

DETERMINAÇÃO DOS NÍVEIS DE INTERLEUCINA 10 SISTÊMICA EM CÃES PORTADORES DE DEMODICOSE

GUIOT, Émille Gedoz¹; ZATT, Débora²; FELIX CAMPELLO, Anelize de Oliveira³; FELIX, Samuel Rodrigues³; NOBRE, Márcia de Oliveira⁴.

¹ Graduanda em Medicina Veterinária, Bolsista PIBIC-CNPq - emillegg@hotmail.com

² Graduanda em Medicina Veterinária - deborazatt@yahoo.com.br

³ Programa de Pós Graduação Veterinária - anecampello@hotmail.com; samuelrf@gmail.com

⁴ Doutora, Professora Adjunta DCV, Faculdade de Veterinária, UFPel - mo-nobre@uol.com.br

1 INTRODUÇÃO

A demodicose canina é uma dermatose primária causada pela excessiva proliferação do *Demodex canis*, ácaro comensal da pele, decorrente de quadro herdado de imunodepressão mediada celularmente (DELAYTE et al, 2006). A demodicose generalizada é considerada uma das mais severas doenças de pele canina e frequentemente envolve infecções bacterianas secundárias (PARADIS, 1999; MUELLER, 2004).

A imunossupressão está diretamente ligada ao desenvolvimento da doença. As citocinas têm importante papel na regulação da resposta imune e o perfil delas contribui para o desenvolvimento da enfermidade (TANI et al, 2002). A interleucina 10 (IL-10) é uma citocina imunossupressora, produzida principalmente pelas células Th2, que regula as funções das células T e macrófagos durante a interação com o antígeno. Os seus alvos são as células Th1, células B, macrófagos, células NK, mastócitos e tímócitos. A IL-10 também é denominada fator inibidor da síntese de citocinas, pois ela inibe a síntese de citocinas Th1 (IL-1, IFN- γ TNF- β) e a função das células NK (HOWARD et al, 1992).

Nesse contexto, o objetivo do presente estudo foi determinar os níveis de IL-10 sistêmica em cães com demodicose.

2 METODOLOGIA

A amostra deste estudo incluiu 21 cães, sendo 10 machos e 11 fêmeas. Os cães foram distribuídos em um grupo demodicose (G1, n=12) e em um grupo controle (G2, n=9). Como fator de inclusão no G1, os cães precisavam apresentar histórico de recorrência clínica da doença, raspado cutâneo positivo e alopecia em no mínimo duas áreas do corpo, além de eritema, piodermite e linfadenopatia. Para ser incluído no G2, o raspado cutâneo devia apresentar resultado negativo, com ausência de qualquer forma de *Demodex canis*, ausência de dermatopatia por no mínimo seis meses e não estar recebendo qualquer medicação há 30 dias. O raspado cutâneo foi realizado em três locais distintos e observado em microscópio óptico em aumento de 100x. No G1, os raspados foram realizados nos locais que apresentavam lesão e no G2, os locais de eleição foram membros anteriores, dorso e membros inferiores.

Foi realizada coleta de sangue da veia cefálica ou jugular, o sangue foi armazenado em frascos sem anticoagulante e centrifugado a 3000 rotações por minuto durante cinco minutos para obtenção do soro. Este foi armazenado em microtubos de 1,5ml e congelados a -20°C para posterior realização da dosagem de IL-10 através de ELISA sanduíche utilizando kit comercial Quantikine Canine IL-

10 Immunoassay® (R&D Systems) conforme recomendações do fabricante.

Para a análise estatística, a média das absorbâncias do ELISA foi calculada, em triplicata, com os soros dos dois grupos analisados. O ponto de corte para análise foi determinado usando a média dos resultados dos soros dos animais do grupo controle. A média e o desvio padrão (DP) de todos os soros foram calculadas e o teste T foi empregado para analisar as diferenças estatísticas ($p < 0,05$) entre os resultados obtidos.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O nível médio de IL-10 nos animais do G1 foi significativamente diferente quando comparado aos do G2 ($P=0,014$). A média do G1 foi de 184,38 ($\pm 258,9$) pg/mL enquanto o G2 apresentou média igual a 11,94 ($\pm 2,27$) pg/mL. Quatro animais do G1 apresentaram valores que variaram de 269,75 a 784,5, sendo estes níveis considerados elevados quando comparados com os demais animais do G1 e do G2. Estes animais apresentavam histórico de recorrência da doença clínica por pelo menos duas vezes antes de serem incluídos neste estudo, fato que estaria relacionado aos altos níveis de IL-10 observados durante o período da doença clínica grave, levando a uma supressão dos níveis das demais citocinas e predispondo ao reaparecimento da sintomatologia clínica. Em contrapartida, um animal apresentou nível de IL-10 abaixo da média dos demais animais doentes, neste caso o aparecimento da doença foi de forma localizada.

Por ser uma citocina multifuncional, produzida por células T, a IL-10 regula a atividade de uma variedade de células do sistema imune e pode ter um papel crucial na regulação cruzada de diferentes tipos de célula T (MOSMANN, 1996). Conseqüentemente, a atuação da IL-10 pode comprometer a resposta Th1, conforme foi sugerido por Lemarié e Horonov (1996), os quais realizaram uma análise da produção de IL-2 e a expressão de seus receptores pelas células mononucleares do sangue periférico. De acordo com os nossos resultados, é possível sugerir que a deficiência na resposta Th1 e os níveis baixos de IL-2 ocorram devido ao poder inibitório da IL-10 presente em quantidades elevadas no soro dos animais portadores de demodicose generalizada. Assim como no estudo de Tani et al (2002), a determinação dos níveis de IL-10 reflete o real perfil *in vivo*, pois o material utilizado para análise não sofreu nenhum estímulo *in vitro*. Neste mesmo estudo, o perfil das interleucinas em cães portadores de demodicose crônica, revelou níveis normais de IL-2. Os autores sugerem que a resposta reduzida de Th1 estaria ligada com um decréscimo na produção de IFN γ *in vivo*, não estando relacionada com os níveis de IL-2 (TANI et al, 2002). Porém, a IL-10 também possui poder inibidor da produção de IFN γ , podendo ser a desencadeadora de um determinado padrão de resposta imune quando em níveis elevados (FIORENTINO et al., 1989). Tani et al (2002), afirmam que a resposta Th2 é elevada em cães com demodicose generalizada, através da observação do aumento de IL-5 nas células mononucleares do sangue periférico, a qual é produzida por células Th2 ativadas. Níveis altos de IL-10 também podem ser atribuídos a uma resposta Th2 elevada, pois esta interleucina também é produzida a partir da ativação de células Th2.

A relação entre desordens imunológicas e desenvolvimento de demodicose é um fato que ainda possui seus mecanismos desconhecidos (TANI et al, 2002), existindo a necessidade da realização de pesquisas que revelem de que forma o organismo reage especificamente contra o ácaro. A resposta imune

alterada propicia a proliferação excessiva do ácaro e do quadro clínico demonstrado (BARRIGA et al, 1992), porém, o agravamento desse quadro ocorre devido à instalação de microrganismos oportunistas (HENRI et al, 2006), dando origem às piodermites que comumente acompanham e agravam a demodicose.

O nível elevado de IL-10 pode ser considerado um fator relevante no desenvolvimento da demodicose. Estudos que apurem as causas que desencadeiam este aumento devem ser realizados, bem como o desenvolvimento de fármacos que auxiliem na modulação da resposta imune. Não é possível afirmar, ainda, que o desenvolvimento das lesões clínicas esteja relacionado com a irregularidade da resposta imune dos pacientes, como haviam determinado Tani et al (2002), quando afirmaram que os níveis elevados de IL-5 poderiam ser utilizados como parâmetros de monitoramento clínico.

Novos estudos são necessários para detectar os níveis séricos de outras citocinas, como IL-2, IL-5 e IFN- γ , relacionando com os níveis de IL-10, visando um melhor entendimento do papel das citocinas na suscetibilidade e/ou resistência à demodicose canina, bem como a sua correlação com a sintomatologia clínica apresentada pelos cães portadores da doença.

4 CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos dentro das condições, concluímos que é possível detectar níveis elevados de IL-10 na maioria dos cães com demodicose.

5 AGRADECIMENTOS

Agradecemos à CAPES pela concessão das bolsas de pós-graduação e ao CNPq pela bolsa de iniciação científica.

6 REFERÊNCIAS

BARRIGA, O.O., AL-KHALIDI, N. W.; MARTIN, S.; WYMAN, M. Evidence of immunosuppression by *Demodex canis*. **Veterinary Immunology and Immunopathology**. V.32, p. 37-46, 1992.

DELAYTE E. H.; OTSUKA M.; LARSSON, C.E.; CASTRO, R.C.C. Eficácia das lactonas macrocíclicas sistêmicas (ivermectina e moxidectina) na terapia da demodicose canina generalizada. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. Belo Horizonte vol.58 no.1 Feb. 2006

FIorentino, D.F.; BOND, M.W., AND MOSMANN, T.R. Two types of mouse T helper cell IV: TH2 clones secrete a factor that inhibits cytokine production by TH1 clones. **J. Exp. Med.** 170:2081- 2095/1989.

HOWARD, M.; AND O'GARRA, A. Biological properties of interleukin 10. **Immunol.Today** 13:198-200,1992.

JUTEL, M.; AKDIS, M., BUDAK, F. IL-10 and TGF-beta cooperate in the regulatory T cell response to mucosal allergens in normal immunity and specific immunotherapy. **Eur. J. Immunol.** 33, p.1205–1214, 2003.

KEPPEL K.E, CAMPBELL K.L., ZUCKERMANN F.A, GREELEY E.A., SCHAEFFER D.J, HUSMANN R.J. Quantitation of canine regulatory T cell populations, seruminterleukin-10 and allergen-specific IgE concentrations in healthycontrol dogs and canine atopic dermatitis patients receiving allergen-specific immunotherapy. **Veterinary Immunology and Immunopathology** 123, p.337–344, 2008.

LEMARIÉ, S. L.; HOROHOV, D. W.; Evaluatios of interleukin-2 production and interleukin-2 expression in dogs with generalized demodicosis. **Veterinary Dermatology**, 7, p. 213-129, 1996.

MOSMANN, T.R; COFFMAN, R.L.. Heterogeneity of cytokine secretion patterns and functions of helper T cells. **Adv. Immunol.** 46:111-1471989.

MOSMANN, T.R. Measurement of Mouse and Human Interleukin 10. **Current Protocols in Immunology**. UNIT 6.14, supplement 181996..

MUELLER, R. S. Treatment protocols for demodicosis: an evidence-based review. **Veterinary Dermatology**, 15, 75–89, 2004.

PARADIS, M. New approaches to the treatment of canine demodicosis. **Vet. Clin. North Am.: Small Animal Practice**, v.29, p.1425-1436, 1999.

TANI, K.; MORIMOTO, M.; HAYASHI, T.; INOKUMA,H.; OHNISHI, T; HAYASHIYA, S.; NOMURA, T.; UNE, S.; NAKAICHI, M.; TAURA, Y. Evaluation of cytokine messenger RNA expression in peripheral blood mononuclear cells from dogs with canine demodicosis. **Journal of Veterinay Medical Science**, 64, v 6, p. 513-518, 2002.