



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CEARÁ
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS
DOUTORADO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

REGINALDO PEREIRA DE SOUSA FILHO

**PARÂMETROS CLÍNICOS E BIOMARCADORES SISTÊMICOS E TECIDUAIS DA
RESPOSTA INFLAMATÓRIA EM GATOS COM PERDA DA INTEGRIDADE DAS
MUCOSAS ORAL, INTESTINAL E URETRAL**

FORTALEZA - CEARÁ

2020

REGINALDO PEREIRA DE SOUSA FILHO

PARÂMETROS CLÍNICOS E BIOMARCADORES SISTÊMICOS E TECIDUAIS DA
RESPOSTA INFLAMATÓRIA EM GATOS COM PERDA DA INTEGRIDADE DAS
MUCOSAS ORAL, INTESTINAL E URETRAL

Tese apresentada ao Curso de Doutorado em Ciências Veterinárias do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Faculdade de Veterinária da Universidade Estadual do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Ciências Veterinárias. Área de Concentração: Reprodução e Sanidade Animal.

Orientadora: Prof.^a Dra. Diana Célia Sousa Nunes Pinheiro

FORTALEZA - CEARÁ

2020

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Estadual do Ceará
Sistema de Bibliotecas**

Sousa Filho, Reginaldo Pereira de.

Parâmetros clínicos e biomarcadores sistêmicos e teciduais da resposta inflamatória em gatos com perda da integridade das mucosas oral, intestinal e uretral. [recurso eletrônico] / Reginaldo Pereira de Sousa Filho. - 2020

135 f. : il.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual do Ceará, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Faculdade de Veterinária, Doutorado em Ciências Veterinárias, Fortaleza, 2020.

Área de Concentração: Reprodução e Sanidade Animal.

Orientação: Prof.^a Dra. Diana Célia Sousa Nunes Pinheiro.

1. Biomarcadores. 2. Cistite. 3. Uretrostomia.
4. Doença inflamatória intestinal. 5. Gengivite.
I. Título.

REGINALDO PEREIRA DE SOUSA FILHO

PARÂMETROS CLÍNICOS E BIOMARCADORES SISTÊMICOS E TECIDUAIS DA
RESPOSTA INFLAMATÓRIA EM GATOS COM PERDA DA INTEGRIDADE DAS
MUCOSAS ORAL, INTESTINAL E URETRAL

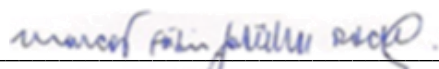
Tese apresentada ao Curso de Doutorado em Ciências Veterinárias do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Faculdade de Veterinária da Universidade Estadual do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Ciências Veterinárias. Área de Concentração: Reprodução e Sanidade Animal.

Aprovada em: 28 setembro de 2020.

BANCA EXAMINADORA



Prof^a. Dr^a. Diana Célia Sousa Nunes Pinheiro (Orientadora)
Universidade Estadual do Ceará – UECE



Prof. Dr. Marcos Fábio Gadelha Rocha
Universidade Estadual do Ceará - UECE




Dr^a..Marina Gabriela Monteiro C.Mori da Cunha (Coorientadora)
Katholieke Universiteit Leuven - Bélgica



Profa.Dra.Virgínia Cláudia Carneiro Girão
Universidade Federal do Ceará – UFC



Profa. Dra. Grazielle Anahy de Sousa Aleixo
Universidade Rural Federal de Pernambuco - UFRPE



Profa.Dra.Lúcia Daniel Machado da Silva
Universidade Estadual do Ceará – UECE

Dedico este trabalho aos meus pais Reginaldo e Lourdes, a minha fundamental esposa Keytyanne e aos meus lindos filhos Sofia Sidharta e David.

AGRADECIMENTOS

Agradecer a todo um universo em tão poucas linhas, eis o desafio. Sim! muito obrigado a todas as Forças que contribuíram para que este manifesto acontecesse, todo Pequeno, todo o Grande, permanecerá inesquecível!

Desde o primeiro paciente ao último, que tive a oportunidade de acompanhar e aprender com os mesmos, neste trabalho, sou totalmente grato. Grato também pela confiança de seus tutores, aos meus cuidados. Sem dúvida, os animais desempenham um elo entre as pessoas.

Obrigado aos meus pais, pelo carinho e dedicação. Muito obrigado a minha linda esposa, Keytyanne de Oliveira Sampaio, mulher e ser-humano incrível, minha inspiração: “Com ela eu sou mais eu, com ela eu sou um anjo, com ela eu sou criança...Eu sou a paz, Eu sou o amor e a esperança...”(Jorge Ben). Você sempre me apoiou e me ajudou em toda essa jornada. Obrigado aos meus dois filhos, David Ribeiro de Sousa e Sofia Sidharta Sampaio de Sousa, por serem minha força motriz. Amo vocês três, incondicionalmente.

Obrigado aos meus colegas/ irmãos veterinários, que trabalham comigo na clínica, e a própria Catus Medicina Felina, que me proporcionaram totais condições para elaboração da maior parte do projeto. Sem esse suporte formidável, não teria conseguido caminhar nesses três anos de doutorado.

Muito obrigado Bia (Marina Gabriela Monteiro Carvalho Mori da Cunha), pela ajuda fundamental nas escritas, submissões e publicações de artigos, além de sua presença amiga.

Agradeço a minha orientadora, Profa. Diana Célia Sousa Nunes Pinheiro, pela paciência e orientação em todo esse percurso. Não deve ser fácil ter um orientando de visão clínica e cirúrgica, sendo mergulhado em um mundo imunológico (risos). Para mim foi um desafio, que se tornou menos difícil, com suas orientações.

Obrigado aos colegas do Laboratório de Imunologia e Bioquímica Animal- UECE: Thaíse Cristine Ferreira de Carvalho Sombra, Belise Maria Bezerra Oliveira Adam Leal Lima, Luana Oliveira, Tiago Cunha Ferreira, Sabrina Pereira do Nascimento, Ana Thays dos Santos da Silva, Victoria Sales Matos, Victor Machado de Carvalho, Alexandre Tavares Camelo Oliveira, por todo o auxílio na execução do presente trabalho.

Agradeço também ao Programa de Pós- Graduação em Ciências Veterinárias- UECE, em especial, a Adriana, da secretaria, sempre solícita e atenciosa.

Finalmente, muito obrigado aos ilustres membros da banca, pela participação no engrandecimento deste trabalho.

“A consciência só é possível por meio da mudança, a mudança só é possível com o movimento”.

(Aldous Huxley.)

RESUMO

A perda de integridade da mucosa é comum em gatos e favorece ao desencadeamento de processos inflamatórios que são associados a Doença do Trato Urinário Inferior dos Felinos (DTUIF), a Doença Inflamatória Intestinal Felina (DIIF), a Fibroplasia esclerosante eosinofílica gastrointestinal felina (FEEGF) e a Gengivo-Estomatite Crônica Felina (GECF). Neste trabalho, objetivou-se analisar os parâmetros clínicos e os biomarcadores sistêmicos e teciduais do processo inflamatório em gatos com comprometimento das mucosas uretral, gastrointestinal e oral. Para tanto, quatro protocolos foram desenvolvidos e previamente submetidos e aprovados pelo CEUA-UECE. O primeiro protocolo experimental avaliou e comparou os resultados clínicos a longo prazo e a qualidade de vida de gatos submetidos à uretostomia perineal (PU) ou pré-púbica (PPU). Vinte e oito gatos (PU, n = 22; PPU, n = 6) foram submetidos a uretostomia, acompanhados clinicamente e laboratorialmente no pós-operatório por 12 meses. Uma proporção de gatos submetidos à uretostomia apresentou bacteriúria, infecção urinária recorrente e níveis aumentados de dimetilarginina simétrica sérica (SDMA). O segundo protocolo objetivou correlacionar a concentração de malondialdeído (MDA) com os resultados do índice de atividade de enteropatia crônica felina (IAECF) e alterações histopatológicas de gatos com DII. A DIIF é uma doença associada a um desequilíbrio entre a mucosa intestinal, microbioma e o sistema imune local. O diagnóstico é realizado por avaliação histológica. Em gatos suspeitos (n = 16) foram realizadas celiotomia exploratória e biópsia intestinal para análise histopatológica. O aumento de MDA sérico foi associado a pontuações elevadas de IAECF e gravidade do infiltrado inflamatório. O terceiro protocolo objetivou investigar a capacidade da relação neutrófilo/linfócito (RNL) em diferenciar a gravidade das lesões em gatos com GECF e o possível uso como fator prognóstico em resposta à exodontia. A GECF é uma doença inflamatória grave que parece estar relacionada à resposta imune exarcebada e desregulada contra micróbios da microbiota local. O tratamento é ainda incerto, podendo ser realizado com imunossuppressores e a exodontia. Gatos (n = 47) com histórico de GECF foram selecionados e submetidos à exodontia subtotal. RNL foi avaliada três dias antes e 60 dias após o procedimento cirúrgico, correlacionando-a com o índice de atividade da GECF. Na pré-exodontia a RNL foi 7,74, enquanto na pós-exodontia a RNL foi 6,17. Portanto, sugere-se o uso do RNL como biomarcador nas avaliações de casos de GECF. No quarto protocolo objetivou-se avaliar os biomarcadores por imunoistoquímica em um gato com diagnóstico

histopatológico sugestivo de FEEGF. A FEEGF é caracterizada por intenso infiltrado eosinofílico e remodelação fibrótica dos segmentos afetados, com alterações clínicas e macroscópicas se assemelham a neoplasias. Foram utilizados os biomarcadores CD3, CD20, Ki67, alfa-actina de músculo liso, CDX2, CKpan e desmina. Os resultados indicaram hiperplasia linfóide folicular reativa com CD3+, alfa-actina de músculo liso positiva e Ki67 negativo. Neste caso, a imunomarcção foi conclusiva para o diagnóstico final da FEEGF. Concluiu-se que os biomarcadores sistêmicos e teciduais da resposta inflamatória são ferramentas úteis na avaliação clínica, no diagnóstico e no prognóstico de gatos acometidos por DTUIF, DII, GEFCF ou FEEGF.

Palavras-chaves: Biomarcadores. Cistite. Uretrostomia. Doença inflamatória intestinal. Gengivite.

ABSTRACT

Loss of mucosal integrity is common in cats and favors the onset of inflammatory processes that are associated with Feline Lower Urinary Tract Disease (FLUTD), Feline Inflammatory Bowel Disease (FIBD), feline gastrointestinal eosinophilic sclerosing fibroplasia (FGESF) and Feline Chronic Gingivitis-Stomatitis (FCGS). This study aimed to analyze the clinical parameters and the systemic and tissue biomarkers of the inflammatory process in cats with impairment of the urethral, intestinal and oral mucosa. To this end, four protocols were developed and previously submitted and approved by CEUA-UECE. The first experimental protocol evaluated and compared the long-term clinical results and quality of life of cats submitted to perineal (PU) or prepubic (PPU) urethrostomy. Twenty-eight cats (PU, n = 22; PPU, n = 6) underwent urethrostomy, followed clinically and laboratory postoperatively for 12 months. A proportion of cats submitted to urethrostomy had bacteriuria, recurrent urinary tract infection and increased levels of serum symmetric dimethylarginine (SDMA). The second protocol aimed to correlate the concentration of malondialdehyde (MDA) with the results of the feline chronic enteropathy activity index (FCEAI) and histopathological changes in cats with IBD. FIBD is a disease associated with an imbalance between the intestinal mucosa, microbiome and the local immune system. The diagnosis is made by histological evaluation. In suspicious cats (n = 16), exploratory celiotomy and intestinal biopsy were performed for histopathological analysis. The increase in serum MDA was associated with high scores of FCEAI and severity of the inflammatory infiltrate. The third protocol aimed to investigate the ability of the neutrophil / lymphocyte (NLR) relationship to differentiate the severity of lesions in cats with FCGS and the possible use as a prognostic factor in response to extraction. FCGS is a serious inflammatory disease that appears to be related to the exaggerated and unregulated immune response against microbes in the local microbiota. Treatment is still uncertain and can be performed with immunosuppressants and extraction. Cats (n = 47) with a history of FCGS were selected and underwent subtotal extraction. NLR was assessed three days before and 60 days after the surgical procedure, correlating it with the FCGS activity index. In the pre-extraction the RNL was 7.74, while in the post-extraction the NLR was 6.17. Therefore, it is suggested the use of RNL as a biomarker in the evaluation of FCGS cases. The fourth protocol aimed to evaluate biomarkers by immunohistochemistry in a cat with a histopathological diagnosis suggestive of FGESF. FGESF is characterized by intense eosinophilic infiltrate and fibrotic remodeling of the affected segments, with clinical

and macroscopic changes resembling neoplasms. Biomarkers CD3, CD20, Ki67, smooth muscle alpha-actin, CDX2, CKpan and desmin were used. The results indicated CD3 + reactive follicular lymphoid hyperplasia, positive smooth muscle alpha-actin and negative Ki67. In this case, the immunostaining was conclusive for the final diagnosis of FGESF. It was concluded that the systemic and tissue biomarkers of the inflammatory response are useful tools in the clinical evaluation, diagnosis and prognosis of cats affected by FLUTD, FIBD, FCGS or FGESF.

Keywords: Biomarkers. Cystitis. Urethrostomy. Inflammatory bowel disease. Gingivitis.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Representação da importância do equilíbrio entre as barreiras epiteliais, microbiota e sistema imune, para a manutenção da homeostase..... 18**
- Figura 2 - Representação esquemática da quebra da homeostase nas barreiras epiteliais induzindo ao processo inflamatório e a necessidade de avaliação de biomarcadores para procedimentos clínicos e prognóstico das doenças estabelecidas 21**
- Figura 3 - Aspecto intra-oral de gatos com GEFC. A) Hiperemia em arco glossopalatino. B) Hiperemia e sangramento espontâneo em arco glossopalatino e edemaciação em região buccogengival superior esquerda. C) Intensa proliferação e ulceração de tecido em região glossopalatina ((SOUSA-FILHO et al., 2017) 26**
- Figura 4 - Cavidade oral de gatos pós-exodontia subtotal, com graus de diminuição variáveis dos sinais inflamatórios. A) Aspecto normal, cicatrizado, da cavidade oral de gato pós- exodontia. B) Hiperemia gengival em gato pós-exodontia. C) Intensa proliferação e ulceração em região glossopalatina em gato pós- exodontia (Arquivo Pessoal)..... 28**
- Figura 5 - Infiltrado celular em intestino de gato. (SOUSA- FILHO et. al., 2020). A) Intenso infiltrado celular constituído por linfócitos e plasmócitos em amostra intestinal de gato. B) Infiltrado mononuclear discreto em amostra intestinal de gato (H&E, 100x) 31**
- Figura 6 - Aspectos histológicos das vilosidades e lâmina própria do intestino de gatos acometidos por DII. (SOUSA- FILHO et. al., 2020). A) Atrofia de vilosidades e infiltrado inflamatório na lâmina própria em amostra intestinal de gato com DII (H/E. 100X). B) Intensa fibrose em camada submucosa de amostra intestinal de gato com DII (Tricômio de Masson; 100X) 33**
- Figura 7 - Homeostase imune intestinal e a resposta inflamatória desequilibrada..... 39**
- Figura 8 - Sinais clínicos da DTUIF e possíveis indicações para o tratamento cirúrgico..... 45**

Figure I - NLR of cats before and after subtotal exodontia	63
Figure II - NLR of cats after subtotal exodontia in comparison to improvement in clinical score	63
Figure - 1 Study flowchart. CKD = chronic kidney disease	110
Figure - 2 (a) Urethral rupture with extravasation of urine into the scrotum; (b) penis laceration and urethral stenosis; (c) perineal urethrostomy stricture.....	111
Figure - 3 Distribution of individual values of the analyses of cats that had undergone perineal urethrostomy (PU) or prepubic urethrostomy (PPU): (a) creatinine; (b) symmetric dimethylarginine (SDMA); (c) urine gravity density; (d) urine protein:creatinine (UPC) ratio. Horizontal lines indicate the limit of reference values of each test	112

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Cálculo do Índice de Atividade de Enteropatia Crônica em Felinos (IAECF). A magnitude da soma total é proporcional ao grau de atividade inflamatória (Adaptado de Jergens et al., 2012)	32
Tabela 2 - Manifestações clínicas da Doença Intestinal Inflamatória Humana (Doença de Crohn - DC; Colite Ulcerativa - CoU; Doença Celíaca -DCe) e Doença Intestinal Inflamatória Felina (DIIF).....	34
Table - 1 Preoperative clinical history of cats that underwent either perineal urethrostomy (PU) or prepubic urethrostomy (PPU)	110
Table - 2 Postoperative clinical history of cats that underwent either perineal urethrostomy (PU) or prepubic urethrostomy (PPU; 12–24 months follow-up).....	111
Table - 3 Results of sediment analysis and urine culture of cats that underwent either perineal urethrostomy (PU) or prepubic urethrostomy (PPU; 12–24 months follow-up)	112
Table - 4 Cats that underwent perineal urethrostomy (PU) or prepubic urethrostomy (PPU) with early signs of chronic kidney disease (CKD) 12–24 months after urethrostomy	113
Table 1 - Scores according to stomatitis disease activity index (SDAI) in cats.....	61
Table 2 - Pre- and post-exodontia lesion scores of cats with FGCS.....	62
Table 3 - Hematological parameters and neutrophil-lymphocyte ratio (NLR) of cats in pre- and post-exodontia analyses	62
Table. 1 - Scores of histopathological parameters in intestinal samples from cats diagnosed with inflammatory bowel disease (IBD)	82

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGCC	Ácidos graxos de cadeia curta
ALT	Alanine aminotransferase
AP	Alkaline phosphatase
CD	Células dendríticas
CKD	Chronic kidney disease
CoU	Colite ulcerativa
DC	Doença de Crohn
DCe	Doença Celíaca
DII	Doença inflamatória intestinal
DIIF	Doença inflamatória intestinal felina
DTUIF	Doença do trato urinário inferior dos felinos
ERO	Espécies reativas de oxigênio
FCEAI	Feline chronic enteropathy activity index
FCGS	Feline chronic gingivitis-stomatitis
FCV	Calicivírus felino
FeLV	Vírus da leucemia felina
FGESF	Feline Gastrointestinal Eosinophilic Sclerosing Fibroplasia
FHV-1	Herpesvírus felino 1
FIV	Vírus da imunodeficiência felina
FPLI	Feline Pancreas-specific Lipase
FS	Fibrosis score
GECF	Gengivo-estomatite crônica felina
GGT	Gamma-glutamyl transferase
HE	Haematoxylin-Eosin
IADe	Índice de Atividade de Doença de Estomatite
IAECF	Índice de atividade de enteropatia crônica felina
IBD	Inflammatory bowel disease
IL-1 β	Interleucina 1-beta
IL-12	Interleucina 12
IL-2	Interleucina 2
IL-8	Interleucina 8

INF- γ	Interferon-gamma
IRIS	International Renal Interest Society
ISS	Inflammatory infiltrate severity
MALT	Tecido Linfoide Associado a Mucosa
MDA	Malondialdeído
MHC	Complexo principal de histocompatibilidade
MT	Masson's trichrome
NLR	neutrophil-lymphocyte ratio
NOD	Nucleotide-binding oligomerization domain
PAS	Periodic acid-Schiff
PPU	Periodic acid-Schiff
PU	Perineal urethrostomy
RNL	Relação neutrófilo/linfócito
ROS	Reactive oxygen species
SDAI	Stomatitis disease activity index
SDMA	Symmetrical dimethylarginine
Th17	T-helper-17
TLR	Toll-like receptors
TNF- α	Fator de necrose tumoral-alfa
TP	Total protein
UPC	Urine protein-to-creatinine
USG	Urine specific gravity
UTI	Urinary tract infection

SUMÁRIO

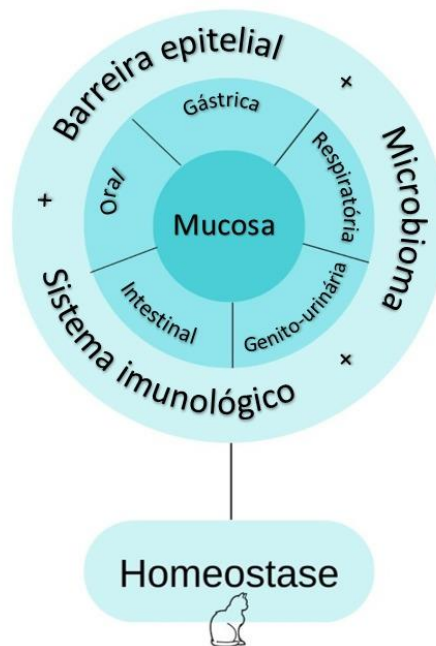
1	INTRODUÇÃO	18
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	22
2.1	Mucosa oral, microbiota e o sistema imune no desenvolvimento da gengivo-estomatite crônica felina (GECF).....	22
2.1.1	Mucosa Oral	22
2.1.2	Etiologia da Gengivo-estomatite crônica felina (GECF)	23
2.1.3	Imunopatologia da GECF	24
2.1.4	Sintomatologia clínica	25
2.1.5	Diagnóstico e Tratamento da GEFC.....	26
2.2	Mucosa intestinal, microbiota e o sistema imune no desenvolvimento da doença inflamatória intestinal em gatos	29
2.2.1	Mucosa Intestinal.....	29
2.2.2	Doença Inflamatória Intestinal Felina – Etiopatogenia e Sinais Clínicos	30
2.2.3	Importância da Microbiota na Doença Inflamatória Intestinal.....	34
2.2.4	O Sistema Imune na Doença Inflamatória Intestinal.....	38
2.3	Mucosa uretral, patologias associadas e procedimentos cirúrgicos em gatos	43
2.3.1	Mucosa Uretral	43
2.3.2	Fatores epidemiológicos relacionados à obstrução uretral	43
2.3.3	Indicações da uretostomia	44
2.3.4	Complicações, avaliação e cuidados pós-operatórios da uretostomia perineal e pré-púbica	45
2.3.5	Qualidade de vida dos animais após a uretostomia.....	47
2.4	Biomarcadores	48
2.4.1	Relação Neutrófilos- Linfócitos	49
2.4.2	Malondialdeído Sérico.....	50
3	JUSTIFICATIVA	52
4	HIPÓTESE CIENTÍFICA.....	53
5	OBJETIVOS	54
5.1	Geral.....	54
5.2	Específicos.....	54
6	CAPÍTULO 1.....	55

7	CAPÍTULO 2	75
8	CAPÍTULO 3	92
9	CAPÍTULO 4	107
10	CONCLUSÃO	116
11	PERSPECTIVAS	117
	REFERÊNCIAS	118
	ANEXO A - INDICE DE ATIVIDADE DA GENGIVITE ESTOMATITE	
	FELINA	134

1 INTRODUÇÃO

Os epitélios formam barreiras físicas que são essenciais para a proteção do indivíduo contra insultos diversos e à entrada de patógenos invasores. A perda de integridade da mucosa é comum e favorece às invasões microbianas dos tecidos intersticiais, podendo perpetuar estados inflamatórios que são associados à diversas patologias (Fig. 1), inclusive a Doença do Trato Urinário Inferior dos Felinos (DTUIF), a Doença Inflamatória Intestinal (DII) e a Gengivo-estomatite crônica felina (GECF), entre outras (MOUTSOPOULOS & KONKEL, 2018, MEDDINGS & SWAIN, 2000, MARCHIANDO et al., 2010).

Figura 1 - Representação da importância do equilíbrio entre as barreiras epiteliais, microbiota e sistema imune, para a manutenção da homeostase



Fonte: Elaborado pelo autor.

A mucosa oral é formada por um tecido epitelial escamoso estratificado, que primariamente é não-queratinizado e que interage diretamente com micróbios, antígenos e estímulos do ambiente bucal. Um sítio particularmente vulnerável da barreira oral é o epitélio gengival que é constantemente estimulado pelo microbioma aderido aos dentes tornando a barreira vulnerável devido a dificuldade na higienização. Nesta junção, somada ao fluido ocorre uma intensa migração de neutrófilos para a cavidade oral, podendo se estabelecer um estado inflamatório na vizinhança e atingir a gengiva estabelecendo-se a quebra da homeostase (MOUTSOPOULOS & KONKEL, 2018).

A Gengivo-estomatite crônica felina (GECF) ou estomatite gengivite linfocítica plasmocítica (LOMMER & VERSTRAETE, 2003), é a segunda patologia oral mais diagnosticada nos felinos, ficando atrás da doença periodontal (NIZA et al., 2004). É caracterizada por lesão proliferativa e ulcerativa na cavidade oral observada principalmente no arco glossopalatino e na gengiva bucal, podendo afetar áreas como faringe, língua e lábios (LOMMER & VERSTRAETE, 2003). O tratamento da GECF representa um desafio para o clínico veterinário (LOMMER & VERSTRAETE, 2003).

A mucosa intestinal desempenha um papel importante no sistema imune inato. A superfície da mucosa e as células epiteliais intestinais além de formarem uma barreira física e funcional altamente especializada para antígenos dietéticos e microbianos, são também capazes de reconhecer microorganismos colonizadores através da expressão de diversos sistemas receptores, como receptores de glicano que reconhecem lectinas fimbriais encontradas em muitas cepas patogênicas e comensais de bactérias e vírus, receptores Toll-like (TLR) que reconhecem padrões moleculares microbianos e moléculas MHC de classe I (STOKES & WALY, 2006). O desequilíbrio entre os fatores comensais, células imunes e epiteliais, iniciam respostas inflamatórias inadequadas, podendo originar doenças crônicas e debilitantes nos gatos (JERGENS, 2012).

A Doença Intestinal Inflamatória é uma enfermidade caracterizada pela quebra dessa homeostase intestinal. Nos felinos, DII é caracterizada por vômitos, diarreia e perda de peso crônicos (WALY et al., 2004). Na avaliação histológica das lesões verifica-se uma inflamação linfoplasmocitária no intestino delgado/grosso demonstrando fortes evidências do envolvimento do sistema imunológico (JANECZKO et al., 2008).

A Fibroplasia esclerosante eosinofílica gastrointestinal felina (FEEGF) é um tipo enfermidade inflamatória intestinal, podendo afetar vários pontos do trato gastrointestinal e nódulos linfáticos mesentéricos de felinos (CRAIG et al., 2009). Acredita-se que ocorrera uma resposta inflamatória eosinofílica anormal, desencadeada por estímulos na parede intestinal, como bactérias, fungos, nematódeos, alimentos e ingestão excessiva de pelos e plantas. A presença de eosinófilos nas lesões e a secreção de citocinas fibrogênicas por estas células, levam ao caráter fibrótico das lesões (ROMA et al., 2014; LINTON et al., 2015). É uma enfermidade de difícil tratamento e importante diagnóstico diferencial de neoplasias intestinais na espécie felina (WEISSMAN et al., 2012)

A mucosa uretral é formada por um epitélio estratificado composto de várias camadas de células formando uma interface entre o lúmen e o tecido nervoso, vascular, conectivo e tecidos musculares subjacentes. O papel deste epitélio é de uma função de

barreira protetora, como também uma função sensorial, transmitindo informações do lúmen uretral para os nervos aferentes. Essa transmissão se dá por meio de mecanismos de sinalização mediados por paraneurônios que expressam transmissores em resposta a estímulos mecânicos e químicos (SUN & CHAI, 2004)

A DTUIF pode ser considerada um grupo de etiologias com sintomatologia semelhante, relacionada ao trato urinário inferior (DEFAUW et al, 2011; BUFFINGTON et al, 2006). Os sinais mais comuns de envolvimento do trato são a disúria, hematúria, estrangúria, polaquiúria, periúria e alterações comportamentais, além do apetite (RECHE JUNIOR & HAGIWARA, 2014; SAEVIK et al, 2011; DA ROSA & QUITZAN, 2011). Tipicamente a reincidiva do quadro inflamatório e obstruções do fluxo urinário, são frequentes. Apesar dos mecanismos imunopatológicos ainda não estarem totalmente esclarecidos, a quebra da barreira uroepitelial pode estar incriminada (LEKCHAROENSUK et al, 2001; BUFFINGTON et al, 2006; SEGEV et al, 2011), podendo a perpetuação das lesões iniciais ter a participação do sistema imune (RUDA & HEIENE, 2012).

Mediante o exposto, este trabalho foi desenvolvido a partir de quatro protocolos experimentais que envolveram gatos com as mucosas uretral, intestinal, oral e gastrointestinal comprometidas com quadros inflamatórios caracterizados pela DTUI, DII, GEFC e FGESF. Biomarcadores da resposta inflamatória local e sistêmica que envolvem patologias associadas a danos nas barreiras epiteliais dos felinos ainda são pouco explorados. Assim, faz-se necessário estudos que envolvam biomarcadores pouco utilizados na medicina felina para uma melhor abordagem diagnóstica, terapêutica e prognóstica das doenças que acometem essa espécie (Fig. 2).

Figura 2 - Representação esquemática da quebra da homeostase nas barreiras epiteliais induzindo ao processo inflamatório e a necessidade de avaliação de biomarcadores para procedimentos clínicos e prognóstico das doenças estabelecidas



Fonte: Elaborado pelo autor.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Mucosa oral, microbiota e o sistema imune no desenvolvimento da gengivo-estomatite crônica felina (GECF)

2.1.1 Mucosa Oral

A mucosa oral e o sistema imunológico local vivem em um equilíbrio delicado, assim como epitélio uretral e intestinal, na medida em que executa vigilância imunológica eficaz sem respostas inflamatórias exuberantes, enquanto tolera antígenos comensais e inócuos (MOUTSOPOULOS & KONKEL, 2017).

A mucosa oral se refere ao tecido que reveste a cavidade oral e é composto pela mucosa mastigatória e de revestimento. A mucosa mastigatória forma a gengiva aderida e o palato duro, e sua estrutura permite resistir à abrasão de partículas ásperas de alimentos. A mucosa de revestimento representa a maior parte da mucosa oral, consistindo nas mucosas bucal, sublingual e vestibular (HOVAV, 2014).

O epitélio e o tecido conjuntivo subjacente (lâmina própria) da mucosa oral, são equivalentes à epiderme e derme da pele. Semelhante à epiderme, o epitélio oral mantém sua integridade estrutural por um processo de renovação celular contínua e migração das camadas mais profundas para a superfície, a fim de substituir as células que se desprenderam. No entanto, ao contrário do revestimento intestinal, o epitélio oral não tem capacidade adsorptiva, embora existam diferenças na permeabilidade em correlação direta com a espessura da barreira epitelial (CUTLER & JOTWANI, 2006).

A mucosa oral possui vários mecanismos para proteger o hospedeiro contra patógenos invasores: Lâmina própria resistente, mas resiliente, oferece resistência às forças de ruptura e compressão; Descamação continuada da camada superficial, minimizando assim a colonização por microorganismo; Secreção salivar, mantendo a mucosa oral úmida e limitando o acúmulo excessivo de bactérias (HOVAV, 2014).

Além dos mecanismos de integração do tecido mencionados anteriormente, a mucosa oral possui um intrincado sistema imunológico. Mesmo sendo considerado de natureza pró-tolerogênica, um infiltrado inflamatório composto principalmente de células dendríticas orais, linfócitos e neutrófilos pode ser detectado regularmente na gengiva, mesmo em aqueles considerados clinicamente saudáveis. Isso enfatiza os complicados mecanismos

exercidos pelo sistema imunológico oral para manter a homeostase imunológica (NOVAK et al., 2008).

2.1.2 Etiologia da Gengivo-estomatite crônica felina (GECF)

A Gengivo-estomatite crônica felina (GECF) ou estomatite gengivite linfocítica plasmocítica (LOMMER & VERSTRAETE, 2003), é a segunda patologia oral mais diagnosticada nos felinos, ficando atrás da doença periodontal (NIZA et al., 2004). É caracterizada por lesão proliferativa e ulcerativa na cavidade oral observada principalmente no arco glossopalatino e na gengiva bucal, podendo afetar áreas como faringe, língua e lábios. O complexo gengivite-estomatite é uma doença extremamente complexa, sem etiologia definida e sem tratamento definitivo eficaz (MATILDE et al., 2013).

A etiologia da Gengivo-estomatite crônica dos felinos é desconhecida. No entanto acredita-se que a doença tenha origem multifatorial, possivelmente vírus, bactérias, reação autoimune, genética, nutrição e o ambiente possuem algum papel no desenvolvimento da doença (ROBSON & CRYSTAL, 2011). O vírus da imunodeficiência felina (FIV), o vírus da leucemia felina (FeLV) (BAIRD et al., 2007), o calicivírus felino (FCV), o herpesvírus felino 1 (FHV-1) (LOMMER & VERSTRAETE, 2003) e bactérias, como *Pasteurella multocida* (DOLIESLAGER et al., 2011) têm sido apontados como possíveis agentes etiológicos da GECF em gatos.

A associação entre a presença de bactérias, como *Prevotella* sp, com a doença periodontal e a gengivite humana já é bem estabelecida (KEIJSER et al., 2008). Animais com GECF possuem menor diversidade da flora bacteriana quando comparados com gatos normais, além de ser observado maior quantidade da espécie *Pasteurella multocida* na cavidade oral dos felinos afetados. Esse aumento na presença de *P. multocida* em casos de GECF levanta a hipótese de sua participação na fisiopatogenia da doença (DOLIESLAGER et al., 2011). *Bartonella henselae* foi implicada como possível agente etiológico da GEFC (HEALEY et al., 2007). Entretanto, sugere-se que as bactérias não sejam a causa primária da GECF e sim um fator perpetuante, visto que a antibioticoterapia não leva à cura desta doença (GIL et al., 2013) e a imunomodulação frequentemente leva à melhora do quadro.

As doenças sistêmicas virais causadas pelo Vírus da Imunodeficiência Felina (FIV), Vírus da Leucemia Felina (FeLV), Herpesvírus felino (FHV-1) e Calicivírus (FCV)

podem contribuir para o desenvolvimento da GEFC. No entanto, não foi completamente estabelecida a relação entre a GEFC e esses vírus (LOMMER & VERSTRAETE, 2003).

Foi relatado em um estudo que 50% de animais com GEFC foram positivos para FIV (COGNET et al., 2001), enquanto que em biópsias orais de gatos com GEFC para a realização de PCR foram detectadas positividade para FCV e FHV- 1 em 97% e 15% dos casos, respectivamente (JOHNSTON, 2012). A correlação entre o FeLV e a GEFC ainda foi bem estabelecida, sendo descrito a presença desse agente em até 17% dos casos de GEFC (HARLEY et al., 2003). A ampliação da pesquisa de agentes virais em casos de GEFC torna-se importante para consolidar a hipótese de etiologia viral nesta enfermidade.

2.1.3 Imunopatologia da GEFC

Algumas alterações da resposta imune encontradas nos animais com GEFC, podem explicar esse quadro inflamatório exacerbado: Foi verificado que alguns gatos apresentaram aumento na expressão das citocinas relacionadas às células CD3+ e CD4+, e nas imunoglobulinas IgG e IgM, com intensa imunomarcção, quando comparados aos animais hígidos (HARLEY et al., 2003). Em casos de GEFC, a ativação dos linfócitos B policlonais leva a resposta imunológica insuficiente para controlar os antígenos virais e bacterianos, mas suficientemente expressiva para produzir inflamação crônica local (HARLEY et al., 2003).

Embora os níveis de IgM e de IgG em animais com GEFC estejam aumentados tanto na saliva quanto no soro sanguíneo, a IgA apresenta níveis séricos elevados, porém, os níveis salivares encontram-se inferiores quando comparados aos animais sadios (HARLEY et al., 2003; HARLEY et al., 2011). Acredita-se que a diminuição da IgA na saliva destes animais com GEFC seria uma consequência do processo inflamatório intenso, o que poderia ocasionar mudanças na taxa de fluxo salivar da IgA, supressão do mecanismo de secreção ou mesmo destruição e perda ocasionada por proteases e toxinas bacterianas, e não estaria relacionado com a baixa produção, já que os níveis séricos estão aumentados nos indivíduos com GEFC (HARLEY et al., 2003; HARLEY et al., 2011). Com isso, acredita-se que a baixa concentração salivar de IgA possa ser fator importante para a patogênese da doença, por predispor o animal à infecções orais persistentes (HARLEY et al., 2003).

Assim também, HARLEY et al (2011) verificaram uma maior presença de células CD97a+ (principalmente plasmócitos), de CD3+, com predominância de CD8+, e de células L1 (principalmente neutrófilos) além de células MHC classe II nos tecidos afetados pela

GECF. A presença destas células parece estar diretamente relacionada com o grau de inflamação da lesão, principalmente devido à uma exacerbação da resposta imune adaptativa.

Os plasmócitos encontrados são predominantemente do isotipo IgG, determinando assim, a maior quantidade desta imunoglobulina na saliva destes animais, já que a produção destas células atinge a cavidade oral por meio os fluidos gengivais e da transudação através do epitélio danificado. A maior população de Linfócitos T CD8+ nas mucosas afetadas sugere a participação importante de patógenos intracelulares, como vírus, na etiopatogenia da doença (HARLEY et al., 2011).

2.1.4 Sintomatologia clínica

Os sinais clínicos da GECF variam de acordo com o grau da lesão inflamatória. Pode-se observar disfagia, perda de peso, ptialismo, halitose, mudança no comportamento (diminuição da auto-higienização), sialorréia, prurido, dor na abertura da cavidade oral e dificuldades de preensão (SOUTHERDEN & GORREL, 2007; ROBSON & CRYSTAL, 2011). Clinicamente observam-se lesões ulcerativas ou proliferativas nas regiões da faringe, arco glossopalatino, gengiva, mucosas alveolares, jugal e lingual (Figura 4). De acordo com a intensidade, tipo e proliferação da inflamação, a doença pode ser clinicamente classificada em quatro graus (0-4), de acordo com a extensão de área total acometida da cavidade oral (HARLEY et al., 2003).

Outra classificação recomendada para esses pacientes é com a utilização do Índice de Atividade de Doença de Estomatite (IADE) (Anexo 1). A avaliação objetiva de oito áreas diferentes de tecido mole, fornece uma pontuação numérica para o caso. Isso é muito útil para fornecer um prognóstico e motivar os proprietários. Os dois principais critérios significam uma média de avaliação das informações do proprietário sobre apetite, higiene, conforto e atividade. Os critérios restantes requerem que o clínico classifique áreas separadas de tecidos moles de zero a 3. Zero significa tecido normal. Um (1) é para inflamação leve ou ulceração, dois (2) para moderada e três (3) para grave. Inflamação ou ulceração severa mostra sangramento espontâneo, enquanto o tecido moderadamente inflamado sangrará se estimulado suavemente com um cotonete (JOHNSTON, 2012).

Figura 3 - Aspecto intra-oral de gatos com GEFC. A) Hiperemia em arco glossopalatino. B) Hiperemia e sangramento espontâneo em arco glossopalatino e edemaciação em região bucogengival superior esquerda. C) Intensa proliferação e ulceração de tecido em região glossopalatina ((SOUSA-FILHO et al., 2017)



Fonte: Elaborado pelo autor.

2.1.5 Diagnóstico e Tratamento da GEFC

Na GEFC é importante realizar criteriosa anamnese e o exame físico da cavidade oral, pois a doença periodontal deverá ser excluída e a confirmação deverá ser realizada por meio de exame histológico (GIOSO, 2007). Exames complementares devem ser realizados para investigar possíveis agentes virais, bacterianos e fúngicos que possam estar associados através do isolamento de agentes patogênicos quer seja em cultivo celular, imunohistoquímica ou ainda PCR. São ainda importantes as análises sorológicas e/ou virológicas dirigidas à pesquisa dos agentes virais, tais como FCV, FHV-1, FeLV e FIV (HARVEY, 2006). O proteinograma é indicado, pois em quase metade dos gatos afetados ocorre hiperproteinemia devida a hipergamaglobulinemia (GIOSO, 2007). Ao exame histopatológico, as alterações normalmente encontradas são ulceração, hiperplasia epitelial e infiltrado inflamatório difuso predominantemente linfoplasmocitário (BAIRD, 2007). Relata-se número variável de neutrófilos (LYON, 2005) e mastócitos associados ao processo inflamatório mononuclear (ARZI et al., 2010).

Quanto ao tratamento da GEFC, ainda não foi instituído nenhum tratamento de eficácia comprovada. No entanto, protocolos terapêuticos com abordagem médica, cirúrgica ou combinação de ambas são citados (GIL et al., 2013). O tratamento farmacológico é citado como alternativa ou complemento ao tratamento cirúrgico (MIHALJEVIC, 2003).

Em casos moderados da doença, indica-se a antibioticoterapia, ainda que seus resultados sejam paliativos. Acredita-se exista benefício desse tratamento pelo controle da

infecção bacteriana secundária. A clindamicina (5 a 10mg/kg, BID, por 10 a 30 dias), o metronidazol (11 a 22mg/kg dividindo-se a dose em duas vezes ao dia por 10 dias), amoxicilina com ácido clavulânico (10 a 20mg/kg, BID, por 7 a 10 dias), azitromicina (5 a 10mg/kg, SID, 5 a 7 dias) e doxiciclina (5mg/kg, BID, durante 20 dias) são os mais indicados (NIZA et al., 2004; BAIRD et al., 2007).

Os interferons atuam como agentes anti- virais e possuem ação imunomoduladora, e suas ações estão basicamente relacionadas a ligação aos receptores específicos na superfície das células, induzindo à produção de enzimas (como proteína-quinases) que interferem nos processos metabólicos virais, tornando assim, um ambiente celular menos adequado para a replicação viral (GODFREY, 2000). O Interferon alfa-2A recombinante humano tem sido utilizado com sucesso na medicina veterinária para o tratamento de infecções virais, tais como FIV, FeLV, CVF, HVF (NIZA et al., 2004). O uso do Interferon-ômega recombinante felino também proporcionou regressão da sintomatologia clínica em gatos com GECF , apresentando potencial para tratar infecções agudas e crônicas em gatos. A grande vantagem dessa terapia é não induzir a produção de anticorpos neutralizantes anti-interferon, como no caso do interferon alfa-2A recombinante humano, mantendo a eficácia terapêutica (HENNET et al., 2011). Animais tratados com interferon- ômega recombinante felino apresentaram remissão completa em 35% dos casos e melhora clínica de 65% quando usado concomitante pelas vias intragengival e sub-cutânea em gatos FIV positivo com GECF (MIHALJEVIC, 2003).

A terapia imunossupressora com corticoides ainda é a base do tratamento clínico da GECF. A prednisolona geralmente é o corticosteróide de escolha em tratamentos para GECF. No entanto, seu uso pode ser contraindicado em alguns casos de infecções virais por facilitar a proliferação viral devido a imunossupressão. Por isso, deve-se investigar a ocorrência de infecções virais antes de se iniciar o tratamento com esse fármaco (TILLEY & SMITH, 2003).

O tratamento cirúrgico da GECF possui melhores resultados, devendo ser realizada quando houverem dentes danificados ou quando a doença periodontal agravar os sinais de GECF (LYON, 2005). O sucesso do tratamento cirúrgico é variável e geralmente utilizado em casos graves, sendo descrito melhora clínica significativa ou cura em 80% dos pacientes submetidos ao procedimento cirúrgico, acredita-se que com o procedimento ocorre uma diminuição da estimulação antigênica, principalmente pela resolução de periodontites e diminuição da população bacteriana (HENNET et al., 2011).

A abordagem cirúrgica consiste na extração dos dentes molares e pré-molares e em casos de recidivas, opta-se também pela extração dos dentes incisivos e caninos (ROMAN, 2010). Esse procedimento deve ser realizado com cuidado pelo risco dos dentes fraturarem durante a manipulação errônea ser grande (HENNET et al., 2011). Após a exodontia, alguns gatos podem atingir a remissão quase total da inflamação. No entanto, aproximadamente 20 a 30% dos pacientes não conseguem melhorar seu estado clínico (BELLEI et al., 2008). A ineficácia da exodontia em alguns gatos com FCGS ocorre devido à etiologia multifatorial e às diversas causas que podem ter motivado os pacientes avaliados (JOHNSTON, 2012), gerando a necessidade de tratamento clínico pós-operatório (Figura 4).

Figura 4 - Cavidade oral de gatos pós-exodontia subtotal, com graus de diminuição variáveis dos sinais inflamatórios. A) Aspecto normal, cicatrizado, da cavidade oral de gato pós- exodontia. B) Hiperemia gengival em gato pós- exodontia. C) Intensa proliferação e ulceração em região glossopalatina em gato pós- exodontia (Arquivo Pessoal)



Fonte: Elaborado pelo autor.

2.2 Mucosa intestinal, microbiota e o sistema imune no desenvolvimento da doença inflamatória intestinal em gatos

2.2.1 Mucosa Intestinal

O trato gastrointestinal é exposto cronicamente a vários antígenos encontrados em bactérias e alimentos. O epitélio intestinal é constituído por um grupo de células especializadas de camada única e que sob a interação do sistema imune garante a homeostase local. No estado normal, na ausência de inflamação, a homeostase intestinal é mantida pela supressão das respostas imunes excessivas a antígenos considerados estranhos (Lee et al., 2018).

A mucosa intestinal é caracterizada por apresentar vilosidades intestinais, que são projeções alongadas da mucosa em direção ao lúmen, sendo revestida por um epitélio cilíndrico simples, onde se observam células colunares altas, de função absorptiva, onde no ápice há a formação de bordas em escova, formadas pelo conjunto de microvilosidades e glicocálix. Entre as células absorptivas, encontram-se também, células caliciformes, que apresentam grânulos contendo mucina no seu citoplasma apical, sendo responsáveis pela produção do muco intestinal (Birchenough et al., 2015).

As células de Paneth são células especializadas presentes na base das criptas do intestino delgado e possuem funções secretoras de substâncias bactericidas, principalmente na produção de defensinas (Geremia et al., 2013). As células M são caracterizadas por suas microfibras ou pequenos microvilos na superfície celular, não secretam muco ou enzimas digestivas, sendo a sua principal função, a endocitose seletiva de antígenos e sua apresentação para macrófagos intra-epiteliais e linfócitos, que migram para os linfonodos, iniciando a resposta imune local (Mabbott et al., 2013).

A integridade da barreira epitelial é mantida por junções estreitas, aderentes e desmossomos. Na Doença Intestinal Inflamatória (DII) essa barreira epitelial apresenta-se defeituosa e o aumento da permeabilidade intestinal são observados em pacientes, entretanto não é determinado se essas alterações representavam a causa ou consequência da inflamação crônica (Geremia et al., 2013).

A DII envolve a desregulação das complexas interações entre os fatores ambientais, microbioma, epitélio intestinal e sistema imune local. Fatores como: desequilíbrios microbianos intestinais, componentes da dieta, antibioticoterapias, vacinações,

tratamentos antiparasitários excessivos, fatores imunológicos e fatores genéticos, são importantes na causa e perpetuação da inflamação crônica em indivíduos susceptíveis (JERGENS, 2012).

Considerando-se a importância da DII no paciente felino e a dificuldade no diagnóstico diferencial das enteropatias crônicas felinas, o objetivo desse trabalho foi reunir a literatura atual sobre o tema, com ênfase no papel da microbiota felina, do sistema imune intestinal e a interação destes no desenvolvimento e manutenção da doença, para um maior entendimento da enfermidade na espécie, colaborando para uma melhor visão e entendimento clínico-patológico.

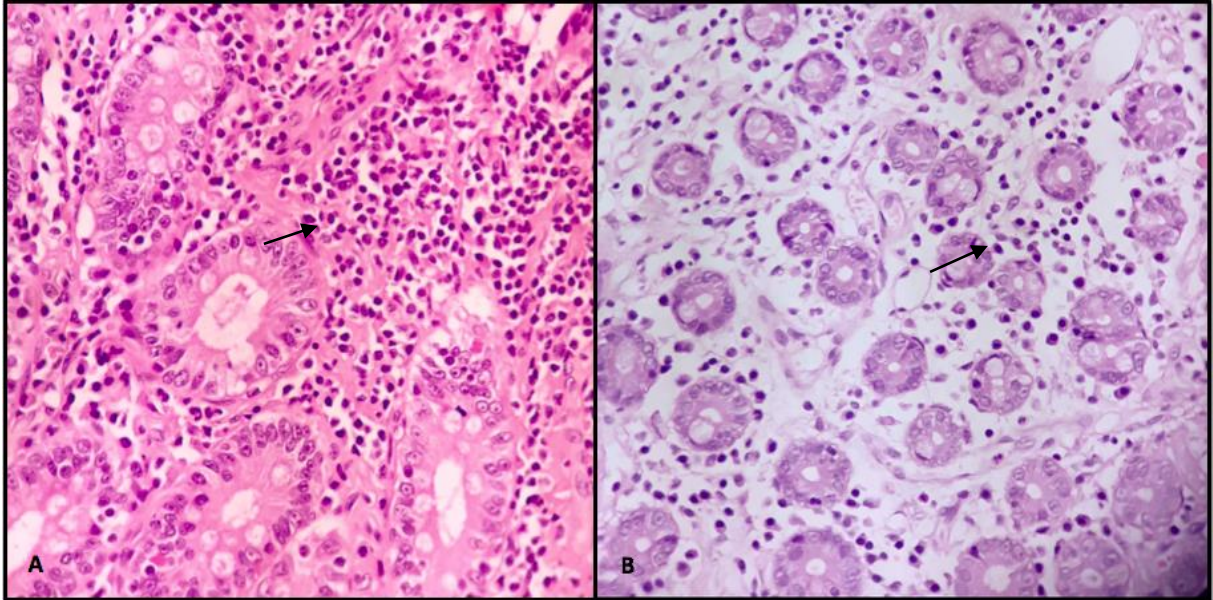
2.2.2 Doença Inflamatória Intestinal Felina – Etiopatogenia e Sinais Clínicos

A Doença Inflamatória Intestinal Felina (DIIF) representa um grupo de doenças gastrintestinais crônicas e idiopáticas caracterizada por apresentar sinais clínicos recorrentes do trato gastrintestinal, como vômitos, diarreia e perda de peso, associados as evidências histológicas de inflamação pela presença de infiltrados difusos de células inflamatórias, podendo ocorrer no intestino delgado ou grosso (Tams, 2005). A etiologia dessa inflamação não é totalmente esclarecida, porém são conhecidos fatores associados, como genéticos, bactérias, parasitas, dieta e desregulação da resposta imune ao microbioma intestinal (Jergens, 2012).

A perda de tolerância oral a antígenos microbianos ou dietéticos luminais e alterações na função de barreira epitelial intestinal parecem estar envolvidos na patogênese da doença. A inflamação é estabelecida com o dano tecidual e os mecanismos de hipersensibilidade parecem perpetuar o processo inflamatório em função da alta quantidade de antígenos no ambiente intestinal que invadem a lâmina própria (Kleinschmidt et al., 2010).

A DII é uma das patologias mais comuns na clínica de cães e gatos com sinais gastrointestinais crônicos (Waly et al., 2014). A DIIF pode ser classificada de acordo com a natureza do infiltrado inflamatório, sendo o padrão mais comum o linfo-plasmocítico (Figura 1). No entanto, poderá ocorrer uma migração celular granulomatosa predominantemente ou de eosinófilos (padrão eosinofílico) ou de neutrófilos (padrão neutrofílico), suspeitando-se, nestes casos, de uma maior participação de parasitas intestinais ou de infecções bacterianas, respectivamente (Janeczko et al., 2007; Jergens, 2012).

Figura 5 - Infiltrado celular em intestino de gato. (SOUSA- FILHO et. al., 2020). A) Intenso infiltrado celular constituído por linfócitos e plasmócitos em amostra intestinal de gato. B) Infiltrado mononuclear discreto em amostra intestinal de gato (H&E, 100x)



Fonte: Elaborado pelo autor.

A DII é uma patologia de diagnóstico por exclusão, devendo-se inicialmente descartar quadros de hipertireoidismo, parasitismo intestinal, intolerância alimentar e linfoma, visto que um infiltrado linfocítico-plasmocítico pode ser encontrado nestes diagnósticos diferenciais e até em pacientes sem sinais clínicos gastrointestinais (Marsilio & Steine, 2015; Waly et al, 2004).

O diagnóstico deve ser baseado nos sinais clínicos, exames laboratoriais e histopatológicos, cujas amostras intestinais deverão ser obtidas preferencialmente através de celiotomia e biópsia incisional transmural, favorecendo a análise de todas as camadas intestinais (Day et al., 2008). Coletas por técnicas endoscópicas são limitadas já que não permitem a análise de todas as camadas intestinais, além de impossibilitar a biópsia de segmentos importantes, como o íleo e segmentos extra-intestinais, como linfonodos mesentéricos. A inclusão de biópsias extra-intestinais na análise histopatológica pode favorecer ao diagnóstico precoce da DIIF ou de neoplasias intestinais, como linfomas e mastocitomas, cujos quadros podem ainda não estar acometendo os segmentos intestinais biopsiados (Kleinschmidt et al., 2010a).

As análises hematológicas e bioquímicas são importantes para auxiliar o monitoramento do paciente em tratamento e determinar o prognóstico, já que estas permitem avaliar repercussão sistêmica do processo inflamatório ou o acometimento de outros órgãos,

como pâncreas e fígado, sendo relativamente comum o envolvimento concomitantemente destes (Hill & Winkle, 1993).

O estadiamento da DII pode ser realizado através do Índice de Atividade de Enteropatia Crônica Felina (IAECF) (Tabela 1), que é baseado na pontuação em escores, de acordo com a presença e intensidade dos sinais clínicos como vômito, atividade, perda de peso, apetite, diarreia, além das alterações nos exames bioquímicos como proteínas totais, alaninamino transferase, fosfatase alcalina e fósforo séricos associados aos exames endoscópico e histopatológico (Jergens et al, 2010). A recomendação do estadiamento é fortemente sugerida principalmente para o acompanhamento da resposta terapêutica empregada (Jergens et al, 2012).

Tabela 1 - Cálculo do Índice de Atividade de Enteropatia Crônica em Felinos (IAECF). A magnitude da soma total é proporcional ao grau de atividade inflamatória (Adaptado de Jergens et al., 2012)

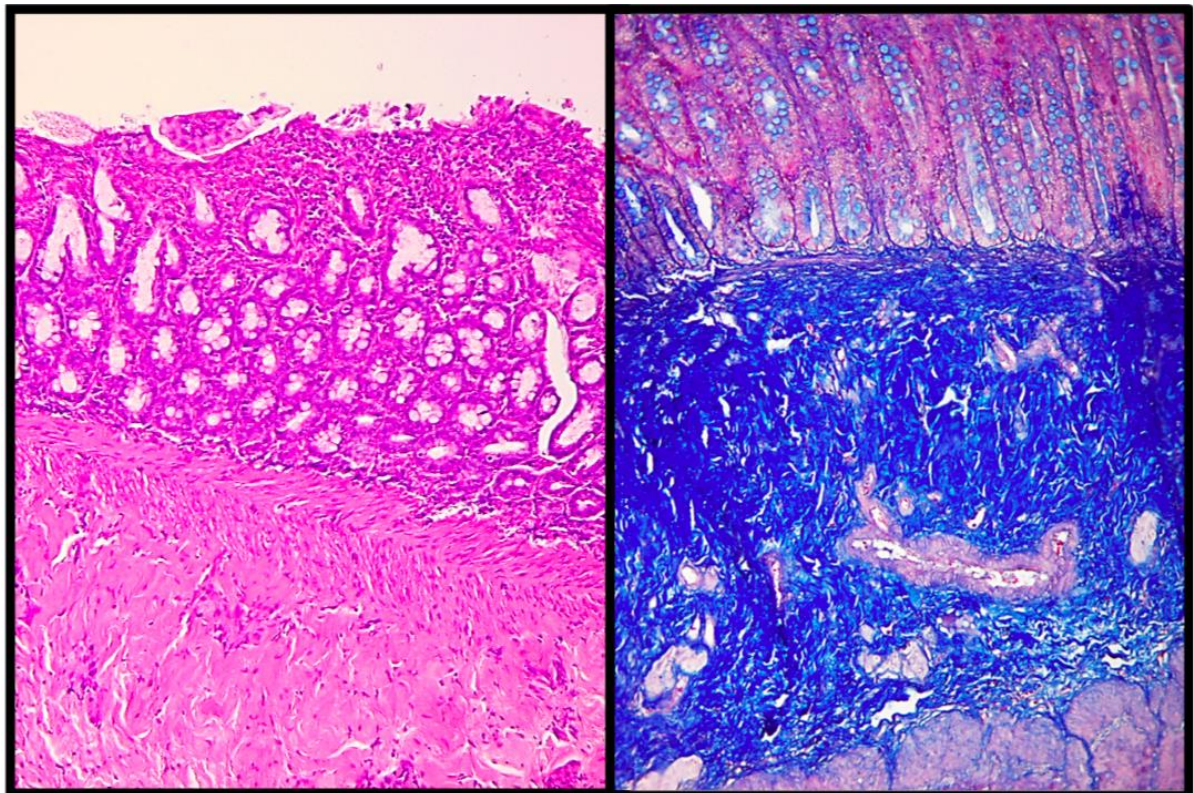
PARÂMETROS	INTENSIDADE (ESCORES)					SUBTOTAL
Diminuição de atividade	Normal (0)	Leve (1)	Moderada (2)	Severa (3)		0 – 3
Diminuição do apetite	Normal (0)	Leve (1)	Moderada (2)	Severa (3)		0 – 3
Vômito	Ausente (0)	1x/semana (1)	2 a 3x/semana (2)	>3x/semana (3)		0 – 3
Diarréia	Ausente (0)	2 a 3x/dia (1)	4 a 5x/dia (2)	>5x/dia (3)		0 – 3
Perda de peso	Ausente (0)	Regular (1)	Moderada (2)	Severa (3)		0 – 3
Lesões endoscópicas	Não (0)			Sim (1)		0 – 1
Proteínas séricas totais	Normal (0)			Aumentada (1)		0 - 1
Alanina aminotransferase sérica	Normal (0)			Aumentada (1)		0 - 1
Fosfatase alcalina sérica	Normal (0)			Aumentada (1)		0 - 1
Fósforo Total sérico	Normal (0)			Aumentado (1)		0 - 1
SOMA (IAECF)						

Fonte: Elaborado pelo autor.

Os achados histológicos onde se incluem o tipo de infiltrado observado e a severidade das alterações tais como, fibrose, atrofia de vilosidades intestinais (Figura 6) e erosão de mucosa estão fortemente relacionados com as citocinas pró-inflamatórias liberadas no sítio e que estão associadas ao dano tecidual e, conseqüentemente, com a repercussão dos

sinais clínicos. Estes por sua vez reforçam à importância do estadiamento pelo IAECF (Jergens et al, 2012).

Figura 6 - Aspectos histológicos das vilosidades e lâmina própria do intestino de gatos acometidos por DII. (SOUSA- FILHO et. al., 2020). A) Atrofia de vilosidades e infiltrado inflamatório na lâmina própria em amostra intestinal de gato com DII (H/E, 100X). B) Intensa fibrose em camada submucosa de amostra intestinal de gato com DII (Tricômio de Masson; 100X)



Fonte: Elaborado pelo autor.

A DIIF possui similaridades com as doenças intestinais inflamatórias humanas, como a Doença de Crohn (DC) e a Colite Ulcerativa (CoU). Fatores imunopatogênicos, manifestações clínicas (Tabela 2), alterações da microbiota intestinal e a resposta imune exacerbada são semelhantes (Abraham & Cho, 2009).

Tabela 2 - Manifestações clínicas da Doença Intestinal Inflamatória Humana (Doença de Crohn - DC; Colite Ulcerativa - CoU; Doença Celíaca -DCe) e Doença Intestinal Inflamatória Felina (DIIF)

Manifestações Clínicas ⁽¹⁾	DC	CoU	DCe	DIIF
Anorexia	+ ⁽²⁾	+	-	++
Vômito	+	+	+	+++
Regurgitação	-	-	+	+
Polifagia	-	-	-	+
Diarréia	+++	+++	+++	+
Tenesmo	+	+	-	+
Hematoquezia	-	++	-	+
Dor abdominal	+	+	++	+
Perda de peso	++	++	-	+
Hipovitaminose B12	-	-	+	+
Colangite	+	+	-	++
Hipoalbuminemia	-	-	+	+
Abscessos/fístulas intestinais	++	++	+	-
Dermatites	-	-	+	+
Endocrinopatias	-	-	+	-

(1) Alterações clínicas mais prevalentes segundo Jergens (2012), Pascual (2014), e Lerner et al (2019).⁽²⁾ Escores de acordo com a prevalência: ausente (-); leve (+); moderado (++); intenso (+++).
Fonte: Elaborado pelo autor.

2.2.3 Importância da Microbiota na Doença Inflamatória Intestinal

Um ecossistema microbiano equilibrado é de importância crucial não só para os intestinos, pois fornece estímulos para o sistema imunológico, ajuda na defesa contra enteropatógenos e fornece benefícios nutricionais, modulando a saúde e a doença do hospedeiro.

Em experimentos com camundongos livre de germes, verificou-se que a presença de bactérias é importante para o desenvolvimento adequado da estrutura intestinal, já que nestes, verificou-se uma diminuição do tamanho das vilosidades (Suchodolsky, 2016). Pois, um desequilíbrio criado por uma mudança em uma espécie ou família microbiana específica ou em toda a comunidade comensal, pode afetar toda a resposta imunológica local e também afetar outros sistemas orgânicos. Os metabólitos bacterianos provindos do lúmen intestinal e entregues à barreira epitelial, conhecidos como “mobilomas”, são os principais mensageiros do lúmen intestinal capazes de induzir respostas inflamatórias extraintestinais, verificadas nos quadros de comorbidades (Tabela 2) associadas a DII (Lerner et al., 2019).

As interações entre bactérias intestinais e o sistema imunológico do hospedeiro são mediadas pelo contato direto entre bactérias e metabólitos microbianos com as células do sistema imune inato através dos receptores de reconhecimento de padrão molecular (PRR), como os receptores do tipo Toll (Toll-like receptors, TLR) e os receptores do tipo NOD (Nucleotide-binding oligomerization domain) (Suchodolsky, 2016). O gene do receptor NOD2 foi o primeiro a ser identificado para conferir maior risco à DC, com três mutações já identificadas, principalmente em população de origem européia. Essas mutações podem resultar em resposta inadequada, gerando produção reduzida de substâncias bactericidas, invasão microbiana patogênica e ativação de vias inflamatórias com excesso de respostas mediadas por Linfócitos T auxiliares efetores do tipo 1 (Th1) (Geremia et al., 2013). Mutações semelhantes em NOD2 foram verificadas em cães de raça Pastor Alemão com quadro de DII (Kathrani et al., 2015), entretanto ainda não investigado em gatos.

O papel da microbiota intestinal na patogênese da DIIF vem sendo estudado, entretanto ainda existe uma grande dificuldade em se determinar se o desequilíbrio da mesma seria a causa ou consequência da DIIF (Mosca et al., 2016). Dados comprovados, como a resposta de algumas enteropatias ao tratamento clínico baseado em antibioticoterapia (Jergens, 2012), a observação de maior predisposição da inflamação, em regiões anatômicas de íleo terminal e cólon, onde ocorre uma relativa estase fecal, em humanos (Kleinschmidt et al., 2010^a), e a relação negativa entre a cirurgia de apendicectomia e a CoU (Danese et al., 2004), são condizentes com a ideia de que as bactérias intestinais contribuem para a resposta inflamatória.

A resposta imunológica exacerbada contra antígenos microbianos é reconhecida há muito tempo na DII humana. Pacientes com DC apresentam anticorpos específicos circulantes contra antígenos microbianos, incluindo *Saccharomyces cerevisiae*, proteína C da membrana externa de *Escherichia coli*, e anti-*Pseudomonas fluorescens*. O mesmo ocorre para anticorpos contra glicanos, componentes superficiais comuns de microrganismos e outras células humanas e animais (Souza & Fiocchi, 2015). O agravamento da DC após a exposição da mucosa a conteúdos luminiais no pós-operatório nestes pacientes, sugerem também um papel importante da microbiota na patogênese da doença (Souza & Fiocchi, 2015).

A possibilidade de as bactérias estimularem a resposta inflamatória da mucosa é suportada pela capacidade das bactérias entéricas, incluindo *E. coli*, *Salmonella spp* e *Clostridium spp*, induzirem à secreção de citocinas pró-inflamatórias (Abraham & Cho, 2009). A imunidade na mucosa intestinal pode ser regulada pela microbiota constituída de

bactérias filamentosas segmentares, *Clostridia* e *Bacteroides fragilis*, os quais favorecem a ativação e diferenciação de subpopulações distintas de células T efectoras, como as células T auxiliares do tipo 17 (Th17), células T regulatórias (Treg) e células T auxiliares do tipo 1 (Th1), respectivamente (Souza & Fiocchi, 2015).

Com relação as células Th17 no intestino, tem sido relatado que a microbiota endógena parece estar envolvida na diferenciação destas células (Ivan et al., 2009), e que sua presença em diferentes partes do intestino é dependente do grau de colonização por bactérias comensais. Em camundongos, as células Th17 são encontradas em números elevados na lâmina própria do íleo e do cólon, mas não no duodeno, jejuno, linfonodos mesentéricos ou baço, locais aonde a microbiota é mais escassa. Apoiando isso, diferentes estudos mostraram que a presença de células Th17 no intestino é visivelmente reduzida em camundongos tratados com antibióticos ou livres de germes (Galvez, 2014). Portanto a disbiose provoca desequilíbrio nas subpopulações celulares do componente de defesa tecidual.

A disbiose presente na DII humana é vista de forma quantitativa e qualitativa, já que ocorre uma abundância em *Bacteroidetes* e *Proteobacteria* e redução das bactérias do filo *Firmicutes* (*Faecalibacterium prausnitzii*) (Abraham & Cho, 2009). Também é documentada mudanças na microbiota intestinal de pessoas com CoU (Ni et al., 2017).

Os principais grupos bacterianos intestinais de gatos são semelhantes aos encontrados em outros mamíferos, como *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria* e *Proteobacteria*, os quais constituem mais de 99% da microbiota intestinal (Johnston et al., 2001). Em cultura bacteriana do suco duodenal de gatos foi demonstrado que havia menos bactérias microaerofílicas lumenais em pacientes com sinais clínicos de doença gastrointestinal quando comparados aos gatos saudáveis. Foi também observado que o número total de bactérias da mucosa em gatos estava fortemente associado às mudanças na arquitetura da mesma, e na densidade de infiltrados celulares, particularmente macrófagos (Johnston et al., 2001).

Alterações como atrofia e fusão da mucosa intestinal são associadas com o aumento dos sinais clínicos intestinais e com o aumento do número de bactérias como *Enterobacteriaceae*, *E. coli* e *Clostridium spp* que representam 91% da microbiota de gatos com doença gastrointestinal. Em pacientes com a mucosa intestinal saudável, estas bactérias representam apenas 6% da flora comensal em comparação a 91% da microbiota da mucosa em gatos com sinais de doença gastrointestinal. Além disso, há uma superregulação de citocinas pró-inflamatórias (particularmente IL-1, IL-8 e IL-12) nestes pacientes (Janeczko et

al., 2007), o que evidencia o quadro de desequilíbrio do microbioma nos animais afetados pela DII.

Portanto, essas informações demonstram que a localização das bactérias pode sugerir uma maior participação destas na indução da resposta inflamatória da mucosa: Neste sentido, Janeczko et al. (2007) verificaram que as *Enterobacteriaceae* são as bactérias dominantes da mucosa de gatos com sinais de doença gastrointestinal, representando mais de 66% da flora intestinal, nestes pacientes, e que a *E. coli*, em gatos com DII, foram mais abundantes no muco sobre o epitélio superficial.

Também tem sido relatada a presença de aproximadamente 10% de bactérias *Clostridium spp.* no epitélio superficial e nos tecidos mais profundos de gatos afetados, enquanto que em gatos saudáveis sua localização se restringe ao muco livre. Isto pode representar uma invasão oportunista por *Clostridium spp.* ou talvez a presença de uma cepa patogênica relacionada à DII. Esses dados estabelecem ainda que a densidade e a composição da microbiota da mucosa estão relacionadas à presença e gravidade da inflamação intestinal em gatos e sugerem que as bactérias da mucosa estejam envolvidas na etiopatogenia da DII felina (Janeczko, 2007).

A microbiota do intestino delgado, especialmente *Lactobacillus spp* e *Clostridium spp*, causa desconjugação de ácidos biliares e quando desregulada podem prejudicar a absorção de gordura, além de ocasionar, a destruição das enzimas de borda em escova, danos nas proteínas transportadoras e consequente diminuição da absorção de nutrientes (por exemplo, vitamina B12) (Suchodolski, 2016).

Ainda como consequência da disbiose, as enterotoxinas produzidas por bactérias patogênicas podem estimular as secreções de líquidos nas mucosas, destruição das vilosidades e a perda de área da superfície, reduzindo a capacidade de absorção da mucosa, resultando em diarreia. Essa disfunção da barreira mucosa pode levar a um aumento da permeabilidade intestinal e translocação bacteriana clinicamente significativa (Suchodolski, 2016).

Similarmente a humanos e cães, a quantidade de fibras solúveis (prebióticos) e macronutrientes (teor de proteínas) presentes na dieta podem modular a microbiota felina. . Acredita-se também que, mudanças na microbiota intestinal levam a alterações metabólicas, gerando mudanças funcionais como a produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCCs) através da fermentação de carboidratos indigeríveis, produzidos principalmente por *Clostridia spp.*, que parece aumentar a função das células Treg na mucosa intestinal (Duboc et al., 2013; Grigg & Sonnenberg, 2017). Em ratos, os AGCCs derivados da microbiota intestinal induzem

a produção de IL-10 por células Th1 específica de antígeno microbiano, mediada por receptores acoplados à proteína G, diminuindo a severidade de colites (Sun et al., 2018).

Outra evidência importante é que no trato gastrointestinal saudável existe um gradiente de oxigênio devido à difusão deste, da mucosa do hospedeiro para o lúmen do intestino. Assim, as bactérias aderentes à mucosa intestinal têm maior tolerância ao oxigênio e à expressão da catalase, em relação as outras do lúmen intestinal. Como a inflamação é um estado oxidativo, pode-se esperar que ela promova o crescimento de bactérias aerotolerantes, favorecendo a respiração aeróbia epitelial e aumentando a oxigenação da superfície da mucosa (Albenberg et al., 2014).

A maioria dos estudos relacionados à microbiota está concentrado nas bactérias. Entretanto, fungos e vírus podem também estar relacionados com a DII, uma vez que vários genes de suscetibilidade à DII em camundongos e humanos estão envolvidos em respostas imunes antifúngicas, como o CARD9, CLEC7A e RELA (Richard et al., 2015). Com relação aos fungos da microbiota, Sokol et al. (2016) relataram que a diversidade global de fungos era maior em pacientes humanos com DII em relação a indivíduos saudáveis, com várias espécies detectadas apenas em amostras de DC ou CoU. Entretanto, não se pode determinar se os vírus e fungos têm papel direto na patogênese da DII ou se meramente reflete a disbiose subjacente.

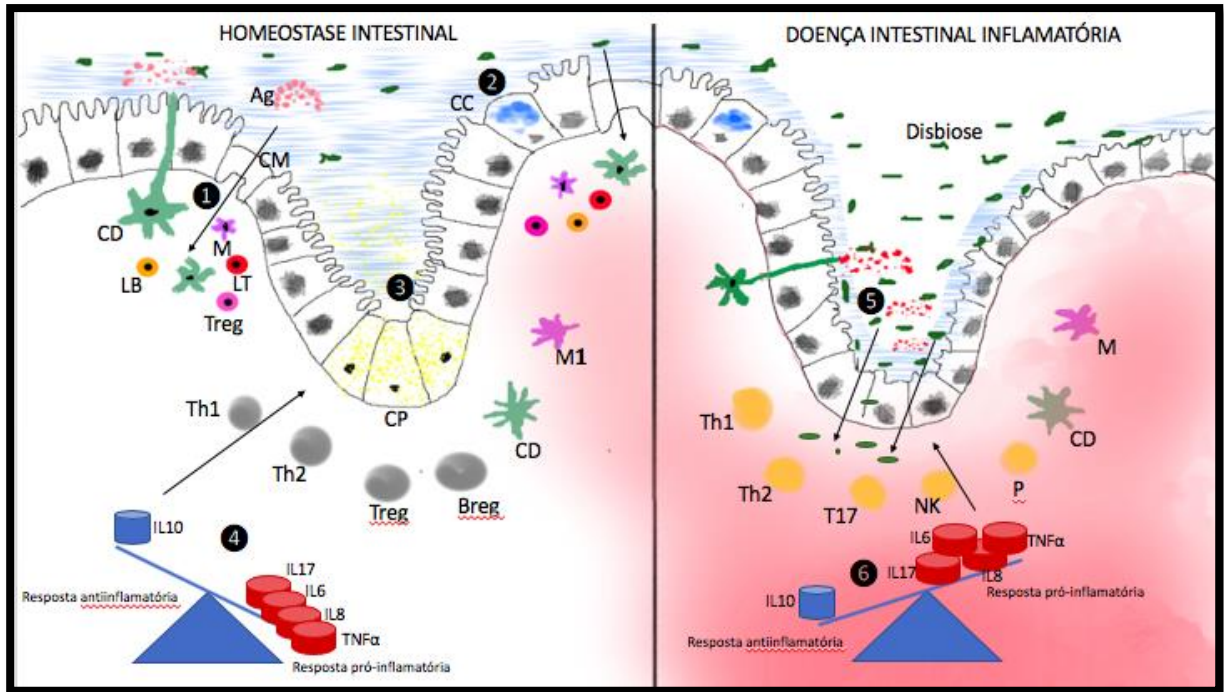
2.2.4 O Sistema Imune na Doença Inflamatória Intestinal

O epitélio intestinal é composto por uma única camada de células sob uma lâmina basal que contém uma complexa população de células imunes, com rigoroso controle, que determina a ocorrência de uma tolerância imunológica à antígenos intestinais residentes (Mabbott et al., 2013).

A principal característica da doença inflamatória intestinal é uma pronunciada infiltração na lâmina própria de células inatas imunes (neutrófilos, macrófagos, células dendríticas e células T natural killer) e células imunológicas adaptativas dos tipos B e T (Figura 7). O aumento no número e a ativação dessas células na mucosa intestinal elevam os níveis locais de várias citocinas, como fator de necrose tumoral α (TNF- α), interleucina-1 β (IL-1 β), interferon- γ (IFN- γ) e IL-23 por Th17 (Abraham & Cho, 2009). O aumento dos níveis de citocinas pró-inflamatórias, como IL-1, IL-6, IL-18, TNF, e membros da família IL-12 (IL-12, -23, -27, -35), interferon (IFN) - α e IFN- β por células apresentadoras de antígenos

(APCs), como células dendríticas (CDs) da lâmina própria e macrófagos foram relatados na DII humana (Park et al., 2017).

Figura 7 - Homeostase imune intestinal e a resposta inflamatória desequilibrada



Fatores como a microbiota, permeabilidade epitelial e resposta imune predominante, são peças-chave para o desenvolvimento da DII. 1) Importantes eventos regem a imunidade inata: Em um ambiente intestinal normal, antígenos luminais são apresentados constantemente para os linfócitos locais, através da endocitose pelas Células M e pelas projeções citoplasmáticas das CDs, que atingem o lúmen intestinal, capturando peptídeos bacterianos, alimentares, fúngicos e virais (Mabbott et al., 2013). 2) Camada de muco produzido pelas células caliciformes e a secreção de defensinas pelas células de Paneth (3), mantém uma importante proteção da mucosa intestinal ao conteúdo luminal, limitando o crescimento e invasão bacteriano (Birchenough et al., 2015). 4) O estado normal é mediado por um equilíbrio recíproco entre células imunes (Treg e Breg vs. Th1 e Th2) e citocinas que são secretadas para manter as condições no intestino, sobressaindo-se a resposta anti-inflamatória. 5) Um desequilíbrio nas células imunológicas leva à destruição das células epiteliais intestinais e à invasão da microbiota comensal. 6) Na DII ocorre a liberação descontrolada de citocinas, perpetuando-se uma resposta inflamatória (Lee et al., 2018). Ag- antígenos do lúmen intestinal; CC - Células caliciformes; CP - Células de Paneth; CM - Células M; CDs - Células dendríticas; LB - Linfócitos B; LT - Linfócitos T; M - Macrófago; NK - Linfócitos Natural Killer; P - Plasmócitos (SOUSA-FILHO et al., 2020).

Fonte: Elaborado pelo autor.

O Tecido Linfóide Associado a Mucosa (MALT) desempenha um papel fundamental na imunidade adaptativa intestinal, a exposição constante a antígenos alimentares e microbianos requer interações complexas no MALT do hospedeiro para gerar tolerância imunológica ou respostas imunes ativas. Os linfócitos T são células do sistema imune adaptativo e uma parte importante do MALT, e em conjunto com linfócitos B e CDs existem em números elevados na lâmina própria intestinal abaixo das células da mucosa (Heilmann & Sushodolski, 2015).

A DC é conhecidamente designada como uma condição inflamatória dominada pelos linfócitos Th1, devido à produção elevada de IL-12 e IFN- γ , enquanto a CoU é caracterizada como uma condição TH2, baseada na produção de IL-5 e IL-13. Entretanto descobriu-se que as células Th17, produtoras de IL-17, estão presentes em pacientes com DC, para os quais os linfócitos da mucosa produzem IL-17 e IFN- γ , redefinindo essa forma de DII como uma condição mista Th1 e Th1/Th17 (Pascual et al., 2014). As células Th17 são oriundos de uma linhagem distinta de linfócitos T CD4⁺, pró-inflamatórios, que são induzidos por IL-6/IL-21 e produzem IL-17 e IL-23 (Brand, 2009). Essas citocinas oriundas da ativação de Th17 causam graves danos epiteliais, pois induzem ao recrutamento de neutrófilos e estimulam fibroblastos para secretar mais metaloproteinases por meio do aumento dos níveis de IL-1 β , IL-6, IL-8 e TNF na DC (Park et al., 2017).

Em gatos com enteropatia inflamatória, a expressão do gene da IL-23 foi significativamente maior, o que pode suportar a hipótese de que a IL-23 está implicada na imunopatogênese da enteropatia inflamatória felina (Waly et al., 2014). Esta mesma situação foi encontrada na DC.

Métodos imunohistoquímicos foram utilizados para identificar subgrupos de leucócitos dentro da mucosa do duodeno, jejuno e íleo de gatos saudáveis, ao longo do intestino delgado, os plasmócitos IgA⁺ e IgM⁺ foram mais proeminentes na lâmina própria adjacente à cripta inferior do que nas vilosidades, enquanto os plasmócitos IgG⁺ estavam presentes em igual número nas regiões cripta e vilosidades. Em geral, os plasmócitos IgA⁺ predominaram e os plasmócitos IgM⁺ foram mais numerosos do que os plasmócitos IgG⁺. Em contraste, as células TCD3⁺CD4⁺ e TCD3⁺CD8⁺ estavam presentes em maior número na lâmina própria da vilosidade do que na lâmina adjacente às criptas (Wali et al., 2001). O acúmulo de células T nesse nível pode refletir a compartimentalização de células imunes no intestino e pode ser devido aos efeitos das células apresentadoras de antígenos (APCs) (Marsilio et al., 2014).

O compartimento intraepitelial do intestino delgado de gatos saudáveis é dominado por linfócitos T (> 85%) que frequentemente contém grânulos intracitoplasmáticos. Há quantidades elevadas de linfócitos T CD8 α ⁺ e pequenas porcentagens de linfócitos T CD4⁺, de tal forma que a relação CD4:CD8 é baixa. (Roccabianca et al., 2000). Os linfócitos intraepiteliais também foram caracterizados fenotipicamente, sendo a maioria linfócitos T CD8⁺ (Wali et al., 2001).

Outra linhagem de linfócitos importantes na resposta imune intestinal são os linfócitos T reguladores (Treg), que são células T CD4⁺ que expressam o fator de transcrição (FoxP3) e a cadeia α do receptor de IL-2 (CD25⁺). São essenciais para o desenvolvimento de tolerância imunológica a antígenos hospedeiros e estranhos, e sua disfunção pode implicar nas patologias das DII (Park et al., 2017). Na DC, foi observada diminuição na população de células Treg e aumento no número de células Th1 sugerindo que as células Treg são importantes supressores da colite mediada por Th1 (Huibregtse et al., 2007).

Os macrófagos podem ser classificados como macrófagos classicamente ativados ou alternativamente ativados, dependentemente de suas atividades pró-inflamatórias versus imunorregulatórias. São estados funcionais diferentes, mas intercambiáveis, dependendo do microambiente que os macrófagos encontram (Helio et al., 2003). Na mucosa intestinal saudável, os macrófagos humanos não produzem citocinas pró-inflamatórias, mas retêm atividade fagocítica e bactericida *in vitro*. Entretanto, em pacientes com DC, foram relatados macrófagos CD14⁺ que exibem marcadores como CD33, CD68 e de células dendríticas (CD205, CD209), que produzem abundantes IL-6, IL-23 e TNF, contribuindo para a produção de IFN- γ por células locais (Kamada et al., 2008).

Em um estudo, os macrófagos L1⁺ foram significativamente diminuídos na área de criptas mais baixas do cólon de gatos com DII e houve uma tendência a uma diminuição na área da cripta superior do duodeno e do jejuno. Houve marcação com MAC387, que é específico para a calprotectina humana (L1), e que tem sido associada a macrófagos classicamente ativados em tecidos sob condições pró-inflamatórias. A razão para o menor número de macrófagos L1⁺ no intestino grosso e delgado de gatos com DII neste estudo não foi clara (Kleinschmidt et al., 2010b).

Acredita-se que as CDs tenham um importante papel na patogênese da DII, já que estas são responsáveis por monitorar o microambiente circundante, apresentar antígenos e configurar eventos imunes subsequentes, controlando então a interação entre imunidade inata e adaptativa, induzindo tolerância ou incitando uma resposta pró-inflamatória do hospedeiro. As CDs da mucosa apresentam propriedades únicas que lhes permitem interagir com as células T e B, o epitélio intestinal e o estroma e, assim, contribuem para a manutenção da homeostase da mucosa ou induzem a inflamação (Rescigno & Disabatino, 2009). Em gatos com DII foi verificado que a expressão do complexo principal de histocompatibilidade (MHC) classe II por CDs e macrófagos na lâmina própria estava significativamente elevada

(Waly et al., 2004). Fato também observado em enterócitos. Estes dados ressaltam uma expressão de MHC classe II de maior intensidade em gatos acometidos por DII.

A participação de mastócitos na DII em humanos e em cães já foi demonstrada (German et al., 2001). Seu papel na DII se deve principalmente pela sua capacidade de influenciar a polarização de uma resposta imune, seja por interação direta com outras células imunes, seja por liberação seletiva do mediador, e sua ação em reações de hipersensibilidade e processos fibróticos (Locher et al., 2001). Os mastócitos são classificados de acordo com o seu conteúdo de proteases: existem os produtores de quimase, triptase ou ambas (Pejler et al., 2007). Ambas podem induzir processos inflamatórios ou anti-inflamatórios e reparativos, dependendo do microambiente e de outros mediadores liberados paralelamente, portanto, acredita-se que os mastócitos migram dentro do tecido e alterem suas propriedades histoquímicas dependendo do seu microambiente (Wang et al., 1998).

Em gatos com colite, em comparação com gatos controle, o número de mastócitos produtores de quinase diminuiu, enquanto o número de produtores de triptase foi elevado, o que indica que uma liberação de mediadores para reparo e remodelação do tecido e que os precursores de mastócitos ainda não haviam sido diferenciados para esses subtipos. Estas proteases também podem estimular os fibroblastos diretamente para produzir fibras de colágeno através da hidrólise do receptor ativado por proteases-1 (PAR-1). O aumento de mastócitos produtores de triptase detectado especialmente na região da cripta de gatos com colite pode refletir a participação dessas células no processo de remodelação tecidual, estimulando a fibrose em forma de faixa na interseção entre as vilosidades e as criptas (Kleinschmidt et al., 2010b).

A DII ainda é um grande desafio para a medicina veterinária. Estudos atuais já conseguem esclarecer pontos importantes da imunopatogenia, entretanto lacunas ainda permanecem, principalmente na definição de causa ou efeito entre a microbiota intestinal, epitélio intestinal e células imunes. Os estudos discutidos até o momento descrevem associações e não provam a causalidade. As evidências sugerem que a disbiose na DII pode, em grande parte, refletir a resposta de uma comunidade microbiana complexa ao estresse ambiental da inflamação intestinal. Assim, conhecer as bases do sistema imunológico associado à mucosa intestinal é fundamental para compreender como acontecem os processos de interação do organismo animal com o meio que o cerca. Apesar do fenótipo de infiltrado linfo-plasmocítico da DII felina não se enquadrar em um perfil de citocinas IL- 17, pesquisas

relacionadas ao papel das células Th17 podem ajudar a esclarecer hiatos importantes da patogenia.

2.3 Mucosa uretral, patologias associadas e procedimentos cirúrgicos em gatos

2.3.1 Mucosa Uretral

Embora grande parte das pesquisas tenham se concentrado na mucosa da bexiga como causa de enfermidades do trato urinário inferior, a mucosa uretral demonstra desempenhar um papel significativo na função da bexiga (ROBAIN et al., 2001). Em animais e humanos, a entrada sensorial da uretra, como fluxo de fluido, distensão, irritação ou estimulação elétrica, modula a função da bexiga e a dor visceral (DANZIGER & GRILL, 2016).

Anatomicamente, a uretra é densamente innervada por nervos sensoriais positivos para o peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP) e a substância P e contém células especializadas no epitélio, que podem estar envolvidos na detecção, processamento e transmissão de informações sensoriais (BARRY et al., 2017).

As células de resposta imune no trato genital têm que realizar funções de reconhecimento e resposta contra patógenos em potencial, e também devem tolerar células germinativas que expõem antígenos estranhos ao sistema imunológico (ANDERSON & PUDNEY 1999). Assim, há evidências de um papel importante das vias inflamatórias e da remodelação do tecido resultante da inflamação crônica, como o aumento da população de mastócitos e de elastina nos gatos com quadro de cistite e uretrites idiopáticas (KULLMANN et al., 2018B).

2.3.2 Fatores epidemiológicos relacionados à obstrução uretral

A doença do trato urinário inferior de felinos (DTUIF) é definida como alterações que afetam a bexiga ou a uretra dos gatos, caracterizada pelos sinais de polaciúria, periúria, disúria, hematúria e estrangúria. Uma das consequências da DTUIF mais presentes na rotina da clínica é a obstrução uretral, que pode vir acompanhada de outras comorbidades, principalmente da cistite idiopática felina (WESTROPP & DIBARTOLA, 2014; ROSA & QUITZAN, 2011).

A obstrução do lúmen uretral ocorre através de afecções intramurais ou extramurais, como tampões uretrais (coágulos, corpo estranho, mucoproteínas e cristais), neoplasias, urólitos, estenoses uretrais por edema e/ou fibrose, traumas, infecções induzidas por cateter, espasmo muscular e disfunção pós-cirúrgica (OSBORNE et al., 1996). Os urólitos são compostos de minerais e de matriz, enquanto os tampões uretrais são constituídos de grande quantidade de matriz proteica com minerais (GALVAO et al., 2010).

A dieta do animal influencia diretamente o pH urinário e a concentração de urina e, conseqüentemente, a formação de urólitos e tampões uretrais. A grande variedade de indústrias de rações facilitam os tutores no manejo da alimentação do felino, entretanto, estes animais acabam consumindo uma maior quantidade de ração seca, aliado ao hábito de ingestão de pouca quantidade de água, predispondo a formação desses cálculos (GALVAO et al., 2010; OSBORNE et al., 1991).

Fatores estressantes como a introdução de novos gatos e/ou pessoas no local, mudança de rotina, ausência de enriquecimento no ambiente, local com vários gatos, má higienização e acesso restrito às vasilhas sanitárias e confinamento, podem provocar a retenção de urina nesses animais, além de estarem intimamente relacionados com cistite idiopática obstrutiva e não obstrutiva (WESTROPP & DIBARTOLA, 2014; BUFFINGTON et al., 2006).

Os machos são mais predispostos a apresentarem obstrução uretral do que as fêmeas, devido ao estreitamento do lúmen da uretra, além de ser alongada. Os cristais se acumulam na uretra, principalmente na região da extremidade do pênis ou próximo às glândulas bulbo uretrais, devido ao menor diâmetro nesta região, promovendo a obstrução total ou parcial. A ocorrência desta comorbidade é mais comum em animais jovens (WESTROPP & DIBARTOLA, 2014; OSBORNE et al., 1996).

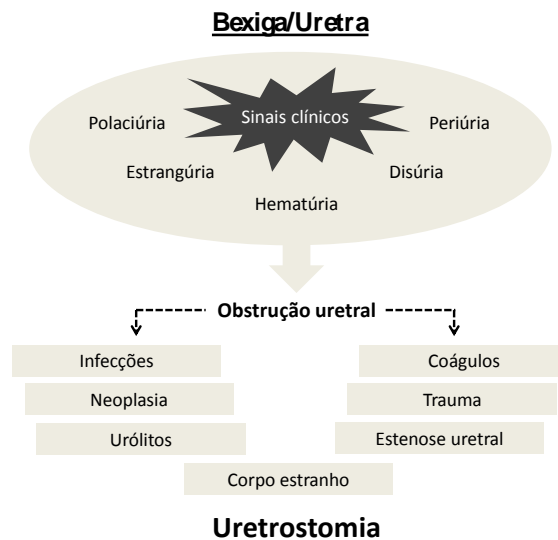
A castração, juntamente com erros no manejo, pode ocasionar um aumento dos fatores de risco para obstrução, pois leva à obesidade e a diminuição da atividade física do animal, além do sedentarismo, que diminui a frequência de idas a vasilha sanitária e promove a ingestão de menor quantidade de água (WESTROPP & DIBARTOLA, 2014; GALVAO et al., 2010).

2.3.3 Indicações da uretostomia

A uretostomia é um procedimento indicado para animais com estreitamento

uretral, obstruções recorrentes sem melhora com o uso de medicamentos, neoplasia prepucial, uretral ou peniana e cálculos que não são removidos por retropropulsão (Fig. 1). A região para a realização da uretostomia é baseado a partir da afecção do animal, podendo ser feito a pré-escrotal, escrotal, perineal ou pré-púbica (MACPHAIL, 2013).

Figura 8 - Sinais clínicos da DTUIF e possíveis indicações para o tratamento cirúrgico



Fonte: Elaborado pelo autor.

A uretostomia perineal é indicada como tratamento nos casos de severo trauma peniano, impossibilidade de cateterização (Fig. 6), priapismo e quadros de obstruções uretrais repetidas, sendo recomendada em animais com mais de três episódios sucessivos (MACPHAIL, 2013; WILLIAMS, 2009).

A uretostomia pré-púbica é indicada em casos de estenose da uretra intrapélvica, falha da uretostomia perineal, falha das correções da uretostomia perineal e ruptura da uretra intrapélvica (WILLIAMS, 2009; BAINES et al., 2001). Esta técnica é realizada principalmente em casos graves, em animais com histórico de repetidas tentativas cirúrgicas, com o intuito de salvar o animal para que ele tenha uma qualidade de vida razoável (FILHO et al., 2014; WILLIAMS, 2009).

2.3.4 Complicações, avaliação e cuidados pós-operatórios da uretostomia perineal e pré-púbica

As principais complicações da uretostomia perineal são estenoses, infecções,

incontinência urinária, cistites, hemorragias e deiscências (BASS et al., 2005). A estenose após a uretostomia é resultante na maioria das vezes da realização de um estoma pequeno na uretra peniana proximal, em vez da uretra pélvica distal, pois o diâmetro da uretra ao nível das glândulas bulbouretrais (1,3 mm) é o ideal para que não ocorra estenose, tendo quase o dobro de diâmetro da uretra peniana (MILGRAM, 2016; LADLOW, 2014; MACPHAIL, 2013). Diante disso, baixos índices de sucesso do procedimento e de estenose pós-cirúrgica podem estar intimamente relacionados com a experiência do cirurgião e a delicadeza da execução da técnica (RUDA & HEIENE, 2012; BASS et al., 2005).

A formação de estenoses pode ocorrer também por extravasamento da urina infectada, que forma um tecido de granulação e retarda a recuperação do tecido, promovendo uma fibrose periutretal e estreitamento. Neste caso, o desvio urinário pela introdução de um cateter uretral pós-cirúrgico é indicado para pequenas lacerações uretrais. Em casos que os animais apresentam novamente sinais de DTUIF devido a estenose, é indicado realizar uma cirurgia de reparo da uretostomia para impedir alterações metabólicas e renais no gato, embora haja dificuldades pela perda de anatomia local devido a cirurgia anterior (SILVA et al., 2017; MACPHAIL, 2013).

O vazamento de urina subcutânea é uma possível complicação, devido à ruptura da uretra pós-prostática por trauma iatrogênico por cateterismo uretral pós-cirúrgico. Também pode ocorrer pela aposição mucocutânea inadequada causada pela tensão excessiva na linha de sutura entre a mucosa uretral e a pele (MILGRAM, 2016; LADLOW, 2014).

Embora incomum, os nervos periféricos podem ser lesados durante a dissecação ao redor da uretra pélvica, ocorrendo incontinência fecal e urinária. A ocorrência de infecção pós-operatória pode ocorrer na uretostomia perineal, devido a alteração anatômica do meato uretral que diminui a distância entre o ânus e o estoma uretral, comprometendo a barreira da mucosa uretral (LADLOW, 2014; MACPHAIL, 2013).

A uretostomia pré-púbica predispõe a incontinência urinária, vazamento subcutâneo da urina e irritação e necrose da pele periostomal. A infecção pós-cirúrgica se deve principalmente ao aumento do diâmetro e redução do comprimento da uretra. A incontinência urinária ocorre pela dissecação dorsal excessiva em torno da uretra ou pelo menor comprimento da uretra. Em relação à uretostomia perineal, o risco de estenose é mínimo, pois a uretra tem um diâmetro maior nesta região do que na perineal (FILHO et al., 2014, LADLOW, 2014; BASS et al., 2005). No pós-cirúrgico, os animais devem utilizar colares elisabetanos para evitar a lambedura, conseqüentemente, evitar infecção e inflamação

na região do tecido suturado, além de impedir a remoção dos cateteres ou sondas da uretostomia pré-púbica (SILVA et al., 2017).

A utilização de sondas promove um maior estreitamento e fibrose da uretra, além de permitir infecções bacterianas ascendentes, não sendo recomendado após a uretostomia perineal. Entretanto, na uretostomia pré-púbica é ideal a colocação de sondas, para o animal se acostumar com a localização da uretra e para evitar a contaminação da ferida com a urina (MACPHAIL, 2013).

Nas caixas de areia devem ser colocadas papeis picados até a cicatrização total, com o intuito de evitar qualquer contaminação. O tecido suturado deve ser inspecionado diariamente e, caso apareça coágulos sanguíneos que possam obstruir, deve ser retirado com um cotonete úmido estéril. Os animais submetidos à uretostomia devem ser monitorados rotineiramente, realizando urinálise e cultura da urina, mesmo que estejam assintomáticos (LADLOW, 2014).

2.3.5 Qualidade de vida dos animais após a uretostomia

A qualidade de vida de felinos com DTUIF submetidos à uretostomia perineal foi relatada como satisfatória, com uma taxa baixa de recorrência dis sinais urinários (SLATER et al., 2019). Alguns gatos possuem recidivas, entretanto, uma terapia medicamentosa é suficiente para o controle, sem necessidade de nova intervenção cirúrgica (RUDA & HEIENE, 2012; BASS et al., 2005).

O estresse ambiental associado à dor são fatores que contribuem para a cistite idiopática e para a manutenção de sinais de DTUIF (BUFFINGTON et al., 2006). Assim, de acordo com Cooper et al. (2010), para a diminuição dos sinais de DTUIF, pode-se utilizar medicações ansiolíticas e a manutenção do paciente em ambientes calmos, silenciosos, isolados e livre de cães, sendo uma alternativa para melhorar a qualidade de vida dos animais após a uretostomia.

A modificação ambiental multimodal é uma terapia para melhorar a qualidade de vida de gatos com DTUIF que vivem em ambientes fechados, diminuindo a probabilidade de ativação do sistema de resposta ao estresse. Esta técnica consiste na educação do proprietário, promovendo o aumento da quantidade de tempo de interação com o gato, mudança de ração seca para úmida e adição de mais vasilhas de areia. Através desse procedimento, os animais diminuem os sinais de medo, nervosismo, comportamento agressivo, diminuindo as

comorbidades (BUFFINGTON et al., 2006).

Sinais clínicos como hematúria, disúria e polaciúria foram vistos em 27% de 74 gatos uretrotomizados pela técnica perineal (SLATER et al., 2019), mas que se limitou a um prazo de duas semanas do pós- cirúrgico. RUDA & HEIENE (2012) verificaram que em um total de 75 gatos, 60% destes permaneceram assintomáticos, 29,3% tiveram de um a dois incidentes de DTUIF (hematúria/ estrangúria), e 10,7% tiveram episódios mais frequentes de DTUIF, todos em acompanhamento de 6 meses até 10 anos.

Na técnica pré-púbica, os sinais de DTUIF no pós-cirúrgico são mais frequentes, com 50% dos gatos apresentando hematúria, disúria, incontinência urinária e dermatite periestomal, em período médio de 6 a 18 meses (BAINES et al., 2001).

O tempo médio de sobrevida em gatos com uretrotomia perineal foi em média de 3,5 anos (RUDA & HEIENE, 2012), sendo que nesse mesmo trabalho, foi verificado que a causa morte relacionada ao trato urinário, foi de 12% a curto prazo (até 6 meses após cirurgia) e 38,5% a longo prazo (de 6 meses a 10 anos após a cirurgia). A maior parte dos gatos acompanhados vieram a óbito por outras causas.

Em felinos submetidos à uretrotomia pré-púbica, foi relatado um tempo médio de sobrevivência de 13 meses após a cirurgia, com eutanásia de seis animais (37,5%), entre 1 a 26 meses do pós-operatório, devido às complicações urinárias, como incontinência urinária e necrose na região uretral. Desse modo, este procedimento é considerado de resgate para aliviar os sinais de DTUIF e prevenir recidivas de obstrução (BAINES et al., 2001).

2.4 Biomarcadores

Biomarcadores têm sido úteis na pesquisa e como ferramentas clínicas na maioria das áreas da medicina (PARIKH & VASAN, 2007). O termo biomarcador define uma característica que é medida objetivamente e avaliada como um indicador de normalidade biológica ou em processos patogênicos, servindo como um esteio a uma intervenção terapêutica ou cirúrgica (ATKINSON et al., 2001).

Os Biomarcadores podem ser utilizados na avaliação de vários pontos em fases diversas de uma doença. Podem ser utilizados na prevenção primária, prevenindo o próprio início da doença, podem facilitar prevenção secundária, pela detecção precoce da doença por meio de triagem, detecção de doença subclínica, e auxiliando no monitoramento da progressão da mesma. Também são úteis para o propósito de prevenção terciária, ajudando a

orientar o tratamento para evitar morbidade devido à doença estabelecida (PLETCHER & PIGNONE, 2011).

Na medicina veterinária os parâmetros biomarcadores já são utilizados em várias aplicações aplicações como: Para detectar e monitorar o estado fisiopatológico dos animais (biomarcadores de diagnóstico e monitoramento), em condições normais ou desafiadoras; para indicar o potencial para desenvolver uma doença ou uma sensibilidade a uma exposição (biomarcadores de suscetibilidade / risco); para identificar animais que podem experimentar um efeito favorável ou desfavorável de uma determinada condição ou exposição (biomarcadores preditivos), e para identificar a probabilidade de um condição adversa ou progressão da doença (MYERS et al., 2016).

2.4.1 Relação Neutrófilos- Linfócitos

A relação neutrófilos- linfócitos (RNL) têm sido utilizada em diversas áreas da medicina humana e veterinária (ZAHOREC, 2001). A RNL é simplesmente o número de neutrófilos dividido pelo número de linfócitos. Sob estresse fisiológico, o número de neutrófilos aumenta, enquanto o número de linfócitos diminui. A RNL combina essas duas mudanças, tornando-o mais sensível (BENSCHOP et al., 1996).

O cortisol endógeno e as catecolaminas podem ser os principais impulsionadores da RNL. Níveis aumentados de cortisol são conhecidos por aumentar a contagem de neutrófilos enquanto simultaneamente diminuem a contagem de linfócitos. Da mesma forma, catecolaminas endógenas (por exemplo, epinefrina) podem causar leucocitose e linfopenia (LOWSBY et al., 2015). Assim, a RNL não é apenas uma indicação de infecção ou inflamação. Qualquer causa de estresse fisiológico pode aumentar o RNL, como o choque hipovolêmico e sepse (JIANG et al., 2018).

A RNL aumenta rapidamente após o estresse fisiológico agudo (<6 horas). Este tempo de resposta imediata pode torna-lo um reflexo melhor do estresse agudo do que outros parâmetros laboratoriais, que são mais lentos para responder, como por exemplo, a neutrofilia à esquerda (HONDA et al., 2016).

Uma RNL normal em humanos, é de aproximadamente 1-3 . Em Pacientes criticamente enfermos frequentemente apresentam a RNL de 9 ou superior (JIANG et al., 2018). Entretanto, ainda não se têm estudos que assinala os valores normais em gatos.

O contexto clínico deve influenciar consideravelmente a interpretação da RNL. Por exemplo, distúrbios inflamatórios podem tender a elevar a RNL mais do que distúrbios não inflamatórios. Assim, um paciente com sepse e RNL de 15 pode não estar gravemente doente, enquanto um paciente com embolia pulmonar e RNL de 15 é mais preocupante (HONDA et al., 2016)

Na medicina veterinária, o valor diagnóstico e prognóstico de RNL já foi utilizado em diversos quadros clínicos, como para auxiliar na diferenciação pré-tratamento de sarcoma de tecido mole e de tumor benigno na cavidade oral (MACFARLANE et al., 2016), e com avaliação do tratamento antiparasitário de babesiose canina (KUCER et al., 2008).

2.4.2 Malondialdeído Sérico

Em condições fisiológicas, os radicais livres fazem parte do curso regulatório normal do organismo e o estado redox celular é controlado de perto pelos antioxidantes. Quando os níveis de radicais livres aumentam e os sistemas enzimáticos e os antioxidantes de baixo peso molecular não são suficientes para proteger o organismo, esses radicais atacam as membranas e células. Este processo é particularmente importante no sistema vascular (LEONARD et al., 2004)

A peroxidação lipídica é uma cadeia de reações mediada por radicais livres que, uma vez iniciada, resulta em uma deterioração oxidativa dos lipídeos poliinsaturados. Os alvos mais comuns são componentes de membranas biológicas. Quando propagadas em membranas biológicas, essas reações podem ser iniciadas ou potencializadas por uma série de produtos tóxicos, incluindo endoperóxidos e aldeídos (GUTTERIDGE, 2005)

O Malondialdeído (MDA) é um aldeído de três carbonos e baixo peso molecular que pode ser produzido por diferentes mecanismos (BERGENDI et al., 1999). Estudos mostraram que uma quantidade considerável de MDA pode ser potencialmente derivada de ácidos graxos com menos de três ligações duplas. A produção de MDA é parcialmente devida à oxidação secundária de compostos carbonílicos primários; endoperóxidos envolvidos na síntese de prostaglandinas; degradação oxidativa dependente de ferro de aminoácidos, carboidratos, pentoses e hexoses e de produtos de radicais livres produzidos por irradiação gama (GUTTERIDGE, 2005)

O Malondialdeído é um produto final da oxigenação de ácidos graxos poliinsaturados, sendo um confiável biomarcador comumente usado para avaliar a

peroxidação lipídica (MOORE E ROBERTS, 1998), sendo utilizado como importante indicador, na medicina veterinária, uma vez que indivíduos acometidos por diversas doenças têm os níveis de MDA aumentados, como em doenças parasitárias, infecciosas e inflamatórias (TODOROVA et al., 2005).

3 JUSTIFICATIVA

As doenças inflamatórias crônicas são de grande incidência nos felinos, com graves transtornos sanitários aos gatos acometidos. Biomarcadores da resposta inflamatória local e sistêmica que envolvem patologias associadas a danos nas barreiras epiteliais dos felinos ainda são pouco exploradas. Assim, faz-se necessário estudos que envolvam biomarcadores pouco utilizados na medicina felina para uma melhor abordagem diagnóstica, terapêutica e prognóstica das doenças que acometem essa espécie, diminuindo as indicações de procedimentos mais invasivos.

O tratamento da GECF representa um desafio para o clínico veterinário. Atualmente os melhores resultados é com a exodontia subtotal ou total. Entretanto, trinta por cento dos gatos com GECF não respondem a extração dentária, frustrando os médicos veterinários e tutores. Assim, a utilização de marcadores que proporcionem uma avaliação preditiva para indicação da exodontia, pode ser de grande auxílio para a decisão do tratamento cirúrgico em cada paciente.

Doenças crônicas, como a DII, causam desequilíbrio da homeostase, gerando instabilidade, levando à formação de íons e moléculas reativas, como espécies reativas de oxigênio, tendo efeitos negativos nos processos celulares fundamentais. A avaliação do nível de estresse oxidativo nesses pacientes, através de marcadores, pode proporcionar uma ferramenta diagnóstica e de acompanhamento a resposta ao tratamento.

A DTUIF obstrutiva em gatos pode ser uma enfermidade de indicação cirúrgica, aonde se realizam uretostomias e penectomias, sendo importante a determinação da qualidade de vida pós- cirúrgica e suas consequências na sanidade do paciente, como estenoses, infecções, incontinência urinária.

4 HIPÓTESE CIENTÍFICA

Os biomarcadores sistêmicos e teciduais da resposta inflamatória são ferramentas úteis na avaliação clínica, no diagnóstico e no prognóstico de gatos acometidos de danos nas mucosas oral, intestinal e uretral.

5 OBJETIVOS

5.1 Geral

Analisar os parâmetros clínicos e os biomarcadores sistêmicos e teciduais do processo inflamatório em gatos com comprometimento das mucosas uretral, intestinal e oral

5.2 Específicos

- a) Determinar a Relação Neutrófilo/Linfócio (RNL) e investigar a habilidade de NLR em diferenciar a severidade das lesões em gatos com GECF e o possível uso como fator prognóstico em resposta à exodontia;
- b) Verificar os níveis séricos do Malondialdeído (MDA) e correlacioná-los com os escores do Índice de Atividade de Enteropatia Crônica Felina (IAECF) e a severidade da inflamação em gatos diagnosticados com Doença Intestinal Inflamatória (DII) felina;
- c) Relatar o uso de biomarcadores por imunoistoquímica em um caso clínico com diagnóstico histopatológico sugestivo de FEEGF;
- d) Avaliar e comparar o prognóstico de gatos submetidos a cirurgia de uretrostomia e a qualidade de vida, utilizando-se marcadores de função renal.

6 CAPÍTULO 1

Is Neutrophil-Lymphocyte Ratio (NLR) a prognostic parameter for exodontia treatment of feline chronic gingivitis-stomatitis?

Submetido à Revista Ciência Rural- Jul/2020

Is Neutrophil-Lymphocyte Ratio (NLR) a prognostic parameter for exodontia treatment of feline chronic gingivitis-stomatitis?

É a razão neutrófilo-linfócito um parâmetro prognóstico para o tratamento de extração dentária na gengivite-estomatite crônica felina?

Reginaldo Pereira de Sousa-Filho¹; Keytyanne de Oliveira Sampaio²; Taiani Torquato

Diógenes³; Diana Célia Sousa Nunes-Pinheiro¹

¹ Programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias (PPGCV), Faculdade de Veterinária, Universidade Estadual do Ceará (UECE), Fortaleza, CE, Brasil

² Programa de Pós Graduação em Medicina Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Recife, PE, Brasil

³ Programa de Pós-Graduação, Equalis, Natal, RN, Brasil

ABSTRACT

Thirty percent of cats with Feline chronic gingivitis-stomatitis (FCGS) fail to respond to even the most recommended treatment currently available, which is total or subtotal dental extraction, frustrating veterinary practitioners. The neutrophil-lymphocyte ratio (NLR) has been used in many pathologies as a parameter easily measurable and may express the severity of inflammatory diseases, and, consequently can be used as a prognostic factor. Hence, this study aimed to investigate the ability of NLR to differentiate the severity of lesions in cats with FCGS and the possible use as a prognostic factor in response to exodontia. A total of 47 cats with a history of FCGS were selected and submitted to subtotal exodontia. NLR was assessed three days before and 60 days after the surgical procedure, correlating it with the stomatitis disease

activity index. It was verified that NLR of cats was more elevated during the pre-exodontia exam in comparison to the post-exodontia subtotal. Cats that did not present clinical improvement after exodontia, the NLR values were more elevated. This fact demonstrates the importance of this parameter in comparison to the clinical score evaluation after subtotal post-exodontia. In conclusion, NLR may be a potential biomarker to be considered in pre-exodontia and post-exodontia evaluations for FCGS cases. Thus, it is suggested NLR may be a biomarker to be considered in pre-exodontia and post-exodontia evaluations of FCGS cases. Besides, NLR may be used as a prognostic tool when deciding the therapeutic strategy and cost-benefit of surgical treatment.

Keywords: Biomarkers, Neutrophil-lymphocyte ratio, Tooth extraction; Feline stomatitis.

RESUMO

Trinta por cento dos gatos com gengivite-estomatite crônica felina (GECF) não respondem ao tratamento mais recomendado atualmente disponível, que é a extração dentária total ou subtotal, frustrando os médicos veterinários. A razão neutrófilo-linfócito (RNL) tem sido utilizada em muitas patologias como parâmetro facilmente mensurável e que pode expressar a gravidade de doenças inflamatórias, servindo como fator prognóstico. Assim, este estudo teve como objetivo investigar a capacidade da RNL em diferenciar a gravidade das lesões em gatos com GECF e o possível uso como fator prognóstico em resposta à exodontia. Um total de 47 gatos com histórico de GECF foram selecionados e submetidos a exodontia subtotal. A RNL foi avaliada três dias antes e 60 dias após o procedimento cirúrgico, correlacionando-a com o índice de

gravidade da estomatite. A RNL dos gatos foi mais elevada durante o exame pré-exodontia em comparação ao subtotal pós-exodontia. Gatos que não apresentaram melhora clínica após exodontia apresentaram valores mais elevados de NLR, demonstrando a importância desse fator em comparação à avaliação do escore clínico após o subtotal pós-exodontia. Em conclusão, a RNL pode ser um potencial biomarcador a ser considerado nas avaliações pré-exodontia e pós-exodontia para casos de GEFC. Assim, sugere-se que NLR possa ser um biomarcador a ser considerado nas avaliações pré-exodontia e pós-exodontia dos casos de GEFC. Além disso, NLR poderá ser utilizada como ferramenta prognóstica na decisão da estratégia terapêutica e do custo-benefício do tratamento cirúrgico da GEFC.

Palavras-chave: Biomarcadores, Razão neutrófilo-linfócito, Extração dentária; Estomatite felina.

INTRODUCTION

Feline Chronic Gingivitis-Stomatitis (FCGS) is a severe chronic inflammatory disease that has multifactorial etiology and limited therapeutic response (WINER et al., 2016). In addition, it is the second most diagnosed oral pathology in cats (HEALEY et al., 2007). Several etiologies have been reported, such as viral infections by Calicivirus (HENNET, 2005) and the retroviruses Feline Immunodeficiency Virus (FIV) and Feline Leukemia Virus (FeLV) (ROLIM et al., 2017), in addition to bacteria (DOLIESLAGER et al., 2013) and IgA deficient levels in saliva (HARLEY et al., 2011).

FCGS is characterized by proliferative and ulcerated lesions located mostly in the palatoglossal arch and oral gingiva (LOMMER & VERSTRAETE, 2003). Findings

in histology include ulcerations, epithelial hyperplasia, and diffuse inflammatory infiltrate with a predominance of lymphocytes and plasma cells (HARLEY et al., 2011). Most common clinical signs are anorexia, dysphagia, severe pain when opening the mouth, sialorrhea with intense halitosis, oral hemorrhage, absence or diminished grooming behavior, weight loss, and submandibular lymphadenomegaly (JHONSTON, 2012). Subtotal exodontia through the extraction of pre-molar and molar teeth is the treatment that presents the best results (WINER et al., 2016). However, 10 to 30% of cats do not present improvement with the procedure, which may possibly be related to the multifactorial aspect of the disease (BELLEI et al., 2008; JENNINGS et al., 2015).

FCGS is a severe inflammatory disease and, as such, it may provoke a systemic inflammatory response associated with alterations in the concentration of circulating white blood cells, including neutrophil-lymphocyte ratio. These cells reflect the role of the immune system in response to tissue damage. It is known that the neutrophil and lymphocyte counts, in absolute or relative values, represent simple, practical, and reliable methods of evaluation the extension of inflammatory response to several aggressions (ZAHOREC, 2001), and, thus, may serve as prognostic markers (KUCER et al., 2008). More recently, neutrophil-lymphocyte ratio (NLR) has been used as prognostic marker in several pathologies. It was used as predictive factor in ulcerative colitis (POSUL et al., 2015), atherosclerosis (YURTDAS et al., 2014), pancreatic adenocarcinoma (BHATTI et al., 2010), colorectal neoplasm (KWON et al., 2012), and hepatocellular carcinoma (CHO et al., 2013) in humans.

In veterinary medicine, the diagnostic and prognostic value of NLR was used to aid with pretreatment differentiation of a soft tissue sarcoma from a benign soft tissue tumor (MACFARLANE et al., 2016), and with evaluation of antiparasitic treatment of canine babesiosis (KUCER et al., 2008). Thus, NLR could also be explored in other

conditions, including inflammation. In this sense, this study aimed to investigate the ability of NLR to differentiate the severity of the lesions in cats with FCGS and the possible use as a prognostic factor in response to exodontia, considering that the treatment for this disease remains a challenge for veterinary clinicians.

MATERIAL AND METHODS

In this study, 62 cats with clinical diagnosis of FCGS were submitted to surgical treatment of subtotal exodontia (removal of pre-molar and molar teeth while maintaining canine and incisive teeth). All procedures were performed by the same surgeon with the technique described by Reiter & Soltero-Rivera (2014). In post-surgical protocol, antibiotic therapy with azithromycin 10mg/kg SID for 7 days was prescribed along with tramadol 2mg/kg BID for 5 days and meloxicam 0,1mg/kg SID for 4 days. Medical records included age, sex, breed, previous medication and FIV/FelV carrier status. Cats that recently received corticoid therapy (up to 20 days before the procedure) and carriers of retroviruses (FIV/FelV) were excluded.

Patients with exodontia indication were clinically staged according to the lesion severity with the aid of stomatitis disease activity index (SDAI) described by JHONSTON (2012) three days before and 60 days after exodontia. For data analysis, cats were divided in four groups according to their score in SDAI (JHONSTON, 2012) (Table I).

Blood samples were collected three days before exodontia and 60 days afterwards to determine red blood count (RBC), hematocrit (Ht), hemoglobin (Hb), and white blood cells (WBC) in automatic hematology analyzer by laser flow cytometry (Lasercyte-Idexx®). The neutrophil-lymphocyte ratio (NLR) was calculated with

absolute values, in which neutrophil values were divided by lymphocyte results for each patient.

Table 1 - Scores according to stomatitis disease activity index (SDAI) in cats

Score	SDAI
1	Up to 9
2	10 to 19
3	20 to 24
4	25 to 30

Statistical analysis

Non-parametric tests of Wilcoxon and Wilcoxon-Mann-Whitney were used for data analysis relating clinical score with NLR values of pre- and post-surgical treatment using $p < 0.05$.

RESULTS

A final count of 47 cats were selected for the study from a total of 62 patients, in which 11 were discarded for harboring FeLV (n=3) and FIV (n=8), and four due to corticoid treatment. Most cats were male (68%) and young patients were more commonly affected fitting within the age range of 3 to 5 years (53.5%), followed by 6 to 8 years (32.5%) and 1 to 2 years (14%). Most were undefined breed cats (87%) and some were Siamese (13%). Both in pre- and post-exodontia, patients presented low average values of RBC, Ht and Hb (Table III). Normocytic/normochromic anemia ($41 \leq \text{VGM} \leq 58\text{fL} / 29 \leq \text{CHCM} \leq 36\text{g/dL}$) was present in 14.89% and 10.63% of pre- and post-exodontia groups, respectively.

Table 2 - Pre- and post-exodontia lesion scores of cats with FGCS

Lesion score	Number of patients in pre-exodontia (%)	Number of patients in post-exodontia (%)
1	4 (8.51%)	17 (36.17)
2	10 (21.28)	16 (34.04)
3	21 (44.68)	11 (23.04)
4	12 (25.53)	3 (6.38)

Concerning leukocytes, average values of neutrophils and lymphocytes pre- and post-exodontia (Table III) presented inversed behaviors. Average neutrophil rate was higher in pre-exodontia exam while average lymphocyte values increased in post-exodontia. The average value of pre-exodontia NLR was 7.74 while in post-exodontia the result was 6.17.

Table 3 - Hematological parameters and neutrophil-lymphocyte ratio (NLR) of cats in pre- and post-exodontia analyses

Hematological parameters	Pre-exodontia*	Post-exodontia*
Red blood cells (M/ μ L)	5.86(4.21-7.53)	6.82(4.96-7.62)
Hematocrit (%)	29.3(22.9-39.6)	33.5(25.0-40.0)
Hemoglobin (g/dL)	10.2(9.2-12.4)	13.6(9.4-12.5)
Total white blood cells (K/ μ L)	16.88(9.12-22.26)	14.56(13.30-16.85)
Absolute neutrophil count (K/ μ L)	17.5(8.4-27.5)	15.2(6.2-25.3)
Absolute lymphocyte count (K/ μ L)	2.1(0.5-2.5)	2.4 (0.8-2.7)
Neutrophil-lymphocyte ratio	7.74 (2.18-23.5)	6.17 (1.77-24.87)

*Average values (Minimum and maximum values)

Hence, evaluated patients in post-exodontia presented, in general, lower NLR values (Figure I). In addition, patients that improved after exodontia presented, in general, lower NLR values than before the procedure (Figure II).

Figure I - NLR of cats before and after subtotal exodontia

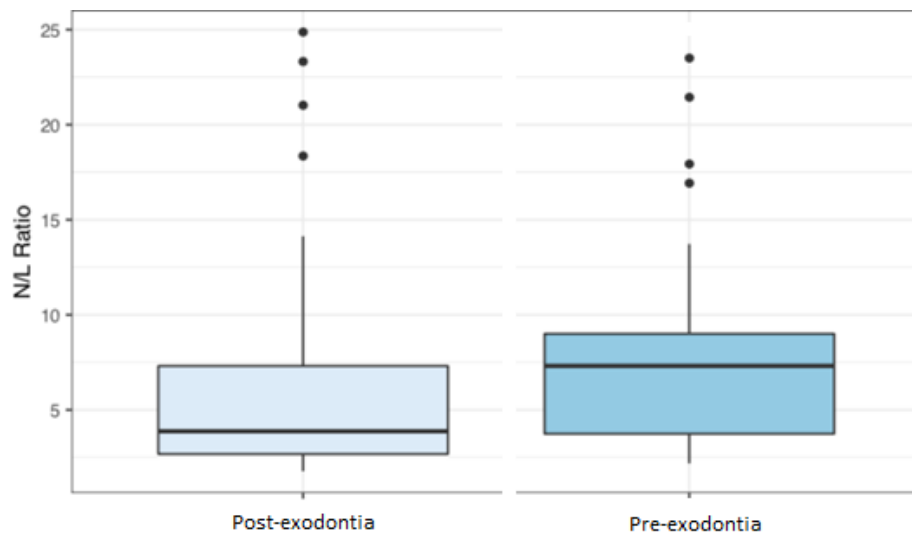
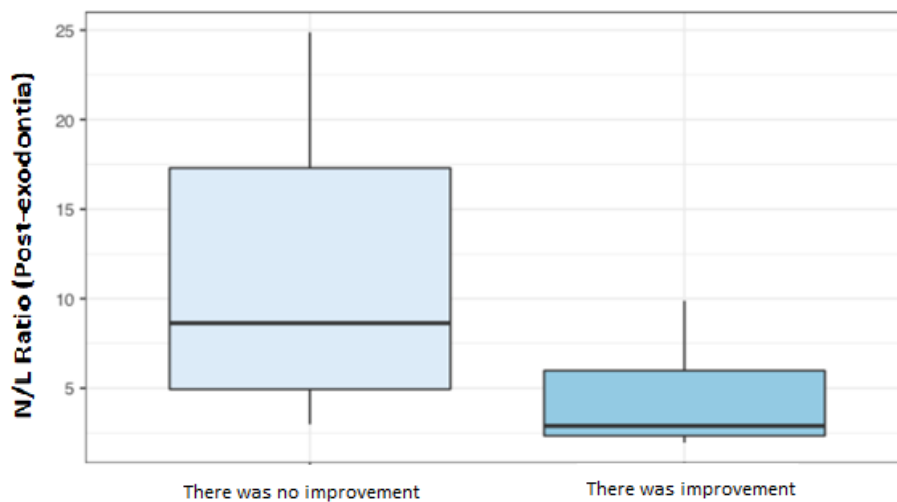


Figure II - NLR of cats after subtotal exodontia in comparison to improvement in clinical score



DISCUSSION

The etiology of FCGS is not fully understood yet, but its association with retroviruses (FIV, FeLV) and Calicivirus was determined previously (LOMMER et al., 2003; QUIMBY et al., 2008). The participation of these viral agents is important for the

perpetuation and aggravation of clinical signs (JHONSTON, 2012). Hence, animals positive for retroviral infections were excluded from this study due to the hematological and immune alterations that these pathogens cause to patients and to the greater resistance of these animals to FCGS (TENORIO et al., 1997).

Although the importance of calicivirus in the pathogeny of FCGS has yet to be determined (KNOWLES et al., 1991), a 70 to 90% relation between these conditions may be observed (HARBOUR et al., 1991). In this study, the diagnosis of caliciviral infection was not possible due to the lack of diagnostic tests.

There is no correlation between FCGS and sex (HEALEY et al., 2007). However, the frequency of males in this study was higher than females. Most of the patients in this study were within the young adult age range (five years). This result differs from consulted studies in which the average age of 8 years was more frequently found (LYON et al., 2005; ROLIM et al., 2017). However, it is known that lesions may appear earlier in young animals, such as two years old, which presents severe progression as the disease turns chronic (PERRY & TUFF, 2015). Concerning breed, undefined breed cats were more common, which corroborates with reports, followed by Siamese breed (JHONSTON, 2012; HENNET et al., 2011). In this case, the greater occurrence of undefined breed cats in the clinical routine may explain this elevated frequency in cases.

The treatment for FCGS is performed with immunosuppressor drugs, such as corticoids and cyclosporine, and also with antibiotics and feline recombinant interferon. Current protocols present variable responses, which are usually palliative and may cause long term side effects (JHONSTON, 2012). In this study, cats under corticoid therapy were excluded due to the immunosuppression caused by these drugs that could alter the score results.

Exodontia is the surgical treatment of choice, especially in severe cases, whose clinical treatment fails to present response (WINER et al., 2016). The subtotal exodontia technique was selected according to Jennings (2015), considering that there is no difference in remission of FCGS when compared to total extraction, which additionally removes incisive and canine teeth.

After exodontia, some cats may reach almost total remission of the inflammation. However, approximately 20 to 30% of patients fail to improve their clinical status (BELLEI et al., 2008; HENNET et al., 1997; JENNINGNS et al., 2015). This data corroborates with our findings, in which 27.65% did not improve clinical status after the procedure and more than 70% benefited from it. The inefficacy of exodontia in some cats with FCGS occurs due to the multifactorial etiology and the different causes that may have prompted the evaluated patients (WINER et al., 2016), generating the necessity for clinical treatment post-surgery.

The decrease in red blood cell count found in some cats is more frequent in the pre-exodontia exam, which may reflect in chronic inflammatory disease anemia with a multifactorial pathogenesis. This situation can usually derive from hematological stress syndrome induced by cytokine liberation in response to cellular lesions caused by infection and inflammation (MEANS, 1995). The decreased occurrence of anemia in patients after exodontia may be related to the reduced inflammatory response. Ottenjann et al. (2006) reinforce that the normocytic/normochromic type anemia was verified with the greater occurrence in cats with chronic inflammatory processes.

In veterinary practice, NLR was used to evaluate antiparasitic treatment for canine babesiosis. In this case, the authors have observed a gradual increase of lymphocyte rate with a concomitant decrease in neutrophil count in patients presented a good response (KUCER et al., 2008). In addition, this ratio was also used to

differentiate soft tissue sarcomas and benign tumors in dogs, aiding in treatment planning (MACFARLANE et al., 2016).

In this study, patients that failed to improve after exodontia presented higher levels of NLR in pre- and post-surgery analyses, which may indicate that this ratio can be used to predict the persistence of severe clinical signs even after the surgical procedure. Rejec et al. (2017) reported that NLR was significantly greater in dogs with oral neoplasms when compared to healthy and periodontal-diseased animals, which may indicate biopsy as a first choice in these patients.

In this study, reduced neutrophil count and NLR after exodontia may be explained by the diminished bacterial antigen stimulation through the mechanic process removing teeth, plaques and affected tissue. The participation of oral bacteria in the etiopathogenesis of FCGS was demonstrated (DOLIESLAGER et al., 2011; DOLIESLAGER et al., 2013). Due to the dissemination of bacterial metabolic products, the systemic effects of periodontal disease may occur by the aggravating of host inflammatory response (LOSS, 2005). On the other hand, on infection focus, circulating neutrophils are recruited to migrate for pathogen removal. These circulating immune cells are crucial for promoting the phagocytosis of microbes, but its products can cause tissue damage. Thus, when the pathogens are removed occurs reduction of the inflammatory response and, consequently, a decrease of neutrophils production by bone marrow and its liberation in the bloodstream (SUMMERS et al., 2010).

CONCLUSION

NLR may be a biomarker to be considered in pre-exodontia and post-exodontia evaluations of FCGS cases. Besides, NLR may be used as a prognostic tool when

deciding the therapeutic strategy and cost-benefit of surgical treatment. However, more studies are necessary with an others parameters for more adequate evaluation, especially with a greater number of patients, the criterion to inclusions in the protocol, and the inclusion of etiological factors, such as retroviruses and calicivirus in FCGS.

DECLARATION OF CONFLICT OF INTERESTS

The authors declare no conflict of interest.

AUTHORS' CONTRIBUTION

The authors contributed equally to the manuscript.

REFERENCES

BELLEI, E. et al. Surgical therapy in chronic feline gingivostomatitis (FCGS). **Veterinary Research Communications**, v.32, p.231–234, 2008. Available from: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s11259-008-9153-8>>. Accessed: Jan. 24, 2020. doi: 10.1007/s11259-008-9153-8.

BHATTI I. et al. Preoperative hematologic markers as independent predictors of prognosis in resected pancreatic ductal adenocarcinoma: neutrophil- lymphocyte versus platelet-lymphocyte ratio. **American Journal of Surgery**, v.2000, p.197-203, 2010. Available from: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20122680/>>. Accessed: Fev. 02, 2020. doi: 10.1016/j.amjsurg.2009.08.041.

CHO S.Y. et al. Mean platelet volume/platelet count ratio in hepatocellular carcinoma. **Platelets**, v.24, p.375-377. Available from: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22835043/>>. Accessed: Dec. 04, 2019. doi: 10.3109/09537104.2012.701028.

DOLIESLAGER, S.M.J. et al. Identification of bacteria associated with feline chronic gingivostomatitis using culture- dependent and cultureindependent methods. *Veterinary Microbiology*. v.148, p.93–98, 2011. Available from: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20828946/>>. Accessed: Fev, 17, 2020. doi: 10.1016/j.vetmic.2010.08.002.

DOLIESLAGER, S.M.J. et al. Novel bacterial phylotypes associated with the healthy feline oral cavity and feline chronic gingivostomatitis. **Research in Veterinary Science**, v.94, p.428–432, 2013. Available from: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23261159/>>. Accessed: Nov. 28, 2019. doi: 10.1016/j.rvsc.2012.11.003.

JENNINGS, M.W. et al. Effect of tooth extraction on stomatitis in cats: 95 cases (2000-2013). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.246, p.654–660, 2015.

Available from: <<https://avmajournals.avma.org/doi/abs/10.2460/javma.246.6.654>>. Accessed: Fev. 05, 2020. doi:10.2460/javma.246.6.654.

JOHNSTON, N. An updated approach to chronic feline gingivitis stomatitis syndrome. **Veterinary Practice**, v.44, p. 34-38, 2012. Available from: <<https://pdfs.semanticscholar.org/c4c7/7e6d82f2c5a1985c2094d9b3c7221f573844.pdf>>. Accessed: Dec. 10, 2019.

HARBOUR, D.A. et al. Isolation of feline calicivirus and feline herpesvirus from domestic cats from 1980 to 1989. **Veterinary Record**, v.128, p.77-80, 1991. Available from: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1850183/>>. Accessed: Jan. 24, 2020. doi: 10.1136/vr.128.4.77.

HARLEY R. et al. Immunohistochemical characterization of oral mucosal lesions in cats with chronic gingivostomatitis. **Journal of Comparative Pathology**. v.144, p.239–250, 2011. Available from: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21084098/>>. Accessed: Jan. 29, 2020. doi: 10.1016/j.jcpa.2010.09.173.

HEALEY, K.A.E. et al. Prevalence of feline chronic gingivostomatitis in first opinion veterinary practice. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v.9, p.373–381, 2007. Available from: <<https://journals.sagepub.com/doi/10.1016/j.jfms.2007.03.003>>. Accessed: Jan. 12, 2020. doi:10.1016/j.jfms.2007.03.00.

HENNET P. Chronic gingivo-stomatitis in cats: long-term follow-up of 30 cases treated by dental extractions. **Journal of Veterinary Dentistry**, v.14, p. 15–21, 1997. Available from: <https://www.researchgate.net/publication/279669440_Chronic_GingivoStomatitis_in_Cats_LongTerm_followup_of_30_cases_Treated_by_Dental_Extractions/link/58fc58600f7e9ba3ba528dcb/download>. Accessed: Jan. 12, 2020. doi: 0.1177/089875649701400103.

HENNET P. Relationship between oral calicivirus and herpesvirus carriage and “palatoglossitis” lesions. In: ANNUAL VETERINARY DENTAL FORUM & WORD VETERINARY DENTAL CONGRESS, IX, 2005, Orlando. **Proceeding**...Orlando: Academy of Veterinary Dentistry, American Veterinary Dental College, American Veterinary Dental Society, 2005. p.503.

HENNET, P.R. et al. Comparative efficacy of a feline recombinant interferon omega in refractory cases of calici positive cats with caudal stomatitis: a randomised, multicentric controlled double blind study of 39 cats. **Journal of feline medicine and surgery**, v.13,

p. 577-587, 2011. Available from: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21802033/>>. Accessed: Jan. 24, 2020. doi: 10.1016/j.jfms.2011.05.012.

KNOWLES, I. et al. Studies on the role of feline calicivirus in chronic stomatitis in cats. **Veterinary Microbiology**, v.27, p.205-219, 1991. Available from: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0378113591901489?via%3Dihub>>. Accessed: Fev. 05, 2020. doi: 10.1016/0378-1135(91)90148-9.

KUCER, N. et al. White blood cell count and neutrophil to lymphocyte ratio in uncomplicated and complicated canine babesiosis caused by *Babesia canis canis*. **Veterinarski arhiv**, v.78, p.321-330, 2008. Available from: <https://scihub.tw/https://www.researchgate.net/publication/228504121_White_blood_cell_count_and_neutrophil_to_lymphocyte_ratio_in_uncomplicated_and_complicated_canine_babesiosis_caused_by_Babesia_canis_canis/link/0912f507da887e5b0b000000/download> Accessed: Dec. 20. 2019.

KWON, H.C. et al. Clinical significance of pre- operative neutrophil to lymphocyte versus platelet-lymphocyte ratio in patients with operable colorectal cancer. **Biomarkers**, v.17, p.216-222, 2012. Available from: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22424597/>>. Accessed: Fev. 16, 2020. doi: 10.3109/1354750X.2012.656705.

LOMMER, M.J.; VERSTRATE, F.J.M. Concurrent oral shedding of feline calicivirus and feline herpesvirus 1 in cats with chronic gingivostomatitis. **Oral Microbiology and Immunology**, v.18, p.131-134. 2003. Available from: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1034/j.1399302X.2003.00033.x?sid=nlm%3Apubmed>>. Accessed: Mar. 09, 2020. doi: 10.1034/j.1399302X.2003.00033.

LOOS, B. G. Systemic markers of inflammation in periodontitis. **Journal of Periodontology**, v.76, p.2106-2115, 2005. Available from: <<https://aap.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1902/jop.2005.76.11-S.2106>>. Accessed: Mar. 15, 2020. doi:10.1902/jop.2005.76.11-s.2106.

LYON, K.F. Gingivostomatitis. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v.35, p.891–911, 2005. Available from: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15979518/>>. Accessed: Nov. 17, 2019. doi: 10.1016/j.cvsm.2005.02.001.

MACFARLENE, L. et al. Diagnostic value of neutrophil–lymphocyte and albumin–globulin ratios in canine soft tissue sarcoma. **Journal of Small Animal Practice**, v. 57, p.135–141, 2016. Available from: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/jsap.12435>>. Accessed: Fev. 15, 2020. doi: 10.1111/jsap.12435.

MEANS, R.T. Pathogenesis of the anemia of chronic disease:A cytokine-mediated anemia. **Stem Cells**, v. 13, p.32–37, 1995. Available from: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7719246/>>. Accessed from: Dec. 09, 2019. doi: 10.1002/stem.5530130105.

OTTENJANN, M. et al. Characterization of the Anemia of Inflammatory Disease in Cats with Abscesses, Pyothorax, or Fat Necrosis. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 20, p.1143-1150. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1939-1676.2006.tb00713.x>. Accessed from: Mar. 22, 2020. doi:[10.1111/j.1939-1676.2006.tb00713.x](https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2006.tb00713.x)

PERRY, R; TUFF, C. Periodontal disease and cats, back to basics- with an eye on the future. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 17, p.45-65, 2015. Available from: <https://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1177/1098612x14560099>. Accessed from: Dec. 09, 2019. doi: 10.1177/1098612X14560099.

POSUL E. et al. Does neutrophil to lymphocyte ratio predict active ulcerative colitis? **Wien Klin Wochenschr**, v.127, p.262-265, 2015. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25576331/>. Accessed: Mar. 22, 2020. doi: 10.1007/s00508-014-0683-5.

QUIMBY, J.M. et al. Evaluation of the association of *Bartonella* species, feline herpesvirus 1, feline calicivirus, feline leukemia virus and feline immunodeficiency virus with chronic feline gingivostomatitis. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v.10, p.66–72, 2008. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17766156/>. Accessed: Mar. 09, 2020. doi: 10.1016/j.jfms.2007.05.007.

REITER, A.M.; SOLTERO-RIVERA, M.M. Applied Feline Oral Anatomy and Tooth Extraction Techniques: An illustrated guide. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v.16, p.900–913, 2014. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25344460/>. Accessed: Mar. 04, 2020. doi: 10.1177/1098612X14552365

REJEC, A. et al. Evaluation of Complete Blood Count Indices (NLR, PLR, MPV/PLT, and PLCRi) in Healthy Dogs, Dogs With Periodontitis, and Dogs With Oropharyngeal Tumors as Potential Biomarkers of Systemic Inflammatory Response. **Journal of Veterinary Dentistry**, v.34, p.231-240, 2017. Available from: <https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0898756417731775>. Accessed: Jan. 29,

2020. doi: 10.1177/0898756417731775.

ROLIM, V.M. et al. Clinical, Pathological, Immunohistochemical and Molecular Characterization of Feline Chronic Gingivostomatitis. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v.19, p.403–409, 2017. Available from: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26858258/>>. Accessed: Fev. 19, 2020. doi: 10.1177/1098612X16628578.

SUMMERS, C. et al. Neutrophil kinetics in health and disease. **Trends in immunology**, v.31, p, 318-324, 2010. Available from: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20620114/>>. Accessed: Dec, 04, 2019. doi: 10.1016/j.it.2010.05.006.

SWAN, M.P.; HICKMAN, D.L. Evaluation of the neutrophil-lymphocyte ratio as a measure of distress in rats. **Laboratory Animals**, v.8, p.276-282, 2014. Available from: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25050728/>>. Accessed: Jan. 17, 2020. doi: 10.1038/labam.529.

TENORIO, A.P. et al. Chronic oral infections of cats and their relationship to persistent oral carriage of feline calici-, immunodeficiency, or leukemia viruses. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.29, p.1–14, 1997. Available from: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/016524279190048H?via%3Dihub>>. Accessed: Fev. 05, 2020. doi: 10.1016/0165-2427(91)90048-H

WINER, J. et al. Therapeutic Management of Feline Chronic Gingivostomatitis: A Systematic Review of the Literature. **Veterinary Science**, v.3, p.1-10, 2016. Available from: <<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fvets.2016.00054/full>>. Accessed: Jan. 24, 2020. doi: [10.3389/fvets.2016.00054](https://doi.org/10.3389/fvets.2016.00054).

YURTDAS M. et al. Neutrophil to lymphocyte ratio may predict subclinical atherosclerosis in patients with psoriasis. **Echocardiograph**, v.31, p.1095-1104, 2015. Available from: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24447343/>>. Accessed: Nov. 30, 2019. doi: 10.1111/echo.12511.

ZAHOREC, R. Ratio of neutrophil to lymphocyte counts - rapid and simple parameter of systemic inflammation and stress in critically ill. **Bratislavske lekarske listy**, v.102, p.5-14, 2001. Available from: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11723675/>>. Accessed: Dec. 13, 2019.

7 CAPÍTULO 2

Serum malondialdehyde concentration correlates positively with clinical and inflammatory severity in cats with inflammatory bowel disease

Submetido ao Journal Feline Medicine and Surgery- AGO/ 2020

Serum malondialdehyde concentration correlates positively with clinical and inflammatory severity in cats with inflammatory bowel disease

Reginaldo P Sousa- Filho¹, Keytyanne O Sampaio², Belise Maria Oliveira Bezerra³, Mariana A Rocha⁴, , Robério G Olinda³, Diana Celia S Pinheiro¹

¹Faculty of Veterinary Medicine, State University of Ceará, Fortaleza - CE, Brazil

² Department of Veterinary Medicine, Federal Rural University of Pernambuco, Recife - PE, Brazil

³ Health Sciences Center, University of Fortaleza, Fortaleza - CE, Brazil

⁴ Veterinary Hospital Jerônimo Dix-Suit Rosado Maia, Federal Rural University of the Semi-Arid, Mossoró – RN, Brazil

Corresponding author:

Reginaldo P Sousa Filho, Msc, Faculty of Veterinary Medicine, State University of Ceará, Av. Dr. Silas Munguba, 1700, Campus Itaperi, Fortaleza – CE, Brazil.

Email: reginaldo.catus@gmail.com

Abstract

Objectives: This study aimed to correlate the malondialdehyde concentration, a lipid peroxidation marker, with the feline chronic enteropathy activity index results and histopathological alterations of cats with inflammatory bowel disease.

Methods: Exploratory celiotomy and biopsy of three fragments of intestinal sites were performed in 16 cats predicted to have inflammatory bowel disease. Samples were submitted for histopathological analysis to assess the severity of inflammatory

infiltrates following recommendations by the World Small Animal Veterinary Association.

Results: Strong correlations between the malondialdehyde concentration and feline chronic enteropathy activity index scores and the severity of inflammatory infiltrates was demonstrated.

Conclusions and relevance: Serum malondialdehyde can be used as an inflammatory marker for inflammatory bowel disease, as its concentration correlates with disease severity. The results also suggest the importance of studying the use of antioxidants in the treatment of these patients.

Keywords: Biopsy; histopathological; intestine; oxidative stress

Introduction

Feline chronic enteropathies are disorders that are characterized by persistent or recurrent gastrointestinal signs. These may include diseases with different aetiologies, such as inflammatory bowel disease (IBD), food-responsive enteropathy, fibre-responsive diarrhoea and antibiotic-responsive enteropathy.¹ Clinical signs vary greatly, and the severity of the disease may differ among cases depending on the type of enteropathy and the location and extension of the affected segments.²

The diagnosis of IBD must be based on clinical signs, laboratory examinations and histopathological analysis after all other known causes of enteritis are excluded. Although IBD may be idiopathic, it is known to be characterized by an immunological imbalance among the intestinal epithelium, microbiota, and adaptive and innate immune cells.³

Histopathological IBD examination should be performed with samples collected via celiotomy followed by incisional and transmural intestinal biopsy, favouring

analysis of all the intestinal walls.^{4,5} The nature of the most common inflammatory infiltrate is lymphoplasmacytic. However, migration of granulomatous cells, such as eosinophils (eosinophilic type) and neutrophils (neutrophilic type), may occur.^{6,7}

Staging IBD is strongly suggested for monitoring therapeutic response.⁷ Staging may be performed with the feline chronic enteropathy activity index (FCEAI), which is based on scores calculated according to the presence and intensity of clinical signs (emesis, activity, weight loss, appetite and diarrhoea), alterations in biochemical markers (serum total protein, alanine aminotransferase, alkaline phosphatase and phosphorus), and endoscopic/histopathological examination.⁸

Chronic diseases such as IBD cause unbalanced homeostasis, which impairs the adequate functioning of the immune system, in addition to inducing the formation of reactive ions and molecules, such as reactive oxygen species (ROS).⁹ One of the most commonly used markers for oxidative stress is the lipid peroxidation, which can be determined by assessing the serum levels of malondialdehyde (MDA) formed by peroxidation of unsaturated fatty acids.¹⁰

MDA has been described as a marker of oxidative stress in canine neoplasia,^{11,12} in cats with feline infectious peritonitis¹³ or chronic kidney disease,¹⁴ and in carriers of feline immunodeficiency virus.¹⁵ Therefore, this study aimed to correlate MDA levels with the FCEAI scores and inflammation severity of cats diagnosed with IBD.

Material and Methods

Animals

A total of 27 cats with a clinical diagnosis of IBD were used in this study. These patients underwent biopsy at a specialized veterinary clinic according to the following criteria: absence of simultaneous renal, endocrine or gastrointestinal diseases

(determined through the evaluation of creatinine, blood glucose, fructosamine and total T4 levels); presence of persistent gastrointestinal signs (minimum of 30 days); and unresponsive to clinical treatment with hypoallergenic feed (based on hydrolysed protein levels) for 30 days and metronidazole (25 mg/kg, q12h) for 10 days. Cats with concurrent neoplasia, pancreatitis or cholangitis diagnosed by histopathological examination were also excluded from the study. All of the patients were tested for feline immunodeficiency virus (FIV) and feline leukaemia virus (FeLV) through immunochromatography (Snap FIV/FeLV Combo Idexx Diagnostics), and positive cases were removed from the study.

Feline chronic enteropathy activity index

The feline chronic enteropathy activity index (FCEAI) values of the cats were used to categorize them as described by Jergens et al.⁸ Scores were calculated according to the severity of clinical signs (activities, emesis, diarrhoea, appetite and weight loss) and biochemical serum values for alanine aminotransferase (ALT), alkaline phosphatase (AP), phosphorus and total protein (TP).

Histopathological analysis

Biopsy was performed via exploratory celiotomy with collection of a minimum of three fragments, including all of the intestinal layers from segments of the duodenum, ileum and colon. In addition, liver and pancreas samples were also collected to exclude pancreatitis and cholangitis. The samples were fixed in buffered formalin at 10% for 24 h and then were submitted to dehydration in increasing concentrations of ethanol before diaphanization. Then, transverse 5- μ m sections were cut and stained by haematoxylin-eosin (HE). The gloves were analysed with an optical microscope for two pathologists. Intestinal inflammation was defined using the histopathological guidelines of the World Small Animal Veterinary Association² to assess specific parameters, such as mucosal

atrophy, severity of the inflammatory infiltrate, fibrosis, lymphangiectasia and crypt distortion. Scores were used to quantify lesions (0-3) for every alteration, in which the most severe received a score of 3 (three) and unaltered samples received a score of 0 (zero).

Measurement of lipid peroxidation

MDA was used as a biomarker (8-channel ELISA microplate reader, Biochrom; New analytical import and export Ltda). Hence, a 1.2% sodium thiobarbiturate solution was used according to the methodology proposed by Draper and Hadley.¹⁶ Aliquots of serum (250 μ L) from the cats (blood was collected on the day of the biopsy procedure) were incubated in a water bath at 37°C for 1 h with 400 μ L of perchloric acid at 35% for protein precipitation. Then, the mixture was centrifuged at 14000 g for 10 min, and 600 μ L of supernatant was added to 200 μ L of a 1.2% sodium thiobarbiturate solution (TBARS). The mixture was maintained in a water bath at 95°C for 30 min. After cooling, concentrations were evaluated with a spectrophotometer at an absorbance of 532 nm. The obtained results are presented as nmol/mL of serum.

Statistical analysis

Data were transferred to an Excel 5.0 spreadsheet and analysed statistically using the nonparametric Spearman correlation coefficient test, between FCEAI values, inflammatory infiltrate severity (IIS) scores, fibrosis scores (FSs) and serum MDA levels. Differences between experimental groups were considered significant when $p < 0.05$.

Results

Cats (n=28) with signs of chronic enteritis evaluated for inclusion in the study, the following were excluded: two animals (n=2) with a hyperthyroidism diagnosis, two

with alimentary lymphomas (n=2), two that were FIV positive (n=2), and six (n=6) with associated pancreatitis or cholangitis. Among the remaining cats (n=16), ten were male (62.5%), and six were female (37.5%). Animals of different ages were affected. Two animals (12.5%) were younger than 18 months, eleven cats (68.75%) were between two and six years, and three (18.75%) were older than 10 years. Most of the cats were Persian (50%), followed by mixed breeds (31.25%), Siamese (12.5%) and British Shorthair (6.25%).

The most frequent clinical signs were weight loss, inappetence and emesis, which were identified in 14 cats (87.5%). Polyphagia was verified in one animal (6.5%), and diarrhoea was verified in three (18.75%). Signs related to the large intestine, such as tenesmus and haematochezia, were observed in two cases (12.5%).

The sites in which histopathological lesions were observed varied among the animals. One cat (6.25%) presented alterations only in the duodenum, five individuals (31.25%) presented alterations strictly in the ileum, eight cats (63.00%) had lesions in the duodenum and ileum, and two cats (12.5%) had lesions only in the colon.

In all of the evaluated animals, lymphoplasmacytic infiltrates were predominant. The distribution and severity of inflammatory lesions observed by histopathological examination are detailed in Table 1. The average score of inflammatory infiltrates was 2.25. Five cats (31.25%) were scored as a 3; 10 cats (62.5%) were scored as a 2, and one cat (6.25%) was scored as a 1. Fibrosis was observed in 10 animals (62.5%), followed by lymphangiectasia in nine cats (56.25%), crypt distortion in nine cats (56.25%), and mucosal atrophy in six cats (37.5%).

Table. 1 - Scores of histopathological parameters in intestinal samples from cats diagnosed with inflammatory bowel disease (IBD)

Animal	Mucosal atrophy	Inflammatory infiltrate	Fibrosis	Lymphan -giectasia	Crypt distortion
1	0	2	0	0	1
2	1	1	2	0	2
3	0	2	0	2	0
4	0	3	0	0	1
5	2	3	1	1	0
6	0	2	0	0	0
7	1	3	2	1	1
8	0	2	2	2	2
9	1	2	2	3	2
10	0	2	2	0	2
11	0	2	1	1	0
12	0	3	2	2	2
13	2	2	2	0	0
14	2	3	2	2	2
15	0	2	0	0	0
16	0	2	0	1	0

0 = absent; 1 = discrete; 2 = moderate; 3 = intense

Values obtained for the FCEAI and severity of inflammatory alterations are presented in Table 2, as is the serum MDA level for each animal.

Table. 1 - FCEAI values, inflammatory infiltrate severity (IIS) scores, fibrosis scores (FSs) and serum MDA levels of cats diagnosed with IBD

Animal	FCEAI	IIS	FS	MDA (nmol/mL)
1	6	2	0	2.00279937
2	3	1	2	2.21741835
3	3	2	0	2.11166407
4	8	3	0	2.40715396
5	10	3	1	2.66531881
6	4	2	0	2.05878693
7	10	3	2	2.50357698
8	9	2	2	2.42270606
9	6	2	2	1.83483670
10	6	2	2	2.19253499
11	8	2	1	2.23297045
12	12	3	2	2.52379471
13	6	2	2	2.25940902
14	8	3	2	2.47091757
15	2	2	1	1.90171073
16	7	2	0	2.20808709

Feline chronic enteropathy activity index (FCEAI); Malondialdehyde (MDA);
Inflammatory infiltrate severity (IIS); Fibrosis score (FS)

As determined by statistical analysis, the fibrosis score had no considerable correlation with the FCEAI (CCS = 0.275035, $p = 0.302600$) or MDA level (CCS = 0.354356, $p = 0.178100$). However, there were strong correlations between the FCEAI and MDA concentration (CCS = 0.837857, $p = 0.000051$) and between the inflammatory infiltrate severity and MDA concentration (CCS = 0.694621, $p = 0.002825$) or FCEAI (CCS = 0.756140, $p = 0.000701$).

Discussion

Most of the animals in this study were males. However, no correlation between sex and disease has been reported.⁷ The age of patients corroborates reports by other authors that can vary from young adults and elders.¹⁷

No genetic predisposition for IBD has been shown yet. Nevertheless, most of the cats affected were Persian and presented clinical signs relatively early, before two years of age, which was observed in two cases. The tendencies for Asian breeds to be more affected by this disease and Persian breeds to develop signs earlier have been reported previously.¹⁸

The clinical signs of IBD usually depend on the intestinal segments that are affected.¹ Tenesmus and haematochezia are clinical signs compatible with large intestine-related conditions, which were confirmed by the histopathological alterations in colon fragments of the cats in this study. Most frequent clinical signs, such as weight loss, inappetence and emesis, were verified in cats with histopathological alterations in the duodenum or ileum or in both of these intestinal segments.

The relations between clinical signs and the affected inflammatory site corroborate previously reported data.² Diarrhoea was reported in only three cats. Hence,

it was not the most common clinical sign of IBD, which agreed with some studies.^{7,19} Other chronic enteropathies may cause emesis, chronic diarrhoea and histopathological alterations. Therefore, antiparasitic treatment and therapeutic diets are indicated before biopsy is attempted.⁴ In this experiment, inclusion criteria were used according to the report by Kleinschmidt et al.⁵, such as unresponsiveness to treatment with hypoallergenic diet and metronidazole and absence of other chronic enteropathies. Comorbidities such as pancreatitis and cholangitis are commonly found in cats with IBD, which may characterize feline triaditis that usually causes damage that increases the severity of inflammatory and clinical statuses.²⁰ Hence, this justified the exclusion of cats with extraintestinal alterations from the study.

Determining FCEAI scores in cats with IBD may aid in assessing the severity of the disease, selecting a treatment regimen and estimating prognosis. Therefore, parameters should be established and evaluated routinely during patient follow-up.⁷ In this study, the average FCEAI score was 6.75, which may be considered low since the maximum score is 20.⁸ However, FCEAI scores presented a positive correlation with the severity of the inflammatory infiltrate (IBD). A study performed by Janeczko et al.⁶ showed positive correlations between gastrointestinal signs and morphological alterations in the intestinal epithelium, villous fusion and atrophy in cats with IBD, corroborating our results. Nonetheless, Garcia-Sancho et al.²¹ did not observe associations between the severity of diagnostic histological alterations and clinical and laboratory findings in dogs with chronic enteropathies.

Performing biopsy of several intestinal segments is important to improve diagnosis, as different sites may have varied levels of inflammation.² Some inflammatory processes may occur only in ileal segments⁴, which was verified in 31.25% (5) of the cats in this study. This information also contributes to reinforcing the

indication for biopsy through celiotomy, considering that the endoscopic technique does not provide access to all intestinal segments.²²

Histopathological examination provides information on the type and intensity of the inflammatory infiltrate that aids in determining adequate treatment.¹ The lymphoplasmacytic infiltrate is the most common type of immune infiltrate in IBD² and was observed in this study. This cellular pattern could be associated with infection by intestinal parasites, alimentary hypersensitivity and hyperthyroidism.⁷ In addition, cats with no clinical signs of intestinal disease have similar numbers of lymphocytes and plasma cells in intestinal infiltrates.²³ However, other causes of lymphoplasmacytic infiltration were excluded in this study.

The immune response of the host against bacteria may play a central role in the pathogenesis of chronic inflammation in the mucosa.²⁴ As IBD impairs immunoregulation, the numbers of T cells and specific antibody-secreting plasma cells increase in inflamed tissues, composing and maintaining the lymphoplasmacytic infiltrate.²³

Fibrosis, mucosal atrophy and crypt distortion are related to relatively severe inflammation.⁸ Nevertheless, there were no positive correlations between the degree of fibrosis and the severity of inflammation, FCEAI scores or MDA levels. This may be explained by the characteristics of lesions, which may be post-inflammatory and suggestive of a chronic tissue response. Changes in the intestinal mucosa have been reported even with a mild or absent cellular infiltrate, which were associated with previous inflammatory episodes and possibly continuous inflammation in other parts of the gastrointestinal tract.¹ Since only one fragment of tissue per intestinal segment was collected, the potential presence of inflammation-related alterations in other intestinal

segments could not be discarded, as this unobserved inflammation would cause more marked changes in the tissue structure. Therefore, this is a limitation of this study.

MDA, a final product of the oxidation of polyunsaturated fatty acids, is a common and reliable marker of general lipid peroxidation and oxidative stress.²⁵ Oxidative stress may occur due to an imbalance between free radical production and the availability of antioxidant molecules.²⁶ The increase in the serum MDA level in cats was associated with elevated FCEAI scores, and inflammatory infiltrate severity (IIS) may be related to the increase in ROS production that results from increased lipid peroxidation in response to tissue damage. Yu and Paetau-Robinson¹⁴ found increased levels of MDA in cats with chronic kidney disease. Therefore, analysis of serum creatinine was important to exclude patients with that condition.

Treatment with antioxidants was administered in FIV-positive cats and produced a satisfactory response,¹⁵ but produced unsatisfactory results in cats with chronic kidney disease.¹⁴ Although outside of the scope of this study, it is important to note that supplementation with antioxidants may be beneficial in patients with IBD. Nonetheless, clinical screenings with satisfactory tests and placebo animals are necessary to confirm this hypothesis.

Conclusions

Malondialdehyde (MDA) is strongly correlated with the feline chronic enteropathy activity index (FCEAI) and the severity of inflammation in feline inflammatory bowel disease. Therefore, measuring the serum MDA concentration is a useful tool in assessing the severity of IBD. New studies should be performed with an increased number of animals and evaluate correlations of these results with the use of antioxidants in the treatment of this disease.

Conflict of interest: The authors declared no potential conflicts of interest with respect to the research, authorship, and/or publication of this article.

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

Ethical Approval: This study was approved by the Committee for Ethics in Research using Animals (CEUA-UECE, protocol 6086326/2018).

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

References

1. Marsilio S and Steiner J. **Feline chronic enteropathies.** *Eur J Com Anim Pract* 2015; 25: 78-93.
2. Washabau RJ, Day MJ, Willard MD, et al. **ACVIM Consensus Statement: Endoscopic, biopsy, and histopathologic guidelines for the evaluation of gastrointestinal inflammation in companion animals.** *J Vet Intern Med* 2009; 24: 10–26.
3. Abraham C and Cho JH. **Inflammatory bowel disease-mechanisms of disease.** *N Engl J Med* 2009; 361: 2066-2078.
4. Day MJ, Bilzer T, Mansell J, et al. **Histopathological standards for the diagnosis of gastrointestinal inflammation in endoscopic biopsy samples from the dog and cat:**

a report from the World Small Animal Veterinary Association Gastrointestinal Standardization Group. *J Comp Pathol* 2008; 138: 1–43.

5. Kleinschmidt S, Harder J, Nolte I, et al. **Chronic inflammatory and non-inflammatory diseases of the gastrointestinal tract in cats: diagnostic advantages of full-thickness intestinal and extraintestinal biopsies. *J Feline Med Surg* 2010; 12: 97-103.**

6. Janeczko S, Atwater D, Bogel E, et al. **The relationship of mucosal bacteria to duodenal histopathology, cytokine mRNA, and clinical disease activity in cats with inflammatory bowel disease. *Vet Microbiol* 2008; 128:178-193.**

7. Jergens AE. **Feline idiopathic inflammatory bowel disease: What we know and what remains to be unraveled. *J Feline Med Surg* 2012; 14: 445–458.**

8. Jergens AE, Crandell JM, Evans R, et al. **A clinical index for disease activity in cats with chronic enteropathies. *J Vet Intern Med* 2010; 24: 1027- 1033.**

9. Koch RE, Hill GE. **An assessment of techniques to manipulate oxidative stress in animals. *Funct Ecol* 2017; 3:9–21.**

10. Jareno EJ, Bosch-Morell F, Fernandez-Delgado R, et al. **Serum malondialdehyde in HIV-seropositive children negatively correlates with CD4+ lymphocyte count. *Biofactors* 1998; 8: 129–132.**

11. Macotpet A, Suksawat F, Sukon P, et al. **Oxidative stress in cancer-bearing dogs assessed by measuring serum malondialdehyde. *BMC Vet Res* 2013; 9:1–6.**

12. Machado VS, Crivellenti LZ, Bottari NB, et al. **Oxidative stress and inflammatory response biomarkers in dogs with mammary carcinoma. *Pathol Res Pract* 2015; 211: 677–681.**

13. Kayar A, Dokuzeylul B, Kandemir FM, et al. **Dietary supplements of vitamins E and C and β -carotene reduce oxidative stress in cats with renal insufficiency.** *Vet Res Commun* 2006; 30: 403–413.
14. Yu S and Paetau-Robinson I. **Dietary supplements of vitamins E and C and β -carotene reduce oxidative stress in cats with renal Insufficiency.** *Vet Res Commun* 2006; 30: 403–413.
15. Webb CB, Lehman TL, McCord KW. **Effects of an oral superoxide dismutase enzyme supplementation on indices of oxidative stress, proviral load, and CD4:CD8 ratios in asymptomatic FIV-infected cats.** *J Feline Med Surg* 2008; 10: 423–430.
16. Draper HH and Hadley M. **Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation.** *Method Enzymol* 1990; 186:421-431.
17. Norsworthy GD, Scot EJ, Kiupel M, et al. **Diagnosis of chronic small bowel disease in cats: 100 cases (2008-2012).** *J Am Vet Med Assoc* 2013; 243: 1455-1461.
18. Guilford WG. **Idiopathic inflammatory bowel diseases.** In: Guilford WG *Strombeck's small animal gastroenterology*. 3th ed. Philadelphia: Saunders, 1996, pp 451–486.
19. Silva C, Cunha S, Souza H, et al. **Clinical, ultrasonographic and histopathological findings of gastrointestinal disorders in cats.** *Act Sci Vet* 2018; 46: 1-6.
20. Fragkou F, Adamama-Moraitou K, Poutahidis T, et al. **Prevalence and clinicopathological features of triaditis in a prospective case series of symptomatic and asymptomatic cats.** *J Vet Intern Med* 2016; 30: 1031-1045.

21. Garcia-Sancho M, Rodriguez-Franco F, Sainz A, et al. **Evaluation of clinical, macroscopic, and histopathologic response to treatment in nonhypoproteinemic dogs with lympho-plasmacytic enteritis.** *J Vet Intern Med* 2007; 21: 11–17.
22. Trepanier L. **Idiopathic inflammatory bowel disease in cats: rational treatment selection.** *J Feline Med Surg* 2009; 11; 32–38.
23. Waly NE, Stokes CR, Gruffydd Jones TJ et al. **Immune cell populations in the duodenal mucosa of cats with inflammatory bowel disease.** *J Vet Intern Med* 2004; 18: 816–825.
24. Xavier RJ and Podolsky DK. **Unraveling the pathogenesis of inflammatory bowel disease.** *Nature* 2007; 448: 427-434.
25. Grotto D, Santa Maria L, Valentini J, et al. **Importance of the lipid peroxidation biomarkers and methodological aspects for malondialdehyde quantification.** *Quim Nova* 2009; 32: 169–174.
26. Halliwell B. **Antioxidant defense mechanisms: from the beginning to the end of the beginning.** *Free Radic Res* 1999; 31: 261–272.

8 CAPÍTULO 3

Immunohistochemical and Histopathology in the Diagnosis of Feline Gastrointestinal
Eosinophilic Sclerosing Fibroplasia

Submetido a Acta Scientiae Veterinariae- AGO/2020

**Immunohistochemical and Histopathology in the Diagnosis of Feline
Gastrointestinal Eosinophilic Sclerosing Fibroplasia - CASE REPORT**

Reginaldo Pereira de Sousa Filho¹; Keytyanne de Oliveira Sampaio²; Taiani Torquato
Diógenes³; Mariana Araújo Rocha⁴; Diana Célia Sousa Nunes-Pinheiro¹

¹Universidade Estadual do Ceará (UECE), Faculdade de Medicina Veterinária,
Fortaleza – CE, Brazil

²Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Faculdade de Medicina
Veterinária, Recife – PE, Brasil

³Equalis, Programa de Pós-Graduação, Natal – RN, Brazil

⁴Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Hospital Veterinário Jerônimo Dix-Suit
Rosado Maia, Mossoró - RN, Brazil

CORRESPONDENCE: R.P.S. FILHO [reginaldo.catus@gmail.com ;
mariana4981@hotmail.com] Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Estadual
do Ceará (UECE). Av. Dr. Silas Munguba, 1700, Campus Itaperi. CEP 60.740-903
Fortaleza, CE, Brazil.

ABSTRACT

Background: Feline Gastrointestinal Eosinophilic Sclerosing Fibroplasia (FGESF) is an idiopathic disease with clinical signs, ultrasound and histopathological alterations that are similar to feline intestinal neoplasms, such as sclerosing intestinal mast cells tumors. We aimed to report the use of immunohistochemistry in a case with histopathological diagnosis suggestive of FGESF.

Case: A cat was admitted with a history of frequent vomiting. Abdominal discomfort was observed at the palpation of epigastric region. Hematological alterations revealed leukocytosis associated with neutrophilia and eosinophilia. Biochemical results were within normal standards with the exception of gamma-glutamyl transferase (GGT), which was elevated. FPLI result was reactive. Ultrasound examination revealed that gastric, pylorus and duodenal walls were thickened. Hence, exploratory celiotomy was recommended to biopsy altered intestinal regions. During this procedure, thickened walls and hyperemia were found in the pylorus, proximal duodenum, pancreas, and peripancreatic mesentery. Tissue fragments were collected and submitted to histopathological evaluation. In samples of intestinal tissue evaluated by hematoxylin and eosin, vast areas of deep ulceration outlined by fibrinocellular membrane that extended to the submucosa were observed with foci of transmural fibroplasia among muscle fibers. So with the diagnoses of FGESF or feline intestinal sclerosing mast cell tumor were suggested. In immunohistochemical evaluation the biomarker alpha-smooth muscle actin was detected in intestinal samples. The diagnosis of FGESF was concluded, and prednisolone was used as treatment protocol. After 15 days of treatment, the patient presented new episodes of vomiting with acute hematemesis and was admitted to a veterinary emergency in shock state followed by death.

Discussion: Eosinophilia is a common alteration in animals with FGESF. There are evidences that some cats have inherited eosinophilic deregulation, which may cause inadequate eosinophilic inflammatory responses to a variety of stimuli, such as fungi and bacteria. This type of inflammation may also occur in response to the introduction of antigens within the intestinal walls through perforation by foreign bodies or ulcerations. High serum levels of GGT have not been reported in other cases described in the scientific literature. The likely cause for this alteration was the associated

pancreatic inflammatory process, which was confirmed in FPLI test. Clinical treatment with prednisolone is recommended in association with surgical intervention. The use of corticosteroid therapy aims in inhibiting the production of inflammatory mediators from arachidonic acid, such as leukotriene D4. Surgical removal of lesions is recommended for treatment. However, extirpating the region involving pylorus and proximal duodenum is technically difficult. The presence of choledochus and the outlet of the pancreatic duct in the primary portion of duodenum implicates an unfavorable prognosis. Thus, pylorotomy/enterectomy was not performed in this case. Intestinal wall alterations observed in the ultrasound exam, such as thickening and loss of parietal stratification, are not pathognomonic of FGESF, and may be observed in intestinal neoplasms. Histopathological alterations were similar to previous reports. The intense infiltration of mast cells in lesions may suggest a neoplasm, as the sclerosing mast cell tumor. There was no positive reaction for Ki67, which discards the possibility of neoplasia. FGESF is an option in the differential diagnosis of infiltrative enteropathies in felines since the clinical signs and changes in the ultrasonography and histopathology are similar to tumors. Immunohistochemistry is essential to arrive at the definitive diagnosis.

Keywords: cat, eosinophilia, histopathology, immunohistochemistry, intestinal mast cells tumors

INTRODUCTION

Feline Gastrointestinal Eosinophilic Sclerosing Fibroplasia (FGESF) is considered an idiopathic condition, nonetheless, the presence of bacteria [1], fungi [2], and nematodes [3] inside lesions were reported in some cases, in which the respective

primary causes were not determined. In most situations, there is not an association with infectious agents, and a hereditary trait has been suggested [4].

This disease may affect intestinal segments and it is more common in pylorus, mesenteric lymph nodes and ileocecal valve [4]. However, it has been diagnosed affecting only mesentery [5], forming extraintestinal retroperitoneal masses [6] and presumably infiltrating the bladder [7]. Most reported clinical signs are weight loss, lethargy and diarrhea, which may affect cats of any age without association with sex or breed. No correlation with feline coronavirus (FCoV) or herpesvirus (FHV-1) has been verified [8].

Clinical and histopathological characteristics of FGESF are similar to those of neoplasms, such as osteosarcoma or mastocytoma, in presenting trabecular alterations with intense deposition of collagen, enlarged fibroblasts and inflammatory infiltrates composed by eosinophils and mastocytes [8,9].

Considering the nonspecificity of clinical signs and alterations in exams, histopathological investigation is essential in the diagnosis. Hence, this study aimed to report a FGESF case in which immunohistochemistry aided in concluding a definitive diagnosis.

CASE REPORT

In a specialized veterinary clinic, a male cat, Persian breed, aged 1 year and 4 months was admitted with a history of frequent vomiting, hyporexia and progressive weight loss. During physical exam, abdominal discomfort was observed at the palpation of the epigastric region and dehydration was estimated in 7%. Hemogram and biochemical analyses were requested, such as alanine aminotransferase (ALT), gamma-glutamyl transferase (GGT), alkaline phosphatase (AP), urea, creatinine, albumin, total concentration and fractions of bilirubin, phosphorus, sodium and potassium. In addition,

Feline Pancreas-specific Lipase (FPLI, Idexx laboratories) test and abdominal ultrasound exam were performed. The patient was negative for feline retroviral infections (ELISA assay).

Hematological alterations revealed leukocytosis ($22,000 \text{ cells/mm}^3$) associated with neutrophilia ($17,000 \text{ cells/mm}^3$) and eosinophilia ($2,000 \text{ cells/mm}^3$). Biochemical results were within normal standards with the exception of GGT, which was elevated (12 U/L). FPLI result was reactive. Ultrasound examination revealed that gastric walls were thickened, and adjacent tissue had increased echogenicity. Gastroduodenal lymph node was enlarged (Figure 1) and intestinal walls of pylorus and proximal duodenum had increased width. In addition, pancreas was thickened and hypoechoic with a dilated pancreatic duct.

Considering the exam results and the clinical status, fluid therapy was administered with lactated Ringer's solution, IV, and medication protocol was initiated with maropitant citrate (1mg/kg, SID, IV, for 3 days), methadone (0.3mg/kg BID, SC, for 3 days), meloxicam (0.05mg/kg SID, SC, for 3 days) and ceftriaxone (30mg/kg BID, IV, for 3 days). A positive clinical evolution was observed and the patient was discharged with prescription of famotidine (1mg/kg SID, VO, for 15 days), amoxicillin with clavulanic acid (15mg/kg BID, VO, for 15 days) and tramadol hydrochloride (2mg/kg BID, VO, for 3 days).

After seven days, the patient returned with new episodes of vomiting and anorexia. Laboratory tests were performed again and increased GGT (9 U/L) was observed. In addition, eosinophilia was greater than the previous results ($2,300 \text{ cells/mm}^3$) with no signs of leukocytosis or neutrophilia. The new abdominal ultrasound did not reveal any improvement.

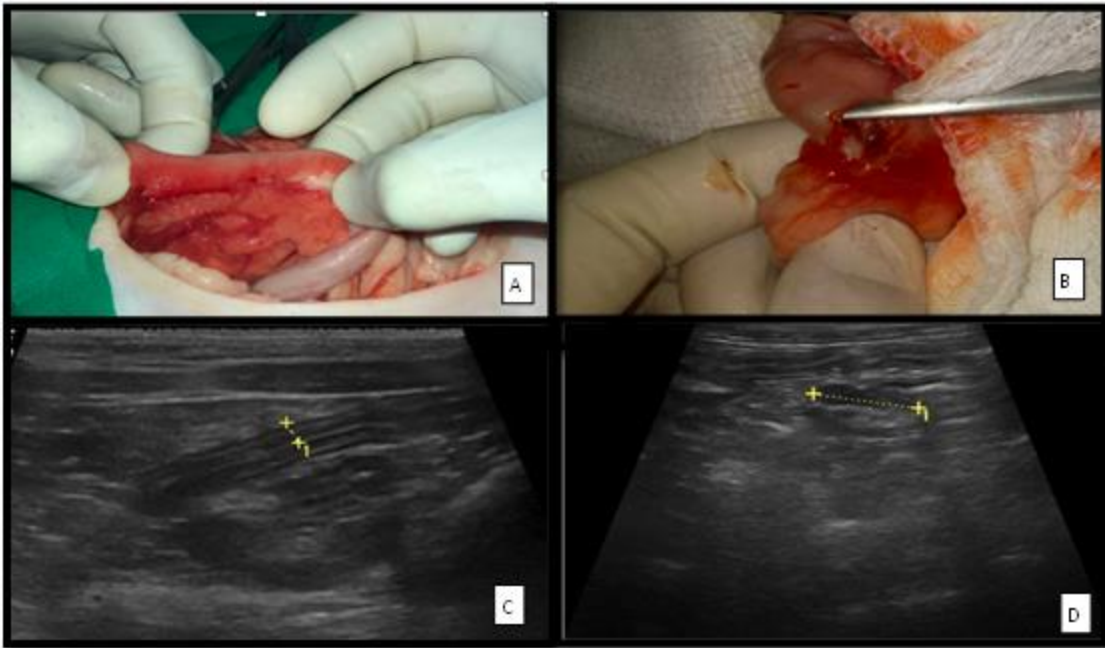


Figure. 1 - Celiotomy and abdominal ultrasound images of cat with FGESF: A) Severe hyperemia of proximal duodenal segment, pancreas and peripancreatic region. B) Incisional biopsy of proximal duodenum with visualization of thickened walls. C) Thickened walls of proximal duodenum (crosses). D) Enlarged gastroduodenal lymph node (crosses).

Hence, exploratory celiotomy was recommended to biopsy altered intestinal regions. During this procedure, thickened walls and hyperemia were found in pylorus, proximal duodenum, pancreas, and peripancreatic mesentery (Figure 1). Fragments from duodenum, lymph node and pancreas were collected and submitted to histopathological evaluation.

For histopathological evaluation, three staining methods were used: hematoxylin and eosin, Masson's trichrome (MT) and periodic acid-Schiff (PAS). In samples of intestinal tissue evaluated by H&E, vast areas of deep ulceration outlined by fibrinocellular membrane that extended to the submucosa were observed with foci of transmural fibroplasia among muscle fibers. The epithelial border presented trabeculae

of acidophilic hyalinized stroma intertwined with moderate distribution of granular round cells. The lamina propria was moderately infiltrated by eosinophils, mastocytes, plasma cells and lymphocytes (Figure 2).

In fragments of pancreas and lymph node, a moderate multifocal lymphocytic infiltrate was observed (Figure 2). In MT, intense collagen trabeculation was verified and no presence of infectious agents was observed with PAS. Considering the histopathological findings, diagnoses of feline gastrointestinal eosinophilic sclerosing fibroplasia or feline intestinal sclerosing mast cell tumor were suggested. Hence, immunohistochemical evaluation of lymph node and intestine was performed.

For immunohistochemical evaluation the biomarkers CD3¹ (polyclonal clone), CD20² (polyclonal clone), Ki67 (MIB-1)¹, alpha-smooth muscle actin (1A4)¹, CDX2 (DAK-CDX2)¹, CKpan (AE1AE3)¹ and desmin (D33)¹ were used. Results indicated reactive follicular lymphoid hyperplasia (CD3⁺) in tissue samples from lymph node and only alpha-smooth muscle actin was detected in intestinal samples (Figure 2).

After the diagnosis of fibroplasia was concluded, treatment protocol with prednisolone 2mg/kg SID, for 30 days, famotidine 1mg/kg SID, for 30 days and omeprazole 1mg/kg, SID, for 30 days was established. However, after 15 days of treatment the patient presented new episodes of vomiting with acute hematemesis and was admitted in a veterinary emergency with shock followed by death.

DISCUSSION

Sclerosing fibroplasia is more common amongst patients with average age of 8 years [4]. However, the condition occurred precociously in this case and in one report [2]. Clinical signs are often unspecific with only the occurrence of vomiting [8].

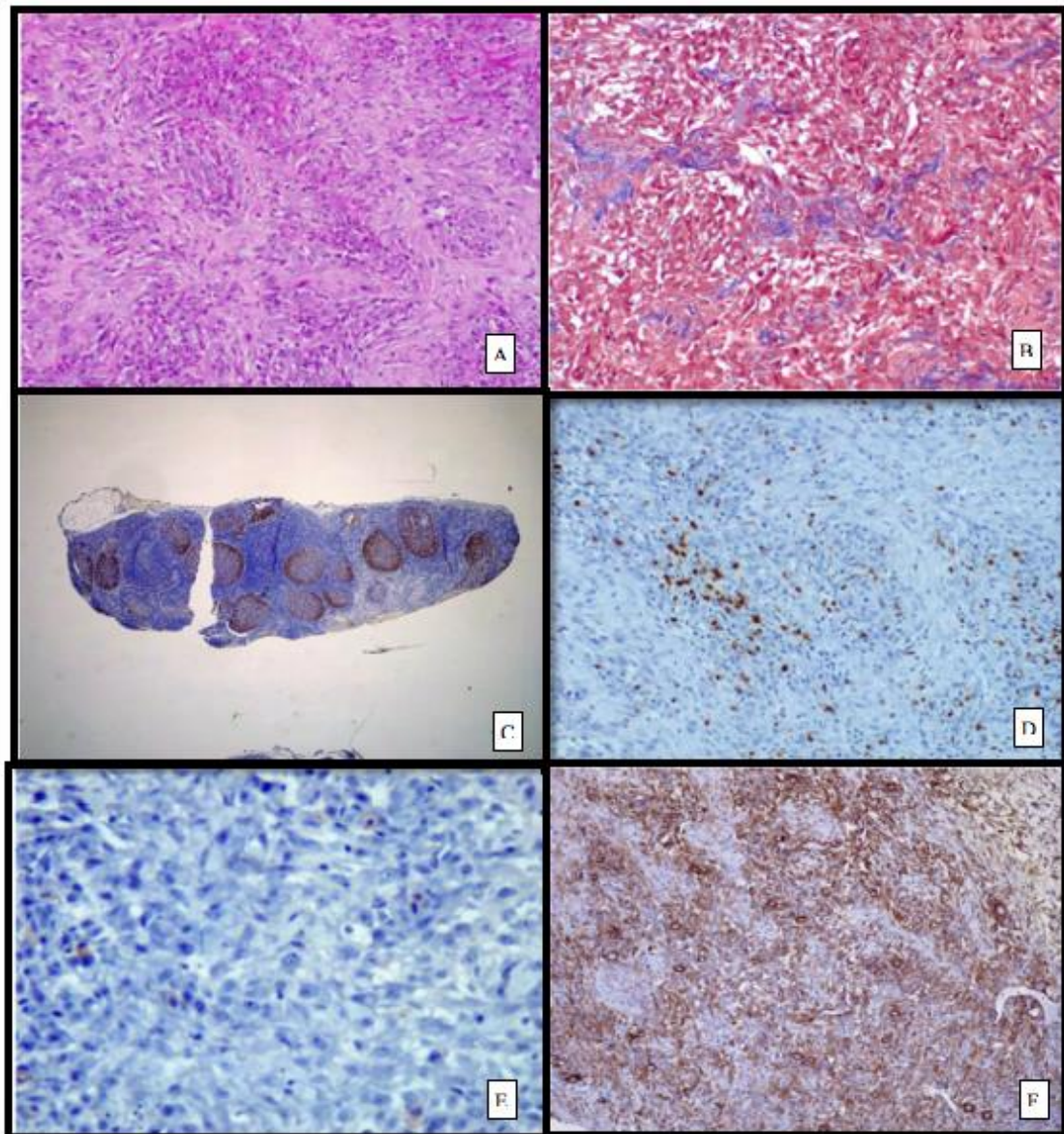


Figure. 2 - Feline gastrointestinal eosinophilic sclerosing fibroplasia. A) H&E-stained intestinal section; characteristic network of coarse collagen trabeculae (staining pink) throughout the lesion, 200 x. B) MT-stained intestinal section revealed that the foci were composed of thin trabeculae of dense collagen fibres, sclerosing components were collagen, which were stained blue. 200x. C) Lymph node, follicular lymphoid hyperplasia (FLH). Immunohistochemical detection for Ki67 with polarized cell proliferation pattern in the germinal center; 25x. D) Immunohistochemical detection for CD3 Lymphoid cells are sparsely, 200x. E) Immunohistochemistry negative for CDX2.

F) Immunohistochemical detection for Spindle-shaped cells diffusely positive for actin (smooth muscle); 200x. Immunohistochemistry; chromogen: 3,3'-diaminobenzidine, hematoxylin counterstain.

Eosinophilia is a common alteration in animals with FGESF [10]. The reason for this response has not yet been determined. On the other hand, there are evidences that some cats have inherited eosinophilic deregulation, which may cause inadequate eosinophilic inflammatory responses to a variety of stimuli, such as fungi and bacteria [2]. This type of inflammation may also occur in response to the introduction of antigens within the intestinal walls through perforation by foreign bodies or ulcerations [4].

Intestinal areas with intense friction, such as pylorus and ileocecal valve, are more predisposed to FGESF due to penetration of antigens like fur and bacteria within the intestinal mucosa [4]. Considering that, the animal in this report was longhaired and the licking habit of cats, it is likely that fur ingestion was a determining factor in the case.

High serum levels of GGT have not been reported in other cases described in the scientific literature, even in those animals with hepatic impairment [10]. The likely cause for this alteration was the associated pancreatic inflammatory process, which was confirmed in histopathological evaluation and FPLI test [11].

Pancreatitis-associated FGESF was not described previously. Nonetheless, the anatomy of the duodenal papilla region with correspondent outlets of choledochus and pancreatic duct may predispose to concurrent intestinal, hepatic and pancreatic inflammation processes in cats [12]. In this case, the inflammatory infiltration was located in this part of the duodenum.

Clinical treatment with prednisolone is recommended in association with the surgical intervention. However, the patient did not present clinical improvement [8]. The recommendation of corticosteroid therapy aims in inhibiting the production of inflammatory mediators via arachidonic acid, such as leukotriene D₄, which is important in the beginning of TGF- β production by eosinophils [13].

It has been reported that immunosuppression with cyclosporine was used for clinical treatment of FGESF in mesentery, and the remission of the disease was verified [5]. cyclosporine decreases secretion of IL-2 by T lymphocytes and consequent proliferation in addition to inhibiting production of IL-3, IL-4, IL-5, IL-10 and TNF- α by feline mastocytes in a dose-dependent manner [14, 15].

Surgical removal of lesions is recommended in treatment. However, extirpating the region involving pylorus and proximal duodenum is technically difficult. The presence of choledochus and the outlet of the pancreatic duct in the primary portion of duodenum implicates in unfavorable prognosis [4]. Thus, pylorotomy/enterectomy was not performed in this case.

Intestinal wall alterations observed in ultrasound exam, such as thickening and loss of parietal stratification, are not pathognomonic of FGESF, and may be observed in intestinal neoplasms, such as lymphosarcoma, adenocarcinoma and mast cell tumors [1]. Hence, histopathological investigation is fundamental in these cases.

Histopathological alterations were similar to previous reports [4]. Fibroblast proliferation and deposition of extracellular matrix may be related to the production of fibrogenic mediators, such as TGF- β and IL-1 β , by activated eosinophils. In addition to the increased expression of fibronectin and matrix metalloproteinase inhibitors, through interaction of eosinophils/fibroblasts, these factors may lead to pathological deregulation of the extracellular matrix deposition homeostasis [16].

The intense infiltration of mast cells in lesions may suggest a neoplasm, such as sclerosing mast cell tumor [8]. Lesions that are densely populated by mast cells and eosinophils are common in feline mast cell tumors and in eosinophilic enteritis [17]. Although mast cells were observed in lesions, these were dispersed, which is not consistent with neoplasia [4].

In immunohistochemistry, there was no positive reaction for Ki67, which discards the possibility of neoplasia according to Sabbatini et al. [17]. In the study, the authors evaluated cytoplasmatic immunohistochemical expression and mutations in Ki67 in cases of feline mast cell tumors, and no clear correlation was found between the expression of this protein and the biological behavior of the neoplasm.

The intense myofibroblastic differentiation, which was indicated by positive fusiform cells for alpha-smooth muscle actin (Figure 2F), was corroborated by a study [9]. However, immunohistochemistry with mesenchymal markers is not ideal for a differential diagnosis, considering that even the most typical forms of intestinal mast cell tumors are usually positive for alpha-smooth muscle actin [17].

FGESF must be included in the differential diagnosis of infiltrative enteropathies in cats, considering that clinical signs and alterations in ultrasound and histopathological exams are similar to neoplasms. Therefore, immunohistochemical methods are a powerful tool to final diagnosis of FGESF.

MANUFACTURERS

¹Dako Agilent. Carpinteria, CA, USA.

²Invitrogen Thermofisher. Massachusetts, USA.

Declaration of interest. The authors report no conflicts of interest. The authors alone are responsible for the content and writing of paper.

REFERENCES

- 1 Weissman A., Penninck D., Webster C., Hecht S., Keating J. & Craig L. 2013.** Ultrasonographic and clinicopathological features of feline gastrointestinal eosinophilic sclerosing fibroplasia in four cats. *Journal of Feline Medicine Surgery*. 15(2): 148-154.
- 2 Grau-Roma L., Galindo-Cardiel I., Isidoro-Ayza M., Fernández M. & Majó N. 2014.** A Case of feline gastrointestinal eosinophilic sclerosing fibroplasia associated with phycomycetes. *Journal of Comparative Pathology*. 151(4): 318-321.
- 3 Eckstrand C.D., Barr B., Woods L., Spangler T. & Murphy B. 2012.** Nematode-associated intramural alimentary nodules in pumas are histologically similar to gastrointestinal eosinophilic sclerosing fibroplasia of domestic cats. *Journal of Comparative Pathology*. 148(4): 405-409.
- 4 Craig L.E., Hardam E.E., Hertzke D.M., Flatland B., Rohrbach B.W. & Moore RR. 2009.** Feline gastro-intestinal eosinophilic sclerosing fibroplasia. *Veterinary Pathology*. 46(1): 63-70.
- 5 Kambe N., Okabe R., Osada H., Ogawa M., Kishimoto M., Fukushima R., Kondo H. & Ohmori K. 2020.** A case of feline gastrointestinal eosinophilic sclerosing fibroplasia limited to the mesentery. *Journal of Small Animal Practice*. 61(1): 64-67.
- 6 Thieme M.E., Olsen A.M., Woolcock A.D., Miller M.A. & Simons M.C. 2019.** Diagnosis and management of a case of retroperitoneal eosinophilic sclerosing fibroplasia in a cat. *Journal of Feline Medicine Surgery*. 5(2): 1-7.

- 7 Brložnik M., Faraguna S., Goc M. & Svara T. 2017.** Recurrent feline gastrointestinal eosinophilic sclerosing fibroplasia and presumptive eosinophilic cystitis in a domestic short-haired cat: A case report. *Veterinarni Medicina*. 62(5): 295-300.
- 8 Linton M., Nimmo J.S., Norris J.M., Churcher R., Haynes S., Zoltowska A. & Malik R. 2015.** Feline gastrointestinal eosinophilic sclerosing fibroplasia: 13 cases and review of an emerging clinical entity. *Journal of Feline Medicine Surgery*. 17(5): 392-404.
- 9 Suzuki M., Onchi M. & Ozaki M.A. 2013.** Case of Feline Gastrointestinal Eosinophilic Sclerosing Fibroplasia. *Journal of Toxicologic Pathology*. 26(1): 51-53.
- 10 Munday J., Martinez A. & Soo M. 2014.** A case of feline gastro-intestinal eosinophilic sclerosing fibroplasia mimicking metastatic neoplasia. *The New Zealand Veterinary Journal*. 62: 356-360.
- 11 Schnauß F., Hanisch F. & Burgener I.A. 2019.** Diagnosis of feline pancreatitis with SNAP fPL and Spec fPL. *Journal of Feline Medicine Surgery*. 21(8): 700-707.
- 12 Bazelle J. & Watson P. 2014.** Pancreatitis in cats: Is it acute, is it chronic, is it significant? *Journal of Feline Medicine Surgery*. 16(5): 395-406.
- 13 Kato Y., Fujisawa T., Nishimori H., Katsumata H., Atsuta J., Iguchi K. & Kamiya H. 2005.** Leukotriene D4 induces production of transforming growth factor-beta1 by eosinophils. *International Archives of Allergy and Immunology*. 137(1): 17-20.
- 14 Kuga K., Nishifuji K. & Iwasaki T. 2008.** Cyclosporine A inhibits transcription of cytokine genes and decreases the frequencies of IL-2 producing cells in feline mononuclear cells. *Journal of Veterinary Medical Science*. 70: 1011-1016.
- 15 Colombo S. & Sartori R.** Ciclosporin and the cat: Current understanding and review of clinical use. *Journal of Feline Medicine Surgery*. 20(3): 244-255.

- 16 Gomes I., Mathur S.K., Espenshade B.M., Mori Y., Varga J. & Ackerman S.J. 2005.** Eosinophil fibroblast interactions induce fibroblast IL-6 secretion and extracellular matrix gene expression: implications in fibrogenesis. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 116: 796-804.
- 17 Sabattini S., Giantin M., Barbanera A., Zorro Shahidian L., Dacasto M., Zancanella, V. & Bettini G. 2016.** Feline intestinal mast cell tumours: clinicopathological characterisation and KIT mutation analysis. *Journal of Feline Medicine Surgery*. 18(4): 280-289.

9 CAPÍTULO 4

Clinical outcomes of 28 cats 12–24 months after urethrostomy

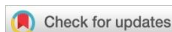
Periódico: **Journal Feline Medicine and Surgery, First Published 6 Dec 2019**
(ISSN:1532-2750)

Qualis CAPES Medicina Veterinária: **A1**

DOI:

<https://doi.org/10.1177/1098612X19888808>

Fator de impacto: **1.584**



Clinical outcomes of 28 cats 12–24 months after urethrostomy

Reginaldo P Sousa-Filho¹
Keytyanne O Sampaio²
Grazielle ASA Cavalcanti²
MC Mori da Cunha³

Diana CS Nunes-Pinheiro¹
Ellen CB da Silva²
and Marina Gabriela²

Journal of Feline Medicine and Surgery
1–8

© The Author(s) 2019 Article reuse
guidelines:

sagepub.com/journals-permissions DOI:
10.1177/1098612X19888808

journals.sagepub.com/home/jfm

This paper was handled and processed by
the American Editorial Office (AAFP) for
publication in JFMS



Abstract

Objectives The aim of this study was to evaluate and compare the long-term clinical outcomes and quality of life of cats having undergone perineal urethrostomy (PU) or prepubic urethrostomy (PPU).

Methods This clinical study followed 28 cats (PU, n = 22; PPU, n = 6) that underwent a urethrostomy, with a minimum of 1 year postoperative follow-up. Medical records, pet owner surveys and urologic laboratory tests were used for assessment. Urologic laboratory tests included serum symmetric dimethylarginine (SDMA), serum creatinine, urinalysis, urine specific gravity (USG), urine protein:creatinine (UPC) ratio and urine culture.

Results The main indications for urethrostomy were multiple catheterizations and PU stricture. The overall complication rates of PU and PPU were 31.8% and 83.3%, respectively. Recurrent urinary tract infection (UTI) and urine scald dermatitis was less frequent in PU than in PPU cats (UTI 22.7% vs 66.6%; dermatitis 4.5% vs 83.3%). Bacteriuria was present in 77.2% and 100% of PU and PPU cats, respectively. Owner satisfaction rates were excellent in 81.8% of PU and 33.3% of PPU cases.

Conclusions and relevance A proportion of cats that underwent urethrostomy showed bacteriuria, recurrent UTIs and increased levels of SDMA. PPU is important as a salvage procedure; however, it should be limited to cases in which standard techniques for PU cannot be performed, owing to the potential for recurrent complications and lower owner satisfaction.

Keywords: Urethra; symmetric dimethylarginine; SDMA; obstruction; feline lower urinary tract disease; FLUTD

Accepted: 23 October 2019

Introduction

Feline lower urinary tract disease (FLUTD) is one of the most common diseases encountered in the clinical setting.¹ This disorder is characterized by dysuria, hematuria, stranguria, pollakiuria, periuria and appetite alteration.^{2,3} Urethral obstruction also has been reported in 28.6% of FLUTD cases.³

Urethrostomy is indicated in cases of recurrent urethral obstruction or where medical management does not sufficiently relieve the urethral obstruction. These cases include urethral strictures, penile deformities, urethral neoplasms, foreskin edema and iatrogenic urethral disruption through inappropriate urethral catheterization.^{4,5} Perineal urethrostomy (PU) is a technique associated with penectomy, in which a new ostium for the urethra is created in the perineal region.⁵ Some proximal urethral obstructions may not be suitable for PU and a more cranial urinary diversion, such as prepubic urethrostomy (PPU) or transpubic

urethrostomy,⁶ is indicated. These salvage urinary diversion procedures frequently have reported complications, such as urinary incontinence, urinary tract infections (UTIs), peristomal dermatitis, subcutaneous urine leakage and stenosis.^{4,5,7} Hence, this

¹Veterinary Medicine Faculty, Ceará State University, Fortaleza, Brazil

²Veterinary Medicine Faculty, Federal Rural University of Pernambuco, Recife, Brazil

³Department of Development and Regeneration, Katholieke Universiteit Leuven, Leuven, Belgium

Corresponding author:

Reginaldo P Sousa-Filho DVM, MSc, Veterinary Medicine Faculty, Ceará State University, Av. Dr Silas Munguba, 1700, Bloco E, Itaperi, Fortaleza, CE, 60741-000, Brazil
Email: filhorps@hotmail.com

study aimed to evaluate and compare the long-term clinical outcomes and quality of life (QoL) for cats following PU or PPU.

Materials and methods

Study design

This research was developed in accordance with the Ethical Principles of Animal Experimentation, adopted by the Committee of Ethics for the Use of Animals of the State University of Ceará (CEUA–UECE; 8438995/2018).

Medical records from the Veterinary Hospital of the State University of Ceará and Catus Veterinary Clinic were reviewed and cats that had undergone a urethrostomy between July 2014 and July 2017 were selected from a database. The criterion for inclusion in this study was a minimum of 1-year postoperative follow-up. Cats with a diagnosis of chronic kidney disease (CKD) prior to the date of urethrostomy were excluded. CKD diagnosis was based on increased serum creatinine and serum symmetric dimethylarginine (SDMA), proteinuria and poor corticomedullary distinction as observed by ultrasound. Pet owners of cats eligible for this study were contacted and offered a follow-up consultation. At the time of the follow-up, they were asked to fill out a questionnaire. Concomitantly, patient blood and urine samples were collected for analysis.

Pet owner survey

The survey was constructed to elucidate the following: cat age at castration; number of prior obstruction events; immediate and later postoperative alterations, including signs of FLUTD (hematuria, stranguria or periuria) and dermatitis at the surgical area; and level of satisfaction with the surgical outcome and QoL for the cat. QoL was assessed based on the preservation of urine continence, social behavior with the owners, and signs of pain. The survey included an explanation for owners on how to define these clinical signs.

Medical record review

The data from the medical records reviewed included age, body condition score, main clinical signs observed, history of CKD, surgical technique, reason for surgical indication and perioperative interventions. Data were related to the time of surgery. Records of UTI frequency confirmed by urine culture were also obtained.

Laboratory analysis

Blood and urine samples were collected with fasted and normohydrated animals. Blood was collected from the cephalic or jugular vein (0.5–1 ml) and stored in a tube without anticoagulant. Serum creatinine and SDMA levels were assessed by liquid mass spectrometry (Catalyst-IDEXX).

Urine collection was performed by cystocentesis for urinalysis, urine protein:creatinine (UPC) ratio and urine culture. Urine specific gravity (USG) was measured using a refractometer. Chemical examinations were performed with a Multistix SG Reagent Strip. Urinary creatinine concentrations were determined using the modified Jaffé method in an ADVIA 1650/Mega Bayer automated apparatus. Urine protein concentration was established using the colorimetric method with pyrogallol red using an automated device (ADVIA 1650/ Cobas Mira Plus). The UPC ratio was obtained by dividing the urine protein concentration by the urine creatinine concentration. The BD CLED Agar/MacConkey II Agar kit was used for the urine culture and an antibiogram was performed with the Kirby & Bauer disk diffusion technique. A urine pellet was obtained by centrifuging urine at 112 g for 5 min and then discarding the supernatant. The pellet was examined with a light microscope at $\times 400$ magnification. All blood and urine analyses were processed within 4 h of collection.

CKD staging

Cats were classified as having stage 1, 2, 3 or 4 CKD according to International Renal Interest Society (IRIS) guidelines using creatinine and SDMA values.⁸ Patients with increased values of either creatinine or SDMA were reassessed after 2–3 weeks. CKD staging was determined based on a persistent increase of either creatinine or SDMA. Cats with serum creatinine >1.6 mg/dl were considered azotemic. Laboratory reference intervals (RIs) of SDMA and USG were defined, respectively, as 0–14 $\mu\text{g}/\text{dl}$ and 1.035–1.060. Samples with UPC ratios of <0.2 were classified as non-proteinuric.

Statistical analysis

The collected data were documented and tabulated. Statistical analyses were performed using GraphPad Prism 5.0 (GraphPad Software). Either a χ^2 or Fisher's exact test was used to compare two groups for categorical variables, as deemed appropriate. Following confirmation of normal distribution, an unpaired Student's *t*-test or a Mann–Whitney U test was carried out to compare the creatinine, SDMA, USG and UPC ratio data between PU and PPU groups. The statistical significance level was defined as $P < 0.05$. The data are presented as mean \pm SD.

Results

Thirty-five cats were identified as having undergone urethrostomy (Figure 1). Seven cats were excluded from the analysis, either owing to their history of CKD ($n = 5$) or because the owners declined follow-up ($n = 2$). Therefore, 28 cats that had been submitted for PU ($n = 22$) or PPU ($n = 6$) were included in this study. The time lapse after surgery spanned 12–24 months, depending on when the surgical procedure was performed.

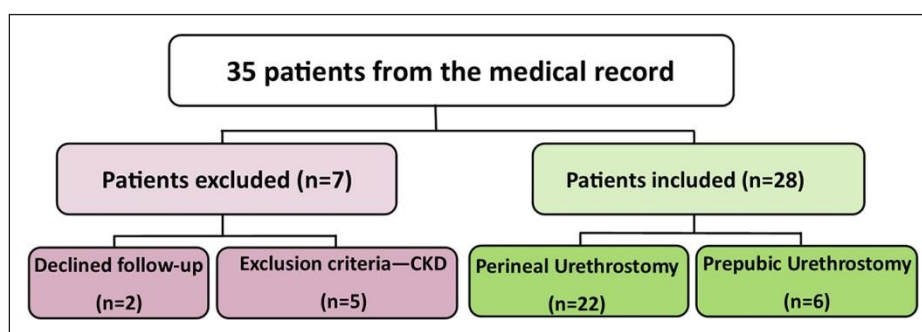


Figure - 1 Study flowchart. CKD = chronic kidney disease

Table - 1 Preoperative clinical history of cats that underwent either perineal urethrostomy (PU) or prepubic urethrostomy (PPU)

	PU (n = 22)	PPU (n = 6)
Surgical indication		
Recurrent FLUTD and multiple catheterizations	12 (55.0)	0 (0.0)
Penile/urethral trauma	4 (18.2)	0 (0.0)
Perineal urethrostomy stricture	6 (27.3)	5 (83.3)
Uterus–urethral fistula	0 (0.0)	1 (16.7)
Age at surgery (years)		
≤2	6 (27.3)	3 (50.0)
3–8	14 (63.6)	3 (50.0)
>8	2 (9.1)	0 (0.0)
Diet		
Dry	16 (72.7)	2 (33.3)
Wet	0 (0.0)	1 (16.6)
Both	6 (27.2)	3 (50.0)
Reproductive state		
Neutered	15 (68.1)	6 (100)
Intact	7 (31.8)	0 (0.0)
BCS		
1–2	2 (9.1)	0 (0.0)
3	7 (31.8)	2 (33.3)
4–5	13 (59.1)	4 (66.7)
Frequency of urethral catheterizations		
1	2 (9.1)	1 (16.6)
2–3	17 (77.3)	4 (66.7)
≥4	3 (13.6)	1 (16.7)
Antibiotic therapy	16 (72.7)	3 (50.0)
Frequency of urinary tract infection		
0 episodes	5 (22.7)*	0 (0.0)*
1 episode	12 (54.5)	2 (33.3)
>1 episodes	5 (22.7)†	4 (66.7)†

Data are n (%)

* $P < 0.05$; † $P < 0.001$

FLUTD=feline lower urinary tract disease; BCS=body condition score

Medical record review

All surgeries were performed by the same surgeon using a technique described by Wilson and Harrison⁹ for PU and by Baines et al¹⁰ for PPU. Preoperative treatment consisted of acid–base stabilization with intravenous crystalloid fluid therapy, pain management with opioid analgesic (tramadol hydrochloride 2 mg/kg q8h), cysto-centesis whenever necessary and urethral catheterization whenever possible. For postoperative treatment, opioid analgesic was prescribed orally for 4 days and an Elizabethan collar was worn by all cats immediately after recovery from anesthesia to prevent self-mutilation of the surgical site. An antibiogram-based therapy was prescribed whenever urine microbial culture was positive. Where indicated, dietary management of FLUTD was performed based on urine sediment assessment.

The preoperative clinical data of the cats that underwent urethrostomy are given in Table 1. The most common indication for PU was recurrent FLUTD (54.5%), followed by urethrostomy stricture and penis/urethra trauma (Figure 2a,b). The main recommendation for the PPU technique was PU stricture (83.3%) (Figure 2c). The only case of PPU performed in a female cat was due to adherence and fistulation of the uterus in the urethra, subsequent to an elective ovariohysterectomy. The median age of the patients that underwent PU and PPU was 3.38 and 2.5 years, respectively. Regarding preoperative reproductive status, 68.1% of the cats that underwent PU and 100% of the cats that underwent PPU were already neutered. Most PU cats (72.7%) were fed a dry diet, while 50% of PPU cats were fed a mixed diet (wet and dry). The body condition score (BCS) of preoperative patients was analyzed. A total of 59.1% of the patients referred for PU and 66.7% of patients indicated for PPU had high BCSs (4–5, on a scale of 1–5). Multiple catheterization was reported in 90.9% and 83.4% of PU and PPU cases, respectively.

In 72.7% of PU cases, preoperative antibiotic therapy was administered after catheterization. The same was done in 50.0% of PPU cases. Calcium oxalate bladder urolithiasis was diagnosed in two cats (9.1%), 18 and

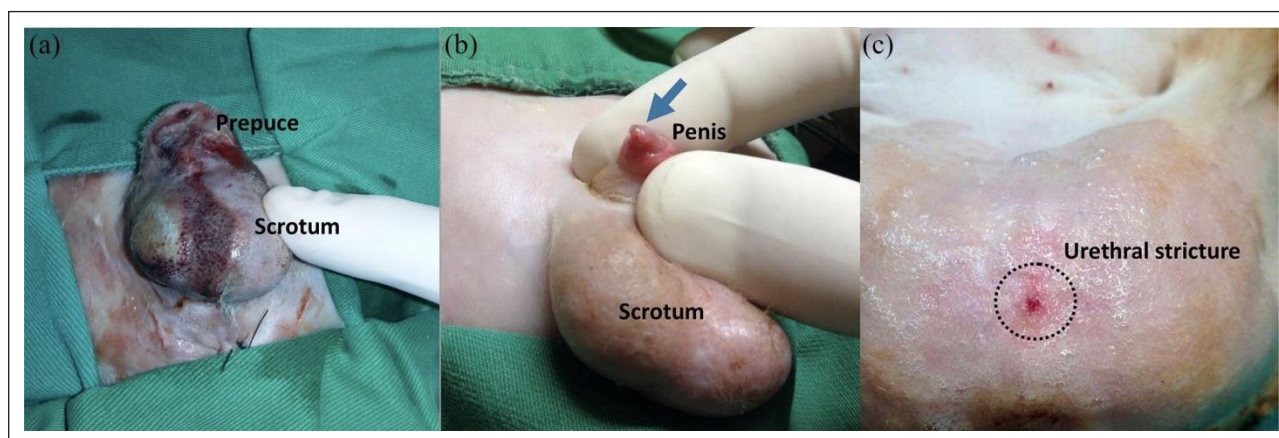


Figure - 2 (a) Urethral rupture with extravasation of urine into the scrotum; (b) penis laceration and urethral stenosis; (c) perineal urethrostomy stricture

Table - 2 Postoperative clinical history of cats that underwent either perineal urethrostomy (PU) or prepubic urethrostomy (PPU; 12–24 months follow-up)

	PU (n = 22)	PPU (n = 6)
Immediate postoperative complications		
Hematuria	16 (72.7)	5 (83.3)
Edema	7 (31.8)	1 (16.7)
Urinary incontinence	0 (0.0)	1 (16.7)
Leakage of urine subcutaneously	0 (0.0)	1 (16.7)
Recurrent complications		
Urinary incontinence	0 (0.0)	1 (16.7)
Peristomal dermatitis	1 (4.5) [†]	5 (83.3) [†]
FLUTD clinical signs	5 (22.7)*	4 (66.7)*
Urolithiasis	2 (9.1)	0 (0.0)
Postoperative use of acidifying diet		
Absent	2 (9.1)	3 (50.0)
30 days	17 (77.3)	3 (50.0)
>30 days	3 (13.6)	0 (0.0)
Level of satisfaction of the owner		
Unsatisfactory	0 (0.0)	1 (16.7)
Satisfactory	4 (18.2)	3 (50.0)
Excellent	18 (81.8)*	2 (33.3)*

Data are n (%)

* $P < 0.05$; [†] $P < 0.0001$

FLUTD = feline lower urinary tract disease

20 months after PU. This was not observed in any animals that had undergone PPU.

Pet owner survey

The main transient postoperative complication with both PU and PPU was hematuria (72.7% vs 83.3%) (Table 2). The overall complication rate was 31.8% for PU and 83.3% for PPU ($P < 0.05$). Recurrent signs of

FLUTD were less frequent in PU than in PPU patients (22.7% vs 66.7%; $P < 0.05$). A significantly less common complication of PU was peristomal dermatitis around the urethral ostium, which was present in only 4.5% of cats. However, this was present in 83.3% of cats that had undergone PPU ($P < 0.0001$). Urinary incontinence was observed in one case of PPU (16.7%) in the immediate postoperative period, with no subsequent recovery of function. Recurrent lower UTIs (>1 episode) were less frequent in PU than PPU cats (22.7% vs 66.6%; $P < 0.001$). The continued use of a commercial acidifying diet in the postoperative period for 30 days was followed in most cases (77.3% of PU and 50.0% of PPU patients). Owner satisfaction after urethrostomy was considered excellent in 81.8% of PU cases and 33.3% of PPU cases ($P < 0.05$).

Laboratory analysis

Laboratory analysis evidenced no significant difference between the two cohorts. SDMA levels were above the RIs in 22.7% of PU and 16.6% of PPU cases (Figure 3). Creatinine values were above the RI in 27.2% of PU cases. The USG was outside of the RI in 9.0% of PU cases, and UPC ratios were outside of the RI in 13.6% of cases. Both the PU and PPU cohorts showed leukocyturia (90.9% vs 100%), hematuria (77.3% vs 83.3%), triple phosphate crystalluria (68.2% vs 33.3%) and bacteriuria (77.3% vs 100%). *Staphylococcus* species were the most common microorganism found in urinary culture of these patients, followed by *Escherichia coli* and *Streptococcus* species (Table 3).

CKD staging

Eight cats were reassessed for CKD, owing to increased creatinine and/or SDMA values. Samples were taken 2 weeks after the initial evaluation. Three cats reassessed did not, in fact, have CKD. No significant differences in

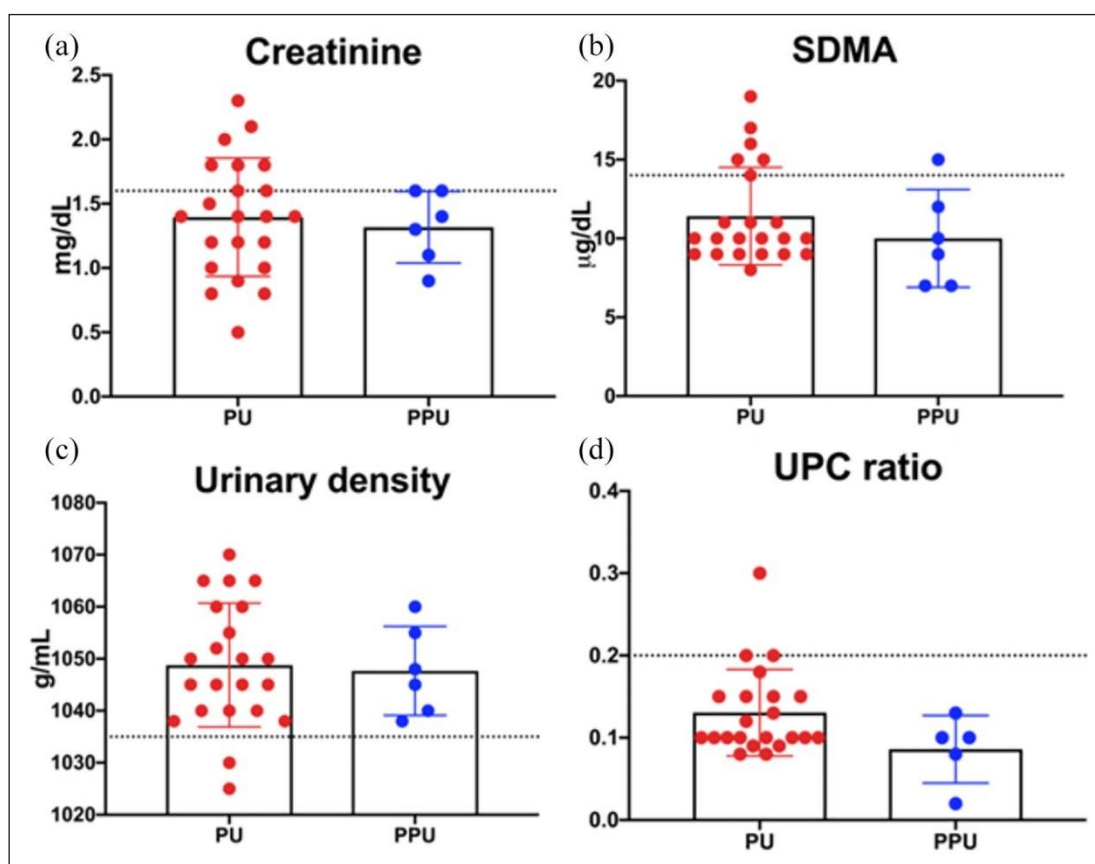


Figure - 3 Distribution of individual values of the analyses of cats that had undergone perineal urethrostomy (PU) or prepubic urethrostomy (PPU): (a) creatinine; (b) symmetric dimethylarginine (SDMA); (c) urine gravity density; (d) urine protein:creatinine (UPC) ratio. Horizontal lines indicate the limit of reference values of each test

Table - 3 Results of sediment analysis and urine culture of cats that underwent either perineal urethrostomy (PU) or prepubic urethrostomy (PPU; 12–24 months follow-up)

	PU (n = 22)	PPU (n = 6)
Leukocytes		
Occasional (≤ 5 /field)	15 (68.2)	4 (66.7)
Frequent (> 5 /field)	5 (22.7)	2 (33.3)
Erythrocytes		
Absent	4 (18.2)	1 (16.7)
Occasional (≤ 5 /field)	8 (36.4)	2 (33.3)
Frequent (> 5 /field)	9 (40.9)	3 (50.0)
Crystals		
Absent	7 (31.8)	4 (66.7)
Triple phosphate	15 (68.2)	2 (33.3)
Urolithiasis		
Calcium oxalate	2 (9.1)	0 (0.0)
Bacteriuria	17 (77.3)	6 (100)
Isolates		
<i>Staphylococcus</i> species	8 (36.4)	5 (83.3)
<i>Streptococcus</i> species	2 (9.1)	1 (16.7)
<i>Escherichia coli</i>	6 (27.3)	0 (0.0)
<i>Proteus</i> species	1 (4.5)	0 (0.0)
<i>Corynebacterium</i> species	1 (4.5)	0 (0.0)

Data are n (%)

CKD levels and staging were observed between the two cohorts. In the PU group, one cat (4.5%) was classified as stage 1 and three cats (13.6%) were classified as stage 2 CKD, according to IRIS guidelines (Table 4). Only one cat (16.7%) with PPU presented with SDMA elevation with no other laboratory abnormalities or clinical signs of CKD and was classified as stage 1 CKD.

Discussion

The aim of this study was to evaluate and compare the clinical outcomes of cats 12–24 months after PU and PPU. Our main findings were that: (1) urethrostomy does not always resolve the clinical signs of FLUTD; (2) PU is associated with less frequent complications, such as dermatitis, FLUTD and UTI clinical signs, than PPU; and (3) pet owners are more satisfied after PU than after PPU.

In the present study, there was only one case of an indication for urethrostomy in a female cat. This was due to adhesion of the uterine stump to the pelvic urethra in response to an intense suture reaction, 20 days subsequent to an elective ovariohysterectomy. Another case of urethral stenosis in a female has been reported in the literature, which was associated with an inflammatory

Table - 4 Cats that underwent perineal urethrostomy (PU) or prepubic urethrostomy (PPU) with early signs of chronic kidney disease (CKD) 12–24 months after urethrostomy

Group	Animal	Creatinine		SDMA		CKD staging	UPC		Proteinuria	USG	
		First	Second	First	Second		First	Second		First	Second
PU	Cat 1	1.4	1.2	16	16	1	0.20	0.40	Yes	1.050	1.035
	Cat 2	1.8	1.8	15	15	2	0.30	0.50	Yes	1.050	1.035
	Cat 3	2.1	2.0	19	17	2	0.16	0.25	Borderline	1.025	1.020
	Cat 4	1.8	2.2	18	17	2	0.20	0.50	Yes	1.030	1.025
	Cat 5	1.8	1.3	10	9	0	0.10	0.10	No	1.040	1.035
	Cat 6	1.8	1.1	10	9	0	0.16	0.15	No	1.040	1.045
	Cat 7	2.1	1.4	15	8	0	0.10	0.10	No	1.040	1.040
PPU	Cat 8	1.6	1.5	15	19	1	0.35	0.30	Borderline	1.040	1.035

Values outside the reference interval are presented in bold

SDMA = symmetric dimethylarginine; UPC = urine protein:creatinine ratio; USG = urine specific gravity

response due to a trauma.¹¹ Male cats have a higher predisposition to urethral obstruction owing to their urethra being longer and narrower than that of female cats.¹²

In this study, obesity (BCS >4) was observed in 59.1% of PU and 66.7% of PPU cases. This suggests that obesity is a factor predisposing to obstruction, as reported previously.^{1,12} The higher frequency of obstructive FLUTD in neutered cats was most probably due to the tendency to gain weight after neutering and not due to the neutering itself: one study did not find significant differences in anatomy and urethral diameter between intact and neutered cats.¹³

The number of obstructive FLUTD episodes and multiple urethral catheterizations was frequent in most pre-operative histories of patients that underwent PU and PPU. Yet, Seitz et al demonstrated that indwelling urethral catheterization remains the most indicated treatment.¹⁴ However, multiple urethral de-obstructions increase the risks of urethral and penile stenosis or traumas. This is a major reason for urethrostomy.¹⁵ Another common surgical indication for performing PU and PPU is postoperative urethral ostium stenosis, a serious complication of urethrostomy.¹⁶ It has been reported that the risk of stoma stricture is higher after PU than after PPU.¹⁰ This may be due to the diameter of the perineal urethra, which is four times narrower than in the prepubic region. The initial surgical indication for these animals is recurrent FLUTD clinical signs. Transient surgical complications such as hematuria, edema and hematoma are also common after surgery and have been reported previously.^{1,10} As in other studies,^{15,16} urethrostomy did not solve the FLUTD clinical signs in all cats operated on. However, the procedure has the advantage of decreasing the likelihood of re-obstruction.

Subcutaneous extravasation of urine is usually observed in cases of malposition of urethral mucosa or by dehiscence of sutures,¹⁰ which was verified in one case of PPU. This condition was resolved with prolonged

catheterization using a closed urinary drainage system for 15 days. The PPU technique may have a greater risk of incurring this complication owing to the tension the urethra is subjected to when sutured at the ventral region.¹⁰

This study also evaluated the long-term complications of urethrostomy, including chronic peristomal dermatitis. This appeared to be more common in the PPU than the PU cohort. This may be explained because of the new location of the urethral ostium in the skin. Upon micturition, urine leakage into surrounding tissue may occur.

Urinary incontinence was observed in one case of PPU. This has previously been reported as a common complication of PPU, owing to the higher chance of vascular and neurologic damage.^{4,10} Recurrent UTIs were also reported significantly more often postoperatively in PPU cats compared with PU cats. However, bacteriuria was observed in 77.3% of PU and in 100% of PPU cats. Thus, as reported previously,¹⁶ PU patients were more frequently asymptomatic. This highlights the importance of follow-up for cats that have undergone urethrostomy, since it may increase susceptibility to UTIs.^{16,17} This may be a consequence of the loss of the natural barrier that follows a penectomy. As a result, the urethral stoma is in greater proximity to the bladder. Presumably, this facilitates the ascent of infection.¹⁸

The overall QoL of the cats that underwent the PU technique was reported as excellent by most owners, corroborating the findings of other studies.^{15,16} This improvement of animal welfare is fundamental to supporting the surgical decision in cases where there is recurrence of urethral obstruction. The PPU technique was also associated with a good level of satisfaction, even with the presence of complications related to peristomal dermatitis. In only one case was there an unsatisfactory opinion on the outcome of the procedure, which was a consequence of the patient's urinary incontinence. These results differ from those reported by Baines et al,¹⁰

who stated that 6/16 animals submitted to PPU were subsequently euthanized as a result of postoperative complications.

The IRIS guidelines state that fasting serum creatinine concentration is the first criterion for CKD diagnosis.^{8,18} Fasting serum creatinine concentration is a late marker of renal homeostasis and increases when approximately 75% of renal function is lost.¹⁹ It should be noted that the muscle mass score may also affect the fasting serum creatinine concentration, but it was not assessed in this study. According to the IRIS guidelines, the diagnosis of CKD based on a single measurement of serum creatinine concentration is not recommended. However, serial collection of blood samples is often not practical in the clinical routine. Hence, in the present study, serum creatinine values were analyzed along with SDMA. SDMA is a new renal biomarker that allows for earlier diagnosis of renal disease than the traditional creatinine test.²⁰ SDMA levels reveal CKD in cats, on average, 17 months before the serum creatinine concentration surpasses the RI.²⁰

The concomitant increase of SDMA and serum creatinine was verified in three animals with PU. However, in one case of PU and one of PPU, an increase in SDMA was found without an increase in serum creatinine. However, these cats had concomitant increases in UPC ratios. An increase in creatinine in one cat of the PU cohort, that had a normal level of SDMA, was normalized after 3 weeks.

To support the diagnosis of CKD, UPC ratio and USG were also assessed. The gold standard method for analysis of proteinuria is the collection of all urine produced in 24 h. However, it has already been shown that the UPC ratio obtained with a single daily sample is reliably correlated with collection over 24 h.²¹ Proteinuria was observed in four cats in the PU group and in one cat in the PPU group. Post-renal proteinuria was ruled out in all of these cases, because sediments did not present significant alterations.¹⁸ This reinforces the diagnosis of renal proteinuria. Renal proteinuria may occur as a result of glomerular loss, glomerulonephritis or hypertension, or a deficiency in tubular absorption. The last pathology is the most frequent in cats.²¹ However, an important limitation to the determination of proteinuria in this study is that systemic hypertension and histologic evaluation could not be assessed.

In this study, the USG remained unaltered in some azotemic cats, as has been reported previously.²² This may be because of the dietary intervention implemented in these animals or due to the cats' hydration state, which have both been shown to influence USG, especially in the early stages of CKD.^{22–24}

Conclusions

The main indications for urethrostomy are multiple catheterizations and urethral traumas, which may be avoided

with careful clinical management. Cats that underwent urethrostomy showed bacteriuria, recurrent UTI and increased levels of SDMA. This highlights the importance of follow-up for the prevention and/or early treatment of urinary disorders. PU is associated with higher owner satisfaction and less symptomatic UTI and peristomal dermatitis than PPU. While PPU is important as a salvage procedure, it should be limited to cases in which standard techniques for PU cannot be performed.


Author note Informed consent was obtained from the owners prior to the interview and the use of data and pictures.

Conflict of interest The authors declared no potential conflicts of interest with respect to the research, authorship, and/or publication of this article.

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


Ethical approval This work involved the use of non-experimental animals (owned or unowned), and followed established internationally recognized high standards ("best practice") of individual veterinary clinical patient care. Ethical approval from a committee was not necessarily required.

Informed consent Informed, written consent was obtained from the owner or legal custodian of all animals described in this work for the procedures undertaken. For any animals or humans individually identifiable within this publication, informed consent for their use in the publication (verbal or written) was obtained from the people involved.


ORCID iD Reginaldo P Sousa-Filho  <https://orcid.org/0000-0001-8074-6651>

Diana CS Nunes-Pinheiro  <https://orcid.org/0000-0002-4505-9941>

Keytyanne O Sampaio  <https://orcid.org/0000-0001-6383-2232>

Ellen CB da Silva  <https://orcid.org/0000-0001-8935-6553>

Grazielle ASA Cavalcanti  <https://orcid.org/0000-0003-3231-3418>

Marina Gabriela MC Mori da Cunha  <https://orcid.org/0000-0001-6658-7797>

References

- Defauw PA, Van de Maele I and Duchateau L. **Risk factors and clinical presentation of cats with feline idiopathic cystitis.** *J Feline Med Surg* 2011; 13: 967–975.
- Junior AR and Hagiwara MK. **Similarities between the feline idiopathic lower urinary tract disease and human interstitial cystitis.** *Ciência Rural* 2004; 34: 315–321.
- Trangerud C, Ottesen N and Eggertsdottir AV. **Causes of lower urinary tract disease in Norwegian cats.** *J Feline Med Surg* 2011; 12: 410–417.
- Williams J. **Surgical management of blocked cats: which approach and when?** *J Feline Med Surg* 2009; 11: 14–22.

- 5 Nye AK and Luther JK. **Feline perineal urethrostomy: a review of past and present literature.** *Top Companion Anim Med* 2018; 33: 77–82.
- 6 Bernarde A and Viguier E. **Transpelvic urethrostomy in 11 cats using an ischial ostectomy.** *Vet Surg* 2004; 33: 246–252.
- 7 Smith CW. **Perineal urethrostomy.** *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2002; 32: 917–925.
- 8 International Renal Interest Society. **IRIS staging of CKD.** <http://www.iris-kidney.com/guidelines/staging.html> (accessed October 30, 2019).
- 9 Wilson GP and Harrison JW. **Perineal urethrostomy in cats.** *J Am Vet Med Assoc* 1971; 159: 1789–1793.
- 10 Baines SJ, Rennie S and White RS. **Prepubic urethrostomy: a long-term study in 16 cats.** *Vet Surg* 2001; 30: 107–113.
- 11 Przywara J, Byron J, Bennett RA, et al. **Prepubic urethrostomy and vaginoplasty in a female cat.** *J Am Anim Hosp Assoc* 2010; 46: 439–443.
- 12 Segev G, Livne H, Ranen E, et al. **Urethral obstruction in cats: predisposing factors, clinical, clinicopathological characteristics and prognosis.** *J Feline Med Surg* 2011; 13: 101–108.
- 13 Borges NC, Pereira-Sampaio MA, Pereira VA, et al. **Effects of castration on penile extracellular matrix morphology in domestic cats.** *J Feline Med Surg* 2017; 19: 1261–1266.
- 14 Seitz M, Credon J and Drobatz KJ. **Evaluation for association between indwelling urethral catheter placement and risk of recurrent urethral obstruction in cats.** *J Am Vet Med Assoc* 2018; 252: 1509–1520.
- 15 Bass M, Howard J, Gerber B, et al. **Retrospective study of indications for and outcome of perineal urethrostomy.** *J Small Anim Pract* 2005; 46: 227–231.
- 16 Ruda L and Heiene R. **Short- and long-term outcome after perineal urethrostomy in 86 cats with feline lower urinary tract disease.** *J Small Anim Pract* 2012; 53: 693–698.
- 17 McLoughlin MA. **Surgical emergencies of the urinary tract.** *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2000; 30: 581–601.
- 18 Sparkes AH, Caney S, Chalhoub S, et al. **ISFM consensus guidelines on the diagnosis and management of feline chronic kidney disease.** *J Feline Med Surg* 2016; 18: 219–239.
- 19 Pressler BM. **Clinical approach to advanced renal function testing in dogs and cats.** *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2013; 43: 1193–1208.
- 20 Hall JA, Yerramilli M, Obare E, et al. **Serum concentrations of symmetric dimethylarginine and creatinine in cats with kidney stones.** *PLoS One* 2017; 12. DOI: 10.1371/journal.pone.0174854.
- 21 Syme HM. **Proteinuria in cats. Prognostic marker or mediator?** *J Feline Med Surg* 2009; 11: 211–218.
- 22 Rishniw M and Bicalho R. **Factors affecting urine specific gravity in apparently healthy cats presenting to first opinion practice for routine evaluation.** *J Feline Med Surg* 2015; 17: 329–337.
- 23 Cannon M. **Diagnosis and investigation of chronic kidney disease in cats.** *In Pract* 2016; 38: 2–9.
- 24 Forrester SD and Towell TL. **Feline idiopathic cystitis.** *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2015; 45: 783–806.

10 CONCLUSÃO

Concluiu-se que os biomarcadores sistêmicos e teciduais da resposta inflamatória são ferramentas úteis na avaliação clínica, no diagnóstico e no prognóstico de gatos acometidos por DTUIF, DII, GECF ou FEEGF, patologias caracterizadas por danos na mucosa uretral, gastrointestinal e oral.

11 PERSPECTIVAS

Os resultados obtidos nos presentes trabalhos realizados, indicam um grande campo de investigação nas doenças de cunho inflamatório nos gatos. A pesquisa por mediadores e marcadores diagnósticos e prognósticos destas enfermidades, irá proporcionar uma melhora na sanidade destes animais, com o aumento da perspectiva de diagnóstico precoce e a escolha da terapêutica mais indicada.

A possibilidade de utilizar-se a marcação imunohistoquímica de citocinas e células inflamatórias para correlação com MDA e RNL é de suma importância para a continuidade desse trabalho, sendo a complementação para a determinação das características do processo inflamatório na espécie.

REFERÊNCIAS

- AARON, L; TORSTEN, M; PATRICIA, W. Autoimmunity in celiac disease: extra-intestinal manifestations. **Autoimmunity Reviews**, [S.l.], v.18, n.3, p.241- 246, 2019.
- ABRAHAM, C; CHO, J. H. Inflammatory bowel disease: mechanisms of disease. **The New England Journal of Medicine**, [S.l.], v.361, n.21, p.2066–2078, 2009.
- AKIRA, S; UEMATSU, S; TAKEUCHI, O. Pathogen recognition and innate immunity. **Cell**, [S.l.], v.124, n.4, p.783–801, 2006.
- ALBENBERG, L; ESIPOVA, T. V; JUDGE, C. P; BITTINGER, K; CHEN, J; LAUGHLIN, A; GRUNBERG, S; BALDASSANO, R. N; LEWIS, J. D; LI, H; THOM, S. R; BUSHMAN, F. D; VINOGRADOV, S. A; WU, G. D. Correlation between intraluminal oxygen gradient and radial partitioning of intestinal microbiota in humans and mice. **Gastroenterology**, [S.l.], v.147, n.5, p.1055–1063, 2014.
- ARZI, B; MURPHY, B; COX, D. P; VAPNIARSKY, N; KASS, P. H; VERSTRAETE, F. J. M. Presence and quantification of mast cells in the gingiva of cats with tooth resorption, periodontitis and chronic stomatitis. **Archives of Oral Biology**, [S.l.], v.55, n.2, p.148–154, 2010.
- BAINES, S. J; RENNIE, S; WHITE, R. S. Prepubic urethrostomy: a long-term study in 16 cats. **Veterinary Surgery**, [S.l.], v.30, n.2, p.107-113, 2001.
- BAIRD, K. Lymphoplasmacytic gingivitis in a cat. **The Canadian Veterinary Journal**, [S.l.], v.46, n.6, p.530-532, 2007.
- BASS, M; HOWARD, J; GERBER, B; MESSMER, M. Retrospective study of indications for and outcome of perineal urethrostomy in cats. **The Journal of Small Animal Practice**, [S.l.], v.46, n.5, p.227-231, 2005.
- BARRY, C. M; JI E; SHARMA H; YAP, P; SPENCER, N. J; MATUSICA, D. Peptidergic nerve fibers in the urethra: morphological and neurochemical characteristics in female mice of reproductive age. **Neurourology Urolyn**, [S.l.], v.12, p. 233- 247, 2017
- BAZELLE, J; WATSON, P. Pancreatitis in cats: is it acute, is it chronic, is it significant?. **Journal of Feline Medicine Surgery**, [S.l.], v.16, n.5, p.395-406, 2014.
- BELLEI, E; DALLA, F; MASETTI, L; PISONI, L; JOECHLER, M. Surgical therapy in chronic feline gingivostomatitis (FCGS). **Veterinary Research Communications**, [S.l.], v.32, p.231–234, 2008.
- BERNARDE, A; VIGUIER, E. Transpelvic urethrostomy in 11 cats using an ischial ostectomy. **Veterinary Surgery**, [S.l.], v.33, n.3, p.246-252, 2004.
- BHATTI, I; PEACOCK, O; LLOYD, G; LARVIN, M; HALL, R. I. Preoperative hematologic markers as independent predictors of prognosis in resected pancreatic ductal adenocarcinoma: neutrophil-lymphocyte versus platelet-lymphocyte ratio. **American Journal of Surgery**,

[S.l.], v.200, n.2, p.197-203, 2010.

BIRCHENOUGH, G. M. H; JOHANSSON, M. E. V; GUSTAFSSON, J. K; BERGSTRÖM, J. H; HANSSON, G. C. New developments in goblet cell mucus secretion and function. **Mucosal Immunology**, [S.l.], v.8, n.4, p.712–719, 2015.

BORGES, N. C; PEREIRA-SAMPAIO, M. A; PEREIRA, V. A; ABIDU-FIGUEIREDO, M; CHAGAS, M. A. Effects of castration on penile extracellular matrix morphology in domestic cats. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, [S.l.], v.19, n.12, p.1261-1266, 2017.

BRAND, S. Crohn's disease: th1, th17, or both? the change of a paradigm: new immunological and genetic insights implicate th17 cells in the pathogenesis of crohn's disease. **Gut**, [S.l.], v.58, n.8, p.1152–1167, 2009.

BRAZIL, J. C; LOUIS, N. A; PARKOS, C. A. The role of polymorphonuclear leukocyte trafficking in the perpetuation of inflammation during inflammatory bowel disease. **Inflammatory Bowel Diseases**, [S.l.], v.19, n.7, p.1556–1565, 2013.

BRLOŽNIK, M; FARAGUNA S; GOC, M; SVARA, T. Recurrent Feline Gastrointestinal Eosinophilic Sclerosing Fibroplasia and Presumptive Eosinophilic Cystitis in a Domestic Short-haired Cat: A Case Report. **Veterinarni Medicina**, [S.l.], v.62, n.5, p.295-300, 2017.

BUFFINGTON, C. A. T; WESTROPP, J. L; CHEW, D. J; BOLUS, R. R. Clinical evaluation of multimodal environmental modification (MEMO) in the management of cats with idiopathic cystitis. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, [S.l.], v.8, n.4, p.261–268, 2006.

CANNON, M. Diagnosis and investigation of chronic kidney disease in cats. **In Practice Focus**, [S.l.], v.38, p.2-9, 2016.

CHO, S. Y; YANG, J. J; YOU, E; KIM, B. H; SHIM, J; LEE, H. J; LEE, W. I; SUH, J. T; PARK, T. S. Mean platelet volume/platelet count ratio in hepatocellular carcinoma. **Platelets**, [S.l.], v.24, n.5, p.375-377, 2013.

COGNET, R; MESNARD, E; STAMBOULI, F; GAUTHIER, O. Chronic gingivo-stomatitis and viral infections in a population of 54 cats. livro de resumos 10th evd congress, Berlin: Germany, 2001.

COLOMBO, S; SARTORI, R. Ciclosporin and the cat: current understanding and review of clinical use. **Journal of Feline Medicine Surgery**, [S.l.], v.20, n.3, p.244-255, 2018.

COOPER, E. S; OWENS, T. J; CHEW, D. J; BUFFINGTON, C. A. T. A protocol for managing urethral obstruction in male cats without urethral catheterization. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, [S.l.], v.237, n.11, p.1261-1266, 2010.

CRAIG, L. E; HARDAM, E. E; HERTZKE, D. M; FLATLAND, B; ROHRBACH B. W; MOORE, R. R. Feline gastrointestinal eosinophilic sclerosing fibroplasia. **Veterinary Pathology**, [S.l.], v.46, n.1, p.63-70, 2009.

CUTLER, C.W; JOTWANI, R. Dendritic cells at the oral mucosal interface. **Journal Dental**

Research, [S.l.], v.85, n.8, p.678-689, 2006.

DA ROSA, V. M; QUITZAN, J. G. Avaliação retrospectiva das variáveis etiológicas e clínicas envolvidas na Doença do Trato Urinário Inferior dos Felinos (DTUIF). **Iniciação Científica CESUMAR**, [S.l.], v.13, n.2, p.103-110, 2011.

DANESE, S; SANS, M; FIOCCHI, C. Inflammatory bowel disease: the role of environmental factors. **Autoimmunity Reviews**, [S.l.], v.3, n.5, p.394-400, 2004.

DANZIGER, Z. C; GRILL, W. M. Sensory and circuit mechanisms mediating lower urinary tract reflexes. **Autonomic Neuroscience**, [S.l.], v.200, p.21–28, 2015.

DAY, M. J; BILZER, T; MANSELL, J; WILCOCK, B; HALL, E. J; JERGENS, A; MINAMI, T; WILLARD, M; WASHABAU, R. Histopathological standards for the diagnosis of gastrointestinal inflammation in endoscopic biopsy samples from the dog and cat: a report from the World Small Animal Veterinary Association Gastrointestinal Standardization Group. **Journal of Comparative Pathology**, [S.l.], v.138, p. 1–43, 2008.

DEFAUW, P. A; MAELE I. V; DUCHATEAU, L; POLIS, I; SAUNDERS, J. H; DAMINET, D. S. Risk factors and clinical presentation of cats with feline idiopathic cystitis. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, [S.l.], v.13, n.12, p.967-975, 2011.

DOLIESLAGER, S. M; BENNETT, D; JOHNSTON, N; RIGGIO, M. P. Novel bacterial phylotypes associated with the healthy feline oral cavity and feline chronic gingivostomatitis. **Research in Veterinary Science**, [S.l.], v.94, n.3, p.428–432, 2013.

DOLIESLAGER, S. M; RIGGIO, M. P; LENNON, A; LAPPIN, D. F; JOHNSTON, N; TAYLOR, D; BENNETT, D. Identification of bacteria associated with feline chronic gingivostomatitis using culture-dependent and culture-independent methods. **Veterinary Microbiology**, [S.l.], v.148, n.1, p.93–98, 2011.

DRAPER, H. H; HADLEY, M. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. **Methods in Enzymology**, [S.l.], v.186, p.421-431, 1990.

DUBOC, H; RAJCA, S; RAINTEAU, D; BENAROUS, S; MAUBERT, M.A; QUERVAIN, E; THOMAS, G; BARBU, V; HUMBERT, L; DESPRAS, G; BRIDONNEAU, G; DUMETZ, F; GRILL, J. P; MASLIAH, J; BEAUGERIE, L; COSNES, J; CHAZOILLERES, O; POUPON, R; WOLF, C; MALLET, H. M; LANGELLA, P; TRUGNAN, G; SOKOL, H; SEKSIK, P. Connecting dysbiosis, bile-acid dysmetabolism and gut inflammation in inflammatory bowel diseases. **Gut**, [S.l.], v.62, n.4, p.531–539, 2013.

ECKSTRAND C. D; BARR B.; WOODS L; SPANGLER T; MURPHY B. Nematode-associated intramural alimentary nodules in pumas are histologically similar to gastrointestinal eosinophilic sclerosing fibroplasia of domestic cats. **Journal of Comparative Pathology**, [S.l.], v.148, n.4, p.405-409, 2013.

EGGERTSDOTTIR, A. V; LUND, H. S; KRONTVEIT, R; SORUM, H. Bacteriuria in cats with feline lower urinary tract disease: a clinical study of 134 cases in Norway. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, [S.l.], v.9, n.6, p.458-465, 2007.

FILHO, S. T. L. P; OLIVEIRA, M. T; SOUZA, F. W; DALMOLIN, F; HARTMANN, H; JUNIOR, A. S. C; SCHUSTER, L. A. H; BECK, C. A. C; SANTOS, F. R. B; FERANTI, J. P. S; BRUN, M. V. Uretrostomia pré-púbica videoassistida em um felino com estenose uretral. **Semina: Ciências Agrárias**, [S.l.], v.35, n.1, p.381-386, 2014.

FORRESTER, S. D; TOWELL, T. L. Feline idiopathic cystitis. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, [S.l.], v.45, n.4, p.783-806, 2015.

FRAGKOU, F; ADAMAMA-MORAITOU, K; POUTAHIDIS, T; PRASSINOS, N. N; KRITSEPI-KONSTANTINOY, M; XENOULIS, P. G; STEINER, J. M; LIDBURY, J. A; SUCHODOLSKI, J. S; RALLIS, T. S. Prevalence and clinicopathological features of triaditis in a prospective case series of symptomatic and asymptomatic cats. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, [S.l.], v.30, n.4, p.1031-1045, 2016.

GALVÃO, A. L. B; ONDANI, A. C; FRAZILIO, F. O; FERREIRA, G. S. Obstrução uretral em gatos machos: revisão literária. **Acta Veterinaria Brasilica**, [S.l.], v.4, n.1, p.1-6, 2010.

GÁLVEZ, J. Role of Th17 Cells in the Pathogenesis of Human IBD. **ISRN Inflammation**, [S.l.], v.2014, 2014.

GARCÍA-SANCHO, M; RODRÍGUEZ-FRANCO, F; SAINZ, A; MANCHO, C; RODRÍGUEZ, A. Evaluation of clinical, macroscopic, and histopathologic response to treatment in nonhypoproteinemic dogs with lymphocytic-plasmacytic enteritis. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, [S.l.], v.21, n.1, p.11-17, 2007.

GERBER, B; BORETTI, F. S; KLEY, S; LALUHA, P; MÜLLER, C; SIEBER, N; UNTERER, S; WENGER, M; FLÜCKIGER, M; GLAUS, T; REUSCH, C. E. Evaluation of Clinical Signs and Causes of Lower Urinary Tract Disease in European Cats. **Journal of Small Animal Practice**, [S.l.], v.46, n.12, p.571-577, 2005.

GEREMIA, A; BIANCHERI, P; ALLAN, P; CORAZZA, G; SABATINO, A. Innate and adaptive immunity in inflammatory bowel disease. **Autoimmunity Reviews**, [S.l.], v.13, n.1, p.3-10, 2013

GERMAN, A. J; HALL, E. J; DAY, M. J. Immune cell populations within the duodenal mucosa of dogs with enteropathies. **Journal Veterinary Internal Medicine**, [S.l.], v.15, n.1, p.14-25, 2001.

GIL, S; LEAL, R. O; DUARTE, A; MCGAHIE, D; SEPÚLVEDA, N; SIBORRO, I; CRAVO, J; CARTAXEIRO, C; TAVARES, L. M. Relevance of feline interferon omega for clinical improvement and reduction of concurrent viral excretion in retrovirus infected cats from a rescue shelter. **Research in Veterinary Science**, [S.l.], v.94, n.3, p.753-763, 2013.

GIOSO, M. A. Complexo gengivite-estomatite. In: **Odontologia para o clínico de pequenos animais**. 2.ed. São Paulo: Manole, 2007. p.72-76.

GODFREY, D. R. Chronic gingivitis/stomatitis/pharyngitis in the cat. **Waltham Focus**, [S.l.], v.4, n.10, p.2-3, 2000.

GOMES, I; MATHUR, S. K; ESPENSHADE, B. M; MORI, Y; VARGA, J; ACKERMAN,

S. J. Eosinophil fibroblast interactions induce fibroblast IL-6 secretion and extracellular matrix gene expression: implications in fibrogenesis. **The Journal of Allergy and Clinical Immunology**, [S.l.], v.116, n.4, p.796-804, 2005.

GRAU-ROMA, L; GALINDO-CARDIEL, I; ISIDORO-AYZA, M; FERNÁNDEZ, M; MAJÓ, N. A. Case of feline gastrointestinal eosinophilic sclerosing fibroplasia associated with phycomycetes. **Journal of Comparative Pathology**, [S.l.], v.151, n.4, p.318-321, 2014.

GRIGG, J. B; SONNENBERG, G. F. Host–microbiota interactions shape local and systemic inflammatory diseases. **Journal Immunology**, [S.l.], v.198, n.2, p.564–571, 2017.

GROTTO, D; SANTA, MARIA, L; VALENTINI, J. Importance of the lipid peroxidation biomarkers and methodological aspects for malondialdehyde quantification. **Quím Nova**, São Paulo, v.32, n.1, p.169-174, 2009.

GUILFORD, W. G. Idiopathic inflammatory bowel diseases. In: GUILFORD, W. G. **Guilford and Strombeck's small animal gastroenterology**. 3.ed. Philadelphia: Saunders, 1996. p.451–486.

HALL, J. A; YERRAMILI, M; OBARE, E; LI, J; YERRAMILI, M; JEWELL, D. E. Serum concentrations of symmetric dimethylarginine and creatinine in cats with kidney stones. **PLoS One**, [S.l.], v.12, n.4, p.1-11, 2017.

HALLIWEL, B. Antioxidant defense mechanisms: from the beginning to the end of the beginning. **Free radical research**, [S.l.], v.31, n.4, p.261–272, 1999.

HARBOUR, D. A.; HOWARD, P. E.; GASKELL, R. M. Isolation of feline calicivirus and feline herpesvirus from domestic cats from 1980 to 1989. **The Veterinary Record**, [S.l.], v.128, n.4, p.77-80, 1991.

HARLEY, R; GRUFFYDD-JONES, T. J; DAY, M. J. Immunohistochemical characterization of oral mucosal lesions in cats with chronic gingivostomatitis. **Journal of Comparative Pathology**, [S.l.], v.144, n.4, p.239–250, 2011.

HARLEY, R; GRUFFYDD-JONE, T. J; DAY, M. J. Salivary and serum immunoglobulin levels in cats with chronic gingivostomatitis. **The Veterinary Record**, [S.l.], v.152, n.5, p.125-129, 2003.

HARLEY, R.; HELPS, C. R; HARBOUR, D. A; GRUFFYDD- JONES, T. J., DAY, M. J. Cytokine mRNA expression in lesions in cats with chronic gingivostomatitis. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, v. 6, n. 4, p. 471-480, 1999.

HARPER, P. H; LEE, E. C; KETTLEWELL, M. G; BENNETT, M. K; JEWELL, D. P. Role of the faecal stream in the maintenance of Crohn's colitis. **Gut**, [S.l.], v.26, n.3, p.279–284, 1985.

HART, A. L; AL-HASSI, H. O; RIGBY, R. J; BELL, S. J; EMMANUEL, A.V; KNIGHT, S. C; KAMM, M. A; STAGG, A. J. Characteristics of intestinal dendritic cells in inflammatory bowel disease. **Gastroenterology**, [S.l.], v.129, n.1, p.50–65, 2005.

HARVEY, C. E. Cavidade oral. In: CHANDLER, E. A; GASKELL, C. J; GASKELL, R. M. **Clínica e Terapêutica em felinos**. São Paulo: Roca, 2006. p.312-325.

HEALEY, K. A; DAWSON, S; BURROW, R; CRIPPS, P; GASKELL, C. J; HART, C. A; PINCHBECK, G. L; RADFORD, A. D; GASKELL, R. M. Prevalence of feline chronic gingivostomatitis in first opinion veterinary practice. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, [S.l.], v.9, n.5, p.373–381, 2007.

HEILMANN, R. M; SUCHODOLSKI, J. S. Is inflammatory bowel disease in dogs and cats associated with a Th1 or Th2 polarization? **Veterinary Immunology and Immunopathology**, [S.l.], v.168, n.3, p.131-134, 2015.

HELIO, T; HALME, L; LAPPALAINEN, M. CARD15/NOD2 gene variants are associated with familiarly occurring and complicated forms of Crohn's disease. **Gut**, [S.l.], v.52, n.4, p.558-562, 2003.

HENNET, P. Chronic gingivo-stomatitis in cats: long-term follow-up of 30 cases treated by dental extractions. **Journal of Veterinary Dentistry**, [S.l.], v.14, n.1, p.15–21, 1997.

HENNET, P. Relationship between oral calicivirus and herpesvirus carriage and “palatoglossitis” lesions. In: ANNUAL VETERINARY DENTAL FORUM & WORD VETERINARY DENTAL CONGRESS, 9. 2005. Orlando. **Anais [...]** Orlando: Academy of Veterinary Dentistry, American Veterinary Dental College, American Veterinary Dental Society, 2005. 503 p.

HENNET, P. R; CAMY, G. A; MCGAHIE, D. M; ALBOUY, M. V. Comparative efficacy of a feline recombinant interferon omega in refractory cases of calici positive cats with caudal stomatitis: a randomised, multicentric controlled double blind study of 39 cats. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, [S.l.], v.13, n.8, p.577-587, 2011.

HILL, R. C; WINKLE, T. J. Acute necrotizing pancreatitis and acute suppurative pancreatitis in the cat: a retrospective study of 40 cases (1976–1989). **Journal Veterinary Internal Medicine**, [S.l.], v.7, n.1, p.25–33, 1993.

HOVAV, A. H. Dendritic cells of the oral mucosa. **Mucosal Immunology**, [S.l.], v.7, n.1, p.27-37, 2014.

HUIBREGTSE, I. L; VAN LENT, AU; VAN, DEVENTER, S. J. H. Immunopathogenesis of IBD: insufficient suppressor function in the gut? **Gut**, [S.l.], v.56, n.4, p.584-592, 2007.

IVANOV, I.; ATARASHI, K.; MANEL, N. Induction of intestinal Th17 cells by segmented filamentous bacteria. **Cell**, v. 139, n. 3, p. 485–498, 2009.

JANECZKO, S. et al. The relationship of mucosal bacteria to duodenal histopathology, cytokine mRNA, and clinical disease activity in cats with inflammatory bowel disease. **Veterinary Microbiology**, [S.l.], v.128, n.1, p.178- 193, 2008.

JAREÑO, E. J; BOSCH-MORELL, F; FERNÁNDEZ-DELGADO, R; DONAT, J; ROMERO, F. J. Serum malondialdehyde in HIV-seropositive children negatively correlates with CD4+ lymphocyte count. **Biofactors**, [S.l.], v.8, n.1, p.129–132, 1998.

- JENNINGS, M. W; LEWIS, J. R; SOLTERO-RIVERA, M. M; BROWN, D. C; REITER, A. M. Effect of tooth extraction on stomatitis in cats: 95 cases (2000-2013). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, [S.l.], v.246, n.6, p.654–660, 2015.
- JERGENS, A. E; CRANDELL, J. M; EVANS, R; ACKERMANN, MILES K. G; WANG, C. A clinical index for disease activity in cats with chronic enteropathy. **Journal Veterinary Internal Medicine**, [S.l.], v.24, n.5, p.1027–1033, 2010.
- JERGENS, A. E. Feline idiopathic inflammatory bowel disease: what we know and what remains to be unraveled. **Journal Feline Medicine and Surgery**, [S.l.], v.14, n.7, p.445–458, 2012.
- JOHNSTON, K. L; SWIFT, N. C; FORSTER-VAN, H. M; RUTGERS, H. C; LAMPORT, A; BALLEVRE, O; BATT, R. M. Comparison of the bacterial flora of the duodenum in healthy cats and cats with signs of gastrointestinal tract disease. **Journal American Veterinary Medical Association**, [S.l.], v.218, n.1, p.48–51, 2001.
- JOHNSTON, N. An updated approach to chronic feline gingivitis stomatitis syndrome. **Veterinary Practice**, [S.l.], v.44, p.34-38, 2012.
- KAMADA, N; HISAMATSU, T; OKAMOTO, S; CHINEN, H; KOBAYASHI, T; SATO, T; SAKURABA, A; KITAZUME, M. T; SUGITA, A; KOGANEI, K; AKAGAWA, K. S; HIBI, T. Unique CD14 intestinal macrophages contribute to the pathogenesis of Crohn disease via IL-23/IFN- γ axis. **The Journal of Clinical Investigation**, [S.l.], v.118, n.6, p.2269–2280, 2008.
- KAMBE, N; OKABE, R; OSADA, H; OGAWA, M; KISHIMOTO, M; FUKUSHIMA, R; KONDO, H; OHMORI, K. A case of feline gastrointestinal eosinophilic sclerosing fibroplasia limited to the mesentery. **Journal of Small Animal Practice**, [S.l.], v.61, n.1, p.64-67, 2020.
- KATHRANI, A; HOUSE, A; CATCHPOLE, B; MURPHY, A; GERMAN, A; WERLING, D. Polymorphisms in the TLR4 and TLR5 gene are significantly associated with inflammatory bowel disease in German Shepherd dogs. **PLoS One**, [S.l.], v.5, n.12, 2010.
- KATHRANI, A; LEE, H; WHITE, C; CATCHPOLE, B; MURPHY, A; GERMAN, A; WERLING, D; ALLENSPACH, K. Association between nucleotide oligomerisation domain two (Nod2) gene polymorphisms and canine inflammatory bowel disease. **Veterinary Immunology Immunopathology**, [S.l.], v.15, n.161, p.32-41, 2014.
- KATO, Y; FUJISAWA, T; NISHIMORI, H; KATSUMATA, H; ATSUTA, J; IGUCHI, K; KAMIYA, H. Leukotriene D4 induces production of transforming growth factor- beta1 by eosinophils. **International Archives of Allergy and Immunology**, [S.l.], v.137, n.1, p.17-20, 2005.
- KHALILI, H; CHAN, S; LOCHHEAD, P; ANANTHAKRISHNAN, A. N; HART, A. R; CHAN, A. T. The role of diet in the aetiopathogenesis of inflammatory bowel disease. **Nature Reviews Gastroenterology Hepatology**, [S.l.], v.15, n.8, p.525- 535, 2018.
- KLEINSCHMIDT, S; HARDER, J; NOLTE, I; MARSILIO, S; HEWICKER-TRAUTWEIN, M. Chronic inflammatory and non-inflammatory diseases of the gastrointestinal tract in cats:

diagnostic advantages of full-thickness intestinal and extraintestinal biopsies. **Journal Feline Medicine and Surgery**, [S.l.], v.12, n.2, p.97-103, 2010.

KLEINSCHMIDTAR, S; HARDER, J; NOLTE, I; MARSILIO, S; HEWICKER-TRAUTWEIN, M. Phenotypical characterization, distribution and quantification of different mast cell subtypes in transmural biopsies from the gastrointestinal tract of cats with inflammatory bowel disease. **Veterinary Immunology Immunopathology**, [S.l.], v.137, n.3, p.190-200, 2010.

KNOWLES, J. O; MCARDLE, F; DAWSON, S; CARTER, S. D; GASKELL, C. J; GASKELL, R. M. Studies on the role of feline calicivirus in chronic stomatitis in cats. **Veterinary Microbiology**, [S.l.], v.27, n.3, p.205-219, 1991.

KOCH, R. E; HILL, G. E. An assessment of techniques to manipulate oxidative stress in animals. **Functional Ecology**, [S.l.], v.31, p.9-21, 2017.

KUCER, N; MATIJATKO, V; KIS, I; GRDEN, D. White blood cell count and neutrophil to lymphocyte ratio in uncomplicated and complicated canine babesiosis caused by *Babesia canis canis*. **Veterinarski Arhiv**, [S.l.], v.78, p.321-330, 2008.

KUGA, K; NISHIFUJI, K; IWASAKI, T. Cyclosporine A inhibits transcription of cytokine genes and decreases the frequencies of IL-2 producing cells in feline mononuclear cells. **Journal of Veterinary Medical Science**, [S.l.], v.70, n.10, p.1011-1016, 2008.

KULLMANN, F. A; MCDONNELL, B. M; WOLF-JOHNSTON, A.S. Inflammation and Tissue Remodeling in the Bladder and Urethra in Feline Interstitial Cystitis. **Frontier in Systems Neuroscience**, [S.l.], v.8, p.12-58, 2018.

KWON, H. C; KIM, S. H; OH, S. Y; LEE, S; LEE, J. H; CHOI, H. J; PARK, K. J; ROH, M. S.; KIM, S. G; KIM, H. J; LEE, J. H. Clinical significance of pre-operative neutrophil to lymphocyte versus platelet-lymphocyte ratio in patients with operable colorectal cancer. **Biomarkers**, [S.l.], v.17, n.3, p.216-222, 2012.

LADLOW, J. F; DEMETRIOU, J. L. Urethra. In: **Langley-Hobbs feline soft tissue and general surgery**. Edinburgh: Saunders, 2014. p.433-446.

LARSEN, J. A. Risk of obesity in the neutered cat. **Journal Feline Medicine and Surgery**, [S.l.], v.19, n.8, p.779-783, 2017.

LEE, S. H; KWON, J. E; CHO, M. L. Immunological pathogenesis of inflammatory bowel disease. **Intestinal Research**, [S.l.], vv.16, n.1, p.26-42, 2018.

LEKCHAROENSUK, C; OSBORNE, C.A; LULICH, J. P. Epidemiologic study of risk factors for lower urinary tract diseases in cats. **Journal American Veterinary Medical Association**, [S.l.], v.218, n.9, p.1429- 35, 2001.

LEWIS, J; EZ, D; GRIFFITHS, A. M; LEE, D; BITTINGER, K; HOFFMAN, C; ALBENBERG, L; SINHA, R; COMPER, C; GILROY, E; NESSEL, L; GRANT, A; CHEHOUD, C; LI, H; WU, G. D; LEE, S. H; KWON, J.E; CHO, M. L. Immunological pathogenesis of inflammatory bowel disease. Intestine Resource Bushman, F.D.

Inflammation, antibiotics, and diet as environmental stressors of the gut microbiome in pediatric Crohn's disease. **Cell Host Microbe**, [S.l.], v.18, n.4, p.489–500, 2015.

LINTON, M; NIMMO, J. S; NORRIS, J. M; CHURCHER, R; HAYNES, S; ZOLTOWSKA, A; MALIK R. Feline gastrointestinal eosinophilic sclerosing fibroplasia: 13 cases and review of an emerging clinical entity. **Journal of Feline Medicine Surgery**, [S.l.], v.17, n.5, p.392-404, 2015.

LOCHER, C; TIPOLD, A; WELLE, M; BUSATO, A; ZURBRIGGEN, A; GRIOT-WENK, M. E. Quantitative assessment of mast cells and expression of IgE protein and mRNA for IgE and interleukin 4 in the gastrointestinal tract of control dogs and dogs with inflammatory bowel disease. **American Journal Veterinary Resident**, [S.l.], v.62, n.2, p.211–216, 2001.

LOMMER, M. J; VERSTRATE, F. J. M. Concurrent oral shedding of feline calicivirus and feline herpesvirus 1 in cats with chronic gingivostomatitis. **Oral Microbiology and Immunology**, [S.l.], v.18, n.2, p.131–134. 2003.

LOOS, B. G. Systemic markers of inflammation in periodontitis. **Journal of Periodontology**, [S.l.], v.76, p.2106-2115, 2005.

LYON, K. F. Gingivostomatitis. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, [S.l.], v.35, n.4, p.891–911, 2005.

MABBOTT, N. A; DONALDSON, D. S; OHNO, H; WILLIAMS, I. R; MAHAJAN, A. Microfold (M) cells: important immunosurveillance posts in the intestinal epithelium. **Mucosal Immunology**, [S.l.], v.6, n.4, p.666–677, 2013.

MACFARLANE, L; MORRIS, J; PRATSCHKE, K; MELLOR, D; SCASE, T; MACFARLANE, M; MCLAUCHLAN, G. Diagnostic value of neutrophil–lymphocyte and albumin–globulin ratios in canine soft tissue sarcoma. **Journal of Small Animal Practice**, [S.l.], v.57, n.3, p.135–141, 2016.

MACHADO, V. S. et al. Oxidative stress and inflammatory response biomarkers in dogs with mammary carcinoma. **Pathology - Research and Practice**, [S.l.], v.211, n.9, p.677–681, 2015

MACOTPET, A. et al. Oxidative stress in cancer-bearing dogs assessed by measuring serum malondialdehyde. **BMC Veterinary Research**, [S.l.], v.9, n.1, p.1–6, 2013.

MACPHAIL, C. M. Surgery of the Bladder and Urethra. In: FOSSUM, T. W. **Small Animal Surgery**. 4.ed. Missouri: Elsevier, 2013. p.747-756.

MARCHIANDO, A. M; SHEN, L; GRAHAM, W. V; WEBER, C. R; SCHWARZ, B. T; AUSTIN, J. R; 2ND, RALEIGH, D. R; GUAN, Y; WATSON, A. J; MONTROSE, M. H; TURNER, J. R. Caveolin-1-dependent occludin endocytosis is required for TNF-induced tight junction regulation in vivo. **The Journal of Cell Biology**, [S.l.], v.189, n.1, p.111–126, 2010.

MARSILIO, S; KLEINSCHMIDT, S; NOLTE, I; HEWICKER-TRAUTWEIN, M. Immunohistochemical and morphometric analysis of intestinal full-thickness biopsy samples from cats with lymphoplasmacytic inflammatory bowel disease. **Journal Comparative**

Pathology, [S.l.], v.150, n.4, p.416-423, 2014.

MARSILIO, S; STEINER, J. Feline Chronic Enteropathies. **European Journal Comparative and Practice**, [S.l.], v.25, n.3, p.78-93, 2015.

MATILDE, K. S; LOURENÇO, M. L. G; ZAHN, F. S; MACHADO, L. H. A. Complexo gengivite estomatite felina: Revisão de Literatura. **Medicina Veterinária e Zootecnia**, [S.l.], v.20, p.160-70, 2013.

MCCLOUGHLIN, M. A. Surgical emergencies of the urinary tract. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, [S.l.], v.30, n.3, p.581-601, 2000.

MCCMAHON, L. A; HOUSE, A. K; CATCHPOLE, B; ELSON-RIGGINS, J; RIDDLE, A; SMITH, K; WERLING, D; BURGNER, I. A; ALLENSPACH, K. Expression of Toll-like receptor 2 in duodenal biopsies from dogs with inflammatory bowel disease is associated with severity of disease. **Veterinary Immunology Immunopathology**, [S.l.], v.135, n.1-2, p.158-163, 2010.

MEANS, R. T. Pathogenesis of the anemia of chronic disease: A cytokine-mediated anemia. **Stem Cells**, v.13, n.1, p.32-37, 1995.

MEDDINGS, J. B; SWAIN, M. G. Environmental stress-induced gastrointestinal permeability is mediated by endogenous glucocorticoids in the rat. **Gastroenterology**, [S.l.], v.119, n.4, p.1019-1028, 2000.

MIHALJEVIC, S. Y. First clinical experiences with omega-Interferon in the treatment of chronic gingivitis- stomatitis-oropharyngitis of cats. **Der Praktisch Tierarzt**, [S.l.], v.5, p.350-361; 2003.

MILGRAM, J. D; HAMAIDE, A. Feline perineal urethrostomy. In: **Griffon, Complication in Small Animal Surgery**. Canada: Wiley Blackwell, 2016. p.500-503.

MINAMOTO, Y; HOODA, S; SWANSON, K. S; SUCHODOLSKI, J. S. Feline gastrointestinal microbiota. **Animal Health Research Reviews**, [S.l.], v.13, n.1, p.64-77, 2012.

MOSCA, A; LECLERC, M; HUGOT, J. P. Gut microbiota diversity and human diseases: should we reintroduce key predators in our ecosystem?. **Frontiers in Microbiology**, [S.l.], v.7, n.455, 2016.

MOUTSOPOULOS, N. M; KONKEL, J. E. Tissue-Specific immunity at the oral mucosal barrier. **Trends in Immunology**, [S.l.], v.39, n.4, p.276-287, 2018.

MUNDAY, J; MARTINEZ A; SOO, M. A case of feline gastro-intestinal eosinophilic sclerosing fibroplasia mimicking metastatic neoplasia. **The New Zealand Veterinary Journal**, [S.l.], v.62, p.356-360, 2014.

NEURATH, M. F; FINOTTO, S; GLIMCHE, L.H. The role of Th1/Th2 polarization in mucosal immunity. **Nature Medicine**, [S.l.], v.8, n.6, p.567-573, 2002.

- NGUYEN, V. N; TAGLINGER, K; HELPS, C. R; TASKER, S; GRUFFYDD-JONES, T. J; DAY, M. J. Measurement of cytokine mRNA expression in intestinal biopsies of cats with inflammatory enteropathy using quantitative real-time RT-PCR. **Veterinary Immunology Immunopathology**, [S.l.], v.113, n.3, p. 404-414, 2006.
- NI, J; WU, G. D; ALBENBERG, L; TOMOV, V. T. Gut microbiota and IBD: causation or correlation? **Nature Review Gastroenterology Hepatology**, [S.l.], v.14, n.10, p.573-584, 2017.
- NIZA, M. M. R. E; MESTRINHO, L. A; VIELA, C. L. Gengivo-estomatite crônica felina – um desafio. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, [S.l.], v.99, p.127-25, 2004.
- NORSWORTHY, G. D; SCOT, E. J; KIUPEL, M; OLSON, J. C; GASSLER, L. N. Diagnosis of chronic small bowel disease in cats: 100 cases (2008-2012). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, [S.l.], v.243, n.10, p.1455-1461, 2013.
- NOVAK, N; HABERSTOK, J; BIEBER, T; ALLAM, J. P. The immune privilege of the oral mucosa. **Trends in Molecular Medicine**, [S.l.], v.14, p.191–198, 2008.
- NYE, A. K; LUTHER, J. K. Feline Perineal Urethrostomy: a review of past and present literature. **Topics in Companion Animal Medicine**, [S.l.], v.33, n.3, p.77-82, 2018.
- OSBORNE, C. A; CAYWOOD, D. D; JOHNSTON, G. R; POLZIN, D. J; LULICH, J. P; KRUGER, J. M. Perineal urethrostomy versus dietary management in prevention of recurrent lower urinary tract disease. **Journal of Small Animal Practice**, [S.l.], v.32, p.296-305, 1991.
- OSBORNE, C. A; CAYWOOD, D. D; JOHNSTON, G. R; POLZIN, D. J; LULICH, J. P; KRUGER, J. M; ULRICH, L. K. Feline perineal urethrostomy a potential cause of Feline Lower Urinary Tract Disease. **The Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice**, [S.l.], v.26, n.3, p.535-549, 1996.
- OTTENJANN, M; WEINGART, C.; ARNDT, G.; KOHN, B. Characterization of the anemia of inflammatory disease in cats with abscesses, pyothorax, or fat necrosis. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, [S.l.], v.20, n.5, p.1143–1150, 2006.
- PACKEY, C. D; SARTOR, R. B. Commensal bacteria, traditional and opportunistic pathogens, dysbiosis and bacterial killing in inflammatory bowel diseases. **Current Opinion in Infectious Diseases**, [S.l.], v.22, n.3, p.292–301, 2009.
- PARK J. H; PEYRIN-BIROULET L; EISENHUT M; SHIN, J. I. IBD immunopathogenesis: A comprehensive review of inflammatory molecules. **Autoimmunity Reviews**, [S.l.], v.16, n.4, p.416-426, 2017.
- PASCUAL, V; DIELI-CRIMI, R; LÓPEZ-PALACIOS, N; BODAS, A; MEDRANO, L. M; NÚÑEZ, C. Inflammatory bowel disease and celiac disease: Overlaps and differences. **World Journal Gastroenterology**, [S.l.], v.20, p.17, p.4846-4856, 2014.
- PEJLER, G; ABRINK, M; RIGVALL, M; WERNESSON, S. Mast cell proteases. **Advances in Immunology**, [S.l.], v.95, p.167–255, 2007.

- PERRY, R; TUFF, C. Periodontal disease and cats, back to basics- with an eye on the future. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, [S.l.], v.17, n.1, p.45-65, 2015.
- POSUL, E; YILMAZ, B; AKTAS, G; KURT, M. Does neutrophil-to-lymphocyte ratio predict active ulcerative colitis?. **Wiener Klinische Wochenschrift**, [S.l.], v.127, n.7, p.262–265, 2015.
- PRESSLER, B. M. Clinical Approach to Advanced Renal Function Testing in Dogs and Cats. **The Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice**, [S.l.], v.43, n.6, p.1193-1208, 2013.
- PRZYWARA, J; BYRON, J; BENNETT, R. A; HAM, K; GREENFIELD, C. L; STEELE, K. Prepubic urethrostomy and vaginoplasty in a female cat. **Journal of the American Animal Hospital Association**, [S.l.], v.46, n.6, p.439–443, 2010.
- QUIMBY, J. M; ELSTON, T; HAWLEY, J; BREWER, M; MILLER, A; LAPPIN, M. R. Evaluation of the association of Bartonella species, feline herpesvirus 1, feline calicivirus, feline leukemia virus and feline immunodeficiency virus with chronic feline gingivostomatitis. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, [S.l.], v.10, n.1, p.66–72, 2008.
- RECHE JUNIOR, A.; HAGIWARA, M. K. Semelhanças entre a doença idiopática do trato urinário inferior dos felinos e a cistite intersticial humana. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.34, n.1, p.315-321, 2004.
- REITER, A. M; SOLTERO-RIVERA, M. M. Applied Feline Oral Anatomy and Tooth Extraction Techniques: An illustrated guide. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, [S.l.], v.16, n.11, p.900–913, 2014.
- REJEC, A; BUTINAR, J; GAWOR, J; PETELIN, M. Evaluation of Complete Blood Count Indices (NLR, PLR, MPV/PLT, and PLCRi) in Healthy Dogs, Dogs With Periodontitis, and Dogs With Oropharyngeal Tumors as Potential Biomarkers of Systemic Inflammatory Response. **Journal of Veterinary Dentistry**, [S.l.], v.34, n.4, p.231–240, 2017.
- RESCIGNO, M; DISABATINO, A. Dendritic cells in intestinal homeostasis and disease. **Journal Clinic Investigative**, [S.l.], v.119, n.9, p.2441–2450, 2014.
- RICHARD, M. L; LAMAS, B; LIGUORI, G; HOFFMANN, T.W; SOKOL, H. Gut fungal microbiota: the Yin and Yang of inflammatory bowel disease. **Inflammatory Bowel Disease**, [S.l.], v.21, n.3, p.656–665, 2015.
- RISHNIW, M; BICALHO, R. Factors affecting urine specific gravity in apparently healthy cats presenting to first opinion practice for routine evaluation. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, [S.l.], v.17, n.4, p.329-337, 2015.
- ROBSON, M; CRYSTAL, M. A; CRYSTAL, M. A; GRACE, S. F; TILLEY, L. P. (Eds.) Gingivitis-stomatitis-pharyngitis. In: **NORSWORTHY The Feline Patient**. Iowa, EUA: Blackwell Science Ltd, 2011. p.199-201.
- ROBAIN, G; COMBRISSE, H; MAZIERES L. Bladder response to urethral flow in the awake ewe. **Neurourology Urodynamics**, [S.l.], v.20, p.641–649. 2001.

ROCCABIANCA, P; WOO, J. C; MOORE, P. F. Characterization of the diffuse mucosal associated lymphoid tissue of feline small intestine. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, [S.l.], v.75, n.1, p.27-42, 2000.

ROLIM, V. M; PAVARINI, S. P; CAMPOS, F. S; PIGNONE, V; FARACO, C; MUCCILLO, M. S; ROEHE, P. M; DA COSTA, F. V; DRIEMEIER, D. Clinical, Pathological, Immunohistochemical and Molecular Characterization of Feline Chronic Gingivostomatitis. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, [S.l.], v.19, n.4, p.403–409, 2017.

RUDA, L; HEIENE, R. Short- and long-term outcome after perineal urethrostomy in 86 cats with feline lower urinary tract disease. **Journal of Small Animal Practice**, [S.l.], v.53, n.12, p.693-698, 2012.

SABATTINI, S; GIANTIN, M; BARBANERA A; ZORRO SHAHIDIAN L; DACASTO M; ZANCANELLA, V; BETTINI G. Feline intestinal mast cell tumours: clinicopathological characterisation and KIT mutation analysis. **Journal of Feline Medicine Surgery**, [S.l.], v.18, n.4, p.280-289, 2016.

SAEVIK, B. K; TRANGERUD, C; OTTESEN, N; SORUM, H; TTIR, A. V. E. Causes of lower urinary tract disease in Norwegian cats. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, [S.l.], v.13, p.410- 417, 2011.

SCHNAUB, F; HANISCH F; BURGNER I. A. Diagnosis of feline pancreatitis with SNAP fPL and Spec fPL. **Journal of Feline Medicine Surgery**, [S.l.], v.21, n.8, p.700-707, 2019.

SEGEV, G; LIVNE, H; RANEN, E; LAVY, E. Urethral obstruction in cats: predisposing factors, clinical, clinicopathological characteristics and prognosis. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, [S.l.], v.13, p.101-108, 2011.

SEITZ, M; CREDON, J; DROBATZ, K. J. Evaluation for association between indwelling urethral catheter placement and risk of recurrent urethral obstruction in cats. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, [S.l.], v.252, n.12, p.1509-1520.

SILVA, C. A; CUNHA, S. C. S; SOUZA, H. J. M; JESUS, A. C; FERREIRA, A. M. R. Clinical, Ultrasonographic and Histopathological Findings of Gastrointestinal Disorders in Cats. **Acta Scientiae Veterinariae**, [S.l.], v.46, p.1-6, 2018.

SILVA, E. B; BABO, A. M. S; CORREA, J. M. X; LAVOR, M. S. L. Correção de estenose uretral após uretrostomia em gato – Relato de caso. **Veterinária e Zootecnia**, [S.l.], v.24, n.3, p.504-508, 2017.

SLATER, M. R; PAILLER, S; GAYLE, J. M; COHEN, I; GALLOWAY, E. L; FRANK, K. A; DECLEMENTI, C. Welfare of cats 5–29 months after perineal urethrostomy: 74 cases (2015–2017). **Journal of Feline Medicine and Surgery**, [S.l.], v.22, n.6, p.582–588, 2020.

SMITH, C. W. Perineal urethrostomy. **The Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice**, [S.l.], v.32, n.4, p.917-925, 2002.

SMITH, P; HOWIT, M.R; PANIKOV, N; MICHAUD, M; GALLINI, C.A; BOHLOOLY,

Y.M; GLICKMAN, Y; GLICKMAN, J. N; GARRETT, W.S. The microbial metabolites, short-chain fatty acids, regulate colonic Treg cell homeostasis. **Science**, [S.l.], v.341, n.6145, p.569–573, 2013.

SNARSKA, A. et al. Evaluation of clinical signs and causes of lower urinary tract disease in Polish cats. **Veterinarni Medicina**, [S.l.], v.62, n.7, p.386-393, 2017.

SOKOL, H; LEDUCQ, V; ASCHARD, H; PHAM, H.P; JEGOU, S; LANDMAN, C; COHEN, D; LIGUORI, G; BOURRIER, A; NION-LARMURIER, I; COSNES, J; SEKSIK, P; LANGELLA, P; SKURNIK, D; RICHARD, L.M; BEAUGERIE, L. Fungal microbiota dysbiosis in IBD. **Gut**, [S.l.], v.66, n.6, p.1039–1048, 2016.

SOUSA-FILHO, R. P; SAMPAIO, K. O; ROCHA, M. A; CASTRO, B. K. L; OLIVEIRA, A. T. C; LOPES-NETO, B. E; NUNES- PINHEIRO, D. C. S. A relação entre microbiota intestinal e células do sistema imune no desenvolvimento da doença inflamatória intestinal em gatos: uma revisão. **Pubvet**, [S.l.], v.14, n.6, p.135, 2020.

SOUTHERDEN, P; GORREL, C. Treatment of a case of refractory feline chronic gingivostomatitis with feline recombinant interferon Omega. **The Journal of Small Animal Practice**, [S.l.], v.48, n.2, p.104–106, 2007.

SPARKES, A. H. et al. ISFM consensus guidelines on the diagnosis and management of feline chronic kidney disease. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, [S.l.], v.18, n.30, p.219-239, 2016.

STOKES, C; WALY, N. Mucosal defence along the gastrointestinal tract of cats and dogs. **Veterinary Research**, [S.l.], v.37, n.3, p.281-293, 2006.

SUCHODOLSKI, J. S. Diagnosis and interpretation of intestinal dysbiosis in dogs and cats. **The Veterinary Journal**, [S.l.], v.215, p.30-37, 2016.

SUCHODOLSKI, J. S; MORRIS, E. K; ALLENSPACH, K; JERGENS, A. E; HARMOINEN, J. A; WESTERMARCK, E. Prevalence and identification of fungal DNA in the small intestine of healthy dogs and dogs with chronic enteropathies. **Veterinary Microbiology**, v. 132, n. 3, p. 379–388, 2008.

SUMMERS, C; RANKIN, S. M; CONDLIFFE, A. M; SINGH, N; PETERS, A. M; CHILVERS, E. R. Neutrophil kinetics in health and disease. **Trends In Immunology**, [S.l.], v.31, n.8, p.318-324, 2010.

SUN, Y; CHAI, T. C. Up-regulation of P2X3 receptor during stretch of bladder urothelial cells from patients with interstitial cystitis. **Journal Urology**, [S.l.], v.171, p.448–452, 2004.

SUZUKI, M; ONCHI, M; OZAKI, M. A. Case of Feline Gastrointestinal Eosinophilic Sclerosing Fibroplasia. **Journal of Toxicologic Pathology**, [S.l.], v.26, n.1, p.51-53, 2013.

SWAN, M. P; HICKMAN, D. L. Evaluation of the neutrophil-lymphocyte ratio as a measure of distress in rats. **Laboratory Animals**, [S.l.], v.43, n.8, p.276-282, 2014.

SYME, H. M. Proteinuria in cats. Prognostic marker or mediator?. **Journal of Feline**

Medicine and Surgery, [S.l.], v.11, n.3, p.211-218, 2009.

TAMS, T. R. Doenças crônicas do intestino delgado. In: **Gastroenterologia de pequenos animais**. 2.ed. São Paulo: Roca, 2005. p.207-245.

TENORIO, A. P; FRANTI, C. E; MADEWELL, B. R; PEDERSEN, N. C. Chronic oral infections of cats and their relationship to persistent oral carriage of feline calici-, immunodeficiency, or leukemia viruses. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, [S.l.], v.29, n.1, p.1–14, 1991.

THEYSE, L. F. H; LOGAN, E. I; PICA VET, P. Partial extraction in cats with gingivitis-stomatitis-pharyngitis- complex – Beneficial effects of a recovery food. **Livro de resumoshill's european symposium on oral care**, Amesterdã, p.64-65; 2003.

THIEME M. E; OLSEN A. M; WOOLCOCK A. D; MILLER M. A; SIMONS M. C. Diagnosis and management of a case of retroperitoneal eosinophilic sclerosing fibroplasia in a cat. **Journal of Feline Medicine Surgery**, [S.l.], v.5, n.2, p.1-7, 2019.

TILLEY, L. P; SMITH, J. R. FWK. **Consulta veterinária em 5 minutos**. São Paulo: Manole, 2003.

TRANGERUD, C; OTTESEN, N; EGGERSTDO, A.V. Causes of lower urinary tract disease in Norwegian cats. **Journal of Feline Medicine Surgery**, [S.l.], v.13, n.6, p.410–417, 2011.

TREPANIER, L. Idiopathic inflammatory bowel disease in cats: rational treatment selection. **Journal of Feline Medicine Surgery**, v. 11, n. 1, p. 32–38 2009.

WAGNER, J; MAKSIMOVIC, J; FARRIES, G; SIM, W. H; BISHOP, R. F; CAMERON, D. J; CATTO-SMITH, A. G; KIRKWOOD, C. D. Bacteriophages in gut samples from pediatric Crohn's disease patients: metagenomic analysis using 454 pyrosequencing. **Inflammatory Bowel Disease**, [S.l.], v.19, n.8, p.1598–1608, 2013.

WALY, N; GRUFFYDD-JONES, T. J; STOKES, C. R; DAY, M. J. The distribution of leucocyte subsets in the small intestine of healthy cats. **Journal Comparative Pathology**, [S.l.], v.124, p.2, p.172-182, 2001.

WALY, N. E; PETERS, I. R; DAY, M. J; STOKES, C. R; BAILEY, M; GRUFFYDD-JONES, T. J. Measurement of IL-12 (p40, p35), IL-23p19, and IFN- γ mRNA in duodenal biopsies of cats with inflammatory enteropathy. **Journal Veterinary Internal Medicine**, [S.l.], v.28, n.1, p.42-7, 2014.

WALY, N. E. et al. Immune cell populations in the duodenal mucosa of cats with inflammatory bowel disease. **Journal Veterinary Internal Medicine**, [S.l.], v.18, n.6, p.816–825, 2004.

WANG, H. W; TEDLA, N; LLOYD, A. R; WAKEFIELD, D; MCNEIL, P. H. Mast cell activation and migration to lymph nodes during induction of an immune response in mice. **Journal Clinical Investigative**, [S.l.], v.102, n.8, p.1617–1626, 1998.

WASHABAU, R. J. et al. ACVIM Consensus Statement: Endoscopic, biopsy, and

histopathologic guidelines for the evaluation of gastrointestinal inflammation in companion animals. **Journal Veterinary Internal Medicine**, [S.l.], v.24, p.10–26, 2009.

WEBB, C. B; LEHMAN, T. L; MCCORD, K.W. Effects of an oral superoxide dismutase enzyme supplementation on indices of oxidative stress, proviral load, and CD4:CD8 ratios in asymptomatic FIV-infected cats. **Journal of Feline Medicine Surgery**, [S.l.], v.10, n.5, p.423-30, 2008.

WEISSMAN, A; PENNINCK, D; WEBSTER, C; HECHT, S; KEATING, J; CRAIG, L. Ultrasonographic and clinicopathological features of feline gastrointestinal eosinophilic sclerosing fibroplasia in four cats. **Journal of Feline Medicine Surgery**, [S.l.], v.15, n.2, p.148-154, 2013.

WESTROPP, J. L; DIBARTOLA, S. P. Urinary tract disorders. In: NELSON, R. W; COUTO, C. G. **Small animal internal medicine**. 5.ed. Missouri: Elsevier, 2014. p.698-702.

WILLIAMS, J. Surgical management of blocked cats. Which approach and when?. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, [S.l.], v.11, n.1, p.14-22, 2009.

WILSON, G. P; HARRISON, J. W. Perineal urethrostomy in cats. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, [S.l.], v.159, n.12, p.1789-1793, 1971.

WINER, J. N.; ARZI, B.; VERSTRAETE, F. J. Therapeutic management of feline chronic gingivostomatitis: a systematic review of the literature. **Veterinary Science**, [S.l.], v.3, p.1-10, 2016.

XAVIER, R. J; PODOLSKY, D. K. Unraveling the pathogenesis of inflammatory bowel disease. **Nature**, [S.l.], v.448, p.427-434, 2007.

YU, S; PAETAU-ROBINSON, I. Dietary supplements of vitamins E and C and β -carotene reduce oxidative stress in cats with renal insufficiency. **Veterinary Research Communications**, [S.l.], v.30, n.4, p.403–413, 2006.

YURTDAS, M; YAYLALI, Y. T; KAYA, Y; OZDEMIR, M; OZKAN, I; ALADAĞ, N. Neutrophil to lymphocyte ratio may predict subclinical atherosclerosis in patients with psoriasis. **Echocardiograph**, [S.l.], v.31, p.1095-1104, 2015.

ZAHOREC, R. Ratio of neutrophil to lymphocyte counts - rapid and simple parameter of systemic inflammation and stress in critically ill. **Bratislavske Lekarske Listy**, [S.l.], v.102, n.1, p.5-14, 2001.

ANEXO A - INDICE DE ATIVIDADE DA GENGIVITE ESTOMATITE FELINA

INDICE DE ATIVIDADE DA GENGIVITE ESTOMATITE FELINA	0	1	2	3
Avaliação do tutor (apetite, atividade, “grooming”)				
Avaliação do tutor do bem-estar/ conforto				
Inflamação da mucosa bucal maxilar				
Inflamação da mucosa bucal mandibular				
Inflamação gengival maxilar				
Inflamação gengival mandibular				
Inflamação da glândula salivar molar				
Inflamação de fauceas (glossopalatino)				
Inflamação de orofaringe				
Lingual ou sublingual inflamação				
Total de score (max 30)				

Avaliação do tutor:

Apetite -0 – normal; 1- diminuição do apetite mas ainda come seca; 2- só úmida; 3- anorexia.

Atividade- 0- normal; 1- diminuída mas ainda mantém; 2- só se estimulado; 3- apatia

Grooming- 0- normal; 1- excessivo; 2- diminuído; 3- ausente (pêlos eriçados).

Avaliação do clínico:

Inflamações: 0- nenhuma; 1- mínima; 2- moderada; 3- severa

RETORNO: __/__/____

INDICE DE ATIVIDADE DA GENGIVITE ESTOMATITE FELINA	0	1	2	3
Avaliação geral do tutor				
Peso				
Inflamação da mucosa bucal maxilar				
Inflamação da mucosa bucal mandibular				
Inflamação gengival maxilar				
Inflamação gengival mandibular				
Inflamação da glândula salivar molar				
Inflamação de fauceas (glossopalatino)				
Inflamação de orofaringe				
Lingual ou sublingual inflamação				
Total de score (max 30)				

Avaliação geral do tutor- 0- melhora significativa; 1- pouca melhora; 2- sem melhoras; 3- piora

Peso- 0- ganho de $\geq 0,5$ kg; 1- ganho de $\geq 0,25$ kg; 2- ganho $< 0,25$ kg; 3- perdeu peso



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DO CEARÁ

Comissão de Ética para o Uso de Animais

Av. Silas Munguba, 1700 - Itaperi

CEP 60740-903 - fone 3101-9890

ceua.uece@uece.br - www.uece.br/ceua



GOVERNO DO
ESTADO DO CEARÁ
Secretaria de Ciência, Tecnologia
e Educação Superior

CERTIFICADO

Certificamos que o **Projeto de Pesquisa** intitulado "**Estudo da influência dos linfócitos Th-17 e a expressão de imunomediadores em amostras uretrais, orais e intestinais de gatos**" registrado sob o **6086326/2018**, tendo como pesquisador principal **Diana Célia Sousa Nunes Pinheiro**, está de acordo com os Princípios Éticos de Experimentação Animal, adotados pelo **Comitê de Ética para o Uso de Animais da Universidade Estadual do Ceará** (CEUA – UECE). Este certificado expira-se em 31 de dezembro 2020.

CERTIFICATE

We hereby certify that the Project entitled "**Estudo da influência dos linfócitos Th-17 e a expressão de imunomediadores em amostras uretrais, orais e intestinais de gatos**" registered with the protocol **6086326/2018** under the supervision of **Diana Célia Sousa Nunes Pinheiro** is in agreement with Ethical Principles in Animal Experimentation, adopted by the Ethics Committee in Animal Experimentation of Ceará State University (CEUA – UECE). This certificate will expire on December 31st, 2020.

RESUMO

Vigência do projeto	Agosto de 2018 a julho de 2020
Espécie/linhagem	Gato
Número de animais	30
Peso/idade	Não especificado
Sexo	Machos
Origem	Hospitais e clínicas veterinárias particulares

Fortaleza, 5 de dezembro de 2018.

Erivalda Farias de Aragão

Maria Erivalda Farias de Aragão
Presidente CEUA-UECE