Eficácia de Cosméticos e Outros Produtos Tópicos (EEMCO) para as medições in vivo. O pH da pele foi medido usando um aparelho medidor de pH cutâneo portátil (modelo HI 99181, *Hanna Instruments*®, *Woonsocket*, EUA). Para melhor acurácia o aparelho foi calibrado com os fluidos calibradores antes de cada procedimento.

Diante dos valores de pH cutâneo encontrados foram divididos em grupos para posterior análise comparativa. Os grupos são: fêmeas, machos, fêmeas e machos castrados e fêmeas e machos inteiros. E de acordo com o pH cutâneo encontrado foi considerado pH ácido < 7 , pH cutâneo > 7 e neutro igual a 7.

Em aspectos éticos, o projeto de pesquisa foi aprovado pelo CEUA da UNISUL com protocolo Nº: 17.041.5.05. IV (ANEXO A).

3.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os valores de pH mensurados foram tabulados e analisados estatisticamente, calculando a média triplicata e seus respectivos desvios padrões, usando o programa *GraphPad Prism* (versão 7.03) para *MicrosoftWindows* 10. Os resultados encontrados foram analisados de forma comparativa do pH de cada uma das regiões anatômicas entre gêneros e entre castrados ou inteiros, foi realizada por meio de métodos estatísticos de análises múltiplas como teste de duas vias ANOVA, com pós teste *Turkey*. Além da análise com teste ANOVA, os dados foram descritos indicando valor mínimo, máximo, média, desvio padrão e coeficiente de variação do teste.

4 RESULTADOS

Os resultados serão apresentados em forma de artigo científico formatado de acordo com as normas da Revista MEDVEP (Revista Científica de Medicina Veterinária) (ANEXO B).

5 ARTIGO CIENTÍFICO

AVALIAÇÃO DO pH CUTÂNEO DE CÃES DA RAÇA SHIH TZU COM DERMATITE ATÓPICA

Assessment of cutaneous pH in dogs of the breed Shih Tzu with atopic dermatitis

Adriano de Souza Neto - Médico Veterinário, Mestre, Professor do Curso de Medicina Veterinária da Universidade do Sul de Santa Catarina – Av. José Acácio Moreira, 787, CEP 88704-900, Tubarão, SC, Brasil. E-mail: adriano.asn@hotmail.com.br

Germana Slomski Joly – Acadêmica do Curso de Medicina Veterinária da Universidade do Sul de Santa Catarina – Av. José Acácio Moreira, 787, CEP 88704-900, Tubarão, SC, Brasil. E-mail: germanajoly@gmail.com

Luiz Fernando Urnau – Acadêmico do Curso de Medicina Veterinária da Universidade do Sul de Santa Catarina – Av. José Acácio Moreira, 787, CEP 88704-900, Tubarão, SC, Brasil. E-mail: luiz.urnau@hotmail.com

Resumo

A dermatite atópica canina (DAC) é uma dermatose inflamatória que leva a uma deficiência na barreira cutânea tornando-a mais susceptível a prurido e infecções secundárias. O aumento do pH cutâneo contribui para a inflamação epitelial, intensificando as alterações ocorridas na DAC. Este estudo mensurou os valores de pH cutâneo em 18 diferentes regiões anatômicas de cães da raça Shih Tzu diagnosticados com DAC. Foram avaliados 24 cães, sendo 14 fêmeas e 10 machos. Os cães selecionados estavam na faixa etária entre 1 a 10 anos de idade. A mensuração dos valores de pH foi realizada através de pHmetro cutâneo portátil, avaliando os seguintes parâmetros: região do corpo, sexo e castrado/inteiro. A análise comparativa nas regiões corporais de fêmeas e machos, apresentaram resultado médio mais alcalino para ambos os grupos na região perilabial com

pH de 7,18 nas fêmeas e 7,69 nos machos, com significância estatística ($p < 0,0001$). Na avaliação comparativa de fêmeas versus machos e castrados versus inteiros não houve diferença estatística ($p > 0,9999$). Na comparação de locais do corpo dos castrados e inteiros os valores mais elevados também ficaram na região perilabial, com alteração estatística significativa ($p < 0,0001$), e pH médio de 7,38 nos castrados e 7,43 nos inteiros. No entanto no presente estudo, nem todas as regiões anatômicas aferidas o pH foi alcalino com significância estatística em cães com DAC. Por se tratar de uma síndrome complexa, e que diversos outros fatores concomitantes podem influenciar na etiopatogenia da doença, se faz necessário a realização de mais investigações e estudos amplos sobre este tema.

Palavras-chave: Piodermite, pele alcalina, barreira da pele

Abstract

Canine atopic dermatitis (CAD) is an inflammatory dermatosis that leads to a deficiency in the skin barrier making it prone to pruritus and secondary infections. Increased cutaneous pH contributes to epithelial inflammation, enhancing changes in CAD. The purpose of this study is to measure the values of cutaneous pH at 18 different anatomic areas of the dog breed Shih Tzu diagnosed with CAD. During the study, 24 dogs were evaluated, 14 females and 10 males. The selected dogs ranged between 1 and 10 years. Portable skin pH-meter was used as a tool to determine the pH value. The following parameters were evaluated: different body parts of females, males, castrated/intact. The comparative analysis of the body parts of females and males presented alkaline mean result for both groups in the perioral region with pH of 7.18 in females and 7.69 in males, that presented significantly differing statistics ($p < 0.0001$). In the evaluation of the parameters female versus male and cas-

trated versus intact, there were no statistical difference ($p > 0.9999$). In the comparison between castrated and intact body parts, the highest values were likewise found in the perioral region, with significantly differing statistics ($p < 0.0001$) with a mean pH of 7.38 in the castrated and 7.43 in the intact. Nonetheless in this study not all anatomic regions evaluated presented alkaline pH values with no significantly differing statistics in dogs with CAD. Due to the complexity of the syndrome and that several other associated factors could influence the etiopathogeny of the disease, further investigation and studies on this subject are necessary.

Keywords: Pyodermitis, alkaline pH, skin barrier

Introdução e revisão de literatura

Entre os diferentes parâmetros biofísicos que são utilizados para avaliar a função de barreira da pele, um deles é o pH cutâneo. O pH é um importante parâmetro a se avaliar, tendo em vista que se observa em praticamente todas as dermatoses, pois estas são acompanhadas de uma alcalinização da superfície cutânea. O pH ácido pode ajudar a proteger a pele da invasão por microorganismos e ainda fornece informações importantes sobre o mecanismo de regulação para a manutenção da integridade e coesão do estrato córneo (1,2).

O papel fisiológico de uma superfície acidificada da pele, é um mecanismo de defesa contra microrganismos invasores, sendo que a síntese e a manutenção de uma pele competente dependem de diversas enzimas que também são alteradas pelo pH (3).

A dermatite atópica canina (DAC) é definida como uma doença inflamatória pruriginosa da pele, crônica e recorrente, com predisposição genética, que afeta muitas raças puras, entre elas a Shih Tzu, uma das mais acometidas. É associada mais comumente a resposta exarcebada por Imunoglobulina E (IgE) aos alérgenos ambientais

(4,5). A dermatite atópica tem uma grande incidência em cães, com estimativa de 10% na população. Recentemente, em um estudo epidemiológico de doenças de pele na Polônia, a DAC foi reconhecida como a mais comum das doenças dermatológicas, constituindo 28,7% de todos os distúrbios cutâneos (6). A dermatite atópica está relacionada à perda da função de barreira cutânea e sensibilização a alérgenos ambientais, alimentares e microorganismos, incluindo os colonizadores da pele (7,8). A alteração na barreira cutânea, pode levar à penetração de microrganismos que por sua vez estimulam a resposta imune e aumentam o processo inflamatório. O sinal clínico mais proeminente é o prurido, no entanto eritema e/ou pápulas podem ser observados como único sinal clínico nos estágios iniciais da doença. Alopecia, hiperpigmentação e liquenificação se desenvolvem secundariamente pelo autotraumatismo ou infecção (9,10).

Recentemente foi demonstrado que várias enzimas estão envolvidas na síntese e manutenção da barreira cutânea, e são fortemente impactadas pelo pH. Um estudo feito experimentalmente em ratos, demonstrou que a manutenção ácida do estrato córneo é importante para evitar o desenvolvimento da dermatite atópica (7,18).

O termo pH é uma abreviatura do termo latim "*Pondus hydrogenii*" que significa peso do hidrogênio. O símbolo pH é usado para indicar a concentração de íons de hidrogênios (H^+) em uma solução. Um pH 7,0 é considerado neutro. Já o $pH < 7,0$ é considerado ácido, enquanto um $pH > 7,0$ é considerado alcalino. Portanto, a medida que o número de pH aumenta, a concentração de H^+ diminui (10).

O pH não só influencia a homeostase da barreira cutânea como também afeta a integridade, coesão e descamação do estrato córneo. As proteases serinas e as enzimas quimiotrípticas (calicreína, do inglês, *kallikrein* 5) e trípticas (calicreína, do inglês, *kallikrein* 7) têm um pH ótimo, neutro, e ajudam na degradação de corneodesmosomos, facilitando assim o desprendimento dos corneócitos do estrato córneo sem comprometer a integridade da barreira cutânea (1,9). A medida que o pH aumenta, as serinas são ativadas, enquanto

as enzimas responsáveis pela geração de ceramidas, que tem um pH ácido, são inativadas, comprometendo assim a estrutura e a função do estrato córneo. A atividade da serina é mantida e dessa forma é bloqueada a secreção dos corpos lamelares (2).

Além de regulador de defesa antimicrobiana, o "manto ácido" do estrato córneo é também um regulador de pelo menos três outras funções críticas, como a homeostase da permeabilidade da barreira, integridade e coesão do estrato córneo e restrição da sinalização de citocinas pró-inflamatórias (2).

Os fatores hidratantes naturais (aminoácidos livres, ácido urocânico e ácido pirrolidônico carboxílico) promovem o equilíbrio da umidade e pH da pele, fortalecendo assim a barreira do estrato córneo, não só contra insultos ambientais, mas também contra agentes patogênicos. Em pacientes com dermatite atópica, que carregavam a mutação do gene filagrina, foi demonstrado haver uma redução desses ácidos (7,8). A proteína estrutural filagrina é fundamental para manter a força física do estrato córneo e minimizar a entrada de antígenos e a perda de água transepidérmica. Quando a filagrina é degradada pela caspase-14 e outras proteases, leva à formação de aminoácidos livres, ácido urocânico e ácido pirrolidônico carboxílico. Esses ácidos são conhecidos como fatores hidratantes naturais, pois promovem captação de água e aumenta a atividade dos hidrogênios mantendo o pH ácido, integridade da barreira cutânea, inibindo assim, o crescimento bacteriano (12).

A mensuração do pH é um parâmetro muito útil para monitorar pacientes com doenças de pele, uma vez que se observa que a maioria das dermatoses são acompanhadas de uma alcalinização da superfície cutânea. Esta aferição fornece importantes informações sobre os mecanismos de regulação para a manutenção da integridade e coesão do estrato córneo, bem como da homeostasia e função antimicrobiana. O conhecimento das alterações do pH na pele e os fatores que os

influenciam é, portanto, essencial para compreensão das mudanças fisiológicas na função da barreira cutânea (1,5).

Desta forma o objetivo deste estudo, foi mensurar os valores de pH cutâneo, de cães da raça Shih Tzu, com dermatite atópica e investigar se existe relação de alcalinidade cutânea nas áreas mais afetadas dos cães com DAC.

Material e Métodos

Foram selecionados 24 cães da raça Shih Tzu diagnosticados com dermatite atópica, seguindo os critérios de Favrot et al. (2010), os animais selecionados eram oriundos de rotina de atendimentos clínicos, em clínicas veterinárias pré-selecionadas localizadas na região de Tubarão-SC e Florianópolis-SC. Foram inclusos no estudo somente os pacientes que passaram por exclusão dietética de proteína original (ração hipoalergênica), sem resposta positiva à dieta. Os cães selecionados estavam na faixa etária entre 1 a 10 anos de idade, de ambos os sexos, 14 fêmeas e 10 machos. Foram excluídas lactantes e prenhas do estudo. O presente projeto de pesquisa, foi aprovado pelo CEUA da UNISUL com protocolo Nº: 17.041.5.05. IV.

A classificação e divisão dos animais, foi feita através de grupos. Os grupos foram divididos em sexo: fêmeas e machos, em castrados e inteiros (fêmeas e machos). De acordo com o pH cutâneo encontrado, foi considerado pH ácido abaixo de 7, neutro igual a 7 e pH cutâneo alcalino acima de 7.

A coleta dos dados foi realizada manualmente em cada cão, para a mensuração do pH cutâneo em áreas diferentes do corpo: periocular, perilabial, pescoço, face interna e externa dos pavilhões auriculares (direito e esquerdo), regiões interdigitais dorsais e ventrais (esquerda e direita), axilas (direita e esquerda), abdome, regiões inguinais (direita e esquerda) e flancos (direita e esquerda). As medições foram realizadas sem tosa prévia ou banho (este realizado há mais de 24 horas), e sem que tenham sido usados quaisquer

produtos para a pele ou pelo. Foram efetuadas três medições em cada região anatômica selecionada, com um intervalo de 30 segundos cada, seguindo as sugestões do Grupo Europeu Sobre Medição de Eficácia de Cosméticos e Outros Produtos Tópicos (EEMCO) para as medições in vivo. O pH da pele foi medido usando um aparelho medidor de pH cutâneo portátil (modelo HI 99181, *Hanna Instruments*®, *Woonsocket*, EUA), este procedimento é indolor e tem duração de poucos minutos. Para melhor acurácia o aparelho foi calibrado com os fluidos calibradores antes de cada procedimento.

Dentre as análises feitas nas 18 regiões anatômicas deste estudo, foram correlacionados os valores de pH dos seguintes grupos de comparação:

- Locais do corpo das fêmeas;
- Locais do corpo dos machos;
- Fêmeas versus machos (sexo);
- Locais do corpo dos castrados (fêmeas e machos);
- Locais do corpo dos inteiros (fêmeas e machos);
- Castrados versus inteiros

Os valores de pH mensurados foram tabulados e analisados estatisticamente, calculando a média triplicata e seus respectivos desvios padrões, usando o programa *GraphPad Prism* (versão 7.03) para *MicrosoftWindows* 10. Os resultados encontrados foram analisados de forma comparativa do pH de cada uma das regiões anatômicas entre gêneros e entre castrados ou inteiros, foi realizada por meio de métodos estatísticos de análises múltiplas como teste de duas vias ANOVA, com pós teste *Turkey*. Além da análise com teste ANOVA, os dados foram descritos indicando valor mínimo, máximo, média, desvio padrão e coeficiente de variação do teste.

Resultados e discussão

A análise do pH nas regiões corporais de fêmeas (castradas e inteiras) teve diferença estatística de $p < 0,0001$. O resultado médio mais elevado encontrado nas fêmeas (castradas e inteiras) foi observado na região perilabial com pH alcalino de $7,18 \pm 0,59$, seguido pela região de flanco direito, inguinal direita, abdome e pescoço (Tabela 1). O coeficiente de variação ficou com a média de 8,96%, demonstrando a confiabilidade do aparelho de mensuração.

Tabela 1: Regiões corporais com médias de pH mais elevadas encontradas nas fêmeas (castradas e inteiras)

Região	Mín.	Máx.	Média	Desvio Padrão
Perilabial	6,09	8,72	7,18	0,59
Flanco direito	5,75	8,56	7,10	0,77
Inguinal direita	5,76	8,45	7,05	0,77
Abdome	5,75	7,85	6,87	0,66
Pescoço	6,08	8,77	6,84	0,79

Fonte: Autor 2018.

Em um estudo, citado por Miller et al. (2003), o pH da superfície da pele em cães varia em diferentes locais do corpo, assim como ocorreu na nossa pesquisa.

Já os valores mais baixos do pH das fêmeas (castradas e inteiras) foi na região do pavilhão auricular interno esquerdo, periocular e interdigital dorsal esquerda (Tabela 2).

Tabela 2: Regiões corporais com médias de pH mais baixas encontradas nas fêmeas (castradas e inteiras)

Região	Mín.	Máx.	Média	Desvio Padrão
Pavilhão auricular interno esquerdo	5,39	8,41	6,36	0,49
Periocular	5,65	8,01	6,38	0,59
Interdigital dorsal esquerda	5,38	7,17	6,45	0,51

Fonte: Autor 2018.

Embora tenha sido observado maior valor de pH em regiões mais próximas das lesões, não há como afirmar que exista correlação entre estes, sendo que outros

parâmetros se fazem necessários para tal. No estrato córneo, o pH aumenta na inflamação e em dermatoses devido à associação com uma anomalia da barreira, distúrbios que são inevitavelmente acompanhados de anormalidades na homeostase da permeabilidade da barreira, coesão do estrato córneo, defesa antimicrobiana defeituosa e aumento da inflamação iniciada por citocinas (2, 8).

A gravidade da dermatite atópica canina é difícil de avaliar, pois poucos sistemas de pontuação foram desenvolvidos. O mais usado é o Índice de Extensão e Gravidade da Dermatite Atópica (*CADES*), adaptado da dermatite atópica humana (*SCORAD*). O método se baseia nos parâmetros: eritema, liquenificação, escoriações e extensão das lesões. No entanto, o método é responsável por algumas dificuldades de interpretação e comparação (13, 6). Uma pesquisa realizada com o método *CADES* demonstrou uma correlação positiva entre regiões do corpo e o pH da pele. A correlação sugere que o pH da pele aumenta na dermatite atópica canina. Os pesquisadores acreditam que o aumento do pH em cães atópicos poderia ser conectado com distúrbios lipídicos na barreira cutânea e/ou infecções secundárias (6).

Na análise feita entre as diferentes regiões corporais na totalidade dos machos (castrados e inteiros) foi possível observar diferença estatística significativa ($p < 0,0001$), tendo o valor médio mais elevado na região perilabial com pH alcalino de $7,69 \pm 0,78$, seguido pela região de pescoço e região inguinal esquerda, abdome e pavilhão auricular externo direito (Tabela 3). O coeficiente de variação teve média de 11,66%.

Tabela 3: Regiões corporais com médias de pH mais elevadas encontradas nos machos (castrados e inteiros)

Região	Mín.	Máx.	Média	Desvio Padrão
Perilabial	6,36	8,84	7,69	0,78
Pescoço	5,82	8,45	7,08	0,75
Abdome	5,81	7,81	6,93	0,71
Inguinal esquerda	5,72	7,87	6,96	0,80
Pavilhão auricular externo direito	5,73	7,93	6,87	0,84

Fonte: Autor 2018.

As médias de pH mais baixas encontradas nos machos (castrados e inteiros) foram na região do pavilhão auricular externo esquerdo, seguido pelo pavilhão interno direito e flanco esquerdo, conforme a (Tabela 4).

Tabela 4: Regiões corporais com médias de pH mais baixas encontradas nos machos (castrados e inteiros)

Região	Mín.	Máx.	Média	Desvio Padrão
Pavilhão auricular externo esquerdo	5,66	7,58	6,55	0,76
Pavilhão auricular interno direito	5,70	7,85	6,59	0,80
Flanco esquerdo	5,69	7,73	6,73	0,78

Fonte: Autor 2018.

Um estudo realizado por Ferreira (2010) comparando diversas raças teve o valor máximo encontrado em cães saudáveis na região interdigital ventral, com pH de 6,5 e o mínimo no pavilhão auricular e região inguinal com 6,2.

Ruedisueli et al. (1998) determinaram o pH da pele de 12 cães, de raça Labrador Retriever, com idades entre 1 e 9 anos, nas regiões dos flancos, pavilhão auricular interno, e região inguinal e axilar, com um medidor de pH de pele pH 900 da *Courage & Khazaka* (Colônia, Alemanha) e detectaram um pH médio no pavilhão auricular de 6,11, demonstrando que no nosso estudo o pH desta mesma região foi um pouco mais elevado em machos e fêmeas.

Na análise comparativa de pH de machos versus fêmeas não houve diferença estatística ($p > 0,9999$), portanto optou-se agrupar fêmeas e machos na análise de castrados e inteiros.

Na avaliação dos castrados (fêmeas e machos) os valores médios mais elevados foram encontrados na região perilabial com pH levemente alcalino $7,38 \pm 0,82$ ($p < 0,0001$), e pH levemente ácido com tendência a neutralidade para as regiões inguinal esquerda $6,99 \pm 0,83$ ($p < 0,0001$) e flanco direito $6,98 \pm 0,87$ ($p < 0,0001$), conforme listado na Tabela 5.

Tabela 5: Regiões corporais com médias de pH mais elevadas encontradas nos castrados (fêmeas e machos)

Região	Mín.	Máx.	Média	Desvio Padrão
Perilabial	6,09	8,84	7,38	0,82
Inguinal esquerda	5,72	8,36	6,99	0,83
Flanco direito	5,69	8,56	6,98	0,87

Fonte: Autor 2018.

Os valores médios mais baixos de pH encontrados nos castrados estão listados na Tabela 6.

Tabela 6: Regiões corporais com médias de pH mais baixas encontradas nos castrados (fêmeas e machos)

Região	Mín.	Máx.	Média	Desvio Padrão
Pavilhão auricular externo esquerdo	5,63	7,04	6,30	0,48
Pavilhão auricular interno esquerdo	5,39	7,09	6,30	0,51
Interdigital dorsal esquerda	5,38	7,93	6,43	0,67

Fonte: Autor 2018.

Os cães inteiros apresentaram diferença estatística significativa no valor médio na região perilabial, sendo mais alcalino com pH $7,43 \pm 0,48$ ($p < 0,0001$), seguido do pavilhão auricular externo direito com pH $7,15 \pm 0,43$ ($p < 0,0001$) e região inguinal direita com pH $7,14 \pm 0,74$ ($p < 0,0001$), conforme listado na Tabela 7.

Tabela 7: Regiões corporais com médias de pH mais elevadas encontradas nos inteiros (fêmeas e machos)

Região	Máx.	Mín.	Média	Desvio Padrão
Perilabial	6,88	8,09	7,43	0,48
Pavilhão auricular externo direito	6,72	7,68	7,15	0,43
Inguinal direita	5,76	7,81	7,14	0,74

Fonte: Autor 2018.

Na análise estatística das regiões anatômicas de cães inteiros (fêmeas e machos) foi significativa ($p < 0,0001$), demonstrando um pH médio, levemente alcalino nas regiões perilabial, seguido por interdigital direita e flanco direito, conforme Tabela 8.

O coeficiente de variação na análise castrados e inteiros teve a média de 14,74% e 11,78%, respectivamente.

Tabela 8: Regiões corporais com valores médios de pH mais baixos encontrados nos inteiros (fêmeas e machos)

Região	Mín.	Máx.	Média	Desvio Padrão
Periocular	6,04	7,80	6,72	0,62
Interdigital dorsal direita	5,95	7,71	6,84	0,64
Flanco direito	5,75	7,46	6,86	0,54

Fonte: Autor 2018.

Segundo Miller et al. (2013), fêmeas castradas apresentam valores de pH significativamente maiores em todos os locais do corpo em comparação com as fêmeas inteiras. Entretanto, neste estudo a análise comparativa entre castrados versus inteiros não houve diferença estatística ($p > 0,9999$).

Um pH ácido pode ajudar a proteger a pele da invasão por microorganismos. Ademais, influencia a permeabilidade e queratinização (4). Estudos mostram que o pH da pele influencia na composição da microflora cutânea e na susceptibilidade do hospedeiro à infecção. O pH baixo age como um tampão. Embora os valores de pH possam flutuar durante o curso de doenças, medidas elevadas em pacientes humanos com dermatite atópica são associadas à aumento do isolamento do *Staphylococcus sp.* da superfície da pele e exacerbação subsequente dos sinais clínicos (16).

Schmid-Wendtner e Korting (2007) afirmam que vários fatores podem afetar o desenvolvimento da dermatite atópica, dentre eles o pH da superfície cutânea. Epprecht (citado por Schmid-Wendtner e Korting, 2007) investigou pacientes humanos com dermatite aguda e descreveu valores elevados de pH cutâneo, bem como neutralização alcalina retardada. Dez anos mais tarde, Locher (citado por Schmid-Wendtner e Korting, 2007) relatou valores de pH 0,5 mais elevados em pacientes com dermatite atópica, quando comparados com controles com uma pele saudável. Estes dados têm sido sistematicamente confirmados por numerosos estudos em seres humanos.

O pH cutâneo de cães difere da pele do homem, sendo que neste varia entre 4 a 5,5, demonstrando ter tendência para ser um dos mais elevados entre as espécies de mamíferos. São reportados valores de pH de pele de cães saudáveis variando entre 4,84 e 9,95 (13, 4).

Um estudo realizado com cães da raça Shih Tzu saudáveis pelo acadêmico Luiz Fernando Urnau do curso de Medicina Veterinária da Universidade do Sul de Santa Catarina, utilizou o mesmo material e métodos do presente estudo. A análise estatística comparativa entre os cães saudáveis, conforme o estudo referido, e atópicos, conforme o presente estudo, mostrou diferença estatística significativa apenas na região perilabial, tendo valor de pH médios nas fêmeas de 6,28, e nos machos de 6,40 para o estudo referido, e valor de pH médio de 7,18 para as fêmeas, e 7,69 para os machos no presente estudo (18).

Conclusão

Pelos resultados obtidos no experimento, pode-se verificar que, embora nem todos os valores de pH encontrados tenham sido alcalinos, valores maiores foram observados quando comparados com o estudo realizado com cães saudáveis da mesma raça, na região perilabial. Outrossim, observou-se muitos valores tendendo à alcalinidade. Também houve diferença estatística em algumas das diferentes regiões anatômicas analisadas. Desta forma não foi observado diferença estatística entre os cães atópicos e saudáveis na maioria das regiões anatômicas mensuradas, assim não podemos afirmar que o pH de cães atópicos em crise alérgica tende a alcalinidade, nas principais regiões lesionadas da doença. Contudo mais pesquisas e investigações são necessárias, levando em conta outras possíveis interferências de variáveis biofísicas.

REFERÊNCIAS

1. Ali S M, Yosipovitch G. Skin pH: From Basic Science to Basic Skin Care. *Acta Dermatovenereologica* 2013; 93(3):261-267.
2. Elias PM. The how, why and clinical importance of stratum corneum acidification. *Experimental Dermatology* 2017; 26(11):999–1003.
3. Olivry T, Deboer DJ, Favrot C, Jackson HA, Mueller RS, Nuttall T, Prélaud P. Treatment of canine atopic dermatitis: 2010 clinical practice guidelines from the International Task Force on Canine Atopic Dermatitis. *Veterinary Dermatology* 2010; 21(3):233-248.
4. Hensel P, Santoro D, Favrot C, Hill P, Griffin C. Canine atopic dermatitis: detailed guidelines for diagnosis and allergen identification. *BMC Veterinary Research* 2015; 11-196.
5. Miller WHJ, Griffin CE, Campbell, KL. Muller & Kirk's Small Animal Dermatology. 7th ed. St. Louis:Elsevier; 2013.
6. Zajac M, Szczepanik MP, Wilkołek PM, Adamek LR, Pomorski ZJH, Sitkowski W, Gołynski M. Assessment of a correlation between Canine Atopic Dermatitis Extent and Severity Index (CADESI-03) and selected biophysical skin measures (skin hydration, pH, and erythema intensity) in dogs with naturally occurring atopic dermatitis. *Canadian Journal of Veterinary Research* 2015; 79(2):136-140.
7. Agrawal R, Woodfolk JA. Skin Barrier Defects in Atopic Dermatitis. *Current Allergy and Asthma Reports* 2014; 14(433).
8. Santoro D, Hoffmann AR. Canine and Human Atopic Dermatitis: Two Faces of the Same Host-Microbe Interaction. *Journal of Investigative Dermatology* 2016; 136(6):1087-1089.
9. Olivry T, Deboer DJ, Favrot C, Jackson HA, Mueller RS, Nuttall T, Prélaud P. Treatment of canine atopic dermatitis: 2015 updated guidelines from the International Committee on Allergic Diseases of Animals (ICADA). *BMC Veterinary Research* 2015; 11(210).
10. Matousek JL, Campbell K L. A comparative review of cutaneous pH. *Veterinary Dermatology* 2002; 13(6):293-300.
11. Santoro D, Marsella R, Pucheu-haston CM, Eisenschenk MNC.; Nuttall T, Bizikova P. Review: Pathogenesis of canine atopic dermatitis: skin barrier and host–micro-organism interaction. *Veterinary Dermatology* 2015; 26(2):84-e25.
12. Cardilli RN, Melo JML, Roselino A M, Moreno AS, Castro APM, Arruda LK. Dermatite atópica e filagrina: restaurando barreiras para o controle da doença. *Brazilian Journal of Allergy and Immunology* 2013; 1(5).
13. Germain PA, Prélard P, Bensignor E. CADESI (Canine Atopic Dermatitis Extent and Severity Index) reproducibility. *Revue Médecine Vétérinaire* 2005; 156(7): 382-385.

14. Ferreira DMS. Estudo do pH da pele em cães saudáveis e cães com insuficiência renal crônica [Dissertação de Mestrado]. Lisboa: Universidade Técnica de Lisboa- Faculdade de Medicina Veterinária; 2010.
15. Ruedisueli, F. The measurement of skin pH in normal dogs of different breeds. In: HILLIER, A.; FOSTER, A. P. KWOCKKA, K. W. *Advances in Veterinary Dermatology III*. Oxford: Butterworth-Heinemann 1998: 521.
16. Breathnach RM, Quinn PJ, Baker KP, Mcgeady T, Strobl E, Abbott Y, Jones BR. Association between skin surface pH, temperature and *Staphylococcus pseudintermedius* in dogs with immunomodulatory-responsive lymphocytic-plasmacytic pododermatitis. *Veterinary Dermatology* 2011; 22(4):312–318.
17. Schmid-wendtner MH, Korting HC. The pH of the Skin Surface and Its Impact on the Barrier Function. *Skin Pharmacology and Physiology* 2016; 19(6):296–302.
18. Urnau LF, Joly GS, Neto, AS. Avaliação do pH da pele de cães saudáveis das raças Golden Retriever e Shih Tzu. Trabalho de conclusão de curso. Universidade do Sul de Santa Catarina. 2018.

6 CONCLUSÃO

Pelos resultados obtidos no experimento, pode-se verificar que, embora nem todos os valores de pH encontrados tenham sido alcalinos, valores maiores foram observados quando comparados com o estudo realizado com cães saudáveis da mesma raça, na região perilabial. Outrossim, observou-se muitos valores tendendo à alcalinidade. Também houve diferença estatística em algumas das diferentes regiões anatômicas analisadas. Desta forma não foi observado diferença estatística entre os cães atópicos e saudáveis na maioria das regiões anatômicas mensuradas, assim não podemos afirmar que o pH de cães atópicos em crise alérgica tende a alcalinidade, nas principais regiões lesionadas da doença. Contudo mais pesquisas e investigações são necessárias, levando em conta outras possíveis interferências de variáveis biofísicas.

REFERÊNCIAS

- AGRAWAL, Rachana; WOODFOLK, Judith A. Skin Barrier Defects in Atopic Dermatitis. **Current Allergy and Asthma Reports**. V. 14, n. 433, mai. 2014.
- ALI, Saba M.; YOSIPOVITCH, Gil. Skin pH: From Basic Science to Basic Skin Care. **Acta Dermato-Venereologica**. V. 93, n. 3, p. 261-267, jan. 2013.
- BREATHNACH, Rory M.; QUINN, Patrick J.; BAKER, Kenneth P.; MCGEADY, Thomas; STROBL, Eric; ABBOTT, Yvonne; JONES, Boyd R. Association between skin surface pH, temperature and *Staphylococcus pseudintermedius* in dogs with immunomodulatory-responsive lymphocytic-plasmacytic pododermatitis. **Veterinary Dermatology**. V. 22, n. 4, p. 312–318, ago. 2011.
- CARDILI, Renata N.; MELO, Janaina M. L.; ROSELINO, Ana M.; MORENO, Adriana S.; CASTRO, Ana Paula M.; ARRUDA, L. Karla. Dermatite atópica e filagrina: restaurando barreiras para o controle da doença. **Brazilian Journal of Allergy and Immunology**. V.1, n. 5, 2013.
- COSGROVE, Sallie B.; WREN, Jody A.; CLEAVER, Dawn M.; WALSH, Kelly F.; FOLLIS, Stacey I.; KING, Vickie I.; TENA, Jezaniah-Kira S.; STEGEMANN, Michael R. A blinded, randomized, placebo-controlled trial of the efficacy and safety of the Janus kinase inhibitor oclacitinib (Apoquel®) in client-owned dogs with atopic dermatitis. **Veterinary Dermatology**. V. 24, n. 6, p. 587-e142, dez. 2013.
- EHLERS, C.; U. IVENS, I.; MØLLER, L. M.; SENDEROVITZ, T; SERUP, J. Comparison of two pH meters used for skin surface pH measurement: the pH meter ‘pH900’ from Courage & Khazaka versus the pH meter ‘1140’ from Mettler Toledo. **Skin Research and Technology**. V. 7, n. 2, mai. 2001, p. 84–89.
- ELIAS, Peter M. The how, why and clinical importance of stratum corneum acidification. **Experimental Dermatology**. V. 26, n. 11, nov. 2017, p. 999–1003.
- FORSYTHE, Peter J. Canine atopic dermatitis: diagnosis and management. **The Veterinary Nurse**. V. 4, n. 10, jan. 2014.
- GERSHWIN, Laurel J. Comparative Immunology of Allergic Responses. **Annual Review of Animal Biosciences**. California, v.3, fev. 2015, p. 327-346.
- HENSEL, Patrick; SANTORO, Domenico; FAVROT, Claude; HILL, Peter; GRIFFIN, Craig. Canine atopic dermatitis: detailed guidelines for diagnosis and allergen identification. **BMC Veterinary Research**. Ago. 2015, p. 11-196.
- MARSELLA, Rosanna; OLIVRY, Thierry; CARLOTTI, Didier-Noel. Current evidence of skin barrier dysfunction in human and canine atopic dermatitis. **Veterinary Dermatology**. V. 22, n. 3, jun. 2011, p. 239–248.
- MATOUSEK, Jennifer L.; CAMPBELL, Karen L. A comparative review of cutaneous pH. **Veterinary Dermatology**. V. 13, n. 6, dez. 2002, p. 293-300.

MILLER, William. H., Jr.; GRIFFIN, Craig. E.; CAMPBELL, Karen L. Muller & Kirk's Small Animal Dermatology. Ed. 7. St. Louis: Elsevier; 2013. 948 p.

NISHIFUJI, Kishifuji; YOON, Ji Seon. The stratum corneum: the rampart of the mammalian body. **Veterinary Dermatology**. V. 24, n. 1, fev. 2013, p. 60-e16.

NUTTALL, Tim; URI, Maarja; HALLIWELL, Richard. Canine atopic dermatitis – what have we learned? **Veterinary Record**. V. 172, n. 8, fev. 2013, p. 201-207.

OH, Won-Seok; OH, Tae-Ho. Mapping of the dog skin based on biophysical measurements. **Veterinary Dermatology**. V. 21, n. 4, ago. 2010, p. 367–372.

OLIVRY, Thierry; DEBOER, Douglas. J.; FAVROT, Claude; JACKSON, Hilary A.; MUELLER, Ralf S.; NUTTALL, Tim; PRÉLAUD, Pascal. Treatment of canine atopic dermatitis: 2010 clinical practice guidelines from the International Task Force on Canine Atopic Dermatitis. **Veterinary Dermatology**. v. 21, n. 3, jun. 2010, p. 233-248.

OLIVRY, Thierry; DEBOER, Douglas J.; FAVROT, Claude.; JACKSON, Hilary A.; MUELLER, Ralf S.; NUTTALL, Tim; PRÉLAUD, Pascal. Treatment of canine atopic dermatitis: 2015 updated guidelines from the International Committee on Allergic Diseases of Animals (ICADA). **BMC Veterinary Research**. V. 11, n. 210, ago. 2015.

PENG, W.; NOVAK, N. Pathogenesis of atopic dermatitis *Clinical & Experimental Allergy*. **Clinical & Experimental Allergy**. V. 45, n. 3, fev. 2015, p. 566–574.

PIEREZAN, Felipe; OLIVRY, Thierry; PAPS, Judith S.; LAWHON, Sara D.; WU, Jing; STEINER, Jörg M.; SUCHODOLSKI, Jan S.; HOFFMANN, Aline Rodrigues. The skin microbiome in allergen-induced canine atopic dermatitis. **Veterinary Dermatology**. V. 27, n. 5, out. 2016, p. 332-e82.

POPA, Iuliana; PORTOUKALIAN, Jacques; HAFTEK, Marek. Specificity in the alteration of lesional and non-lesional skin lipids in atopic dogs. **World Journal of Dermatology**. V. 4, n. 1, fev. 2015, p. 1-7.

PROKSCH, Ehrhardt; BRANDNER, Johanna M.; JENSEN, Jens-Michael. The skin: an indispensable barrier. **Experimental Dermatology**. V. 17, n. 12, dez. 2008, p. 1063-1072.

SANTORO, Domenico; HOFFMANN, Aline Rodrigues. Canine and Human Atopic Dermatitis: Two Faces of the Same Host-Microbe Interaction. **Journal of Investigative Dermatology**. V. 136, n. 6, jun. 2016, p. 1087-1089.

SANTORO, Domenico; MARSELLA, Rosanna; PUCHEU-HASTON, Cherie M.; EISENSCHENK, Melissa N. C.; NUTTALL, Tim; BIZIKOVA, Petra. Review: Pathogenesis of canine atopic dermatitis: skin barrier and host–micro-organism interaction. **Veterinary Dermatology**. V. 26, n. 2, abr. 2015, p 84-e25.

SCHMID-WENDTNER, M. H.; KORTING, H. C. The pH of the Skin Surface and Its Impact on the Barrier Function. **Skin Pharmacology and Physiology**. V. 19, n. 6, nov. 2006, p. 296–302.

SCHOMME, Nina N.; GALLO, Richard L. Structure and function of the human skin microbiome. **Trends in Microbiology**. San Diego, v. 21, n. 12, dez. 2013, p. 660-668.

SCHULZE, Mandy Angelbeck; MISCHKE, Reinhard; ROHN, Karl; TRAUTWEIN, Marion Hewicker; NAIM, Hassan Y.; BÄUMER, Wolfgang. Canine epidermal lipid sampling by skin scrub revealed variations between different body sites and normal and atopic dogs. **BMC Veterinary Research**. V. 10, n. 152, jul. 2014.

STEFANIAK, Aleksandr B.; PLESSIS, Johan du; JOHN, Swen M.; ELOFF, Fritz; AGNER, Tove; CHOU, Tzu-Chieh.; NIXON, Rosemary; STEINER, Markus F. C.; KUDLA, Irena; HOLNESS, D. Linn. International guidelines for the in vivo assessment of skin properties in non-clinical settings: part 1. pH. **Skin Research and Technology**. V. 19, n. 2, mai. 2013, p. 59–68

SZCZEPANIK, Marcin P.; WILKOŁEK, Piotr M.; ADAMEK, Lukasz R.; POMORSKI, Zbigniew J. H. 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. **Journal of Feline Medicine and Surgery**. V. 13, n. 4, abr. 2010, p. 224-230.

VIDÉMONT, Emilie; MARIANI, Claire; VIDAL, Stéphanie; PIN, Didier. Characterization of the canine skin barrier restoration following acute disruption by tape stripping. **Veterinary Dermatology**. V. 23, n. 2, abr. 2012, p. 103–110.

WEESE, J. Scott. The canine and feline skin microbiome in health and disease. **Veterinary Dermatology**. V. 24, n. 1, fev. 2013, p. 137-e31.

WICKETT, R. Randall; VISSCHER, Marty O. Structure and function of the epidermal barrier. **American Journal of Infection Control**. Cincinnati, v. 34, n. 10, dez. 2006, p. s98-s110.

ZAJAC, Marcin; SZCZEPANIK, Marcin P.; WILKOŁEK, Piotr M.; ADAMEK, Lukasz R.; POMORSKI, Zbigniew J. H.; SITKOWSKI, Wieslaw; GOŁYNSKI, Marcin. Assessment of a correlation between Canine Atopic Dermatitis Extent and Severity Index (CADESI-03) and selected biophysical skin measures (skin hydration, pH, and erythema intensity) in dogs with naturally occurring atopic dermatitis. **Canadian Journal of Veterinary Research**. V. 79, n. 2, abr. 2015, p. 136-140.

ANEXO

ANEXO A – Aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA/UNISUL

UNIVERSIDADE DO SUL DE SANTA CATARINA
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS – CEUA/UNISUL

Palhoça, 23 de novembro de 2017
Registro na CEUA (código): 17.041.5.05.IV

Ao Pesquisador/Professor(a): Adriano de Souza Neto

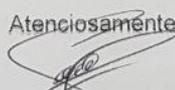
Prezado(a),

Vimos por meio deste, certificar que a proposta de estudo e/ou projeto de pesquisa intitulada "Avaliação de PH cutâneo de cães da raça Shih Tzu com dermatite atópica", registrada com o nº17.041.5.05.IV.IV, sob a responsabilidade de Adriano de Souza Neto - que envolve a manutenção ou utilização de modelos animais pertencentes ao filo *Chordata*, subfilo *Vertebrata* (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei Federal nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) desta Instituição, em reunião de 12 de dezembro de 2017..

A CEUA/UNISUL tem por finalidade cumprir e fazer cumprir, no âmbito da UNISUL e nos limites de suas atribuições, os dispostos na legislação Federal aplicável à criação, manutenção e a utilização de animais em atividades de ensino e de pesquisa, realizadas pelos corpos docente, discente e técnico-administrativo da UNISUL e pesquisadores de outras instituições, caracterizando-se a sua atuação como educativa, consultiva, de assessoria e fiscalização nas questões relativas à matéria, sob os aspectos: I - Ético; II - Legal: enquadramento na legislação vigente.

Gostaríamos de salientar que, embora aprovado, qualquer alteração dos procedimentos e metodologias que houver durante a realização do projeto em questão, deverá ser informada imediatamente à Comissão.

Atenciosamente,



Prof. Sandro Melim Sgrott
Coordenador da Comissão

ANEXO B – Normas para Publicação na Revista MEDVEP (Revista Científica De Medicina Veterinária – Pequenos Animais E Animais De Estimação)

NORMAS PARA PUBLICAÇÃO DE ARTIGOS

MEDVEP – Revista Científica de Medicina Veterinária – Pequenos Animais e Animais de Estimação

Objetivo: A MEDVEP – Revista Científica de Medicina Veterinária – Pequenos Animais e Animais de Estimação têm sua publicação trimestral, com trabalhos de pesquisa, casos clínicos e revisões de literatura, destinados aos Médicos Veterinários e profissionais de áreas afins, além de atualizações e informações diversas.

Normas Gerais: Os trabalhos enviados para publicação devem ser inéditos, não sendo permitida a sua apresentação simultânea em outro periódico. À MEDVEP reservam-se todos os direitos autorais dos trabalhos publicados, inclusive de tradução, permitindo, entretanto, a sua posterior reprodução como transcrição e com devida citação de fonte, sendo que nenhum dos autores será remunerado. A MEDVEP receberá para publicação trabalhos redigidos em português, sendo os textos de inteira responsabilidade dos autores. A redação deve ser clara e precisa, evitando-se trechos obscuros, incoerências e ambigüidades. A MEDVEP reserva-se o direito de submeter todos os trabalhos originais à apreciação da Comissão de Publicação Científica. Os conceitos emitidos nos trabalhos publicados serão de responsabilidade exclusiva dos autores, não refletindo obrigatoriamente a opinião da Comissão Científica e do Conselho Editorial.

Forma de apresentação - elementos constituintes obrigatórios e ordem de apresentação:

Trabalho de pesquisa: **Título em português, título em inglês, nome(s) do(s) autor(es), titulação do(s) autor(es), resumo, palavras-chave, introdução e revisão da literatura, proposição, material e métodos, resultados e discussão, conclusões ou considerações finais, abstract, keywords e referências.**

Comitê de Ética: todos os trabalhos que envolvam estudos com seres vivos, deverão estar de acordo com os Princípios Éticos para Uso de Animais de Laboratório, do SBCAL/COBEA, <http://www.cobea.org.br>, e terem sido aprovados pela Comissão de Ética da Instituição. Enviar cópia da aprovação do CEP (Comitê de Ética em Pesquisa).

Apresentação de originais e suporte físico: os originais destinados à MEDVEP deverão ser redigidos de acordo com o **Estilo Vancouver**. Os originais deverão ser redigidos na ortografia oficial e digitados na fonte **Arial tamanho 12 em folhas de papel tamanho A4, com espaço duplo e margem de 2cm de cada um dos lados, tinta preta, páginas numeradas no canto superior direito, não sendo impostas regras para o tamanho do artigo ou o número de figuras**; porém, se por demais extenso, o conselho editorial pode pedir para que seja reduzido.

Os elementos que fazem parte do texto devem ser apresentados como se segue:

1. Título e subtítulo (português/inglês): deve ser conciso contendo somente as informações necessárias para a identificação do conteúdo.
2. Especificação: se o trabalho é resumo ou parte de dissertação/tese ou monografia mestrado/doutorado ou especialização, iniciação científica ou outros.
3. Nome(s) do(s) autor(es): por extenso na ordem a ser publicada, contendo sua titulação e instituição à qual é afiliado(a).
4. Endereço principal para correspondência e e-mail: do autor responsável pelo artigo.
5. Resumo e Abstract: consiste na apresentação concisa e seqüencial, em um único parágrafo; deve ter no máximo 250 palavras, ressaltando-se o objetivo, material e métodos, resultados e conclusões.

6. Palavras-chave e Keywords: correspondem às palavras ou expressões que identifiquem o conteúdo do artigo. Para a determinação dos descritores, deve-se consultar a lista de “Descritores em Ciências da Saúde – DeCS”, elaborada pela BIREME (<http://decs.bvs.br>). De 3 a 5 descritores.
7. Introdução: deve apresentar com clareza a proposta do estudo tratado na pesquisa. O objetivo deve ser concisamente apresentado.
8. Revisão de Literatura: deve ser pertinente, abrangendo os clássicos e artigos atuais.
9. Material e métodos: identificar os métodos, equipamentos e procedimentos em detalhes suficientes para permitir que outros pesquisadores reproduzam os resultados. Métodos publicados devem ser referenciados, incluindo métodos estatísticos, oferecendo referências e descrições breves que tenham sido publicadas, mas ainda não sejam bem conhecidas, descrever métodos novos ou substancialmente modificados, dar as razões para usá-los e avaliar as suas limitações. Citar aprovação CEP (nº protocolo).
10. Resultados: devem ser apresentados com o mínimo possível de discussão ou interpretação pessoal, acompanhados de tabelas e ilustrações, quando necessário. Não repetir no texto todos os dados já apresentados em ilustrações e tabelas, enfatizando somente as observações importantes. Podem ser apresentados juntamente com a discussão.
11. Discussão: enfatizar os aspectos novos e importantes do estudo e as conclusões resultantes. Deve restringir-se ao significado dos dados obtidos, evitando-se hipóteses não fundamentadas nos resultados. Relatar observações de outros estudos relevantes e relacioná-los ao conhecimento já existente.
12. Conclusão(ões) ou Considerações finais: deve(m) ser pertinente(s) ao(s) objetivo(s) propostos e justificadas nos dados obtidos. Devendo ser respondida a hipótese de trabalho.
13. Referências as referências devem ser numeradas consecutivamente na ordem em que são primeiramente mencionadas no texto. Identificar as referências no texto, tabelas e legendas por números arábicos entre parênteses. Os títulos de periódicos devem ser abreviados de acordo com Index Medicus e impressos sem negrito, itálico ou grifo, devendo-se usar a mesma apresentação em todas as referências, não devendo ser pontuados. Nas publicações com até seis autores, citam-se todos; acima de seis autores, citam-se os seis primeiros, seguidos da expressão et al. A exatidão das referências é de responsabilidade dos autores. Comunicações pessoais, trabalhos em andamento e os não publicados não devem ser incluídos na lista de referências, mas citados em notas de rodapé com asterisco.
14. Citação no texto: é a menção no texto de uma informação extraída de um documento ou um canal de informação. Não serão aceitas citações no Sistema alfabético, somente no Sistema numérico (números entre parênteses): quando uma publicação tiver dois autores, ambos são citados; quando a citação tiver três ou mais autores, apenas o primeiro deve ser citado, seguido da expressão et al.
15. As tabelas, quadros, gráficos e figuras devem ser numerados consecutivamente em algarismos arábicos.
16. As legendas de tabelas e quadros devem ser colocadas na parte superior destes.
17. As legendas de figuras e gráficos devem ser colocadas na parte inferior destes.
18. Todas as tabelas, quadros, figuras e gráficos, sem exceção, devem ser citados no texto.

19. Termos científicos: os termos científicos devem ser grafados por extenso, em vez de seus correspondentes simbólicos abreviados. Unidades de medida devem ser apresentadas rigorosamente de acordo com o Sistema Internacional de Medidas.