

## **RESSALVA**

**Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo deste documento será disponibilizado somente a partir de 25/09/2027.**

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

AVALIAÇÃO DA EXPRESSÃO DA FILAGRINA EM CÃES ACOMETIDOS COM  
DERMATITE ATÓPICA

AMANDA GARCIA STEFANISZEN

Botucatu – SP

2025

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

AVALIAÇÃO DA EXPRESSÃO DA FILAGRINA EM CÃES ACOMETIDOS COM  
DERMATITE ATÓPICA

AMANDA GARCIA STEFANISZEN

Dissertação apresentada junto ao Programa  
de Pós-Graduação em Medicina Veterinária  
para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Henrique de  
Araujo Machado

Botucatu – SP

2025

S816a                    Stefaniszen, Amanda Garcia  
                              Avaliação da expressão da filagrina em cães acometidos com  
                              dermatite atópica / Amanda Garcia Stefaniszen. -- Botucatu, 2025  
                              60 p. : il., tabs., fotos

                              Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP),  
                              Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu  
                              Orientador: Luiz Henrique de Araujo Machado

                              1. atopia. 2. FLG1. 3. FLG2. 4. inflamação. 5. canino. I. Título.

## IMPACTO POTENCIAL DESTA PESQUISA

### **Título da Dissertação – Avaliação da Expressão da Filagrina em Cães com Dermatite Atópica**

Impacto científico esperado: Entendimento de como cães com dermatite atópica apresentam menor produção das proteínas filagrina 1 e filagrina 2, que são essenciais para manter a pele saudável e protegida.

Impacto social: A dermatite atópica causa muita coceira e desconforto nos cães, afetando diretamente sua qualidade de vida e também a convivência com seus tutores. Ao compreender melhor os mecanismos da doença, será possível oferecer formas de diagnóstico e tratamento que tragam bem-estar aos animais e tranquilidade às famílias.

Impacto econômico: Direcionar melhor os tratamentos, evitando gastos excessivos com medicamentos que não funcionam bem. Isso representa economia para os tutores, além de melhorar os resultados no cuidado com os cães.

## POTENTIAL IMPACT OF THIS RESEARCH

### **Dissertation Title – Evaluation of Filaggrin Expression in Dogs with Atopic Dermatitis**

Expected scientific impact: Understanding how dogs with atopic dermatitis show lower production of filaggrin 1 and filaggrin 2 proteins, which are essential to keep the skin healthy and protected.

Social impact: Atopic dermatitis causes intense itching and discomfort in dogs, directly affecting their quality of life and their relationship with their owners. By better understanding the mechanisms of the disease, it will be possible to develop diagnostic and treatment approaches that bring well-being to animals and peace of mind to families.

Economic impact: Providing more targeted treatments helps avoid unnecessary spending on medications that do not work effectively. This means savings for pet owners, as well as better outcomes in caring for dogs.

**Nome da Autora:** Amanda Garcia Stefaniszen

**Título:** AVALIAÇÃO DA EXPRESSÃO DA FILAGRINA EM CÃES  
ACOMETIDOS COM DERMATITE ATÓPICA

### **COMISSÃO EXAMINADORA**

---

Prof. Ass. Dr. Luiz Henrique de Araujo Machado

Presidente e Orientador

Departamento de Clínica Veterinária

FMVZ – UNESP – Botucatu, São Paulo.

---

Prof. Ass. Dra. Alessandra Melchert

Membro da Banca

Departamento de Clínica Veterinária

FMVZ – UNESP – Botucatu, São Paulo.

---

Prof. Dr. Marconi Rodrigues de Farias

Membro da Banca

Pontífice Universidade Católica do Paraná (PUCPR)

**Data da Defesa:** 23 de Setembro de 2025.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus e aos meus guias, que me acompanharam em cada passo dessa jornada, iluminando meu caminho e me concedendo forças para continuar, mesmo diante das maiores adversidades.

Agradeço à minha família, que é a base de tudo. Sem o apoio incondicional e o amor de vocês, eu não estaria aqui. Sou eternamente grata pela educação que recebi, desde a infância até o presente momento, e por me ensinarem que, através da educação, podemos alcançar nossos maiores objetivos.

Gostaria de expressar minha profunda gratidão ao meu orientador, Professor Luiz Henrique, cuja orientação foi fundamental para o meu crescimento tanto profissional quanto pessoal. Sua sabedoria, paciência e dedicação não apenas me ajudaram a aprimorar meus conhecimentos e habilidades, mas também me inspiraram a buscar sempre o melhor de mim em cada desafio.

Quero dedicar um agradecimento especial às minhas queridas amigas Victória, Larissa, Gabrielle, Danielle e Júlia. Cada uma de vocês foi uma fonte constante de apoio, inspiração e amizade ao longo dessa jornada no mestrado. Juntas, compartilhamos momentos de desafios e conquistas, sempre com muito carinho e companheirismo. Vocês me ajudaram a crescer, não apenas como profissional, mas também como pessoa, mostrando que a amizade verdadeira é um pilar essencial para enfrentar qualquer obstáculo.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001

Gostaria de agradecer a Prof Renée e ao técnico Márcio pela ajuda no processamento das amostras para análise.

Por fim, mas não menos importante, agradeço a todos os meus pacientinhos que passaram pelos meus cuidados ao longo desses sete anos como profissional formada. São eles que me impulsionam a continuar aprendendo e aprimorando minhas habilidades todos os dias.

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1.** Critérios propostos por Favrot aplicados em cães com suspeita de DAC ... 22

**Tabela 2.** Iniciadores utilizados nas reações de qPCR ..... 37

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> – Locais de distribuição comuns das lesões da DAC.....	20
<b>Figura 2</b> – Mecanismo imunológico da dermatite atópica na fase aguda .....	24
<b>Figura 3</b> – Resposta imunológica Th1 na dermatite atópica .....	25
<b>Figura 4</b> – Estrutura da pele com seus estratos córneo, granuloso, espinhoso e basal, além da derme .....	26
<b>Figura 5</b> – Esquema da diferenciação epidérmica e do metabolismo da filagrina .....	30
<b>Figura 6</b> – Material para coleta de biopsia de pele (A) e fragmento obtido para realização da avaliação da expressão gênica por qPCR (B) .....	36
<b>Figura 7</b> – Expressão relativa dos genes Filagrina 1 e Filagrina 2 em amostras cutâneas de cães dos grupos controle e atópico.....	38

## LISTA DE ABREVIATURAS

- DA** – Dermatite atópica
- DAC** – Dermatite atópica canina
- TSLP** – Linfopoiética estromal tímica
- Th2** – T-helper tipo 2
- Th1** – T-helper tipo 1
- IgE** – Imunoglobulina E
- IL-2** – Interleucina 2
- IL-4** – Interleucina 4
- IL-5** – Interleucina 5
- IL-6** – Interleucina 6
- IL-13** – Interleucina 13
- IL-25** – Interleucina 25
- IL-31** – Interleucina 31
- IL-33** – Interleucina 33
- MHC** – Complexo principal de histocompatibilidade
- IFN- $\gamma$**  – Interferon gama
- TNF- $\alpha$**  – Fator de necrose tumoral alfa
- Trans-UCA** – Ácido trans-urocânico
- PCA** – Ácido pirrolidona - 5 - carboxílico
- FLG1** – Filagrina 1
- FLG2** – Filagrina 2
- GAPDH** – Gliceraldeído 3 fosfato desidrogenase
- HPRT** – Hipoxantina fosforribosiltransferase

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO .....	15
2	REVISÃO DE LITERATURA .....	16
	2.1 Dermatite atópica canina.....	16
	2.1.1 Patogênese e epidemiologia .....	17
	2.1.2 Aspectos clínicos .....	19
	2.1.3 Diagnóstico .....	20
	2.1.4 Tratamento .....	22
	2.2 Mecanismos imunológicos .....	23
	2.3 Disfunção da barreira cutânea .....	26
	2.4 Papel da filagrina na barreira cutânea .....	29
3	HIPÓTESE .....	33
4	OBJETIVO .....	33
	4.1 Objetivo geral .....	33
	4.2 Objetivo específico .....	34
5	MATERIAIS E MÉTODOS .....	34
	5.1 Ética animal .....	34
	5.2 Delineamento experimental .....	34
	5.2.1 Local e período .....	34
	5.2.2 Critérios de inclusão .....	34
	5.2.3 Critérios de exclusão .....	35
	5.2.4 Coleta das amostras .....	36
	5.3 Expressão gênica .....	36
	5.4 Análise estatística .....	37
6	RESULTADOS .....	37
	6.1 Caracterização da população estudada.....	37
	6.2 Expressão gênica das proteínas FLG1 e FLG2 .....	38
7	DISCUSSÃO .....	39
8	CONCLUSÃO .....	40
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	40
	TRABALHO CIENTÍFICO.....	48

STEFANISZEN, A.G. **Avaliação da expressão da filagrina em cães acometidos com dermatite atópica**. Botucatu, 2025. 43p. Defesa (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

## RESUMO

A dermatite atópica é uma enfermidade crônica e incurável, caracterizada por prurido intenso que acomete tanto humanos quanto cães. Sua patogênese envolve predisposição genética, disfunção imunológica, sensibilização alérgica, alterações na barreira, colonização microbiana e influências ambientais. A pele, além de atuar como barreira física, desempenha funções bioquímicas e imunológicas essenciais para a homeostase do organismo. A filagrina é uma proteína epidérmica fundamental no processo de queratinização, sendo crucial para a integridade da barreira e a manutenção da hidratação da pele. Diante disso, este estudo teve como objetivo avaliar a expressão gênica das proteínas Filagrina 1 (FLG1) e Filagrina 2 (FLG2) na pele de cães atópicos e de um grupo controle, utilizando a técnica de qPCR. Para a pesquisa, foram selecionados 10 cães atópicos atendidos no Serviço de Dermatologia da FMVZ – UNESP, campus Botucatu. Os animais foram submetidos à biópsia de pele na região cervical dorsal. O grupo controle foi composto por 10 cães clinicamente saudáveis, sem lesões dermatológicas, que também passaram pelo mesmo procedimento padronizado. A análise gênica demonstrou redução na expressão de FLG1 e FLG2 em cães atópicos em comparação ao grupo controle, com diferença estatística (FLG1  $p=0.0344$  e FLG2  $p=0.0304$ ). Esses achados reforçam a influência da inflamação associada à dermatite atópica na diminuição da expressão dessas proteínas, contribuindo para o comprometimento da barreira aparente e agravamento da condição dermatológica nesses animais.

**Palavras chave:** atopia, FLG1, FLG2, inflamação, canino.

STEFANISZEN, A.G. **Evaluation of filaggrin expression in dogs with atopic dermatitis.** Botucatu, 2025. 43p. Defense (Master's degree) – School of Veterinary Medicine and Animal Science, Botucatu Campus, São Paulo State University.

### ABSTRACT

Atopic dermatitis is a chronic and incurable disease characterized by intense pruritus and affecting both humans and dogs. Its pathogenesis involves genetic predisposition, immune dysfunction, allergic sensitization, barrier alterations, microbial colonization, and environmental influences. In addition to acting as a physical barrier, the skin performs biochemical and immunological functions essential for the homeostasis of the organism. Filaggrin is an epidermal protein essential in the keratinization process, being crucial for the integrity of the barrier and maintenance of skin hydration. Therefore, this study aimed to evaluate the gene expression of the proteins Filaggrin 1 (FLG1) and Filaggrin 2 (FLG2) in the skin of atopic dogs and a control group, using the qPCR technique. For the research, 10 atopic dogs treated at the Dermatology Service of FMVZ – UNESP, Botucatu campus were selected. The animals underwent skin biopsy in the dorsal cervical region. The control group consisted of 10 clinically healthy dogs, without dermatological lesions, which also underwent the same standardized procedure. Gene analysis demonstrated a reduction in the expression of FLG1 and FLG2 in atopic dogs compared to the control group, with statistical difference (FLG1  $p=0.0344$  and FLG2  $p=0.0304$ ). These findings reinforce the influence of inflammation associated with atopic dermatitis in the decreased expression of these proteins, contributing to the impairment of the apparent barrier and worsening of the dermatological condition in these animals.

**Keywords:** atopy, FLG1, FLG2, inflammation, canine.

# CAPÍTULO 1

## 1 INTRODUÇÃO

A dermatite atópica (DA) é uma doença crônica da pele, que pode afetar tanto seres humanos quanto animais, incluindo os cães (OLIVRY et al., 2010). A dermatite atópica canina (DAC) é uma doença alérgica de grande relevância, destacando-se pela sua alta prevalência e pelo impacto significativo na qualidade de vida dos cães, bem como nos cuidados diários de seus tutores (HILLER & GRIFFIN, 2001; TARPATAKI, 2006; GEDON & MULLER, 2018). Trata-se de uma dermatopatia comum e em ascensão, que tem sido amplamente estudada em diversas pesquisas (SANTORO, 2019).

Trata-se de uma doença complexa e multifatorial, que envolve uma predisposição genética para o desenvolvimento de alergias mediadas por imunoglobulina E (IgE) a alérgenos ambientais, além de desregulação imunológica, sensibilização alérgica, comprometimento da barreira cutânea, colonização por micro-organismos e fatores ambientais (MARSELLA & OLIVRY, 2003; NUTTALL, URI & HALLIWELL, 2013; SARIDOMICHELAKIS & OLIVRY, 2016). Em estudos anteriores, a IgE era vista como a principal responsável pela patogênese das alergias, com ênfase nos mastócitos e na liberação de histamina, porém hoje sabe-se que a presença dessa imunoglobulina pode ser apenas um fenômeno secundário nesse processo (MARSELLA, 2021).

A DAC costuma se manifestar em cães jovens e, inicialmente, pode apresentar sintomas sazonais. No entanto, com o tempo, a condição tende a piorar progressivamente (MARSELLA & GIROLOMONI, 2009; PUCHEU-HASTON, 2015). Do ponto de vista clínico, a doença se caracteriza por inflamação crônica da pele, eritema, prurido e infecções cutâneas recorrentes (SANTORO, 2019; YANG, FU & ZHOU, 2020). As regiões mais comumente afetadas incluem a face, as orelhas, o abdômen, a área inguinal, a região perineal e as extremidades distais (MARSELLA, 2021; GRAHAM, CHAN & HILL, 2019; MARSELLA & GIROLOMONI, 2009).

Com o agravamento crônico da doença e o surgimento de infecções, observa-se uma predominância da resposta inflamatória do tipo I, além de alterações cutâneas

como liquenificação, hiperpigmentação e dermatite papular (MARSELLA & GIROLOMONI, 2009; SANTORO, 2019).

Uma pele comprometida torna-se mais vulnerável à absorção de substâncias e têm maior propensão a desencadear respostas aos alérgenos presentes (MARSELLA, 2021). A redução nas quantidades de ceramidas e a alteração na expressão e distribuição da filagrina são sinais de um defeito na barreira cutânea em cães com DA (NUTTAL et al., 2019). Mudanças nos níveis da proteína filagrina são consideradas um fator crucial na patogênese da DA em humanos, e seu papel também está sendo explorado na medicina veterinária (MARSELLA et al., 2016).

A filagrina é uma proteína envolvida na agregação de filamentos, desempenhando um papel essencial na formação da camada córnea e na diferenciação terminal da epiderme (DE & HANDA, 2012). Essa proteína se origina de um precursor denominado profilagrina, composto por unidades de filagrinas e é armazenada em grânulos de queratohialina localizados no estrato granuloso da pele (COMBARROS, CADIERGUES & SIMON, 2020).

Alterações na expressão da filagrina, bem como mutações que levam à perda de sua função, são frequentemente observadas em humanos com DA e também têm sido associadas à DAC (NUTTALL, URI & HALLIWELL, 2013; NUTTALL et al., 2019).

Nesse contexto, a análise da expressão gênica da filagrina em cães de diferentes raças com dermatite atópica pode contribuir para o entendimento de como essa proteína se relaciona com a patogênese da doença, além de destacar o papel da genética na ocorrência dessa deficiência. Além disso, cães afetados pela DAC podem servir como um modelo valioso para estudos sobre a DA em humanos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBÉROLA, G.; SCHRÖDER, J.M.; FROMENT, C.; SIMON, M. The amino-terminal part of human FLG2 is a component of cornified envelopes. *Journal of Investigative Dermatology*, v.139, n.6, p.1395-1397, 2019. doi:10.1016/j.jid.2018.11.022
- ARCIQUE, M.A.; BAJWA, J. Atopic dermatitis in humans and dogs. *Canadian Veterinary Journal*, v.61, n.1, p.82-84, 2020.
- BANOVIC, F. Updated insights into the molecular pathogenesis of canine atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology*, Published online September 25, 2024. doi:10.1111/vde.13300.
- BIZIKOVA, P.; PUCHEU-HASTON, C.M.; EISENSENCH, M.N.; MARSELLA, R.; NUTTALL, T.; SANTORO, D. Review: Role of genetics and the environment in the pathogenesis of canine atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology*, v.26, n.2, p.95-e26, 2015. doi:10.1111/vde.12198.
- BROWN, S.J.; MCLEAN, W.H. One remarkable molecule: filaggrin. *Journal of Investigative Dermatology*, v.132, n.3 Pt 2, p.751-762, 2012. doi:10.1038/jid.2011.393
- CHEMPPRAPAI, S.; BROERE, F.; GOORIS, G.; SCHLOTTER, Y.M.; RUTTEN, V.P.M.G.; BOUWSTRA, J.A. Altered lipid properties of the stratum corneum in canine atopic dermatitis. *Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes*, v.1860, n.2, p.526-533, 2018. doi:10.1016/j.bbamem.2017.11.013.
- CHERVET, L.; GALICHET, A.; MCLEAN, W.H.; et al. Missing C-terminal filaggrin expression, NFkappaB activation, and hyperproliferation identify the dog as a putative model to study epidermal dysfunction in atopic dermatitis. *Experimental Dermatology*, v.19, n.8, p.e343-e346, 2010. doi:10.1111/j.1600-0625.2010.01109.x.
- COMBARROS, D.; CADIERGUES, M.-C.; SIMON, M. Update on canine filaggrin: a review. *Veterinary Quarterly*, p.1-9, 2020. doi:10.1080/01652176.2020
- DE D, HANDA, S. Filaggrin mutations and the skin. *Indian Journal of Dermatology, Venereology, and Leprology*, v.78, p.545-551, 2012.
- DI, Z.H.; MA, L.; QI, R.Q.; et al. T helper 1 and T helper 2 cytokines differentially modulate expression of filaggrin and its processing proteases in human keratinocytes. *Chinese Medical Journal (English)*, v.129, n.3, p.295-303, 2016. doi:10.4103/0366-

6999.174489. [Published correction appears in *Chinese Medical Journal (Engl)*, 2022 May 5;135(9):1026. doi: 10.1097/CM9.0000000000002174.]

DRISLANE, C.; IRVINE, A.D. The role of filaggrin in atopic dermatitis and allergic disease. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, v.124, n.1, p.36-43, 2020. doi:10.1016/j.anai.2019.10.008.

EISENSENCH, M.C.; HENSEL, P.; SARIDOMICHELAKIS, M.N.; TAMAMOTO-MOCHIZUKI, C.; PUCHEU-HASTON, C.M.; SANTORO, D. Introduction to the ICADA 2023 canine atopic dermatitis pathogenesis review articles and updated definition. *Veterinary Dermatology*, v.35, n.1, p.3-4, 2024.

ELMOSE, C.; THOMSEN, S.F. Twin studies of atopic dermatitis: interpretations and applications in the filaggrin era. *Journal of Allergy (Cairo)*, v.2015, p.902359, 2015. doi:10.1155/2015/902359.

FANTON, N.; SANTORO, D.; CORNEGLIANI, L.; MARSELLA, R. Increased filaggrin-metabolizing enzyme activity in atopic skin: a pilot study using a canine model of atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology*, v.28, n.5, p.479-e111, 2017. doi:10.1111/vde.12443.

FAVROT, C. Clinical signs and diagnosis of canine atopic dermatitis. *European Journal of Companion Animal Practice*, v.19, n.3, p.219-222, 2009.

FAVROT, C.; STEFFAN, J.; SEEWALD, W.; PICCO, F. A prospective study on the clinical features of chronic canine atopic dermatitis and its diagnosis. *Veterinary Dermatology*, v.21, n.1, p.23-31, 2010. doi:10.1111/j.1365-3164.2009.00758.x.

FERNANDES, B.; ALVES, S.; SCHMIDT, V.; et al. Primary prevention of canine atopic dermatitis: Breaking the cycle—a narrative review. *Veterinary Sciences*, v.10, n.11, p.659, 2023. Published 2023 Nov 16. doi:10.3390/vetsci10110659

GEDON, N.K.Y.; MUELLER, R.S. Atopic dermatitis in cats and dogs: a difficult disease for animals and owners. *Clinical and Translational Allergy*, v.8, p.41, 2018. Published 2018 Oct 5. doi:10.1186/s13601-018-0228-5.

GONZALES, A.J.; HUMPHREY, W.R.; MESSAMORE, J.E.; et al. Interleukin-31: its role in canine pruritus and naturally occurring canine atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology*, v.24, n.1, 2013. doi:10.1111/j.1365-3164.2012.01098.x

HANSMANN, B.; AHRENS, K.; WU, Z.; PROKSCH, E.; MEYER-HOFFERT, U.; SCHRÖDER, J.-M. Murine filaggrin-2 is involved in epithelial barrier function and down-regulated in metabolically induced skin barrier dysfunction. *Experimental Dermatology*, v.21, n.4, p.271-276, 2012. doi:10.1111/j.1600-0625.2012.01449.x.

HARDING, C.R.; AHO, S.; BOSKO, C.A. Filaggrin - revisited. *International Journal of Cosmetic Science*, v.35, n.5, p.412-423, 2013. doi:10.1111/ics.12049.

HENRY, J.; TOULZA, E.; HSU, C.Y.; et al. Update on the epidermal differentiation complex. *Frontiers in Bioscience (Landmark Ed.)*, v.17, n.4, p.1517-1532, 2012. Published 2012 Jan 1. doi:10.2741/4001.

HENSEL, P.; SANTORO, D.; FAVROT, C.; HILL, P.; GRIFFIN, C. Canine atopic dermatitis: detailed guidelines for diagnosis and allergen identification. *BMC Veterinary Research*, v.11, p.196, 2015. Aug 11. doi:10.1186/s12917-015-0515-5.

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

HSU, S.M.; RAINE, L.; FANGER, H. Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: a comparison between ABC and 76 unlabeled antibody (PAP) procedures. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, v.29, n.4, p.577-580, 1981a.

HOOBER, J.K.; EGGINK, L.L. The discovery and function of filaggrin. *International Journal of Molecular Sciences*, v.23, n.3, p.1455, 2022. Published 2022 Jan 27. doi:10.3390/ijms23031455.

HOWELL, M.D.; KIM, B.E.; GAO, P.; et al. Cytokine modulation of atopic dermatitis filaggrin skin expression. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, v.124, n.3 Suppl 2, p.R7-R12, 2009. doi:10.1016/j.jaci.2009.07.012.

KALB, B.; MARENHOLZ, I.; JEANRENAUD, A.C.S.N.; et al. Filaggrin loss-of-function mutations are associated with persistence of egg and milk allergy. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, v.150, n.5, p.1125-1134, 2022. doi:10.1016/j.jaci.2022.05.018.

KANDA, S.; SASAKI, T.; SHIOHAMA, A.; et al. Characterization of canine filaggrin: gene structure and protein expression in dog skin. *Veterinary Dermatology*, v.24, n.1, p.25-31.e7, 2013. doi:10.1111/j.1365-3164.2012.01105.x.

KANWAL, S.; SINGH, S.K.; SOMAN, S.P.; et al. Expression of barrier proteins in the skin lesions and inflammatory cytokines in peripheral blood mononuclear cells of atopic dogs. *Scientific Reports*, v.11, n.1, p.11418, 2021. Published 2021 Jun 1. doi:10.1038/s41598-021-90992-z.

KAWASAKI, H.; KUBO, A.; SASAKI, T.; AMAGAI, M. Loss-of-function mutations within the filaggrin gene and atopic dermatitis. *Current Problems in Dermatology*, v.41, p.35-46, 2011. doi:10.1159/000323291

KUBO, A.; NAGAO, K.; AMAGAI, M. Epidermal barrier dysfunction and cutaneous sensitization in atopic diseases. *Journal of Clinical Investigation*, v.122, n.2, p.440-447, 2012. doi:10.1172/JCI57416.

LABIB, A.; YOSIPOVITCH, G.; OLIVRY, T. What can we learn from treating atopic itch in dogs? *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, v.150, n.2, p.284-286, 2022. doi:10.1016/j.jaci.2022.05.007.

LAPP, T.; AUW-HAEDRICH, C.; REINHARD, T.; et al. Analysis of filaggrin mutations and expression in corneal specimens from patients with or without atopic dermatitis. *International Archives of Allergy and Immunology*, v.163, n.1, p.20-24, 2014. doi:10.1159/000355965.

LE LAMER, M.; PELLERIN, L.; REYNIER, M.; et al. Defects of corneocyte structural proteins and epidermal barrier in atopic dermatitis. *Biological Chemistry*, v.396, n.11, p.1163-1179, 2015. doi:10.1515/hsz-2015-0141.

LEITCH, C.S.; NATAFJI, E.; YU, C.; et al. Filaggrin-null mutations are associated with increased maturation markers on Langerhans cells. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, v.138, n.2, p.482-490.e7, 2016. doi:10.1016/j.jaci.2015.11.040.

LIANG, Y.; CHANG, C.; LU, Q. The genetics and epigenetics of atopic dermatitis—filaggrin and other polymorphisms. *Clinical Reviews in Allergy and Immunology*, v.51, n.3, p.315-328, 2016. doi:10.1007/s12016-015-8508-5.

LIVAK, K.J.; SCHMITTGEN, T.D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the  $2^{-\Delta\Delta CT}$  method. *Methods*, v.25, n.4, p.402-408, 2001.

MAKINO, T.; MIZAWA, M.; YAMAKOSHI, T.; TAKAISHI, M.; SHIMIZU, T. Expression of filaggrin-2 protein in the epidermis of human skin diseases: A comparative analysis with filaggrin. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, v.449, n.1, p.100-106, 2014.

MARSELLA, R.; AHRENS, K.; WILKES, R. Differences in behavior between normal and atopic keratinocytes in culture: Pilot studies. *Veterinary Sciences*, v.9, n.7, p.329, 2022. Jun 30. doi:10.3390/vetsci9070329. PMID: 35878346; PMCID: PMC9319359.

MARSELLA, R.; AHRENS, K.; WILKES, R. Studies using antibodies against filaggrin and filaggrin 2 in canine normal and atopic skin biopsies. *Animals*, v.14, n.3, p.478, 2024. <https://doi.org/10.3390/ani14030478>.

MARSELLA, R.; DE BENEDETTO, A. Atopic dermatitis in animals and people: An update and comparative review. *Veterinary Sciences*, v.4, n.3, p.37, 2017. Published 2017 Jul 26. doi:10.3390/vetsci4030037.

MARSELLA, R.; OLIVRY, T.; CARLOTTI, D.N.; International Task Force on Canine Atopic Dermatitis. Current evidence of skin barrier dysfunction in human and canine atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology*, v.22, n.3, p.239-248, 2011. doi:10.1111/j.1365-3164.2011.00967.x.

MARSELLA, R.; SAMUELSON, D.; DOERR, K. Transmission electron microscopy studies in an experimental model of canine atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology*, v.21, n.1, p.81-88, 2010. doi:10.1111/j.1365-3164.2009.00802.x.

MARSELLA, R.; SAMUELSON, D.; HARRINGTON, L. Immunohistochemical evaluation of filaggrin polyclonal antibody in atopic and normal beagles. *Veterinary Dermatology*, v.20, n.5-6, p.547-554, 2009. doi:10.1111/j.1365-3164.2009.00844.x.

MARSELLA, R.; SANTORO, D.; AHRENS, K.; THOMAS, A.L. Investigation of the effect of probiotic exposure on filaggrin expression in an experimental model of canine atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology*, v.24, n.2, p.260-e57, 2013. doi:10.1111/vde.12006.

MARSELLA, R. Advances in our understanding of canine atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology*, v.32, n.6, p.547-e151, 2021. doi:10.1111/vde.12965.

MARSELLA, R. Atopic dermatitis in domestic animals: What our current understanding is and how this applies to clinical practice. *Veterinary Sciences*, v.8, n.7, p.124, 2021. Published 2021 Jul 2. doi:10.3390/vetsci8070124.

MARSELLA, R. Investigation into the effects of allergen exposure and topical vinegar and water spray on skin barrier parameters in atopic dogs. *Veterinary Sciences*, v.11, n.10, p.459, 2024. Published 2024 Oct 1. doi:10.3390/vetsci11100459.

MARSELLA, R.; PAPASTAVROS, V.; AHRENS, K.; SANTORO, D. Decreased expression of caspase-14 in an experimental model of canine atopic dermatitis. *The Veterinary Journal*, v.209, p.201-203, 2016.

MARSELLA, R.; OLIVRY, T. Animal models of atopic dermatitis. *Clinics in Dermatology*, v.21, n.2, p.122-133, 2003.

MENG, J.; MORIYAMA, M.; FELD, M.; et al. New mechanism underlying IL-31-induced atopic dermatitis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, v.141, n.5, p.1677-1689.e8, 2018. doi:10.1016/j.jaci.2017.12.1002.

MILLER, J.; SIMPSON, A.; BLOOM, P.; et al. 2023 AAHA Management of Allergic Skin Diseases in Dogs and Cats Guidelines. *Journal of the American Animal Hospital Association*, v.59, n.6, p.255-284, 2023. doi:10.5326/JAAHA-MS-7396.

MOOSBRUGGER-MARTINZ, V.; LEPRINCE, C.; MÉCHIN, M.C.; et al. Revisiting the roles of filaggrin in atopic dermatitis. *International Journal of Molecular Sciences*, v.23, n.10, p.5318, 2022. Published 2022 May 10. doi:10.3390/ijms23105318.

MOSCA, M.; LEGAIN, M.; NOËL, G.; IDÉE, A.; PIN, D. Macroscopic skin examination can determine the number of strips necessary to study the stratum corneum in dogs. *Veterinary Sciences*, v.10, n.9, p.547, 2023. Published 2023 Sep 1. doi:10.3390/vetsci10090547.

NAM, E.H.; PARK, S.H.; JUNG, J.Y.; et al. Evaluation of the effect of a 0.0584% hydrocortisone aceponate spray on clinical signs and skin barrier function in dogs with atopic dermatitis. *Journal of Veterinary Science*, v.13, n.2, p.187-191, 2012. doi:10.4142/jvs.2012.13.2.187.

NGUYEN, H.L.T.; TRUJILLO-PAEZ, J.V.; UMEHARA, Y.; et al. Role of antimicrobial peptides in skin barrier repair in individuals with atopic dermatitis. *International Journal of Molecular Sciences*, v.21, n.20, p.7607, 2020. Published 2020 Oct 14. doi:10.3390/ijms21207607.

NISHIFUJI, K.; YOON, J.S. The stratum corneum: the rampart of the mammalian body. *Veterinary Dermatology*, v.24, n.1, 2013. doi:10.1111/j.1365-3164.2012.01090.x.

NUTTALL, T.J.; MARSELLA, R.; ROSENBAUM, M.R.; GONZALES, A.J.; FADOK, V.A. Update on pathogenesis, diagnosis, and treatment of atopic dermatitis in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v.254, n.11, p.1291-1300, 2019. doi:10.2460/javma.254.11.1291.

NUTTALL, T.; URI, M.; HALLIWELL, R. Canine atopic dermatitis – what have we learned? *Veterinary Record*, v.172, n.8, p.201-207, 2013.

OETJEN, L.K.; MACK, M.R.; FENG, J.; WHELAN, T.M.; NIU, H.; GUO, C.J.; CHEN, S.; TRIER, A.M.; XU, A.Z.; TRIPATHI, S.V.; LUO, J.; GAO, X.; YANG, L.; HAMILTON, S.L.; WANG, P.L.; BRESTOFF, J.R.; COUNCIL, M.L.; BRASINGTON, R.; SCHAFFER, A.; BROMBACHER, F.; HSIEH, C.S.; GEREAU, R.W.4TH; MILLER, M.J.; CHEN, Z.F.; HU, H.; DAVIDSON, S.; LIU, Q.; KIM, B.S. Sensory neurons co-opt classical immune signaling pathways to mediate chronic itch. *Cell*, v.171, n.1, p.217-228.e13, 2017. doi:10.1016/j.cell.2017.08.006.

OGRODOWCZYK, A.; MARKIEWICZ, L.; WRÓBLEWSKA, B. Mutations in the filaggrin gene and food allergy. *Przegląd Gastroenterologiczny*, v.9, n.4, p.200-207, 2014. doi:10.5114/pg.2014.45100.

OLIVRY, T.; PAPS, J.S.; AMALRIC, N. Transient and reversible reduction of stratum corneum filaggrin degradation products after allergen challenge in experimentally mite-sensitised atopic dogs. *Veterinary Dermatology*, v.33, n.1, p.62-e20, 2022. doi:10.1111/vde.13026.

OLIVRY, T. Is the skin barrier abnormal in dogs with atopic dermatitis?. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, v.144, n.1-2, p.11-16, 2011. doi:10.1016/j.vetimm.2011.07.014.

OUTERBRIDGE, C.A.; JORDAN, T.J.M. Current knowledge on canine atopic dermatitis: pathogenesis and treatment. *Advances in Small Animal Care*, v.2, p.101-115, Nov 2021. doi:10.1016/j.yasa.2021.07.004.

PALMER, C.N.; IRVINE, A.D.; TERRON-KWIATKOWSKI, A.; et al. Common loss-of-function variants of the epidermal barrier protein filaggrin are a major predisposing factor for atopic dermatitis. *Nature Genetics*, v.38, n.4, p.441-446, 2006. doi:10.1038/ng1767.

PELLERIN, L.; HENRY, J.; HSU, C.Y.; et al. Defects of filaggrin-like proteins in both lesional and nonlesional atopic skin. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, v.131, n.4, p.1094-1102, 2013. doi:10.1016/j.jaci.2012.12.1566.

PIN, D.; PENDARIES, V.; KEITA ALASSANE, S.; et al. Refined Immunochemical Characterization in Healthy Dog Skin of the Epidermal Cornification Proteins, Filaggrin, and Corneodesmosin. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, v.67, n.2, p.85-97, 2019. doi:10.1369/0022155418798807.

PRESLAND, R.B.; DALE, B.A. Epithelial structural proteins of the skin and oral cavity: function in health and disease. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine*, v.11, n.4, p.383-408, 2000. doi:10.1177/10454411000110040101.

RAWLINGS, A.V.; HARDING, C.R. Moisturization and skin barrier function. *Dermatologic Therapy*, v.17 Suppl 1, p.43-48, 2004. doi:10.1111/j.1396-0296.2004.04s1005.x.

ROQUE, J.B.; O'LEARY, C.A.; KYAW-TANNER, M.; DUFFY, D.L.; SHIPSTONE, M. Real-time PCR quantification of the canine filaggrin orthologue in the skin of atopic

and non-atopic dogs: a pilot study. *BMC Research Notes*, v.4, p.554, 2011. doi:10.1186/1756-0500-4-554.

SANDILANDS, A.; SUTHERLAND, C.; IRVINE, A.D.; McLEAN, W.H. Filaggrin in the frontline: role in skin barrier function and disease. *Journal of Cell Science*, v.122, Pt 9, p.1285-1294, 2009 May 1. doi:10.1242/jcs.033969.

SANTORO, D.; MARSELLA, R.; AHRENS, K.; GRAVES, T.K.; BUNICK, D. Altered mRNA and protein expression of filaggrin in the skin of a canine animal model for atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology*, v.24, n.3, p.329-e73, 2013. doi:10.1111/vde.12031.

SANTORO, D.; MARSELLA, R.; PUCHEU-HASTON, C.M.; EISENSENCH, M.N.; NUTTALL, T.; BIZIKOVA, P. Review: Pathogenesis of canine atopic dermatitis: skin barrier and host-micro-organism interaction. *Veterinary Dermatology*, v.26, n.2, p.84-e25, 2015. doi:10.1111/vde.12197.

SANTORO, D. Therapies in Canine Atopic Dermatitis: An Update. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, v.49, n.1, p.9-26, 2019. doi:10.1016/j.cvsm.2018.08.002.

SARIDOMICHELAKIS, M.N.; OLIVRY, T. An update on the treatment of canine atopic dermatitis. *The Veterinary Journal*, v.207, p.29-37, 2016. doi:10.1016/j.tvjl.2015.09.016.

SCHAMBER, P.; SCHWAB-RICHARDS, R.; BAUERSACHS, S.; MUELLER, R.S. Gene expression in the skin of dogs sensitized to the house dust mite *Dermatophagoides farinae*. *G3 (Bethesda)*, v.4, n.10, p.1787-1795, 2014 Aug 5. doi:10.1534/g3.114.013003.

SEGARRA, S.; NAIKEN, T.; GARNIER, J.; HAMON, V.; COUSSAY, N.; BERNARD, F.X. Enhanced in vitro expression of filaggrin and antimicrobial peptides following application of glycosaminoglycans and a sphingomyelin-rich lipid extract. *Vet Sciences*, v.9, n.7, p.323, 2022 Jun 27. doi:10.3390/vetsci9070323.

SEGUCHI, T.; CUI, C.Y.; KUSUDA, S.; TAKAHASHI, M.; AISU, K.; TEZUKA, T. Decreased expression of filaggrin in atopic skin. *Archives of Dermatological Research*, v.288, n.8, p.442-446, 1996. doi:10.1007/BF02505232.

SIMPSON, A.; BROUGH, H.A.; HAIDER, S.; BELGRAVE, D.; MURRAY, C.S.; CUSTOVIC, A. Early-life inhalant allergen exposure, filaggrin genotype, and the development of sensitization from infancy to adolescence. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, v.145, n.3, p.993-1001, 2020. doi:10.1016/j.jaci.2019.08.041.

STAHL, J.; PAPS, J.; BÄUMER, W.; OLIVRY, T. *Dermatophagoides farinae* house dust mite allergen challenges reduce stratum corneum ceramides in an experimental dog model of acute atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology*, v.23, n.6, p.497-e97, 2012. doi:10.1111/j.1365-3164.2012.01114.x.

STEINERT, P.M.; CANTIERI, J.S.; TELLER, D.C.; LONSDALE-ECCLES, J.D.; DALE, B.A. Characterization of a class of cationic proteins that specifically interact

with intermediate filaments. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, v.78, p.4097-4101, 1981.

TAMAMOTO-MOCHIZUKI, C.; OLIVRY, T. IL-31 and IL-31 receptor expression in acute experimental canine atopic dermatitis skin lesions. *Veterinary Dermatology*, v.32, n.6, p.631-e169, 2021. doi:10.1111/vde.13034.

TARPATAKI, Noémi. Recent developments in canine atopic dermatitis: a review. *Acta Veterinaria Hungarica*, v.54, n.4, p.473-484, 2006.

TENGVALL, K.; SUNDSTRÖM, E.; WANG, C.; et al. Bayesian model and selection signature analyses reveal risk factors for canine atopic dermatitis. *Communications Biology*, v.5, n.1, p.1348, 2022. doi:10.1038/s42003-022-04279-8

THEERAWATANASIRIKUL, S.; SAILASUTA, A.; THANAWONGNUWECH, R.; SURIYAPHOL, G. Alterations of keratins, involucrin and filaggrin gene expression in canine atopic dermatitis. *Research in Veterinary Science*, v.93, n.3, p.1287-1292, 2012. doi:10.1016/j.rvsc.2012.06.005.

THEERAWATANASIRIKUL, S.; SURIYAPHOL, G.; THANAWONGNUWECH, R.; SAILASUTA, A. Histologic morphology and involucrin, filaggrin, and keratin expression in normal canine skin from dogs of different breeds and coat types. *Journal of Veterinary Science*, v.13, n.2, p.163-170, 2012. doi:10.4142/jvs.2012.13.2.163.

THYSSEN, J.P.; KEZIC, S. Causes of epidermal filaggrin reduction and their role in the pathogenesis of atopic dermatitis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, v.134, n.4, p.792-799, 2014. doi:10.1016/j.jaci.2014.06.014.

TOYOKUNI, K.; YAMAMOTO-HANADA, K.; YANG, L.; et al. Influence of household pet ownership and filaggrin loss-of-function mutations on eczema prevalence in children: A birth cohort study. *Allergology International*, v.73, n.3, p.422-427, 2024. doi:10.1016/j.alit.2024.01.003.

VILLALOBOS, W. R.; FERREIRA, T.; BOREK, F.; SANTORO, D.; FERRER, L.; FARIAS, M. Evaluation of filaggrin 2 expression in dogs with atopic dermatitis before and after oclacitinib maleate administration. *Veterinary Dermatology*, 2025 mar. 5. doi:10.1111/vde.13334.

VOGELNEST, L. Canine atopic dermatitis: a common, chronic and challenging dermatosis. *Veterinary Record*, v.188, n.5, p.185-187, 2021. doi:10.1002/vetr.273.

WEIDINGER, S.; O'SULLIVAN, M.; ILLIG, T.; et al. Filaggrin mutations, atopic eczema, hay fever, and asthma in children. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, v.121, n.5, p.1203-1209.e1, 2008. doi:10.1016/j.jaci.2008.02.014.

WOOD, S.H.; OLLIER, W.E.; NUTTALL, T.; McEWAN, N.A.; CARTER, S.D. Despite identifying some shared gene associations with human atopic dermatitis, the use of multiple dog breeds from various locations limits detection of gene associations in canine atopic dermatitis. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, v.138, n.3, p.193-197, 2010. doi:10.1016/j.vetimm.2010.07.020.

WU, Z.; HANSMANN, B.; MEYER-HOFFERT, U.; GLÄSER, R.; SCHRÖDER, J.M. Molecular identification and expression analysis of filaggrin-2, a member of the S100 fused-type protein family. *PLoS One*, v.4, n.4, e5227, 2009. doi:10.1371/journal.pone.0005227.

YANG, L.; FU, J.; ZHOU, Y. Research Progress in Atopic March. *Frontiers in Immunology*, v.11, p.1907, 2020. doi:10.3389/fimmu.2020.01907.