

EFFICACIA DELL'OLIO DI SEMI DI RIBES NERO NELLA DERMATITE ATOPICA DEL CANE: UNO STUDIO IN DOPPIO CIECO CONTROLLATO DA PLACEBO

CHIARA NOLI, Dip ECVD
FABIA SCARAMPELLA, Dip. ECVD
Studio Dermatologico Veterinario, Milano

Riassunto

Gli acidi grassi essenziali della serie omega-3 e omega-6 hanno proprietà antiinfiammatorie in cani affetti da dermatite atopica. In particolare sembrano più efficaci prodotti contenenti un basso rapporto quantitativo tra omega-3 e omega-6 (1:5), o contenenti alte percentuali di acidi grassi biotrasformati (acido gammalinolenico, acido stearidonico, acido eicosapentanoico). L'olio di semi di ribes nero (Ribespet[®], N.B.F. Lanes, Milano) ha queste prerogative e, nel presente studio, ne è stata valutata l'efficacia in corso di dermatite atopica del cane. Trentuno cani atopici, non rispondenti a una prova con dieta privativa di 8 settimane, sotto rigoroso controllo delle pulci e non trattati con altri farmaci antiinfiammatori steroidei, antiistaminici o inibitori della degranolazione mastocitaria, sono stati assegnati in modo randomizzato a quattro gruppi. Al primo (n = 7 cani) è stato somministrato il placebo (acqua e zucchero), al secondo (n = 10) il prodotto attivo secondo i dosaggi proposti dalla ditta produttrice (50 mg/kg BID), al terzo (n = 7) e al quarto (n = 7) il prodotto al doppio e al triplo della dose, rispettivamente. Tutti gli animali sono stati trattati per 30 giorni. Il giorno 0 e il giorno 30 gli sperimentatori hanno valutato il prurito, l'eritema e le lesioni cutanee secondo una scala numerica, e la gravità generale della dermatite atopica secondo una scala visuale analogica. Degli animali trattati con l'olio di semi di ribes nero (n = 24) 17 (70,8%) hanno mostrato una risposta buona o eccellente (diminuzione dal 51 al 100% dei valori di gravità iniziali). Gli animali trattati con la dose normale hanno ottenuto un miglioramento di tutti i parametri superiore rispetto al gruppo trattato con placebo. Gli animali trattati con dose doppia o tripla non hanno mostrato miglioramenti superiori rispetto a quelli in cui si è utilizzata una dose normale. Questo studio suggerisce dunque che l'olio di semi di ribes nero può essere utile nel trattamento sintomatico della dermatite atopica del cane alla dose di 50 mg/kg BID, e che aumentare la dose non porta alcun vantaggio.

Summary

Omega-3 and omega-6 essential fatty acids have antiinflammatory properties in dogs affected by atopic dermatitis. In particular, products containing a low omega-3/omega-6 ratio (1:5) or high concentrations of biotransformed fatty acids (gammalinolenic acid, stearidonic acid, eicosapentaenoic acid) seem to be more effective. Blackcurrant seed oil (Ribespet[®], N.B.F. Lanes, Milano) has these features and in this study its efficacy was evaluated in dogs with atopic dermatitis. Thirtyone atopic dogs, not improving after 8 weeks of elimination diet, under rigorous flea control, and not treated with other antiinflammatory or antipruritic drugs, were randomly assigned to four groups. The animals in the first group (n=7) were administered a placebo (sugar syrup), those in the second group (n=10) the active ingredient following indications by the producing company (50 mg/kg BID), those in the third (n=7) and fourth (n=7) group the active ingredient at two and three fold the normal dosis, respectively. All animals were treated for 30 days. On day 0 and 30 the investigators evaluated pruritus, erythema and cutaneous lesions following a numerical scale, and the general gravity following a visual analogical scale. Of all animals treated with the active ingredient (n=24), 17 (70,8%) showed a good or excellent response (decrease of pre-treatment values between 51 and 100%). Animals treated with the active ingredient at a normal dose showed an improvement in all parameters evaluated, if compared to the dogs in the placebo group. Animals treated with double or triple dose did not show higher improvements if compared to those treated with the normal dose. This study suggests that blackcurrant seed oil may be helpful in the symptomatic treatment of canine atopic dermatitis at the dosis of 50 mg/kg BID, and that a dose increase does not give any particular advantage.

INTRODUZIONE

Gli acidi grassi essenziali (EFA) trovano impiego in dermatologia veterinaria in molte malattie, fra cui le affezioni pruriginose di natura allergica o idiopatica, il lupus eritematoso discoide, il granuloma eosinofilo felino, la seborrea secca, l'onicodistrofia lupoidale e il linfoma epiteliotropo. La grande mole di lavori pubblicati (oltre 50 negli ultimi 15 anni) riguarda però quasi esclusivamente il loro impiego nelle dermatopatie pruriginose e allergiche, dove si riporta un'efficacia degli EFA nel 10-60% degli animali trattati¹.

In particolare, è stato osservato che integrazioni contenenti un rapporto quantitativo tra acidi grassi della serie omega-3 e quelli della serie omega-6 pari o inferiore a 1:5², o contenenti alte percentuali di acidi grassi biotrasformati, quali l'acido gammalinolenico (GLA)³ o l'acido stearidonico, siano più efficaci per il trattamento delle affezioni cutanee.

L'olio di semi di ribes nero presenta un rapporto omega-3/omega-6 di 1:4 ed è particolarmente ricco di GLA e acido stearidonico, e si è dimostrato efficace nella terapia sintomatica del prurito in corso di dermatite atopica dell'uomo⁴. Nel cane l'uso dell'olio di semi di ribes nero in corso di atopìa è stato oggetto di poche comunicazioni aneddotiche, e non si conoscono studi pubblicati. Lo scopo della nostra ricerca era duplice: da un canto la valutazione dell'efficacia dell'olio di semi di ribes nero (Ribespet®, NBF Lanes, Milano) in corso di dermatite atopica del cane alla dose consigliata dalla ditta produttrice, estrapolata empiricamente dalla medicina umana, e dall'altra l'identificazione, mediante uno studio dose-risposta, della dose più efficace nella specie canina. Lo studio è stato condotto in doppio cieco controllato da placebo.

MATERIALI E METODI

Animali

Vennero selezionati 31 cani affetti da dermatite atopica, rispondenti ai criteri di Willemse⁵ per la diagnosi di questa malattia. Gli animali soffrivano di prurito non stagionale, avevano tutti terminato una dieta privativa di 8 settimane per la diagnosi di allergia alimentare con esito negativo, e presentavano tutti una o più positività al test intradermico allergometrico. I pazienti erano sottoposti a profilassi antipulci con fipronil (Frontline®, Merial) spot on o spray una volta al mese sia prima sia durante lo studio, e non erano stati trattati con antiistaminici, acidi grassi essenziali, inibitori della degranolazione mastocitaria o cortisonici per os nelle 2 settimane precedenti l'inizio dello studio, né con cortisonici iniettabili a deposito nelle precedenti 6 settimane.

Prodotto

Come prodotto attivo venne utilizzato l'olio di semi di ribes nero estratto a freddo e puro, come attualmente commercializzato in Italia (Ribespet®, NBF Lanes, Milano). Questo olio contiene per ogni grammo i seguenti acidi grassi: acido linoleico (LA) 440 mg, acido gammalinolenico (GLA) 164 mg, acido alfa-linolenico (ALA) 126 mg, acido stearidonico 29 mg, con un rapporto totale tra acidi grassi omega-6 e omega-3 di 4 a 1. Come antiossidante ogni grammo di prodotto contiene 1,86 mg di vitamina E.

Placebo

Il placebo era costituito da sciroppo di saccarosio, la cui consistenza mimava quella oleosa dell'olio di semi di ribes nero.

Procedure di randomizzazione e trattamento

Gli animali vennero assegnati in maniera randomizzata a uno dei quattro gruppi: gruppo 1, placebo (7 animali); gruppo 2, dose consigliata dalla ditta produttrice (50 mg/kg BID) (10 animali); gruppo 3, doppio della dose precedente (100 mg/kg BID) (7 animali); gruppo 4, triplo della dose consigliata (150 mg/kg BID) (7 animali). Le istruzioni sulla posologia venivano consegnate in busta chiusa ai proprietari insieme al prodotto. La dose indicata venne somministrata per 30 giorni consecutivi. Durante lo studio non vennero permessi altri trattamenti a carattere antiinfiammatorio, antipruriticco, antibiotico o antimicotico.

Valutazione

Vennero valutati prima della somministrazione (T0) e al trentesimo giorno di trattamento (T30) i parametri clinici prurito, eritema e lesioni per mezzo di una scala numerica da 0 a 3 (0=assente, 1=leggero, 2=medio, 3=grave) nelle sedi corporee testa, dorso, addome e arti, con l'ottenimento di un punteggio totale da 0 a 36 (3×3×4). La gravità complessiva venne inoltre valutata in percentuale secondo una scala visiva analogica, rappresentata da una barra orizzontale lunga 10 cm, su cui il ricercatore doveva apportare un segno perpendicolare, e dove l'apice sinistro equivaleva al valore minimo di gravità (0%) e quello destro al valore massimo (100%). I valori basali e finali sono stati confrontati per ogni animale e per ogni parametro di valutazione. Sono quindi stati confrontati i risultati degli animali trattati con placebo e di quelli che hanno assunto il principio attivo. Infine sono stati confrontati tra loro i risultati degli animali trattati con dosaggi differenti. Per l'analisi statistica dei risultati, effettuata per mezzo di analisi della varianza (ANOVA), sono stati utilizzati gli score di riduzione dei punteggi per i vari parametri.

RISULTATI

Trenta cani completarono lo studio, poiché un cane nel gruppo 1 (placebo), venne ritirato dalla sperimentazione a causa dell'insorgenza di diarrea.

Distribuzione dei rispondenti

Dei 24 animali trattati con l'olio, 7/24 (29,2%) non hanno risposto al trattamento, e 17/24 (70,8%) hanno mostrato risposta buona o eccellente (5/24, pari al 20,8%, hanno mostrato un miglioramento del 51-74% e 12/24, pari al 50%, sono migliorati del 75-100%) (Fig. 3).

Confronto fra animali trattati alla dose normale e placebo

Gli score di riduzione dei valori di eritema, prurito, lesioni e il loro totale negli animali trattati con placebo (gruppo 1, n=6) e con il principio attivo alla dose normale (gruppo 2, n=10), sono riportati nella Figura 1. I valori della scala visuale analogica si sono ridotti del 17,3% nel gruppo 1 (placebo) e del 28,2% nel gruppo 2 (dose normale). Tutti i parametri valutati in entrambi i gruppi sono diminuiti rispetto ai valori basali, con riduzione più consistente, nel gruppo trattato con il principio attivo.

Confronto fra animali trattati con la dose normale, doppia o tripla

Gli score di riduzione dei valori di eritema, prurito, lesioni e il loro totale negli animali trattati con dose normale (gruppo 2, n=10), con dose doppia (gruppo 3, n=7) e con dose tripla (gruppo 4, n=7) sono riportati nella Figura 2. I

valori della scala visuale analogica si sono ridotti del 28,2% nel gruppo 2 (dose normale), del 25,7% nel gruppo 3 (dose doppia) e del 25% nel gruppo 4 (dose tripla). Le riduzioni più importanti si sono ottenute nel gruppo trattato con la dose normale, tuttavia le differenze fra i gruppi non sono risultate statisticamente significative.

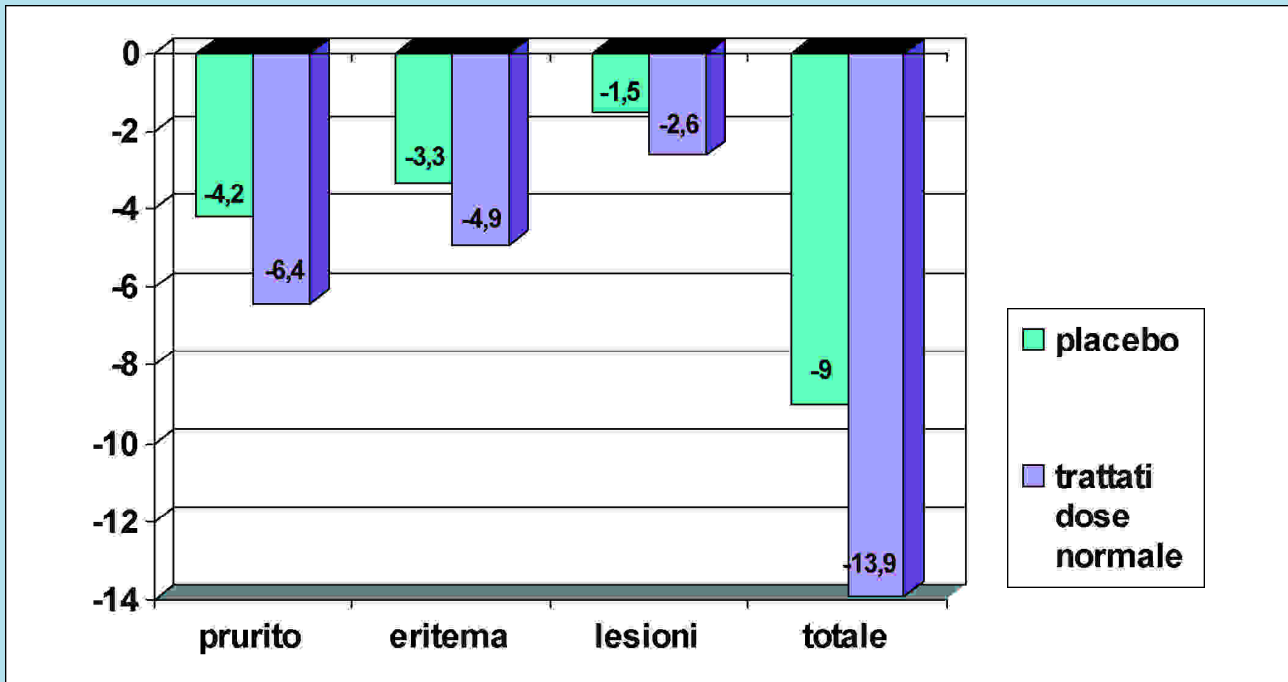


FIGURA 1 - Valori di riduzione del punteggio di gravità divisi per parametro e loro totale nel gruppo 1 (placebo, n=6) e nel gruppo 2 (animali trattati con dose normale, n=10).

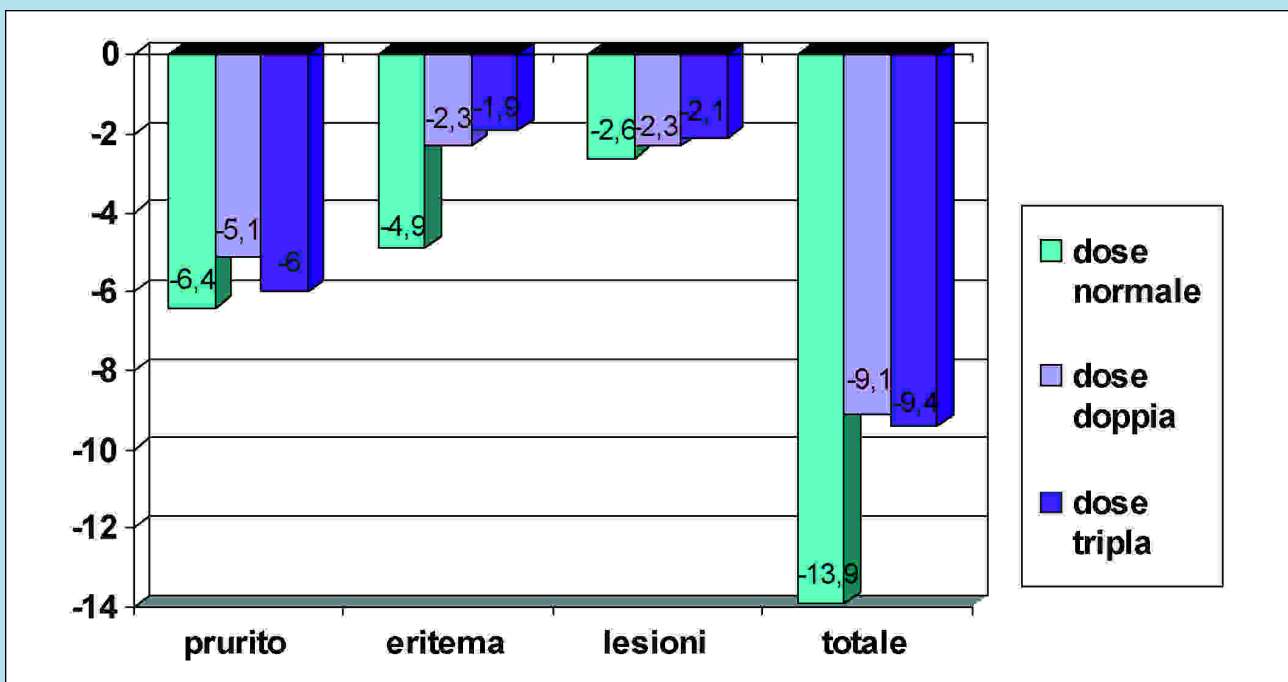


FIGURA 2 - Valori di riduzione del punteggio di gravità divisi per parametro e loro totale nel gruppo 2 (animali trattati con dose normale, n=10), nel gruppo 3 (animali trattati con dose doppia, n=7) e nel gruppo 4 (animali trattati con dose tripla, n=7).

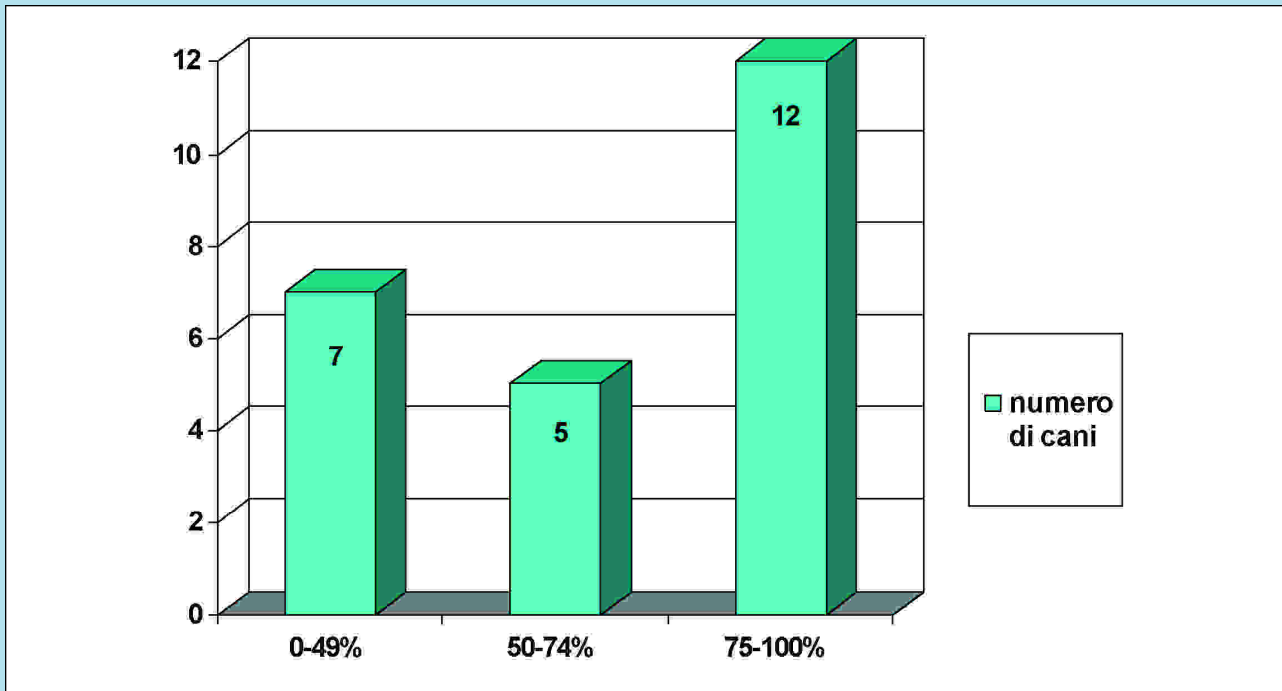


FIGURA 3 - Distribuzione degli animali trattati (n=24) a seconda della percentuale di miglioramento dei punteggi di gravità rispetto al valore basale.

Tempo di efficacia ed effetti collaterali

In tutti gli animali trattati i proprietari hanno riportato che il miglioramento, se presente, si è osservato dalla terza settimana di terapia.

Solo in un cane (gruppo 4, dose tripla) si è osservata la presenza di feci meno consistenti del normale, senza che si sia ritenuto necessario eliminare l'animale dallo studio.

DISCUSSIONE

Il beneficio degli acidi grassi essenziali (EFA) in dermatologia umana è noto da alcuni decenni^{3,6}, e dagli anni '80 questi prodotti sono stati introdotti anche in ambito veterinario^{1,7}. Gli effetti di queste molecole sulla cute sono numerosi, in particolare due sono considerati i più importanti. In primo luogo gli acidi grassi, e soprattutto l'acido linoleico (LA), sono costituenti importanti delle membrane cellulari dei cheratinociti, della parete dei corneociti epidermici e pilari, dei lipidi intercellulari e del film idrolipidico protettivo di superficie^{6,8}. Una loro carenza nel cane determina seborrea, mantello opaco e fragile^{9,10}; la loro supplementazione migliora notevolmente l'aspetto della cute e del mantello¹, e ne favorisce le funzioni protettive nei confronti dell'ambiente circostante.

In secondo luogo gli acidi grassi hanno un effetto antiinfiammatorio¹¹ e possono alleviare le manifestazioni di irritazione e ipersensibilità cutanea, incluso il prurito^{1,3,6,7}. Le modalità con cui espletano questa funzione sono diverse. Gli acidi grassi della serie omega-6 biotrasformati (dopo l'azione della delta-6-desaturasi), e cioè l'acido gammalinolenico (GLA) e diomogammalinolenico (DGLA) sono i precursori dell'acido arachidonico (AA), da cui derivano eicosanoidi pro-infiammatori (leucotrieni della serie 4 e prostaglandine della serie 2), ma anche di precursori di eicosanoidi

di antiinfiammatori (prostaglandine della serie 1) (Fig. 4). Poiché la produzione di AA è stabile e non aumenta con l'incremento del GLA, un'integrazione ricca di GLA e DGLA favorisce quindi la produzione di eicosanoidi antiinfiammatori^{3,12}. Inoltre, di derivazione da LA e da DGLA ci sono altri metaboliti (13-HODE e 15-HETrE) che svolgono un effetto inibitorio sulla produzione di leucotrieni infiammatori³. Anche gli acidi grassi della serie omega-3 biotrasformati, quali l'acido eicosapentanoico (EPA) e l'acido docosaesaenoico (DHA) hanno effetto antiinfiammatorio^{13,14}. Essi sono potenti competitori degli acidi grassi omega-6 per le delta-5 e delta-6 desaturasi, diminuendo la produzione di AA, inoltre competono con gli acidi grassi omega-6 (AA) per l'incorporazione nelle membrane cellulari e inibiscono la liberazione dell'AA dalle membrane da parte della fosfolipasi A2, diminuendo quindi la produzione di eicosanoidi infiammatori³. Infine, a loro volta, gli acidi grassi della serie omega-3 sono precursori di eicosanoidi antiinfiammatori, quali i leucotrieni della serie 5 (Fig. 4)^{3,12}.

Per questo studio è stato scelto l'olio di semi di ribes nero, poiché esso è l'unico che possiede due caratteristiche importanti per espletare un buon effetto antiinfiammatorio: un basso rapporto omega-6:omega-3 (4:1) e un alto contenuto di acidi grassi biotrasformati di entrambe le serie omega-3 e omega-6. Per massimizzare la sinergia di effetti antiinfiammatori delle due serie di acidi grassi è importante rispettare nell'integrazione un giusto rapporto omega-6/omega-3, che nell'uomo sano è stato valutato di 6:1¹⁵. Tuttavia nulla si sa del rapporto migliore nei soggetti affetti da dermatite atopica. Nel cane non è ancora perfettamente chiaro se sia più efficace la somministrazione di EFA omega-6, omega-3 o la combinazione di entrambi, e se così, in che proporzione. Vi sono infatti studi nel cane che riportano risultati contraddittori, fra cui alcune ricerche^{16,17}, che descrivono buoni risultati con l'olio di enotera (omega-6) da solo

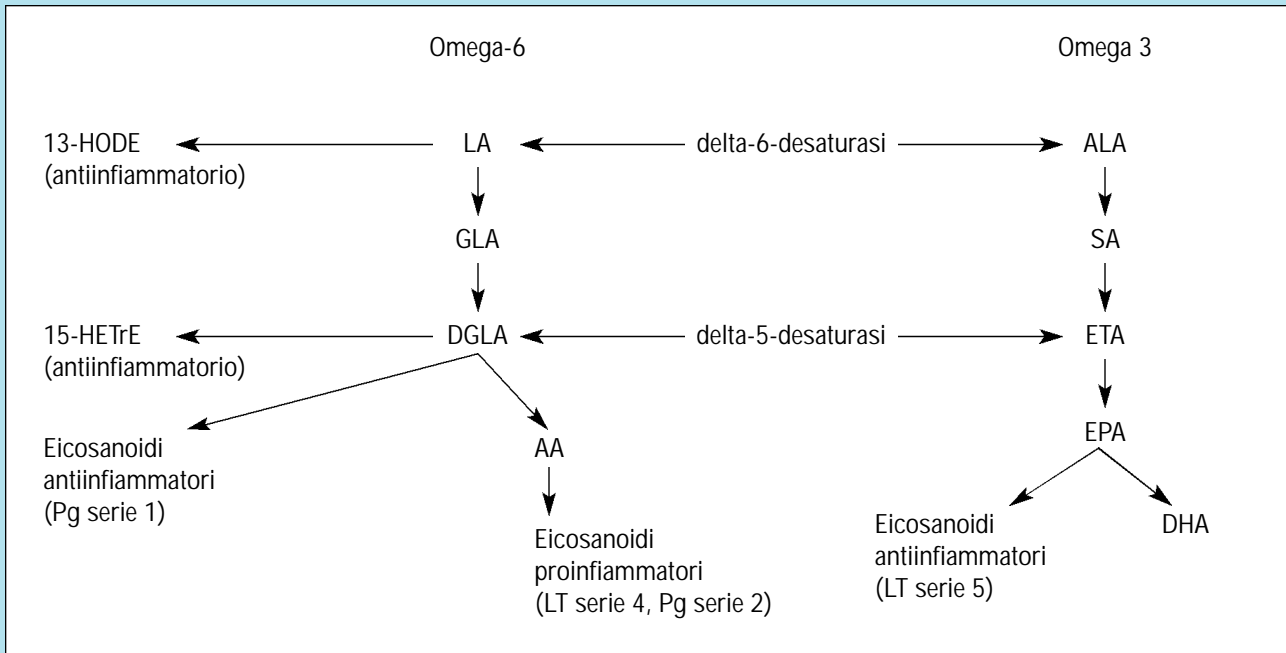


FIGURA 4 - Il metabolismo degli acidi grassi. LA: acido linoleico, GLA: acido gamma-linolenico, DGLA: acido diomogammalinolenico, AA: acido arachidonico, ALA: acido alfa-linolenico, SA: acido stearidonico, EPA: acido eicosapentanoico, DHA: docosaesaenoico, 15-HETrE: acido 15-idrossi-8,11,13-eicosatrienoico, 13-HODE: acido 13-idrossioctadecadienoico.

e uno studio di Logas¹⁴, che invece afferma di avere ottenuto risultati altrettanto buoni con l'olio di pesce (omega-3) da solo. Solo recentemente è stato stabilito che, similmente a quanto già accertato nell'uomo, nel cane Beagle il rapporto ottimale fra omega-6 e omega-3 nella dieta, per ottenere un effetto antiinfiammatorio nella cute, oscilla fra 5:1 e 10:1², simile dunque a quello dell'olio di semi di ribes nero.

Poiché nei carnivori domestici l'enzima delta-6-desaturasi è assente nella cute, ed è carente o poco efficiente a livello epatico¹¹, per ottenere l'effetto antiinfiammatorio desiderato è preferibile somministrare acidi grassi essenziali biotrasformati (ad esempio GLA ed acido stearidonico), che siano cioè già passati attraverso la sua azione enzimatica¹¹. Oltre tutto, anche a livello epatico la somministrazione di alte dosi di acido linoleico non porta ad un aumento di acido gammalinolenico, a causa di un blocco paradossale della delta 6 desaturasi^{3,18}. Il GLA somministrato anche ad alte dosi non aumenta la quantità del suo prodotto acido arachidonico (AA) e di eicosanoidi proinfiammatori, per la carenza nella cute anche della delta-5-desaturasi¹¹, ma, come già accennato, viene incorporato nei fosfolipidi e trigliceridi, con maggiore produzione di eicosanoidi antiinfiammatori. L'olio di semi di ribes nero è fra gli oli vegetali e animali fra i più ricchi di acidi grassi biotrasformati. Le sue potenzialità sono state sondate in numerosi studi metabolici e farmacologici¹⁸⁻²¹ e in uno studio clinico controllato su bambini atopici⁴. In quest'ultimo i pazienti trattati per 30 giorni con olio di semi di ribes nero (2 grammi/die sino a 2 anni di età e 4 grammi/die per quelli che superavano questa età) mostrarono un miglioramento clinico significativamente maggiore rispetto ai pazienti non trattati.

I risultati ottenuti nel presente studio sembrano confermare questi dati, e sono comparabili a ricerche simili effettuate sul cane con altri oli^{16,17,22,23}, anche se un aumento della durata di somministrazione del prodotto potrebbe forse da-

re risultati più significativi. Negli studi precedentemente pubblicati è emerso infatti che la somministrazione minima per ottenere risultati è di 3-6 settimane^{14,17,24}, che rappresenta probabilmente il tempo minimo per l'incorporazione degli EFA nelle membrane cellulari della cute. La velocità di incorporazione nelle membrane cellulari dipende dal tessuto: per quelli con turnover più veloce (piastrine) sono sufficienti trattamenti più corti, per tessuti con turnover più lento, come la cute, necessitano di trattamenti più duraturi²⁵. Studi che prevedono trattamenti troppo brevi (al di sotto delle 3 settimane) sono quindi poco significativi, tuttavia anche studi basati su somministrazioni molto prolungate (mesi) possono dare adito a dubbi, poiché è possibile che pazienti affetti da dermatite atopica stagionale vadano incontro a risoluzione spontanea quando termina la stagione critica.

Una dose giornaliera consigliata (RDA) per gli acidi grassi essenziali non è stata ancora determinata per l'uomo, poiché queste sostanze sono presenti in abbondanza nella nostra alimentazione e le carenze sono molto rare. Le linee guida suggeriscono per le persone dosaggi espressi in percentuale sulle calorie ingerite: 5-6% per gli omega-6 e 0,5-1% per gli omega-3¹⁵. Nonostante gli studi sull'utilizzo degli acidi grassi essenziali in dermatologia veterinaria siano numerosi, è difficile trarre da essi indicazioni sicure e dettagliate sui dosaggi più efficaci. Questo handicap è dovuto all'utilizzo di protocolli, prodotti, dosaggi e durata della somministrazione differenti e a volte poco chiari, di mancanza di standardizzazione della dieta di base, di mancanza di risultati statisticamente significativi e del numero esiguo di studi eseguiti in doppio cieco controllato e/o con *cross-over*. Nella maggior parte dei casi i dosaggi sono estrapolati da quelli utilizzati in medicina umana, che però mal si adattano agli animali domestici, poiché questi hanno indici metabolici differenti. Inoltre, la dose di integrazione degli acidi grassi essenziali deve tenere conto anche della quantità di queste sostanze ingerita con la dieta.

Nel nostro studio su campo, eseguito con animali appartenenti a privati, non era prevista la standardizzazione della dieta. Questa situazione riflette però più da vicino la realtà della pratica quotidiana, e fornisce dati sulle reali aspettative di successo con l'utilizzo di questo prodotto.

Il dosaggio scelto per questo studio, 50 mg/kg BID, è quello indicato dalla ditta produttrice e da uno studio pilota²⁶ e ricalca quello usato nello studio sulla dermatite atopica dei bambini⁴. È stato suggerito da alcuni autori^{27,28} che somministrare prodotti a base di acidi grassi essenziali a dosi elevate (sino dieci volte la dose consigliata) ne migliori l'effetto. I dati ottenuti in questo studio non sembrano confermare questa ipotesi, per lo meno per l'olio di semi di ribes nero utilizzato al doppio o al triplo della dose nella dermatite atopica del cane. È possibile, infatti, che la dose normale (50 mg/kg BID) sia sufficiente a dare sollievo in animali affetti da carenza dell'enzima delta-6-desaturasi o altre anomalie del metabolismo degli acidi grassi, ma che siano necessarie dosi molto più alte per espletare un effetto farmacologico in tutti gli altri pazienti. Nell'uomo sono state osservate carenze della delta-6-desaturasi e anomalie dell'incorporazione degli EFA nelle membrane e altre anomalie del loro metabolismo in soggetti affetti da dermatite atopica³. La carenza delle desaturasi nei cani affetti da dermatite atopica è ancora controversa^{1,28,29} e una sua determinazione potrebbe essere un elemento utile per predire l'efficacia della terapia con EFA.

CONCLUSIONI

Sono molte le potenzialità identificate sino ad oggi per l'uso degli acidi grassi essenziali in dermatologia veterinaria e probabilmente molte altre sono ancora da scoprire. Tuttavia sono necessari molti studi per determinare il tipo corretto di EFA da utilizzare, la dose, il rapporto omega-6/omega-3, la durata e la via di somministrazione. L'olio di semi di ribes nero, grazie alle sue caratteristiche, al dosaggio di 50 mg/kg può essere considerato un utile supporto non farmacologico alla terapia sintomatica della dermatite atopica del cane.

Ringraziamenti

Si ringrazia la NBF Lanes per avere sponsorizzato questo studio, fornito il prodotto attivo e il placebo, il Dr. Erminio Bonizzoni per il calcolo statistico, il Dr. Maurizio Cornelli per la consulenza tecnica e il Dr. Sebastiano Banni per il contributo alla discussione.

Parole chiave

Cane, dermatite atopica, acidi grassi essenziali, olio di semi di ribes nero, prurito.

Key words

Dog, atopic dermatitis, essential fatty acids, blackcurrant seed oil, pruritus.

Bibliografia

- Campbell KL. Clinical use of fatty acid supplements in dogs, *Vet Derm*, 4:167-73, 1993.
- Vaughn DM et al. Evaluation of effects of dietary n-6 to n-3 fatty acid ratios on leukotriene B synthesis in dog skin and neutrophils. *Vet Derm* 5:163-73, 1994.
- Horrobin DF. Nutritional and medical importance of gamma-linolenic acid. *Progr Lip Res* 163-94, 1992.
- Balli F et al. Uso combinato di acidi grassi omega 6 e omega 3 nella dermatite atopica (DA) del bambino. *Rivista italiana di pediatria* 18:639-43, 1992.
- Willemse T. Atopic skin disease: a review and reconsideration of diagnostic criteria. *Journal of Small Animal Practice* 27:771-8, 1984.
- Horrobin DF. Medical uses of essential fatty acids (EFAs). *Veterinary Dermatology* 4:167-73, 1993.
- Harvey RG. Essential fatty acids and the cat. *Veterinary Dermatology* 4:175-9, 1993.
- Kwochka KW. Structure and function of epidermal lipids. *Veterinary Dermatology* 4:151-9, 1993.
- Hansen AE, Wiese HF. FFat in the diet in relation to nutrition of the dogs. I. Characteristic appearance and changes of animals fed diets with and without fat. *Texas Reports in Biological Medicine* 9:491-515, 1931.
- Lewis LD, Morris ML, Hand MS. *Small animal clinical nutrition III*, 3° ed. Topeka, KS: Mark Morris Associates, 1987.
- Schoenherr WD, Jewell DE. Nutritional modification of inflammatory diseases. *Seminars in Veterinary Medicine and Surgery (Small Animal)*, 12:212-22, 1997.
- Lee TH, Austin KF. Arachidonic acid metabolism by 5-lipoxygenase pathway and the effects of alternate dietary fatty acids. *Advances in Immunology* 39:145-75, 1986.
- Logas D. Potential clinical benefits of dietary supplementation with marine-life oil. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 199:1631-6, 1991.
- Logas D, Kunkle GA (1994). Double-blinded crossover study with marine oil supplementation containing high dose eicosapentanoic acid for the treatment of canine pruritic skin disease. *Vet Derm* 5(3):99-104.
- Spielmann D. Metabolism of unsaturated fatty acids. Role of n-3 ad n-6 fatty acids in clinical nutrition. In JM Kinney and PR Borum (eds): *Perspectives in Clinical Nutrition*. Urban and Schwarzenberg, Baltimore, 1989:351-78.
- Lloyd DH, Thomsett LR (1989). Essential fatty acid supplementation and the treatment of canine atopy. A preliminary study. *Vet Derm* 1:41-4.
- Scarff DH, Lloyd DH (1992) Double blind, placebo controlled, crossover study of evening primrose oil in the treatment of canine atopy. *Vet Rec* 131:97-9.
- Spielmann D, Traitler H, Croizer G. et al. Biological and biochemical aspects of blackcurrant seed oil. In Galli C., Simopoulos A (eds.): *Dietary 3 and 6 fatty acids: Biological Aspects and Nutritional Essentiality*, Plenum Press, New York, 1989:309-21.
- Traitler H, Wille H. Fatty acid patterns in organ lipids in response to dietary blackcurrant seed oil rich in gamma-linolenic acid. *Progress in Lipid Research* 25:255-61, 1986.
- Croizer G, Fleith M, Finot PA. Effect of feeding blackcurrant seed oil on fatty acid composition of lipid classes in the guinea pig liver. *International Journal of Vitamins and Nutritional Research* 57:343, 1987.
- Ward M, Pavlina T, Truckenbrod M, Rowe WB, Cotter R. Comparison of the metabolism and platelet aggregation effects of IV-lipid emulsions rich in 3 and 6 lipids in African green monkeys. *American Journal of Clinical Nutrition* 47:770, 1988.
- Harvey RG (1999). A blinded, placebo controlled study of the efficacy of borage seed oil and fish oil in the management of canine atopy. *Vet Rec* 144:405-7.
- Scott DW, Miller WH, Decker GA, Wellington R (1992). Comparison of the clinical efficacy of two commercial fatty acid supplements (Efa Vet and DVM Derm Caps), evening primrose oil and cold water marine fish oil in the management of allergic pruritus in dogs: a double blinded study. *Cornell Vet* 82:319-29.
- Bond R, Lloyd DH (1994). Combined treatment with concentrated fatty acids and prednisolone in the management of canine atopy. *Vet Rec* 134:30-2.
- Campbell KL. Effects of oral sunflower oil and olive oil on serum and cutaneous fatty acid concentrations in dogs. *Research in Veterinary Science*, 53:172-8, 1992.
- Smith DJ, Barrett DC, Chan CC-H. The use of essential fatty acids in the treatment of chronic skin hypersensitivity reactions in the dog. *Dati non pubblicati*.
- Bond R, Lloyd DH. A double blind comparison of olive oil and a combination of evening primrose oil and fish oil in the management of canine atopy. *Veterinary Record* 131:558-60, 1992.
- Scott DW, Miller WH, Decker GA, Wellington JR. Comparison of the clinical efficacy of two commercial fatty acid supplements (Efa Vet and DVM Derm Caps), evening primrose oil, and cold water marine fish oil in the management of allergic pruritus in dogs: a double blinded study. *Cornell Veterinarian* 82:319-29, 1992.
- Horrobin D et al. Fatty acids in dogs and their response to EFA supplementation. In: Von Tschanner C, Halliwell REW (eds) *Advances in Veterinary Dermatology*. Vol.1, Balliere Tindall 1990:473.