

Avaliação da carcinogenicidade do Apoquel[®] (maleato de oclacitinib) em *Drosophila melanogaster*

*Evaluation of the carcinogenicity of Apoquel[®]
(oclacitinib maleate) in Drosophila melanogaster*



Frederico Faria Melo Júnior

Graduando do curso de Medicina Veterinária (UNIPAM). e-mail: ffmjuni@outlook.com

Priscila Capelari Orsolin

Doutora em Genética e Bioquímica pela Universidade Federal de Uberlândia.
Professora do UNIPAM. e-mail: priscilaco@unipam.edu.br

Gláucia Aparecida Oliveira Almeida

Graduanda do curso de Medicina Veterinária (UNIPAM). e-mail: gluciaaolmeida@hotmail.com

RESUMO: Na clínica médica veterinária, a dermatologia é a especialidade de maior casuística, seguida pela oncologia, e ambas estão entre as maiores estatísticas dos atendimentos médicos nos animais, principalmente de companhia. Diante disso, o consumo de diferentes medicações por esses pacientes é frequente e, apesar de eficientes para o controle das patologias, a utilização destes pode causar efeitos diferentes do desejável, como a carcinogênese. Posto isso, o objetivo do presente estudo foi avaliar a carcinogenicidade do Apoquel[®] (maleato de oclacitinib) por meio do teste para detecção de clones de tumores epiteliais (*warts*) em *Drosophila melanogaster*. Para tanto, foram utilizadas três concentrações da substância: 0,25; 0,50 e 1,0 nM. Essas foram utilizadas isoladamente, em associação com doxorubicina (em sistema de cotratamento). O tratamento foi realizado com todas as larvas descendentes do cruzamento de fêmeas *wts/TM3* com machos *mwh/mwh*. Os resultados obtidos possibilitaram evidenciar que o medicamento testado possui ausência de efeito carcinogênico e ausência de efeito modulador sobre a ação da doxorubicina nas concentrações testadas. Sendo assim, conclui-se que o medicamento não possibilita riscos relacionados à carcinogênese nas presentes condições experimentais.

PALAVRAS-CHAVE: Apoquel[®]. Carcinogênese. Dermatologia veterinária. Maleato de oclacitinib. *Wts*.

ABSTRACT: In the veterinary medical clinic, dermatology is the specialty of greater casuistry, followed by oncology, and both are among the largest statistics of medical care in animals, mainly company animals. In view of this, the consumption of different medications by these patients is frequent and, although efficient for the control of the pathologies,

the use of these can cause effects different from the desirable, such as carcinogenesis. Therefore, the objective of the present study was to evaluate the carcinogenicity of Apoquel® (oclacitinib maleate) through the test for the detection of epithelial tumor clones (warts) in *Drosophila melanogaster*. For this, three concentrations of the substance were used: 0.25; 0.50 and 1.0 nM. These were used alone in combination with doxorubicin (in co-treatment). The treatment was carried out with all the larvae descended from the crossing of females *wts/TM3* with *mwh/mwh* males. The results obtained made it possible to show that the drug tested had no carcinogenic effect and no modulating effect on the action of doxorubicin at the tested concentrations. Therefore, it is concluded that the medicament does not allow risks related to carcinogenesis in the present experimental conditions.

KEYWORDS: Apoquel®. Carcinogenesis. Veterinary Dermatology. Oclacitinib maleate. *Wts*.

1. INTRODUÇÃO

A dermatologia (SCOTT *et al.*, 2001) e a oncologia (MACEWEN, 2001) estão entre as especialidades veterinárias que atualmente se destacam. Segundo Scott *et al.* (2001), entre 20% e 75% dos atendimentos médicos realizados em animais se relacionam com problemas dermatológicos. A visibilidade dos sinais clínicos das dermatopatias apresentados pelos cães e gatos acabam sendo foco da atenção dos tutores (CONCEIÇÃO *et al.*, 2004), explicando a intensa casuística nesse serviço.

A manifestação mais comum relatada pelos responsáveis durante atendimentos é o prurido, estando presente em cerca de 30% a 40% de todas as consultas (HILL *et al.*, 2006). Este é definido como a sensação de coceira, sendo ativado por ectoparasitos, alergias e infecções (PATEL; FORSYTHE, 2010). Dentre as patologias tegumentares de caráter alérgico, a dermatopatia atópica canina é bastante recorrente, juntamente com a dermatite alérgica à picada de ectoparasitos (HILL *et al.*, 2006), ambas pruriginosas, porém com desencadeantes diferentes (PATEL; FORSYTHE, 2010).

Para a redução do prurido, os corticoides são empregados com frequência, tendo alta taxa de resposta. Porém, o uso prolongado desses medicamentos causa reações adversas importantes (ODAGUIRI; LUCAS, 2011), incluindo maior suscetibilidade a infecções bacterianas e fúngicas (CHEVILLE, 2004). Por isso, novas alternativas terapêuticas têm sido propostas para a redução desse sinal clínico em cães.

Diante da evolução medicamentosa alcançada pela Medicina Veterinária, a indústria de produtos veterinários Zoetis desenvolveu o Apoquel®, composto por maleato de oclacitinib, cujo objetivo é inibir seletivamente as principais vias envolvidas na inflamação associada a alergias em cães (GONZALES *et al.*, 2014), como a Janus Quinase (JAK). Esse medicamento foi aprovado para o controle e tratamento de prurido associado à dermatite alérgica e à dermatite atópica em cães (APOQUEL®, 2015); ele atua inibindo uma série de citocinas que são pró-inflamatórias ou têm algum papel em respostas alérgicas, incluindo prurido (GONZALES *et al.*, 2014; MARSELLA *et al.*, 2014).

Pesquisas sugerem que o Apoquel® exerce a mesma função da prednisona, de forma eficaz. O diferencial deste é que não foram observados efeitos adversos resultantes da administração de medicações associadas (GADEYNE *et al.*, 2014). Em contrapartida, na descrição da bula, os responsáveis técnicos revelam que o Apoquel® pode exacerbar condições neoplásicas. Nesse mesmo documento, relatam que, em estudo cego, dois cães saíram da pesquisa devido à suspeita e confirmação de neoplasia maligna, sendo que um animal desenvolveu sinais associados à massa cardíaca e outro desenvolveu mastocitoma grau III após 21 e 60 dias de tratamento, respectivamente (APOQUEL®, 2015).

Apesar da importante contribuição para o controle de muitas doenças, a utilização de medicamentos à prática médica produz também efeitos indesejáveis, entre os quais a carcinogênese. O fato de o material genético (DNA) possuir grande sensibilidade às agressões impostas pelo ambiente estimulou um aumento no número de estudos nessa área. Sendo assim, atualmente, diversas substâncias químicas, físicas e biológicas, incluindo os medicamentos, têm sido amplamente testados visando identificar se possuem efeito sobre a carcinogênese (BRAMBILLA; MARTELLI, 2009).

Aliado a esse fator, observa-se que o número de pessoas e de animais domésticos acometidos por algum tipo de neoplasia tem aumentado a cada ano. O estilo de vida da sociedade moderna contribui para a exposição da população a alguns fatores ambientais, nutricionais, químicos e hormonais potencialmente carcinogênicos. Uma consequência da antropomorfização dos animais é a interferência nos hábitos alimentares e no seu ambiente, colocando-os também sob o mesmo risco. Essa pode ser uma das explicações pela qual a incidência de algumas neoplasias se equivale no homem e nos animais (MOULTON, 2008).

Os cuidados dispendidos aos pacientes, aliados aos conhecimentos científicos mais modernos, constituem um dos novos desafios da Medicina Veterinária (OGILVIE, 2003). Estudos baseados na utilização e efeitos presentes no Apoquel® sugerem que seu uso pode acentuar e estimular situações carcinogênicas (GADEYNE *et al.*, 2014; APOQUEL®, 2015), embora tais resultados não sejam ainda comprovados. Além disso, até o momento, não foi realizado nenhum experimento para avaliar o possível efeito carcinogênico dessa substância em *Drosophila melanogaster*.

Nesse contexto, este trabalho propõe uma nova perspectiva de estudo com relação a substância maleato de oclacitinib, presente no Apoquel®, uma vez que não existem estudos comprobatórios do potencial carcinogênico em animais que fazem uso desse medicamento. Informações sobre desenvolvimento e exacerbação de neoplasias são relatadas apenas em estudos cegos na bula.

A incidência de neoplasias em cães e gatos tornou-se um problema comum na clínica veterinária nos últimos anos, sendo a principal causa de morte nos animais de estimação (DOBSON; MORRIS, 2001; WITHROW, 2007). Este fato enfatiza a importância de novas pesquisas para estabelecer um critério de potencialidade carcinogênica do Apoquel®.

Sendo assim, esse trabalho foi desenvolvido com o objetivo de avaliar o efeito carcinogênico do medicamento Apoquel® por meio do teste para detecção

de clones de tumores epiteliais (*warts*) em *Drosophila melanogaster*.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. DERMATOLOGIA VETERINÁRIA E PRURIDO

A alta casuística dermatológica na medicina de cães e gatos é um dado epidemiológico importante. Segundo Xavier (2012), esta afirmação compreende a rotina clínica dos profissionais. O sinal clínico mais comum para uma série de dermatopatias é o prurido (LOGAS, 2003), definido como uma sensação desagradável que leva o animal a lambedura, a morder ou a arranhar a própria pele (IKOMA *et al.*, 2003), tornando-se a razão mais frequente de apresentação para avaliação dermatológica (HILL *et al.*, 2006).

O prurido atua como um sistema de alarme e cuidado, informando sobre a necessidade de remoção de substâncias injuriantes à pele (METZ; GRUNDMANN; STANDER, 2011). Portanto, classificar sua intensidade e avaliar sua localização fazem parte de diagnósticos precisos (SCOTT *et al.*, 2001). A descoberta da causa base é a maneira ideal de tratar o prurido. Entretanto, quando esta não é possível, é necessário controlar este sinal até que ocorra efeito na terapia instituída (ARAÚJO, 2011). Os fármacos antipruríticos disponíveis inativam os mediadores deste sinal, tais como anti-histamínicos e corticosteroides, principalmente (ROSENKRANTZ, 2006).

Os anti-inflamatórios esteroidais (AIE) controlam o prurido em até 75% nos cães (STEFFAN *et al.*, 2003), sendo considerados de alta efetividade (ODAGUIRI; LUCAS, 2011). A prednisolona e a metilprednisolona são os mais prescritos e apresentam um tempo de semivida curto. Porém, devido aos seus efeitos secundários, tornam-se aconselháveis para o tratamento de curto período, sempre em dose mínima (STEFFAN *et al.*, 2003).

2.2. APOQUEL[®]

O Apoquel[®] (maleato de oclacitinib) é um novo inibidor seletivo de vias envolvidas na inflamação, como a Janus Quinase (JAK) (HALLIWELL, 2006; GONZALES *et al.*, 2014). No Brasil, este foi licenciado pelo Ministério da Agricultura em 2015 e é indicado para o controle e tratamento de prurido associado à dermatite alérgica e dermatite atópica em cães (APOQUEL[®], 2015).

As JAKs desempenham papel central na sinalização e transdução de citocinas pró-inflamatórias, pró-alérgicas e pruridogênicas (CARMI-LEVI; HOMEY, 2011). Estas estão envolvidas na sinalização da interleucina 3, uma citocina que induz prurido em cães. A atividade do oclacitinib não se restringe apenas aos efeitos antipruríticos, uma vez que ele também possui propriedades anti-inflamatórias, devido a sua capacidade de inibir a função de outras citocinas, tais como IL-2, IL-4 e IL-6 (GONZALES *et al.*, 2013).

O efeito benéfico e a seletividade do oclacitinib com relação aos membros

da família JAK e citocinas pertinentes à ativação dessa via foram determinados por meio da utilização de modelos celulares humanos e caninos. A inibição de certas proteínas, membros desta família, em aproximadamente 50% das células testadas nas concentrações de 10-99 nM e sua ineficiência em um grupo de 38 proteínas não pertencentes à família JAK determinaram os resultados em pesquisas (GONZALES *et al.*, 2014). Além disso, esta via participa de processos de sinalização no desenvolvimento de neoplasias hematopoiéticas humanas, envolvendo proliferação e sobrevivência celular, angiogênese e metástases (JARK, 2016).

2.3. CâNCER E ONCOLOGIA VETERINÁRIA

O desenvolver, crescer, diferenciar-se e morrer fazem parte da programação natural das células do nosso corpo, por meio de uma resposta a um complexo sistema de sinais bioquímicos. Em decorrência de limitações de programação e desenvolvimento, ocorre a manifestação de um clone de células livres, resultando numa proliferação inadequada que pode desencadear um câncer, sendo este definido como uma doença genômica, surgindo como consequência de alterações cumulativas no material genético (DNA) de células normais, as quais sofrem transformações até se tornarem malignas (JORDE; CAREY; BAMSHAD, 2010).

As doenças neoplásicas na Medicina Veterinária representam uma das maiores preocupações em saúde de cães e gatos (DOBSON; LASCELLES, 2011), sendo uma das maiores causas de morbidade e mortalidade nestas espécies (DOBSON; MORRIS, 2001). Diante disso, a oncologia tornou-se um desafio, envolvendo o diagnóstico da doença até a sua terapêutica (WITHROW; PAGE; VAIL, 2013), tendo o profissional o objetivo de garantir o máximo de tempo de vida do animal, porém, sem comprometer a sua qualidade ou a relação do animal com o tutor (NORTH; BANKS, 2009).

2.4. *DROSOPHILA MELANOGASTER* E SUA APLICABILIDADE EM PESQUISAS GENÉTICAS

A espécie *Drosophila melanogaster*, conhecida como mosca da fruta, foi introduzida em práticas de pesquisas genéticas no início do século XX. Atualmente, a sua utilização é corriqueira em estudos, pois ela possui um fácil manejo em laboratório, tem um ciclo de vida curto (aproximadamente 10 dias a 25° C) e produz grande descendência (SNUSTAD; SIMMONS, 2017). Os estudos na indução e na síntese de tumores nestas moscas estão relacionados à conservação evolutiva de genes supressores tumorais entre a *Drosophila* e os mamíferos. Uma variedade de proto-oncogenes e supressores tumorais de mamíferos estão presentes também nesta espécie (EEKEN *et al.*, 2002).

Há homologia entre o gene supressor de tumor warts (*wts*) em *D. melanogaster* com o LATS1 em mamíferos. Em deficiência, este gene mostrou desenvolvimento de sarcomas em tecidos moles e tumores ovarianos (NISHIYAMA *et al.*, 1999). A identificação do gene warts pelos autores supracitados ocorreu por meio da sua habilidade de agir na *D. melanogaster* como um inibidor de tumores. A formação

de clones de células que geram "verrugas" nos membros e no corpo se deve à deleção desse gene. Assim sendo, este tem importância significativa no controle da morfogênese e na proliferação celular.

Segundo Eeken *et al.* (2002), a inativação de ambos os alelos *wts*, em totalidade de células da *D. melanogaster*, culmina em mortalidade dos embriões. Porém, a ocorrência de mutações e recombinações mitóticas, em indivíduos heterozigotos, pode gerar clones tumorais.

3. METODOLOGIA

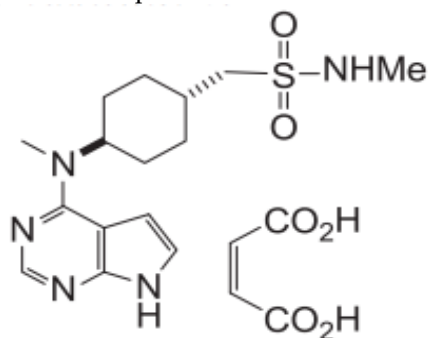
3.1. AGENTES QUÍMICOS

3.1.1. Apoquel®

O Apoquel® (Figura 1) é produzido pela Zoetis Indústria de Produtos Veterinários Ltda em Campinas, São Paulo, Brasil. Cada comprimido possui 3,6 mg, 5,4 mg ou 16 mg de Oclacitinib. Foi desenvolvido para o tratamento do prurido associado a dermatites alérgicas e para o tratamento das manifestações clínicas de dermatites atópicas em cães.

O Apoquel® (lote de fabricação:003/16 e CAS: 1208319-26-9) foi utilizado no presente trabalho nas concentrações de 0,25; 0,50 e 1,0 nM, estabelecidas com base em trabalho desenvolvido por Gonzales *et al.* (2014).

FIGURA 1. Estrutura química do maleato de oclacitinib.



Fonte: Apoquel® (2015)

3.1.2. Doxorubicina

A Adriblastina® (lote de fabricação: 5PL5111; data de fabricação: 09/2015; data de validade: 09/2019 e CAS: 23214-92-8) constituída por cloridrato de Doxorubicina (DXR) foi a substância utilizada como controle positivo neste trabalho, visto que possui efeito carcinogênico demonstrado (ADRIBLASTINA®, 2016). Esse medicamento é produzido pelo laboratório Pfizer e vendido na forma de ampola. A DXR

é armazenada no Laboratório de Citogenética e Mutagênese do Centro Universitário de Patos de Minas (LABCIM) em temperatura ambiente, protegida da luz, respeitando as orientações do fabricante.

A substância foi utilizada na presente pesquisa na concentração de 0,4 mM, concentração reconhecidamente carcinogênica em *Drosophila melanogaster* (ROCHA; ALVES; ORSOLIN, 2015).

3.2. TESTE PARA DETECÇÃO DE CLONES DE TUMORES EPITELIAIS EM *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Foram utilizadas duas linhagens mutantes de *D. melanogaster* (*wts* e *mwh*) para a execução do teste *wts*. Estas são cultivadas em estoque no Laboratório de Citogenética e Mutagênese do Centro Universitário de Patos de Minas. Durante toda a realização do teste supracitado, elas ficaram acondicionadas em frascos contendo meio de cultura próprio para esta espécie, mantidas em incubadora, à temperatura de 25° C e 60% de umidade.

Machos e as fêmeas foram colocados juntos, para acasalamento, em frascos contendo meio de cultura próprio, e depois de 48h, foram transferidos para frascos de postura, onde as fêmeas depositaram seus ovos. Para obtenção de larvas heterozigotas (*wts* +/- *mwh*) de 72 horas, foi realizado o cruzamento entre fêmeas virgens *wts*/TM3, *Sb*¹ com machos *mwh*/*mwh*. As larvas descendentes deste cruzamento foram todas tratadas com Apoquel® (em três diferentes concentrações: 0,25, 0,50 e 1,0 nM) e os respectivos controles.

3.3. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

3.3.1. Tratamento e análise das moscas

As larvas de 72 horas provenientes do cruzamento referido anteriormente foram transferidas para frascos contendo 1,5 g de purê de batatas (meio alternativo para *Drosophila*) e 5 mL de Apoquel® nas três diferentes concentrações. Para o controle positivo foi utilizada a Doxorrubicina (0,4 mM) e, para o controle negativo, água osmose reversa (ultrapura).

Após o tratamento, as moscas foram coletadas e armazenadas em frascos contendo etanol 70%. Em seguida, elas foram separadas quanto ao fenótipo (apenas moscas portadoras de pelos finos e longos apresentam o gene *wts*, e por isso, moscas com fenótipo de pelo curto e grosso são descartadas). Para a análise das moscas, foram utilizadas lupas estereoscópicas e pinças entomológicas.

3.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA

As diferenças estatísticas entre as frequências de tumores das concentrações testadas e os controles foram calculadas utilizando-se o teste *U*, não paramétrico, de Mann-Whitney ($\alpha = 0,05$).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Esse estudo teve como objetivo avaliar o potencial carcinogênico do Apoquel® (maleato de oclacitinib) em concentrações de 0,25; 0,50 e 1,0 nM, por meio do teste para detecção de clones de tumores epiteliais em *D. melanogaster*. Para a obtenção dos resultados, como controle negativo, foi utilizada água de osmose reversa, e como controle positivo, Doxorubicina (DXR) 0,4 mM.

Para a realização do experimento preconiza-se a análise de 200 indivíduos de cada concentração. No entanto, apenas moscas com fenótipo de pelos longos e finos, possuidoras do gene *wts*, são avaliadas. Neste trabalho, em algumas concentrações, esse número não foi completado, visto que nasceram indivíduos em quantidade inferior à sugerida pelo protocolo experimental. Porém, com a proximidade de valores, esse fator não inviabilizou a análise dos resultados, sendo esta realizada normalmente, com obtenção de resultados estatisticamente significativos (conforme Tabela 1).

TABELA 1. Frequência de tumores encontrados nos diferentes segmentos do corpo de *D. melanogaster* tratadas com do Apoquel® (maleato de oclacitinib), controle positivo (DXR 0,4 mM) e controle negativo.

Concentrações	Indivíduos (moscas)	Tumores encontrados						Total	Frequência
		Olho	Cabeça	Asa	Corpo	Perna	Halteres		
Controle negativo	200	00	00	05	05	04	01	15	0,07
Controle positivo	200	01	32	289	182	73	43	620	3,10*
Apoquel® (0,25 nM)	195	00	01	02	11	04	00	18	0,09
Apoquel® (0,50 nM)	200	00	00	02	20	11	03	36	0,18
Apoquel® (1,0 nM)	198	01	03	07	10	05	01	27	0,14
Apoquel® (0,25 nM) + DXR	200	01	23	430	111	131	16	712	3,56
Apoquel® (0,50 nM) + DXR	194	00	34	401	94	80	26	634	3,27
Apoquel® (1,0 nM) + DXR	178	00	07	292	78	84	09	470	2,64

* Diferença estatisticamente significativa de acordo com o teste de Mann-Whitney. Níveis de significância: $\alpha = 0,05$, quando comparado com o controle negativo (água).

DXR, doxorubicina.

Conforme exposto na Tabela 1, os indivíduos tratados apenas com água (controle negativo) obtiveram uma baixa frequência de tumores, o que se explica pela predisposição genética da *D. melanogaster*, sendo esta de 0,07 tumor/ mosca.

No entanto, ao analisar a frequência de tumores dos indivíduos tratados apenas com DXR, é possível notar um aumento significativo ($p < 0,05$) na frequência de tumores, quando comparado ao controle negativo, confirmando o efeito carcinogênico que esse composto tem sobre células somáticas (POLEGATO, 2011).

A doxorubicina é um antibiótico antineoplásico antracíclico isolado de culturas do fungo *Streptomyces peucetius var. caesius* (BITTENCOURT; BRUNSTEIN, 2004), que produz seus efeitos principalmente por meio de ação direta sobre o material genético (RANG *et al.*, 2007). As antraciclina afetam muitas funções do ciclo celular, incluindo a síntese de DNA e RNA, sendo essas carcinogênicas e mutagênicas (BITTENCOURT; BRUNSTEIN, 2004), o que reforça sua utilização como controle positivo no teste *Wts*.

Analisando os resultados dos indivíduos tratados com as diferentes concentrações (0,25; 0,50 e 1,0 nM) de Apoquel® (maleato de oclacitinib) (Tabela 1), isoladamente, é possível observar que nenhuma das concentrações apresentou diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$) nas frequências de tumores, quando comparadas ao controle negativo, sendo essas iguais a 0,09; 0,18 e 0,14 tumor/mosca, respectivamente, indicando a ausência de um possível efeito carcinogênico deste composto.

Com relação aos resultados dos indivíduos tratados com as diferentes concentrações de Apoquel® (maleato de oclacitinib) acrescido da DXR (Tabela 1), é possível observar que nenhuma das concentrações testadas apresentou diferença significativa ($p > 0,05$) nas frequências de tumores, quando comparadas à frequência do controle positivo (DXR), indicando que o Apoquel® não exerce efeito modulador sobre a ação da DXR, não sendo capaz de reduzir nem aumentar significativamente a frequência tumoral nas moscas cotratadas com Apoquel® + DXR. Apesar desse resultado, o medicamento testado é novo no mercado, existindo a necessidade de novas pesquisas convenientes para essa temática.

Nesse sentido, além da capacidade anti-pruridogênica, o maleato de oclacitinib possui propriedade anti-inflamatória por inibir seletivamente as vias envolvidas na inflamação associadas a alergias em cães, como a Janus Quinase – JAK (GONZALES *et al.*, 2014). Essas vias são essenciais para a sinalização dos receptores das citocinas durante a diferenciação das respostas imunológicas, mas também têm ação imprescindível na mediação dos sinais de crescimento, proliferação e formação das células hematopoiéticas e de outros tecidos (JARK, 2016), evidenciando que, quando inibidas, espera-se que o crescimento de massas neoplásicas cesse ou reduza a intensidade, corroborando com os resultados obtidos na presente pesquisa.

No que concerne à análise da carcinogênese do Apoquel®, embora os resultados tenham demonstrado ausência de carcinogenicidade em *D. melanogaster*, estudos expressam que é por meio da administração a curto prazo do maleato de oclacitinib que este se torna seguro em cães, visto que os efeitos adversos são raros e resumem-se a anorexia, vômito, diarreia, polidipsia, infecções do trato urinário, otite, pioderma e surgimento de nódulos cutâneos (COSGROVE *et al.*, 2013, GADEYNE

et al., 2014, LITTLE *et al.*, 2015, OLIVRY *et al.*, 2015). Mormente, informações sobre desenvolvimento e exacerbação de neoplasias são relatadas em estudos cegos na bula (APOQUEL[®], 2015), corroborando para a existência de risco oncogênico. Porém, como mencionado anteriormente, tal efeito não foi confirmado no presente trabalho.

Além disso, o oclacitinib modula o sistema imunitário (EUROPEAN MEDICINES AGENCY, 2015), e estudos relacionaram a administração concomitante e por longos períodos de fármacos imunomoduladores ou imunossupressores, como glicocorticoides orais, ciclosporina e oclacitinib, em qualquer combinação, não sendo recomendada, por resultar num risco aumentado de imunossupressão, predispondo a infecções oportunistas potencialmente graves da pele ou de outros órgãos, bem como aumento da suscetibilidade a infestações e ao desenvolvimento/agravamento de condições neoplásicas (SIK; BURROWS, 2013; NUTTALL; REECE; ROBERTS, 2014; OLIVRY *et al.*, 2015).

Sendo assim, os cães aos quais foram administrados comprimidos devem ser monitorados para detectar as alterações adversas, corroborando com a hipótese de possibilidade de ocorrência de mutação pelo medicamento. Contudo, em relação à necessidade de monitorização laboratorial durante a administração prolongada de oclacitinib, não há ainda consenso, devendo ela ser realizada, caso se observem sinais de doença sistêmica (OLIVRY *et al.*, 2010; OLIVRY *et al.*, 2015).

Outro ponto que deve ser considerado é que, apesar de o Apoquel[®] (maleato de oclacitinib) não ter exercido efeito sobre o gene *Wts* (warts), responsável pela regulação do ciclo celular da *D. melanogaster*, o qual é homólogo ao LATS1, gene supressor de tumores em mamíferos, isso não garante que a substância não possa exercer efeitos em outros genes nos animais, visto que numerosos proto-oncogenes e supressores de tumores em mamíferos, além do *wts*, possuem homologia com genes presentes nesse organismo teste (EEKEN *et al.*, 2002), corroborando com a necessidade de novos estudos relacionados a essa substância.

5. CONCLUSÃO

Diante dos resultados apresentados neste estudo, conclui-se que o Apoquel[®] (maleato de oclacitinib) não apresenta efeito carcinogênico e modulador sobre a ação da doxorrubicina em células de *D. melanogaster*, nas presentes condições experimentais.

Sugere-se que novos estudos, envolvendo outros organismos testes e modelos experimentais, utilizando maiores concentrações de Apoquel[®], sejam conduzidos com o intuito de promover maior compreensão sobre a atividade do medicamento, posto que existem controvérsias sobre a atuação desse medicamento sobre a carcinogênese.

REFERÊNCIAS

- ADRIPLASTINA®: pó liofilizado. Responsável técnico: Carolina C. S. Rizoli. Itapevi: Pfizer Itália S.R.L, 2016 (bula de remédio).
- APOQUEL®: comprimidos. Responsável técnico: Renato B. Ferreira. Campinas: Pfizer Itália S.R.L., 2015 (bula de remédio).
- ARAÚJO, C. P. de. *Abordagem dermatológica ao prurido no cão*. 2011. 83 f. Dissertação (Mestrado Integrado em Medicina Veterinária) - Universidade de Trás-Os-Montes e Alto Douro, Vila Real, 2011.
- BITTENCOURT, H. N. S.; BRUNSTEIN, C. G. "Fármacos neoplásicos", in: FUCHS, F. D.; WANNMACHER, L.; FERREIRA, M. B. *Farmacologia clínica: fundamentos da terapêutica racional*. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004, cap. 42, p. 512-531.
- BRAMBILLA, G.; MARTELLI, A. Update on genotoxicity and carcinogenicity testing of 472 marketed Pharmaceuticals. *Mutation Research*, 681(2): 209-229, 2009.
- CARMI-LEVY, I.; HOMEY, B. S. V. A modular view of cytokine networks in atopic dermatitis. *Clinical Reviews in Allergy and Immunology*, 41(3): 245-253, 2011.
- CHEVILLE, N. *Introdução à Patologia Veterinária*. 2. ed. São Paulo: Roca, 2004.
- CONCEIÇÃO, L. G. *et al.* Biópsia e histopatologia da pele: um valioso recurso diagnóstico na dermatologia. Revisão - parte 1. *Clínica Veterinária*, 9(52): 36-44, 2004.
- COSGROVE, S. B. *et al.* Efficacy and safety of oclacitinib for the control of pruritus and associated skin lesions in dogs with canine allergic dermatitis. *Vet Dermatology*, 24(5): 479-e114, 2013.
- DOBSON, J., LASCELLES, B. *BSAVA Manual of Canine and Feline Oncology*. 3 ed. Gloucester: BSAVA, 2011.
- DOBSON, J.; MORRIS, J. *Small animal oncology*. Oxford: Blackwell Science, 2001.
- EEKEN, J. C. *et al.* Induction of epithelial tumors in *Drosophila melanogaster* heterozygous for the tumor suppressor gene *wts*. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 40(4): 277-282, 2002.
- EUROPEAN MEDICINES AGENCY. *Apoquel (oclacitinib maleate)*, 2015. Disponível em: <<http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines>>. Acesso em 25 fev. 2018.

GADEYNE, C. *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. *Veterinary dermatology*, 25(6): 512-e86, 2014.

GONZALES, A. J. *et al.* Interleukin-31: its role in canine pruritus and naturally occurring canine atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology*, 24(1): 48-53, e11-e42, 2013.

GONZALES, A. J. *et al.* Oclacitinib (APOQUEL®) is a novel Janus kinase inhibitor with activity against cytokines involved in allergy. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 37(4): 317-324, 2014.

HALLIWELL, R. Revised nomenclature for veterinary allergy. *Vet Immunol Immunopathol*, 114 (2006): 207-208.

HILL, P. B. *et al.* Survey of the prevalence, diagnosis and treatment of dermatological conditions in Small animals in general practice. *The Veterinary Record*, 158 (2006): 533-539.

IKOMA, A. *et al.* Neurophysiology of pruritus – interaction of itch and pain. *Archives of Dermatology*, 139(11): 1475-1478, 2003.

JARK, P. C. *Estudo da via jak2/stat3 e de seus inibidores em linfomas multicêntricos difusos de grandes células b caninos*. 2016. 63 f. Tese (Doutorado em Clínica Médica Veterinária) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2016.

JORDE, L. B; CAREY, J. C; BAMSHAD, M. J. *Genética Médica*. 4. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010.

LITTLE, P. R. *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 Dermatology*, 26(1): 23-30 e 27-28, 2015.

LOGAS, D. "An approach to pruritus", in: FOSTER, A. P.; FOIL, C. *BSAVA Manual of Small Animal Dermatology*. 2. ed. Gloucester, UK: British Small Animal Veterinary Association, 2003, p. 37-42.

MACEWEN, E. G. "Tumors miscellaneous", in: WITHROW, S. J.; MACEWEN, E. G. *Small animal clinical oncology*. 3. ed. Philadelphia: Saunders, 2001, cap. 29, pp. 639-646.

MARSELLA, R. *et al.* Current understanding of the pathophysiologic mechanisms of canine atopic dermatitis. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 241 (2): 194-207, 2014.

METZ, M.; GRUNDMANN, S.; STANDER, S. Pruritus: an overview of current concepts.

Veterinary Dermatology, 22(2): 121-131, 2011.

MILLER W.H.; GRIFFIN C.E; CAMPBELL, K.L. "Hypersensitivity disorders", in: *Muller and Kirk's Small Animal Dermatology*, 7th edition. Philadelphia, PA: W.B. Saunders Co., 2013.

MOULTON, J.E. *Tumors in domestic animals*. 4 ed. Berkeley: University of California, 2008.

NISHIYAMA, Y. *et al.* A human homolog of *Drosophila* warts supressor, h-warts, localized to mitotic apparatus and specifically phosphorylated during mitosis. *FEBS Letters*, 459(2): 159-165, 1999.

NORTH, S.; BANKS, T. *Introduction to Small Animal Oncology*. London: Saunders Elsevier, 2009.

NUTTALL, T.; REECE, D.; ROBERTS, E. Life-long diseases need life-long treatment: long-term safety of ciclosporin in canine atopic dermatitis. *Vet Rec*, 174(2): 3-12, 2014.

ODAGUIRI, J.; LUCAS, R. Teste alérgico intradérmico e imunoterapia alérgenos específica no controle da dermatite atópica canina-revisão. *Revista Clínica Veterinária*, 91 (2011): 94-100.

OGILVIE, G. "Principles of nutrition for the cancer patient", in: DOBSON J. M., LASCELLES, B. D. *BSAVA Manual of Canine and Feline Oncology*. 2. ed. Gloucester: British Small Animal Veterinary Association, 2003, pp. 130-135.

OLIVRY, T. *et al.* Treatment of canine atopic dermatitis: 2010 clinical practice guidelines from the International Task Force on Canine Atopic Dermatitis. *Vet Dermatology*, 21(3): 233-248, 2010.

OLIVRY, T. *et al.* Treatment of canine atopic dermatitis: 2015 updated guidelines from the International Committee on Allergic Diseases of Animals (ICADA). *BMC Vet Res*, 11(210): 1-15, 2015.

PATEL, A.; FORSYTHE, P. "Introdução ao prurido – patogênese e evolução das lesões", in: *Dermatologia em pequenos animais*. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010, cap. 3, p. 21-67.

POLEGATO, B. F. *Mecanismos envolvidos na cardiotoxicidade aguda induzida pela doxorubicina em ratos*. 2011. 73 f. Tese, Doutorado em Fisiopatologia em Clínica Médica, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2011.

RANG, H. P. *et al.* *Farmacologia*. 6. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007.

ROCHA, A. A. de O.; ALVES, G. C.B.; ORSOLIN, P. C. Efeito modulador do Roacutan® (isotretinoína) sobre a carcinogenicidade da doxorubicina, avaliado por meio do teste para detecção de clones de tumores epiteliais em *Drosophila melanogaster*. *Perquirere*, 12(2): 201-212, 2005.

ROSENKRANTZ, W. Practical Applications of Topical Therapy for Allergic, Infectious, and Seborrhic Disorders. *Clinical Techiques in Small Animal Practice*, 21(3): 106-116, 2006.

SCOTT, D. W. *et al.* *Muller & Kirk: dermatologia dos pequenos animais*. 6 ed. Philadelphia: Saunders, 2001.

SIKAK, M. K.; BURROWS, A. K. Cutaneous nocardiosis in two dogs receiving ciclosporin therapy for the management of canine atopic dermatitis. *Vet Dermatology*, 24(4): 453-456, e102-453, 2013.

SNUSTAD, D. P.; SIMMONS, M. J. *Fundamentos em genética*. 7 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017.

STEFFAN, J. *et al.* Comparison of cyclosporine A with methylprednisolone for treatment of canine atopic dermatitis: a parallel, blinded, randomized controlled trial. *Veterinary Dermatology*, 14(1): 11-22, 2003.

XAVIER, D. G. *Casística clínica e cirúrgica de uma clínica veterinária, na cidade de Camaquã/RS, durante o período de 2008 a 2011*. 2012. 39 f. Monografia (Especialização em Clínica Médica e Cirúrgica de Pequenos Animais) - Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Porto Alegre, 2012.

WITHROW, S. J. "Why Worry About Cancer in Pets?", in: VAIL, D. M.; WITHROW, S. J. *Withrow and Macewen's small animal clinical oncology*. 4 ed. Missouri: Saunders Elsevier, 2007.

WITHROW, S. J.; PAGE, R.; VAIL, D. M. *Withrow and MacEwen's small animal clinical oncology*. Elsevier Health Sciences, 2013.