

Ana Carolina Santos Oliveira

MECANISMOS PARASITÁRIOS DE FUGA AO SISTEMA IMUNOLÓGICO

Universidade Fernando Pessoa – Faculdade de Ciências da Saúde

Porto, 2011

Ana Carolina Santos Oliveira

MECANISMOS PARASITÁRIOS DE FUGA AO SISTEMA IMUNOLÓGICO

Trabalho de conclusão de curso apresentado à Universidade Fernando Pessoa como parte dos requisitos para a obtenção do grau de mestre em Ciências Farmacêuticas.

RESUMO

A evasão ao sistema imunológico, por parte dos parasitas, está actualmente omnipresente e envolve uma série de mecanismos moleculares, que reflectem a evolução, reprodução e crescimento parasitário. Existem uma série de formas e processos de escape parasitário permitindo com que estes garantam, simultaneamente, a sua sobrevivência e a do hospedeiro.

A co-evolução convergente entre hospedeiro e parasita sustêm a base destes mecanismos que se baseiam na manipulação dos processos que fazem parte e regulam a resposta imunitária e o normal funcionamento das células de defesa do hospedeiro, ficando a resposta inata e adaptativa vulnerável à acção parasitária.

O fenómeno de evasão parasitária foi descoberto há cerca de 100 anos, por aquele que é considerado o pai da Imunologia, Paul Erlich; este durante alguns dos seus estudos observou “o desaparecimento dos receptores” característicos dos anticorpos do sistema imune, em Trypanossomas africanos. A partir daí as funções genéticas, alterações de variantes antigénicas, moléculas supressoras do sistema imune têm sido amplamente descobertas e estudadas.

A importância do conhecimento das adaptações parasitárias é fundamental para o desenvolvimento de terapêuticas na área da medicina, imunologia, parasitologia e farmacologia visto que destas se obtêm dados fundamentais sobre a interacção entre estes microorganismos e sobre as patologias que podem causar.

Desta feita este trabalho aborda, então esses mecanismos, explicando ainda de forma sintética a constituição do sistema imune de forma a direccionar facilmente e localizar o centro de ataque parasitário, demonstrando a forma ágil e habilidosa com que estes seres conseguem ludibriar um complexo sistema como é o sistema imunitário de um indivíduo imunocompetente.

Palavras-chave: Parasita, Sistema imune humano, escape parasitário, evasão

ABSTRACT

Evasion of immunologic system, by parasites, is now ubiquitous and involves several molecular mechanisms that reflect the evolution, parasite growth and its reproduction. There are a number of forms and escape processes which have been adopted by parasites ensuring survival of both parasite and host.

The convergent co-evolution of host and parasite is the basis of these mechanisms that rely on manipulation of the processes which are part of the immune response and regulate it, as well as, the normal functioning of host defense cells, leaving the innate and adaptive response vulnerable to parasite activity.

The phenomenon of parasite evasion was discovered about 100 years ago, by one considered the father of Immunology, Paul Ehrlich. This has been found during some of his studies where disappearance of the antibody receptors characteristic of the immune system of the *African trypanosome*, was observed. Since then, gene functions, changes in antigenic variants and suppressing molecules of immune system have been extensively discovered and studied.

The importance of the knowledge of parasitic adaptations is crucial for the development of new therapeutics in medicine, immunology, parasitology and pharmacology since these data reflect the interaction between microorganisms and the immune system and also related diseases.

With this dissertation we will have an overview of these mechanisms and a brief explanation of the immune system in order to easily locate the center of parasitic attack, demonstrating how agile and skilled these living beings can evade a complex system like the immune system of immunocompetent individuals.

Key-Words: Parasits, immune system, parasite escape, evasion

AGRADECIMENTOS

Sem determinados conselhos, “ajudas”, ensinamentos, lições e “empurrões” não teria sido possível chegar até este passo final, que é, no fundo, o início de tudo, como tal não posso deixar de agradecer:

- aos meus pais, as bases sólidas deste projecto e que permitiram sempre que a minha vida de estudante fosse uma “campanha” feliz;
- aos meus amigos que me acompanharam ao longo de todo este percurso e se solidarizaram nas minhas batalhas;
- aos meus professores que nunca permitiram que desistisse ou fraquejasse perante qualquer adversidade;
- à minha orientadora, a professora doutora Sandra Soares, que me ajudou ao longo de todo o trabalho e me orientou da melhor forma possível, alargando, altruistamente, todos os meus conhecimentos de Imunologia e Parasitologia.

ÍNDICE GERAL

RESUMO	II
ABSTRACT	III
AGRADECIMENTOS	IV
ÍNDICE DE FIGURAS	VII
ÍNDICE DE TABELAS	VIII
ÍNDICE DE ABREVIATURAS	IX
I. INTRODUÇÃO	1
II. O SISTEMA IMUNE	6
2.1. Descrição Geral do S.I.	6
2.2. Constituição do Sistema Imune.....	7
2.3. O sistema do complemento	15
2.4. Resposta Integrada ao ataque parasitário	21
III. RELAÇÃO PARASITA-HOSPEDEIRO	24
3.1. Desenvolvimento de Tolerância.....	25
IV. MECANISMOS DE FUGA PARASITÁRIA	27
V. MECANISMOS DE EVASÃO PASSIVA	29

5.1. Variação Antigénica	29
5.2. Locais imunoprivilegiados	38
VI. MECANISMOS DE EVASÃO ACTIVA	40
6.1. Dissimulação dos antígenios	40
6.1.1. Mimíca	40
6.1.2. Captação de moléculas do Hospedeiro	47
6.2. Imunossupressão	48
6.2.1. Escape à fagocitose	49
6.2.2. Moléculas imunossupressoras-proteases	51
6.2.3. Modelação da morte celular programada	56
VII. CONCLUSÃO	62
BIBLIOGRAFIA	63

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: O sistema do complemento humano e respectiva regulação por proteínas de membrana e solúveis	20
Figura 2: Grau de Virulência de um parasita de acordo com a semelhança das suas formas de escape.....	25
Figura 3: Variação antigénica como uma solução de estratégia.....	30
Figura 4: Sitio de Expressão de uma VSG de um <i>Trypanosoma brucei</i>	34
Figura 5: Possibilidade de um parasita causar patologia auto-imune, por via de dois caminhos diferentes	45
Figura 6: Influência da acção parasitária na morte celular programada do hospedeiro.	57
Figura 7: Interferência do parasita <i>Plasmodium falciparum</i> na apoptose	58

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela I: Alguns produtos biologicamente activos, secretados pelas células fagocíticas	12
Tabela II: Algumas citocinas e quimiocinas, com propriedades microbidas produzidas essencialmente por macrófagos activados, importantes na imunidade inata.....	13
Tabela III: Resumo dos Mecanismo Parasitário de Evasão ao Sistema Imunológico....	28
Tabela IV: Exemplos de parasitas que mimetizam determinados reguladores do complemento como forma de evitar a sua eliminação.	43
Tabela V: Proteases secretadas por diferentes agentes patogénicos.....	52
Tabela VI: Proteases libertadas por agentes patogénicos.....	53

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

BCR – Receptor dos Linfócitos B

BES – “BloodStream Expression Site”

CCA – Antígenos de Circulação Catódicos “Circulating Cathodic Antigen”

CCPR – “Complement Control Protein Repeats”

CR – Receptor do Complemento

RASP – “Receptor Acquiring Surface Proteins”

CSA – “Chondroitin Sulfate A”

CSF – Factor de Crescimento Clonal

DNA – “Ácido Desoxirribonucleico”

DTH – “Delayed Type Hypersensitivity”

DAF – Factor Acelerador de Dissociação

ESAGs – “Expression Site Associated Gene”

Fab – Fragmento de ligação ao antígeno “Fragment Antigen Binding”

FADD – “Fas Associated Death Domain”

Fc – Fragmento cristalizável “Fragment Crystallizable”

GP63 – “Anchored Zinc Metaloprotease Leishmanolysin Glicoprotein”

GPI – Glicosilfosfatidinositol

HRF – Factor de Liberação de Histamina

HRF – Factor de Restrição Homólogo

HuCRT – Calreticulina humana

ICAM-1 – “Intercellular Adhesion Molecule-1”

IFN – Interferão

IG - Imunoglobulina

IN – Interleucina

LPG – Lipofosfoglicano

MAC – Complexo de Ataque à Membrana

MASP – Protease Serínica Associada à Lectina de Ligação à Manose

MBL – Lectina de Ligação à Manose “Mannose Binding Lectin”

PAMPs – Moléculas Padrão Associadas aos Patogénios “Pathogen Associated Molecular Patterns”

PfEMP-1 – “Plasmodium falciparum Erythrocyte Membrane Protein 1”

Pfmc2TM – “Maurer’s Cleft Two Membrane”

PPRs – Receptores de Reconhecimento Padrão

RCA – Reguladores de Activação do Complemento

Rifin – “Repetitive Interspersed Family”

SCIP-1 – “Schistosome Complement Inhibitor Protein-1”

SNC – Sistema Nervoso Central

Stevor – “Subtelomeric Variable Open Reading Frame”

TcCTR – Calreticulina do T.cruzi

TCR – Receptor dos Linfócitos T

TCTP – Proteína de Transcrição de Controlo Tumoral

TLTF – “T. Lymphocyte Triggering Factor”

TNF – Factor de Crescimento Tumoral

TRADD – “TNFR Associated Death Domain”

TSP – “Trombospondin”

VCAM-1 – “Vascular Adhesion Molecule -1”

VSA – Antígeno de Superfície Variante

VSG – Glicoproteína de Superfície Variante

VSP – Proteína de Superfície Variante

PGE – Prostaglandina

TNFR – “Tumor Necrosis Factor Receptor”

I. INTRODUÇÃO

Com a elaboração deste trabalho pretendeu-se a promoção da compreensão da inter-relação entre o sistema imunitário humano e os microorganismos que o parasitam, protozoários e helmintas, nomeadamente a forma que estes adoptam para escapar ao sistema imunitário humano e às suas poderosas acções de controlo perante o ataque parasitário.

“Parasitismo é toda a relação ecológica, desenvolvida entre indivíduos de espécies diferentes, em que se observa, além de associação íntima e duradoura, uma dependência metabólica de grau variável”.(Ray, 2002). Ou seja, representa a relação entre organismos de espécies diferentes em que um organismo (hospedeiro) passa a constituir o nicho ecológico de outro (parasita). O metabolismo do parasita (nutrição e quaisquer outras substâncias que ele necessita) fica dependente do do seu hospedeiro, sendo que o grau de dependência metabólica aumenta com a necessidade que o parasita tem de encontrar essas substâncias no seu hospedeiro; estas substâncias essenciais para o seu desenvolvimento designam-se **factores de crescimento**. (Ray, 2002).

Desta relação surge o conceito de **virulência**, dano que ocorre no hospedeiro durante a interacção deste com o parasita e que pode ser, por exemplo, expresso numa morte precoce do hospedeiro ou no decréscimo da sua fertilidade. (Geisbrecht et al., 2008).

Os parasitas de acordo com as suas necessidades energéticas podem, ainda, classificar-se em **ectoparasitas**, caso sejam externos, ou **endoparasitas**, internos e totalmente dependentes do hospedeiro como fonte nutritiva. (Ray, 2002).

Relativamente ao número de hospedeiros que necessitam para completar o seu ciclo de vida os parasitas podem ter ciclos **Monoxenos** e neste caso necessitam de apenas um hospedeiro ou **Heteroxenos** se só completam o seu desenvolvimento passando por dois ou mais hospedeiros sucessivamente e sempre na mesma ordem. (Ray, 2002).

Relativamente à classificação do hospedeiro este pode ser classificado de **Intermediário** (actualmente e proposto por Chandler este corresponde ao hospedeiro

invertebrado do parasita) se neste ocorreu o crescimento do parasita e ele se diferenciou nas suas várias fases larvares ou de **Definitivo** onde se desenvolvem e vivem as fases adultas do parasita. Muitas vezes os hospedeiros intermediários funcionam também como **vectores**, transmissores do parasita, podendo ou não haver desenvolvimento deste durante esse período. (Ray, 2002).

Quando o parasita tem a capacidade de se desenvolver num hospedeiro este torna-se, então, susceptível; o organismo humano possui inúmeros mecanismos que lhe permitem reagir à agressão parasítica, nomeadamente a resposta imune que envolve o reconhecimento do patogénio, por **PPRs** – (receptores de reconhecimento padrão) e de seguida promove a elaboração de uma reacção, cujo objectivo é eliminá-lo do organismo.

Há uma série de mecanismos naturais que protegem o hospedeiro humano do ataque parasitário sobre os quais é importante incidir. Resistência natural é o que ocorre quando existem barreiras a opor-se ao parasita independentemente de qualquer contacto anterior com este sendo comum a todos os indivíduos da mesma espécie. Esta é garantida por mecanismos e processos fisiológicos que existem praticamente em todas as espécies – imunidade inata. (Ray, 1991).

Dentro destes mecanismos incluem-se os factores químicos, mecânicos e fisiológicos (pele, mucosas, gordura produzida pelas glândulas sebáceas, pH), várias substâncias do sangue e dos tecidos com poder antimicrobiano e principalmente as células com capacidade fagocitária. Existem, no entanto, muitos parasitas que contornam estas barreiras, penetrando através do epitélio do tracto gastrointestinal e urogenital bem como da nasofaringe e pulmões e, outros ainda, como o *Plasmodium*, que penetram através da via hematológica. (Arosa et al., 2007).

O sistema imune humano face a estas agressões tem-se desenvolvido e evoluído para um completo e competente conjunto de células, órgãos e componentes solúveis numa tentativa de controlar e combater o amplo conjunto de microrganismos que constantemente o invadem e desafiam. (McKerrow et al., 1989).

Estão também disponíveis diversos mecanismos efectores específicos do sistema imune para responder a determinado tipo de infecção ou a determinada etapa do ciclo de vida do parasita, como por exemplo, a formação de complexos antigénio-anticorpo que poderão mais tarde ser eliminados no baço.

No que diz respeito à resposta imune a parasitas, destacam-se vários processos:

Neutralização: é um dos mecanismos efectores mais simples, em que os anticorpos podem combater os patogenios simplesmente ligando-se a eles e facultando a sua eliminação.

Fagocitose: processo de suporte da imunidade inata, em que o material parasitário é ingerido pelas células fagociticas (neutrófilos, monócitos e macrófagos), que o envolvem num fagossoma; este vacúolo depois funde-se com a membrana de organelos citoplasmáticos, os lisossomas, que contêm enzimas hidrolíticas. O microorganismo fagocitado é atacado pelas enzimas lisossómicas sendo depois destruído e eliminado. O processo pelo qual o fagolisossoma é expelido para o espaço extracelular designa-se por **exocitose**.

Reacções Citotóxicas: o reconhecimento da célula alvo infectada por um parasita dá-se por meio de anticorpos específicos ligados à superfície celular (caso das células Natural Killer) ou através de células T e dos seus receptores. Ao contrário do que acontece na fagocitose, nestas reacções estas células citotóxicas eliminam as células-alvo por processos de desgranulação ou indução de apoptose.

Resposta Inflamatória: quando ocorre um processo infeccioso as células do sistema imune que se encontram dispersas tendem a concentra-se bem como os seus produtos no local da infecção. Esta resposta envolve três eventos principais:

- aumento do fluxo sanguíneo ao local;
- aumento da permeabilidade capilar permitindo que os mediadores solúveis da imunidade atinjam o local de infecção;

- migração de leucócitos, dos capilares para os tecidos circundantes. Numa fase inicial da inflamação há prevalência de neutrófilos e mais tardiamente monócitos e linfócitos migram também para o local inflamado.

É o local de infecção bem como o tipo de parasita que determinam o tipo de resposta imune a ser elaborada. Para todos os parasitas cuja replicação só ocorre no interior das células é necessário que o sistema imune reconheça e destrua as células infectadas; a resposta a parasitas cujo alojamento se faz nos tecidos, fluidos corporais ou outros espaços extracelulares são mais complexas, devido à tendência para infecções crónicas. (Brostoff et al, 1998).

Sistema do complemento: mediador entre a resposta imune inata e a resposta adaptativa é também uma barreira de defesa em relação a ataques patogénicos sendo constituído por uma regulada cascata de proteínas e receptores eficazes no “reconhecimento” e eliminação de organismos invasores através do complexo de ataque à membrana, **MAC**. (Brostoff et al., 1998).

O sistema imune não pode ser visto de forma isolada, sendo a co-evolução parasita-hospedeiro um sistema dinâmico e uma batalha constante em que ambos os intervenientes tentam encontrar contramedidas para atingir o outro. (Brown et al., 1996).

A intenção do parasita é sobreviver no ambiente do hospedeiro o tempo suficiente para poder reproduzir-se. Uma infecção agressiva em que o hospedeiro é totalmente oprimido e morre não é produtiva para o parasita, bem pelo contrário. O seu objectivo é desenvolver dentro do hospedeiro um nicho onde possa sobreviver e reproduzir-se tentando não perturbar a viabilidade total do mesmo. (Richie et al., 2009; Brown et al., 1996).

O conceito de evasão pelos parasitas desde há muito que tem sido objecto de estudo e curiosidade. Foi Paul Ehrlich que descobriu o primeiro caso e, que constituiu um dos melhores exemplos de evasão parasitária - o fenómeno de variação antigénica no *Trypanosoma africano*.

Evidências sugeriram que os parasitas podiam modificar os seus antígenos de uma forma rápida a fim de conseguir evitar ou prevenir uma resposta imune; por outro lado a similaridade existente entre os seus antígenos e os do hospedeiro levaram ao desenvolvimento do conceito de mimica e com este de indução de auto-imunidade. (Damian et al., 1997; Capron et al., 2000).

Estes mecanismos de evasão parasitária estão dependentes de factores como o ciclo de vida do parasita, a via de penetração e o tipo de ambiente no qual está inserido dentro do hospedeiro. (Carrero et al., 2002).

À medida que a complexidade do parasita aumenta, aumenta também a sua capacidade de sobrevivência no ambiente hostil que por vezes o organismo do hospedeiro se pode revelar. (Tindal et al., 1994).

O conhecimento destas alterações bem como dos mecanismos de evasão adoptados pelos parasitas pode contribuir para a obtenção de noções mais alargadas sobre os mecanismos de infecção bem como para o desenvolvimento de novas terapias. (Geisbrecht et al., 2007).

II. O SISTEMA IMUNE

2.1. DESCRIÇÃO GERAL DO S.I.

Para poderem escapar ao sistema imunológico é importante conhecer a maneira como este funciona e contra que barreiras e estruturas se debatem os parasitas para se adaptar e sobreviver.

O sistema imunológico é controlado por diversos mecanismos, sendo estes responsáveis pela “Imunostasia”, permitindo que o sistema recupere o estado de equilíbrio que existia antes do ataque antigénico, por sua vez, motivador de uma resposta imunológica.

Este sistema pode ser “dividido” em duas unidades integradas:

- a resposta imune **inata** que se segue após o primeiro contacto do hospedeiro com o parasita e que não se altera mediante a exposição repetida ao mesmo parasita. Neste tipo de resposta os mecanismos de reconhecimento e defesa não têm especificidade e reconhecem apenas estruturas moleculares conservadas, produzidas pelos agentes patogénicos. (Arosa et al., 2007). Por si só, o sistema imunitário inato raramente consegue eliminar de forma bem sucedida os parasitas contribuindo, no entanto, para a inibição do seu crescimento enquanto ocorre a diferenciação e proliferação das células T e B do sistema imune adaptativo. (Maizels et al., 2009).

- a resposta imune **adquirida** é aquela que se torna mais eficiente após a exposição sucessiva a um mesmo parasita sendo as suas duas principais características a memória e a especificidade. Corresponde a uma resposta mais tardia que requer a proliferação clonal de células efectoras (linfócitos T e B). Neste tipo de resposta os receptores dos linfócitos T e B – **TCR** e **BCR** – reconhecem antígenos específicos. (Arosa et al., 2007).

O sistema imune, no seu conjunto, é composto por células e moléculas solúveis que actuam e interagem de forma sinérgica para eliminar ou neutralizar o agente agressor e estranho.

2.2. CONSTITUIÇÃO DO SISTEMA IMUNE

Órgãos do Sistema Imune

Podem ser definidos como primários e secundários. Os primários incluem o timo e a medula óssea e são locais de maturação linfocitária T e B respectivamente. Os órgãos considerados secundários são os gânglios linfáticos, o baço e os tecidos linfóides, designados desta forma, por serem locais que promovem o encontro entre os linfócitos e o antigénio. Apesar das suas disparidades estruturais todos têm uma arquitectura similar e acima de tudo também uma função convergente de reunir e, prioritariamente, reter os antígenos, que aí chegam através da linfa.

Os órgãos linfóides secundários são constituídos pelos: Gânglios Linfáticos que correspondem a pequenos órgãos em forma de feijão, contendo áreas ricas em linfócitos T conhecidos como “áreas T” ou timo-dependentes e também regiões ricas em células B “áreas B”. Os gânglios linfáticos funcionam como filtros da linfa que se encontra rica em antígenos, provenientes dos restantes tecidos do corpo; pelo Baço, um órgão altamente vascularizado que se divide em polpa vermelha e polpa branca. A polpa vermelha é uma rede reticular que contém células do estroma, macrófagos, células NK, plasmócitos e ainda uma grande quantidade de glóbulos vermelhos danificados e responsáveis pela cor da polpa. A polpa branca por sua vez contém zonas ricas em linfócitos T (bainha periarterial) e ricas em linfócitos B (foliculos e zona marginal). Por últimos os órgãos linfóides incluem os Tecidos Linfóides associados às Mucosas que apresentam algumas características morfológicas semelhantes aos gânglios linfáticos diferindo no entanto destes em funcionalidade graças à sua localização junto às mucosas. Têm um papel activo na produção de plasmócitos secretores de imunoglobulinas A, que depois transpõem o epitélio até à superfície da mucosa defendendo aqui o organismo dos agentes patogénicos invasores. (Arosa et al., 2007).

Células do Sistema Imunológico

As respostas imunes são controladas por uma grande variedade de células e por moléculas solúveis que estas secretam. Os leucócitos ou mais comumente denominados

de glóbulos brancos são as células centrais deste processo, havendo, no entanto, outras células nos tecidos que também participam nesta resposta. (Brostoff et al., 1998).

Os leucócitos estão divididos entre si de acordo com as suas características morfológicas. Assim sendo, dentro das células mononucleares incluem-se os linfócitos e os monócitos. Enquanto que nos leucócitos polimorfonucleares (núcleo multilobulado) incluem-se os granulócitos que se podem dividir em neutrófilos, eosinófilos e basófilos. (Arosa et al., 2007).

♦ **Linfócitos**

São fundamentais na defesa imune por conferirem especificidade na resposta e desencadearem a formação de células memória. Estes podem dividir-se em três grandes famílias que incluem os **linfócitos B**, **linfócitos T** e os **linfócitos NK**.

Os **Linfócitos B** possuem na sua membrana plasmática receptores específicos (receptor da célula B) com a estrutura de uma imunoglobulina e com a capacidade de reconhecer um antígeno específico, proteico, polissacarídeo ou lipídico. Após a activação dos linfócitos e respectiva diferenciação em plasmócitos estes geram os anticorpos. Estes anticorpos ao ligarem-se aos antígenos (visto serem virtualmente idênticos à molécula receptora original) sinalizam-nos a fim de poderem alertar outras células que vão proceder à destruição destes. Fazem parte da imunidade humoral visto os anticorpos circularem na linfa e sangue, que eram designados pelos gregos de os “humores do corpo”.

Linfócitos T são considerados as células básicas da imunidade celular e tal como os linfócitos B apresentam na sua superfície receptores específicos para um antígeno (receptor da célula T), ao contrário do que acontece nos linfócitos B só reconhecem antígenos proteicos que sofreram um processamento e são apresentados à superfície do complexo major de histocompatibilidade, **MHC**, péptidos à superfície das células APCs (células apresentadoras de antígenos). (Arosa et al., 2007).

Os linfócitos T podem ser ainda divididos em:

- **Linfócitos Th** (“*helper*”) ou auxiliares que adquirem esta designação exactamente porque ajudam outras células a realizar as suas funções. (Arosa et al., 2007). Os linfócitos Th auxiliares do tipo 1 auxiliam os fagócitos mononucleares na eliminação de patógenos intracelulares e produzem, quando estimulados, **IFN- γ** , crucial na erradicação de parasitas intracelulares. (Belkaid et al., 2006). Linfócitos Th tipo 2 interagem com as células B ajudando-as na divisão e diferenciação celular e ainda na produção de anticorpos, sendo por isso mais relevantes na eliminação de patógenos extracelulares. (Arosa et al., 2007). São responsáveis pela produção das interleucinas **IL-4**, **IL-4** e **IL-13**, entre outras. (Belkaid et al., 2006).

- **Linfócitos T citotóxicos** são responsáveis pela destruição de células do hospedeiro normalmente infectadas por vírus ou pela destruição de células tumorais.

Linfócitos NK (“natural killer”) ou grandes linfócitos granulares, assim designados por terem um citoplasma muito granuloso e porque a nível de tamanho são maiores que os linfócitos T e B. Têm uma capacidade espontânea de reconhecer alterações que ocorrem nas superfícies de células infectadas ou células tumorais. As células NK não possuem receptores da célula T ou B sendo por isso designadas por células “nulas”, no entanto apresentam na sua superfície inúmeros receptores tanto de natureza inibitória como de activação, o que lhes permite actuar sobre a célula “target”. (Arosa et al., 2007).

♦ **Monócitos e Macrófagos**

Monócitos circulam no sangue temporariamente e ao entrarem nos tecidos evoluem para outro tipo de células: os macrófagos ou ainda certo tipo de células dendríticas. Ao evoluir de monócito para macrófago ocorre um aumento da capacidade fagocítica e do número de lisossomas portadores de enzimas hidrolíticas.

Macrófagos para além de agirem como células apresentadoras de antígenos durante uma resposta imune, actuam como células que inibem a multiplicação dos parasitas ou mesmo células destruidoras destes, através da fagocitose.

Secretam citocinas que regulam a resposta inflamatória: IL-1, IL-12 ou o factor de necrose tumoral **TNF- α** (este factor assim como IL-1 interagem com outros tipos celulares, por exemplo, hepatócitos, importantes na resistência ao *Plasmodium*, e também potenciam a imunidade através da activação de outras células). Possuem receptores Fc ϵ na sua membrana de superfície através dos quais promovem a citotoxicidade dependente do anticorpo.

• **Granulócitos**

Neutrófilos (células fagocíticas) são as primeiras células sanguíneas a serem recrutadas para o local de uma inflamação, onde fagocitam e eliminam os agentes patogénicos através de mecanismos microbicidas dependentes do oxigénio ou nitrogénio. De acordo com o seu tipo de grânulos são capazes de destruir microorganismos intracelulares e extracelulares.

Eosinófilos apesar da sua fraca capacidade fagocítica em relação aos anteriores são as células com maior acção contra o ataque parasitário, sobretudo parasitas cujo tamanho é demasiado grande para serem fagocitados. São células importantes na determinação de algumas infecções helmínticas características e proliferam em resposta a citocinas Th2: IL-3 e IL-5. (Arosa et al., 2007; Brostoff et al., 1998).

Basófilos estão envolvidos em respostas alérgicas e libertam substâncias farmacologicamente activas como a heparina e histamina, uma vez activados pelas IgE. (Brostoff et al., 1998).

Células Dendríticas residem nos tecidos periféricos, onde são capazes de fagocitar microorganismos e, constituem um importante passo no início das respostas adaptativas: estas células apresentam os antígenos aos linfócitos T e induzem-nos a diferenciar-se.

As células dendríticas maduras são potentes apresentadoras de antígenos activando linfócitos T *naive* e induzindo a sua diferenciação e proliferação.

Alguns protozários conseguem activar e induzir a maturação dos diferentes subconjuntos das células dendríticas daí que na maior parte dos casos estas células têm um papel relevante no controlo da infecção destes parasitas. Por outro lado no caso dos helmintas, a situação é diferente, visto que a resposta destas células não é tão eficaz na sua eliminação. (Gomez-Garcia et al., 2009).

As células fagocíticas acima referidas, para além da sua capacidade de fagocitose, segregam uma grande quantidade de compostos biologicamente activos e reguladores também da resposta inflamatória. A fagocitose é um processo mediado tanto por receptores que se ligam directamente aos agentes patogénicos ou então por opsoninas. (Arosa et al., 2007).

Os principais compostos, representados nas tabelas I e II, de maior importância biológica, secretados pelas células fagocíticas são:

• **Citoquinas:**

- **Factor estimulador da diferenciação e colonização celular (CSF);**

-**TNF- α** : secretado essencialmente pelos macrófagos, utilizado nas respostas protectoras a vários protozoários, tais como: *Leishmania spp* e Helmintas. Por sua vez activa macrófagos e eosinófilos por exemplo para destruir as larvas de *Shistosoma mansoni*. (Brostoff et al., 1998);

- **Interleucinas** (por ex a IL-2 e IL-12 são importantes na eliminação de protozários intracelulares). A IL-10 pode ser produzida pelas células B, T ou dendríticas em caso de infecção parasítica. É uma citocina que modulando fortemente a resposta imunitária em caso de infecção parasítica, inibindo a acção das células Th1 também actua controlando a resposta inflamatória e a imunopatologia. (Belkaid et al, 2006).

- **Interferão-alfa**, ex: IFN- α , IFN- γ , este último importante exactamente no controlo de protozoários; citoquinas mais relevantes como meio de combate virico, no entanto,

um grande nível de IFN na corrente sanguínea é característico de uma infecção por *Trypanosoma africano*, induzindo a fagocitose pelos macrófagos.

- **Várias proteínas plasmáticas e factores de coagulação;**
- **Componentes do sistema do complemento** (C1, C2, C3, C4 e C5, properdina e factores B, D, I, H da via de activação alternativa do complemento). (Arosa et al., 2007);
- **Compostos de oxigénio reactivos** (H₂O₂ e O₂, geralmente gerados pelos macrófagos e outros granulócitos após a fagocitose de *Trypanosoma cruzi*, *Toxoplasma gondii*, *Leishmania spp* e *Plasmodium spp*);
- **Metabolitos de ácido araquidónico** (ex: prostaglandinas, leucotrienos e tromboxanos);
- **Enzimas hidrolíticas** (ex: collagenases, fosfatases, lipases...)

Tabela I: Alguns produtos biologicamente activos, secretados pelas células fagocíticas.

Fonte: Arosa et al., 2007.

Proteínas plasmáticas	α1-antitripsina α2-macroglobulina Fibronectina
Factores de coagulação	Tromboplastina tecidual Factores V, VII, IX, X
Factores do complemento	C1, C2, C3, C4, C5 Properdina Factores B, D, I e H
Metabolitos do oxigénio	Anião superóxido Peróxido de hidrogénio Radical hidroxilo Oxigénio simples
Metabolitos do ácido araquidónico	Prostaglandinas Leucotrienos Tromboxanos
Proteínases	Activador do plasminogénio Colagenase Hialuronidase
Hidrolases	Lisozima Fosfatases Glucosidases Lipases
Reguladores da função celular ^a	Interleucina-1 (IL-1) Interferão-α e -β (IFN-α, IFN-β) Factor de necrose tumoral-α (TNF-α) Eritropoietina

Mecanismos Parasitários de Escape ao Sistema Imunológico

Tabela II: Algumas citocinas e quimiocinas, com propriedades microbicidas produzidas essencialmente por macrófagos activados, importantes na imunidade inata.

Fonte: Arosa et al., 2007

Alguns efeitos inflamatórios	
Citocinas	
IL-1 α e IL-1 β	Libertação de prostaglandinas Resposta de fase aguda do fígado Febre, sono Aumento da produção de neutrófilos
TNF- α	Libertação de prostaglandinas Activação de macrófagos Indução da molécula de adesão ICAM-1 nas células endoteliais Activação de neutrófilos e sua ligação ao endotélio Resposta de fase aguda do fígado Febre Sinérgica com IL-12 os linfócitos NK a produzir IFN- γ
IL-6	Resposta de fase aguda do fígado Febre
IFN- α e IFN- β	Activação de macrófagos Induz a citotoxicidade dos linfócitos NK
IL-12	Induz linfócitos NK a produzir IFN- γ
Quimiocinas	
IL-8	Agente quimiotáctico para os neutrófilos Promove aderências dos neutrófilos às células endoteliais (induz os neutrófilos a expressar integrinas) Desgranulação dos neutrófilos
MCP-1	Activação de macrófagos
MIP-1 α	Agente quimiotáctico para os neutrófilos, linfócitos NK e células dendríticas imaturas

O processo de fagocitose, já referenciado, é facilitado por substâncias denominadas opsoninas nomeadamente factores do complemento, anticorpos e outras. (Blom et al., 2009).

- **Fragmentos do complemento C3b, iC3b, C4b e C5b** participam no processo de opsonização ao ligarem-se aos receptores existentes à superfície das células fagocíticas. Isto facilita a fagocitose de microorganismos ou imunocomplexos revestidos por aqueles fragmentos;

- **Anticorpos**, grupos de proteínas séricas que correspondem à forma solúvel dos receptores de antígeno nas células B, sendo também designados por imunoglobulinas e responsáveis pelas respostas humorais.

Funcionalmente as imunoglobulinas apresentam duas regiões principais: a região variável (**V**) responsável pelo reconhecimento do antígeno, mais precisamente as três regiões hipervariáveis que correspondem às ansas das proteínas e a região constante (**C**) com propriedade efectoras. (Brostoff e tal., 1998).

Por clivagem enzimática as imunoglobulinas podem ser separadas em diferentes fragmentos: fragmentos **Fab**, zona da molécula do anticorpo que se liga ao antígeno e fragmentos **Fc**, parte que interage com as células do sistema imune. As imunoglobulinas reconhecem apenas uma pequena parte do antígeno, esta porção reconhecida denomina-se determinante antigénico ou epitopo. Antígenos que se ligam a imunoglobulinas fora do local de ligação própria designam-se por superantígenos e são normalmente de origem bacteriana. (Arosa et al., 2007).

Tipos de imunoglobulinas (Ig):

IgM: a forma membranar é a mais comum. Importante activador do complemento e fagocitose, na forma pentamérica é capaz de aglutinar o antígeno.

IgD: faz parte do BCR.

IgG: subtipo mais abundante no soro humano, com elevada afinidade para o antígeno e também activa o sistema complemento.

IgA: forma mais abundante nas secreções e mucosas com principais funções de neutralização e inibição de aderência do patógeno.

IgE: participa activamente no processo de eliminação de parasitas visto que pode permanecer ligada semanas ou meses ao seu receptor de elevada afinidade (FcεRI) em

macrófagos, eósinófilos e basófilos desencadeando a libertação de histamina, leucotrienos, e outras aminas vasoactivas dando origem a reacções muito comuns na eliminação dos parasitas, bem como, reacções alérgicas e anafiláticas.

- Proteínas de fase aguda

- **Proteína C reactiva**, reveste as partículas a opsonizar e é uma das primeiras proteínas de fase aguda que se forma durante o processo inflamatório.

- **Fibronectina** glicoproteína adesiva que se liga a integrinas na membrana celular e facilita a fagocitose.

Dos componentes que intervêm na resposta imunitária o sistema do complemento possui uma função primordial no estabelecimento de uma resposta imunológica.

2.3. O SISTEMA DO COMPLEMENTO

Trata-se de um sistema que desempenha um papel fundamental na defesa inata do organismo, participando no processo inflamatório e constituindo um elo de ligação entre a imunidade inata e a adquirida. (Skerka et al., 2007). Este sistema é constituído por um conjunto de proteínas (fragmentos do complemento) que no processo de activação do sistema imune levam à produção de vários efeitos biológicos tais como opsonização, quimiotaxia, imunoaderência e lise celular interagindo com outros sistemas: cininas, coagulação e fibrinólise.

As proteínas do complemento são sintetizadas sobretudo no fígado mas também pelos macrófagos tecidulares e fibroblastos e encontram-se no plasma na sua forma inactiva. (Arosa et al., 2007). O sistema do complemento compreende 11 proteínas. A designação dessas proteínas compreende duas convenções:

- componentes clássicos, proteínas plasmáticas responsáveis pela lise das células mas que exigem a activação prévia de anticorpos e são representadas por C sendo numeradas de 1 a 9. Três elementos de C1 são designados por C1q, C1r e C1s. (Arosa et al, 2007).

- factores que formam a via alternativa e são capazes de provocar a lise celular sem a presença de anticorpos e são simbolizados por letras maiúsculas B, D e P. (Brostoff et al., 1998).

Ao ser activado o sistema, as moléculas proteicas que se encontravam inactivas são convertidas, por proteólise, em enzimas activas (proteases). Estas por sua vez adquirem a capacidade de se clivarem e activam o componente seguinte da cadeia, estabelecendo-se desta forma uma cascata de activação. (Arosa et al., 2007).

A excessiva activação do complemento pode ter efeitos graves e levar ao desenvolvimento de patologias daí ser estritamente controlado para não se esgotar por auto-activação contínua. Para este efeito, um vasto conjunto de reguladores solúveis e ligados à membrana asseguram que qualquer acção do complemento sobre as células do hospedeiro seja inibida activamente. (Inale, 2004; Pangburn, 2000).

A regulação do complemento ocorre, então, de forma sinérgica pela acção de proteínas séricas e proteínas membranares que inibem a formação estável do complexo C3-convertase – complexo responsável pelo início da cascata do complemento pela via alternativa.

Factores Reguladores Séricos

Factor H ao ligar-se à cadeia alfa de c3b actua como co-factor do regulador I que só após esta ligação vai mediar a clivagem de c3b. A afinidade de C3b para este factor é maior que para o factor B impedindo a formação do complexo C3b (precursor de C3bBb) que bloqueia a cascata de activação do complemento pela via alternativa. (Brostoff et al., 1997; Inal, 2004).

Factor I juntamente com CR1 e o co-factor proteico de membrana actua em vários fragmentos de C3b: iC3b, C3c, C3dg que resultam da acção enzimática de FI e que depois não podem integrar o complexo C3bBb ou C4b2b3b (C5-convertase da via clássica). (Arosa et al., 2007; Inal, 2004).

Principais Factores Reguladores Membranários

Proteína de Ligação ao C4 ou ao C4bp, liga-se a C4b actuando como co-factor de FI que a desagrega, impedindo a participação desta na formação da C3-convertase (regulador da via clássica).

Factor Acelerador da Dissociação (DAF, CD 55), impede a ligação do factor B e C2 da via alternativa e clássica respectivamente e, caso o complexo já esteja constituído ajuda à sua dissociação, actuando como inibidor do complemento. (Inal, 2004);

Co-factor Proteico de Membrana funciona como co-factor do factor I na acção enzimática que exerce sobre C3b e C4b.

Para a activação do sistema do complemento ser eficaz e levar à opsonização, remoção de imunocomplexos de circulação e mesmo indução de quimiotaxia, os leucócitos e também eritrócitos possuem receptores para os fragmentos do sistema: **Receptores do Complemento**, tipo 1, tipo 2, tipo 3 e tipo 4 que se localizam nas membranas das células-alvo e a estes vão ligar-se alguns fragmentos opsónicos (C3b, iC3b e C3dg).

CR1 é um receptor opsónico que medeia a fagocitose; liga-se aos imunocomplexos circulantes e transporta-os até às células do sistema mononuclear fagocítico que os vão fagocitar levando à sua remoção do sangue circulante; actua também como co-factor de FI, durante os processos de clivagem de C3b e confere protecção das células próprias do ataque do complemento. **CR2** liga-se essencialmente a iC3b e C3dg contribuindo para a activação dos linfócitos B de forma eficaz. **CR3** medeia a fagocitose de partículas opsonizadas por iC3b e liga-se a hidratos de carbono, comportando-se como uma lectina. Por último **CR4**, para além de uma função semelhante à de CR3 participa no processo

de adesão de monócitos e neutrófilos às células do endotélio vascular. (Arosa et al, 2007).

Existem três mecanismos de activação do complemento: via clássica, via das lectinas e via alternativa e os passos que desencadeiam estes processos diferem entre si. (Geisbrecht et al., 2008). Apesar de iniciadas de forma significativamente diferente elas seguem na cascata do complemento três fases semelhantes: **fase de iniciação**, **fase de amplificação** e **fase de ataque à membrana**, como representado na figura 1. (Arosa et al, 2007).

A **via clássica** é iniciada pelo reconhecimento do complexo anticorpo-antígeno pela proteína C1 constituída por duas moléculas de C1q, 2 de C1r e duas de C1s. A ligação de C1q ao imunocomplexo serve de base à ruptura de uma ligação peptídica que por autocatálise vai activar a cascata. C1r activada conjuntamente com C1q vai activar as duas moléculas de C1s, que uma vez activadas actuam igualmente como proteases serínicas (C1 esterase). (Arosa e tal, 2007). A partir da acção desta esterase processa-se o resto da via C1s cliva C4 – com propriedades anafilótóxicas – em C4a e C4b (uma molécula de C1s é capaz de clivar várias moléculas de C4: processo de amplificação do complemento). O componente C2 liga-se a C4b e é clivado em C2a e C2b. C2b permanece ligado a C4b dando origem ao complexo enzimaticamente activado $\overline{C4b2b}$ (**c3-convertase da via clássica**). Este complexo cliva C3 em dois fragmentos C3a também com propriedades anafilótóxicas e C3b que se liga ao complexo $\overline{C4b2b}$ constituindo o complexo $\overline{C4b2b3b}$ (C5-convertase da via alternativa). C3b liga-se a C5 e C2b (protease serínica) cliva a molécula de C5 em C5a e C5b. C5a permanece livre na fase fluida e C5b liga-se a outras moléculas que iniciam a fase de ataque à membrana. O **MAC** resulta da interacção do componente C8 com C9 ($\overline{C5b6789}$) que leva a uma modificação da forma e polimerização das moléculas de C9 que vão perfurar a membrana onde estabelecem poros e canais que levam à lise celular. O processo de ataque à membrana pode ocorrer mesmo sem a presença do componente C9, sendo que este acelera o processo. O efeito do MAC é restrito apenas às células onde se iniciou o processo de activação. Isto acontece por se tratar de um processo muito instável e poder ser rapidamente inactivado na fase fluida tanto pela proteína plasmática S como por

factores da própria membrana: como o **HRF**, factor de restrição homólogo. (Arosa et al, 2007).

Existem receptores estruturalmente similares ao C1q de reconhecimento padrão: como por exemplo a **MBL**, lectina de ligação à manose, uma colectina que pertence à família das c1q e estabelece ligações com ligandos de hidratos de carbono ou estruturas microbianas intrusas e iniciam a cascata de activação pela **via das lectinas**. (Geisbrecht et al, 2008).

A activação desta via ocorre quando a MBL, no plasma, forma complexos com três pró-enzimas, com grande actividade proteásica a MASP-1, MASP-2 e a MASP-3.

A MBL integrada no complexo MBL- MASP2 ao ligar-se à superfície de um agente patogénico promove a activação da MASP-2, com estrutura homóloga ao C1r e C1s que cliva C4 e C2 formando a C3 convertase idêntica à da via clássica. (Arosa et al, 2007).

A **via alternativa** pode ser activada espontaneamente pela hidrólise de C3, mais concretamente C3b, constantemente a ser formado e libertado por clivagem enzimática, ou pela presença de estruturas estranhas à superfície do microorganismo, como produtos bacterianos que se ligam a C3b, ou seja, apresenta uma habilidade inata para distinguir células do hospedeiro e tecidos de todos os restantes, não dependendo de uma imunização anterior ou produção de anticorpos. (Arosa et al., 2007; Pangburn 2000). Destas substâncias capazes de activar o complemento fazem parte principalmente os polissacarídeos de origem bacteriana, a zimosan das paredes de alguns parasitas como as larvas de *S. mansoni* e ainda algumas proteases, como por exemplo a plasmina. (Arosa et al., 2007).

O componente C3 b pode ligar-se a superfícies activadoras (protegidas, células do nosso próprio organismo) ou não-activadoras (não protegidas, como por exemplo as paredes das bactérias, leveduras ou parasitas). Caso C3b se ligue a uma zona protegida vai sofrer a acção de factores reguladores em cima mencionados, nomeadamente o H e o I, bloqueando o processo de activação. Pelo contrário se C3b se ligar a uma zona não protegida sofre uma acção menor por parte dos factores reguladores.

Nas zonas não protegidas C3b liga-se covalentemente e apresenta grande afinidade para o factor B do que para o H dando origem ao complexo C3bB (na presença obrigatória de iões Mg^{2+}). Por sua vez o factor B deste complexo torna-se vulnerável à acção enzimática do factor D que o cliva em dois fragmentos Ba e Bb. Bb permanece ligado a C3b: $\overline{C3bBb}$ (C3-convertase da via alternativa). Tanto a C3-convertase da via clássica como a da via alternativa tendem a ligar-se a superfícies não protegidas e estas ligações são passos decisivos para a continuação do complemento.

Quando o factor P se liga ao complexo C3bBbP (C3-convertase da via alternativa estabilizada) vai dificultar a sua dissociação, garantindo estabilização do complexo. Este complexo pode continuamente clivar moléculas de C3 o que leva a um processo de amplificação e à medida que C3b é formado, o complexo vai-se expandindo com inúmeras moléculas de C3b ligadas a uma apenas de Bb ($\overline{C3bBb3b}$ – C5-convertase). A C5 convertase inicia a fase de ataque à membrana. O que foi dito em cima sobre a participação da C-5 convertase para a via clássica tem o mesmo peso para a sua acção na via alternativa no processo de ataque à membrana. (Arosa et al, 2007).

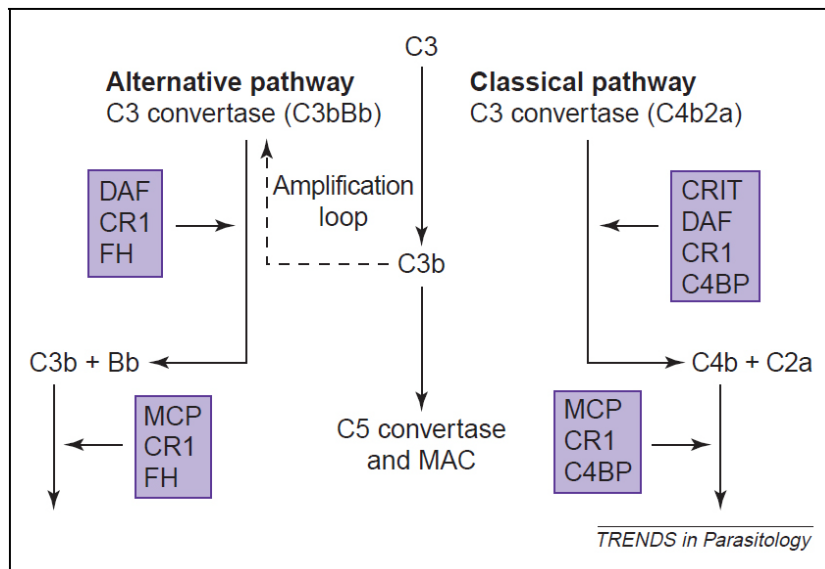


Figura1: O sistema do complemento humano e respectiva regulação por proteínas de membrana e solúveis

Fonte: Inal, 2004.

2.4. RESPOSTA INTEGRADA AO ATAQUE PARASITÁRIO

Após um primeiro contacto com um parasita ocorre uma resposta primária que se caracteriza por vários mecanismos de inibição/ neutralização do mesmo e corresponde ao período em que as células efectoras são “chamadas” ao local da infecção estabelecendo aquilo que se designa por resposta inflamatória. (Ray, 1991).

O tipo de célula responsável pelo controlo da infecção varia de acordo com o parasita que a provoca. No caso das infecções parasitárias os macrófagos têm a sua actividade totalmente potenciada, actuando como células efectoras que inibem a sua multiplicação e promovem também a sua destruição. Quando activados por citoquinas podem destruir tanto parasitas extracelulares relativamente pequenos, como também parasitas maiores (como os estágios eritrocitários do *Plasmodium*, causador de malária). Os neutrófilos têm também uma acção neutralizadora, possuem receptores Fc e podem participar nas reacções inflamatórias e citotóxicas dependentes de anticorpo, como acontece no caso da destruição das larvas de *S. mansoni*, quando activados por citocinas como IFN γ , TNF- α e CSF. Por sua vez as células eósinófilas possuem menor potencial fagocítico que as anteriores sofrendo um processo de desgranulação como resposta a alterações da sua membrana celular. A sua actividade é potenciada por acção de citocinas como TNF- α . (Ray, 2002; Brostoff, 1998).

Posteriormente afluem ao local linfócitos T citotóxicos e linfócitos B. Durante esta fase ocorre indução da produção de anticorpos, que se vão conjugando com os antígenos presentes, mais abundantes. (Brostoff et al., 1998).

Numa infecção parasitária os níveis de imunoglobulinas elevam-se, como por exemplo, IgM na tripanossomiase e na malária, IgG também na malária e leishmaniose visceral. Os mecanismos pelos quais os anticorpos podem controlar as infecções parasitárias são resumidamente abaixo indicados:

- agem directamente sobre o parasita, por exemplo protozoários, destruindo-os por activação do complemento;

- neutralizam o parasita directamente bloqueando a fixação deste a uma nova célula hospedeira, *Plasmodium* spp e *T.cruzi*;
- potencializam a fagocitose mediada pelos macrófagos (opsonização);
- estão envolvidos na citotoxicidade dependente de anticorpo, como é o caso das infecções causadas por *T. cruzi*, *Trichinella spiralis* e *S. mansoni*.

Caso os parasitas tenham sido destruídos e eliminados a resposta imunológica foi eficaz. Caso contrário, pode surgir uma inflamação crónica e o número de neutrófilos decresce notoriamente, passando a acumular-se no foco inflamatório um elevado número de linfócitos T auxiliares e fagócitos mononucleares. (Brostoff et al, 1998).

As células fagocíticas, neste período, têm um papel fundamental na captura e apresentação de antígenos aos linfócitos T, que ocorre através da interacção dos complexos peptídicos – MHC com os receptores das células T. Esta ligação leva a um conjunto de sinais que promove a activação das células T e leva ao seu crescimento e proliferação. (Cohen, 2001).

As células Th1 e Th2 têm um papel preponderante na produção de citocinas fundamentais na eliminação de parasitas durante a imunidade adquirida.

Cada linfócito T e B é determinante numa segunda resposta à infecção parasitária, uma vez que, em contacto com o antígeno, activam-se diferenciando-se em células efectoras, mas também em células memória – base da imunidade adquirida. (Brostoff et al, 1998).

III. RELAÇÃO PARASITA-HOSPEDEIRO

Parasitas são seres eucarióticos que necessitam de um organismo hospedeiro para sobreviver fazendo face às potencialidades do seu sistema imune. A sua sobrevivência face a este sistema passa pelas inúmeras estratégias de evasão que adoptam, nomeadamente para evitar a sua detecção, como referido anteriormente. (Maizels, 2009). É exactamente a coexistência e co-evolução entre parasitas e hospedeiros que levam ao desenvolvimento destes múltiplos mecanismos de evasão. (Geisbrecht et al, 2008).

A co-existência entre parasita e hospedeiro tende a ser equilibrada. Nem sempre o hospedeiro consegue eliminar de forma bem sucedida o parasita, nem este consegue atingir sempre o seu grau máximo de virulência. (Schmid-Hempel, 2009).

Para se perceber a evolução do sistema imunitário, bem como a co-evolução hospedeiro-parasita e efeitos que esta pode ter sobre ambos é necessário que os mecanismos de evasão parasítica estejam agrupados de acordo com as consequências para a “performance” do parasita, como se demonstra na figura 2. (Geisbrecht et al., 2008; Hempel, 2005).

Este é capaz de desenvolver mecanismos activos ou passivos de evasão que levam ao aumento da sua virulência mas que exigem do parasita a capacidade de não serem letais para o próprio hospedeiro.

Se o efeito patogénico de um mecanismo de evasão provocar danos no hospedeiro de forma a leva-lo, inclusivamente, à morte, o parasita não tira qualquer benefício visto que implica também não sobreviver ou completar o seu ciclo de vida. (Schmid-Hempel, 2009).

Como tal nem sempre evasão ao sistema imune é sinónimo de aumento de patogenicidade e virulência como é o caso de grande parte dos helmintas que ao provocarem uma baixa regulação da resposta inflamatória levam a uma diminuição do grau de virulência. Este tipo de situações acontece especialmente em parasitas que

provocam uma infecção duradoura, visto que o efeito de cronicidade favorece-os, permitindo a sua sobrevivência. (Schmid-Hempel, 2009).

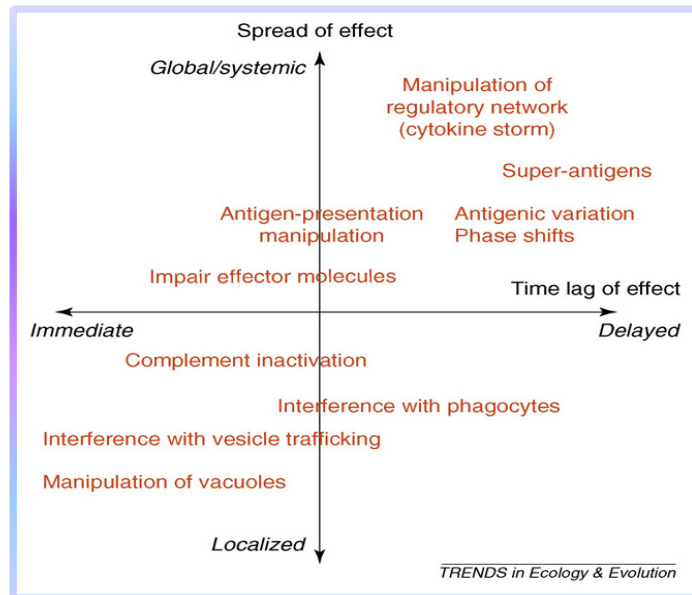


Figura 2: Grau de Virulência de um parasita, de acordo com a semelhança entre as suas formas de escape.

Fonte: Schmid-Hempel, 2005.

3.1. DESENVOLVIMENTO DE TOLERÂNCIA

A eliminação do parasita pelo hospedeiro é o processo limite da sua relação, estando dependente dos mecanismos de evasão adoptados.

Por sua vez, o controlo gradual da infecção pelo hospedeiro, mantendo baixo o nível de “prejuízos” poderá ser a causa das infecções de longa duração, esta relação denomina-se por tolerância. Englobado no conceito de evasão imune, este fenómeno reflecte, por sua vez, a capacidade do parasita escapar permanentemente às defesas do hospedeiro a fim de permanecer neste e conseguir assegurar a sua transmissão. Caso o parasita seja bem

sucedido na evasão e se mantenha no hospedeiro, este último terá que suportar os efeitos negativos da infecção. É o que acontece nos casos de muitos parasitas como *Trypanosoma* ou *Plasmodium*. (Shemid-Hempel, 2008).

IV. MECANISMOS DE FUGA PARASITÁRIA

Todos os processos de evasão parasitária são baseados na manipulação dos mecanismos moleculares que constituem e regulam a resposta imunitária do hospedeiro ou das suas células funcionais e foram adquiridos ao longo de milhares de anos de evolução. (Geisbrecht et al., 2008).

Qualquer parasita pode usar estes processos simultaneamente ou sequencialmente, em diferentes estados de infecção, bem como usar moléculas por si produzidas a fim de promover essa mesma evasão. A identificação de cada antígeno e o seu “alvo” no sistema imunitário humano é um passo fundamental na percepção destes mecanismos.

Na maior parte das vezes o sistema do complemento é o alvo preferencial dos mecanismos de evasão parasitária visto também ser uma das primeiras linhas de defesa na protecção do organismo. (Geisbrecht et al., 2008).

Os processos de escape parasitário podem ser classificados em dois tipos básicos, de acordo com o modo de acção do parasita, dentro destes dois tipos incluem-se subtipos de classificação de acordo com a forma como os parasitas promovem o seu escape, encontrando-se sintetizados na tabela III.

Evasão passiva

Varição Antigénica (“switch”) que permite ao parasita evadir-se ao sistema imunológico recorrendo a uma constante alteração da cobertura da sua superfície, por existência de várias formas alélicas das proteínas do parasita.

Fuga para Locais Imunoprevidiliados em que parasita se “esconde” do sistema imune escolhendo locais usualmente ausentes de linfócitos e/ ou leucócitos.

Evasão activa

Dissimulação dos Antígenios (que inclui a captação de moléculas do hospedeiro e mímica)

Imunossupressão inclui a produção de proteases, moléculas que o parasita produz e secreta de forma a inibir a resposta imune, escape à fagocitose, que representa a maneira como o parasita consegue ludibriar a acção das células fagocíticas e desta forma escapar à sua acção neutralizadora ou destrutiva. (Shmid- Hempel, 2009).

E por último modelação do processo de apoptose em que o parasita interfere no processo de morte programada da célula do hospedeiro tentando inibi-la em células que estão infectadas por este e induzindo-a em células programadas para ataca-lo. (Green et al, 2004).

Tabela III: Quadro Resumo dos Mecanismo Parasitário de Evasão ao Sistema Imunológico

MECANISMOS PASSIVOS		MECANISMOS ACTIVOS	
VARIAÇÃO ANTIGÉNICA	- "SWITCH"	DISSIMULAÇÃO DOS ANTIGÉNIOS	- MIMÍCA - CAPTAÇÃO DE MOLÉCULAS DO HOSPEDEIRO
- LOCAIS IMUNOPREVILIGIADOS		IMUNO-SUPRESSÃO	- PRODUÇÃO DE PROTEASES - ESCAPE À FAGOCITOSE - INDUÇÃO/INIBIÇÃO DA APOPTOSE

V. MECANISMOS DE EVASÃO PASSIVA

5.1. VARIAÇÃO ANTIGÊNICA

Uma das maneiras mais comuns de escape parasitário é alterar a sua conformação estrutural várias vezes, trocando os seus antígenos sucessivamente. (Chiodini et al., 1993; Allred, 2001).

De acordo com a definição trata-se de um “fenômeno em que os microorganismos são capazes de rapidamente alterarem as características antigênicas e estruturais de determinados componentes num curto período de tempo não alterando a estabilidade relativa de outros componentes, tudo em torno do seu próprio benefício”. (Allred, 2001).

A variação antigênica ocorre devido às diferenças que ocorrem nos alelos de um gene entre indivíduos da mesma população traduzindo-se em diferenças nos antígenos e pode ocorrer durante o processo de infecção de um determinado indivíduo ou durante a disseminação do parasita. (Chiodini et al., 1993).

Ao contrário do que acontece com outras moléculas, em que a variação destas obedece a determinadas necessidades como é o caso das substituições nucleotídicas, em que se espera que estas sejam concentradas no interior de intrões ou predominantemente em codões porque, só desta forma não afectarão as sequências peptídicas ou, no caso, das substituições em aminoácidos, que devem ser limitadas aos resíduos de estruturas físicas e químicas semelhantes e devem permanecer em porções em que haja maior possibilidade de mudança; a troca de antígenos parasitários tem como única imposição a pressão sobre eles exercida pelo hospedeiro a fim de haver diversificação da resposta parasitária perante a pressão imune. (Rosenthal, 2001).

Esta é uma estratégia muito utilizada em casos de parasitas que se propagam facilmente pela população e tende a ser mais importante em hospedeiros de vida longa, tal como, os humanos, visto que a sobrevivência dos patógenos, bem como, a sua capacidade de

adaptação tende a ser favorecidos pelas multi-reinfecções durante a vida de um determinado indivíduo. (Chiodini et al., 1993). É de notar que em epitélios como o respiratório e /ou intestinal, onde o período de incubação é menor que uma semana este mecanismo raramente é utilizado. No entanto, em infecções sistémicas em que o período de incubação é mais longo a variação antigénica é uma importante característica e constitui uma vantagem como é possível verificar pela figura 3. (Chiodini et al., 1993).

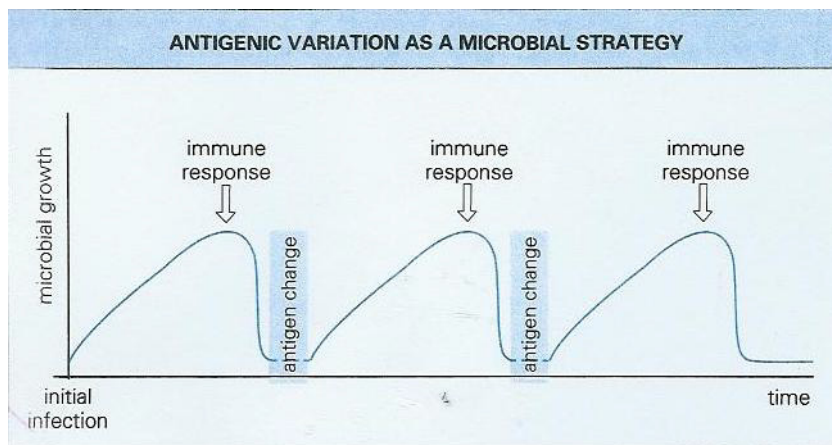


Fig 3: Variação antigénica como uma solução de estratégia

Fonte: Chiodini et al, 1993.

Este método envolve o uso sistemático de variantes cuja maior função é a de proteger o parasita da resposta imune.

Caso o parasita expresse rapidamente todas as suas variantes, de igual forma, o hospedeiro vai promover uma resposta imune que tenta erradicar todas elas e elimina-lo. Por outro lado, se o parasita demora demasiado tempo a fazer as suas alterações antigénicas, o hospedeiro poderá eliminá-lo. Perante uma determinada taxa de variação antigénica, os parasitas dependendo da sua relação com o hospedeiro conseguem estender a infecção através da velocidade de expressão de sucessivas variantes. (Maizels, 2009).

Alguns modelos explicam de onde poderá vir o sucesso deste método de escape.

Este mecanismo ocorre de uma forma organizada, ou seja, é como se o parasita tivesse um “stock” de variantes ao qual pode recorrer, no entanto, a forma como estas se dispõem, é ordenada e a sequência de variantes capaz de causar uma parasitemia tende a seguir uma ordem repetida. Este modelo de escape “organizado” pode ocorrer, hipoteticamente, devido a cinco factores. (Barbour et al., 1998).

Uma situação que pode ocorrer é o facto dos parasitas expressarem, após o momento de “switch”, ambas as variantes na sua superfície, a antiga e a nova. A dupla expressão pode sofrer pressão por parte do sistema imune dependendo do tempo que demora a total substituição da variante antigénica. Isto poderá favorecer a ocorrência de algumas transferências em detrimento de outras, levando a uma separação temporal na ordem de sequência das diferentes variantes antigénicas. (Barbour et al., 1998).

Também a probabilidade de ocorrer “switch” entre as variantes pode ser estruturada de forma a promover sequências dominantes e a estender a infecção. As variantes podem surgir de forma sequencial caso os próprios parasitas estruturem a probabilidade de transição de cada grupo de variantes.

Uma quarta perspectiva resulta do facto de se concluir que hospedeiros com respostas de reacção cruzada terem maior probabilidade de subsistir a infecções crónicas; logo, infecções crónicas, significam que o repertório de moléculas antigénicas do parasita pode ser estruturado de acordo com um padrão de dominância sequencial. (Barbour et al., 1998).

Por último, a quinta hipótese de base a este escape “organizado”, é que o parasita enfrenta um dilema perante dois requisitos, por um lado a competição entre genótipos do parasita favorece altas taxas de “switch”, bem como, a alta quantidade de variantes (“em stock”), num recente estado de infecção, também o favorece. As taxas efectivas de “switch” num estado mais tardio da infecção permitem que as variantes sejam expressas sequencialmente e seja possível estenderem-se ao longo de toda a infecção. (Barbour et al., 1998).

Dois tipos de resposta imune podem ocorrer perante determinada variante antigénica: os anticorpos ligam-se a epítopes específicos ou então ligam-se a epítopes partilhados por várias variantes. (Barbour et al., 1998).

A dinâmica destas variantes está largamente limitada pelo conjunto de respostas imunes “inibitórias” de outras. Como consequência uma variante em particular ganha vantagem caso a sua anterior “sequência” gere respostas imunes que colectivamente tenham efeitos negativos maiores no seu crescimento comparativamente com o crescimento de outras variantes. (Gupta, 2005).

A variação nos antigénios parasitários representa um desafio-chave no constante desenvolvimento e procura de novas soluções como por exemplo vacinas, requerendo um balanço entre especificidade e ao mesmo tempo a necessidade de uma resposta generalizada contra um conjunto de antigénios. (Rosenthal, 2001).

Este método, consequente da constante pressão de um hospedeiro imunocompetente é um efectivo mecanismo para o parasita estabelecer infecção num hospedeiro anteriormente exposto ao mesmo parasita sendo altamente evidenciado pelos parasitas *Trypanosoma brucei*, *Plasmodium falciparum* e também em *Giardia lamblia*. (McKerrow, 1989).

Durante o período em que está na corrente sanguínea, a superfície do parasita *T. brucei* é coberta por uma monocamada constituída por cerca de 10^7 cópias de uma única proteína designada por **VSG**, glicoproteína de superfície variante, trata-se de uma glicoproteína ancorada à membrana de **GPI** (glicosilfosfoglicano), com dois domínios. Um domínio N-terminal, com uma forma de bastonete que apresenta na superfície do parasita as sequências variáveis que expõem os únicos epítopes reconhecidos pelo hospedeiro. A forma alongada deste domínio bem como as apertadas interações entre os antigénios é útil na protecção do parasita contra componentes líticos do sangue. A sequência terminal de aminoácidos deste domínio é extremamente variável entre as diferentes VSG. Por seu lado, o domínio terminal C é mais conservado e está ligado ao plasma ancorado pela molécula de GPI e ligado ao domínio N através de uma região articulada muito sensível à clivagem proteolítica.

Para além de sofrer a variação antigénica que permite ao parasita o seu principal meio de escape esta glicoproteína é essencial para assegurar ao parasita o escape à resposta imune por rápida internalização de anticorpos mas também está envolvida na absorção de outras moléculas como elementos do complemento e citocinas, como TNF- α . (Pays, 2006).

Este parasita expressa diferentes variantes da glicoproteína da sua superfície que podem definir a diferente susceptibilidade deste parasita ao ataque do sistema imune devido exactamente à competição e às diferenças de “prestação” que daí resultam, que ocorrem entre as variantes. (Gross et al., 1997; Carrero et al., 2002). Cada parasita possui um vasto repertório de genes e a completa sequência do genoma da *T.brucei* revelou mais de 1700 genes que codificam diversas proteínas cada uma com uma sequência primária diferente, particularmente no terminal N. (Pays, 2006).

Os genes que codificam a glicoproteína VSG são expressos e recombinados num local telomérico especializado que tem diversas unidades de transcrição. Os sítios activos de transcrição da proteína VSG são referidos como “sítios de expressão”, (Pays, 2006) neste caso como é na corrente sanguínea são designados por **BES**, sítios de expressão de variantes, e correspondem ao único sítio activo para ocorrer a transcrição, no *Trypanosoma*. (Barry et al., 2001). Estes diferentes sítios, cerca de 20 no *T. brucei*, figura 4, são úteis na adaptação deste parasita a diferentes espécies de hospedeiro. (Allred, 2001). Um exemplo prático desta situação é a captação da transferrina para seu próprio benefício. Estes sítios de expressão contêm **ESAGs**, genes associados aos sítios de expressão, nomeadamente ESAG6 e ESAG7 que codificam para uma subunidade de um receptor da transferrina e esta capta a transferrina existente na corrente sanguínea. “Switching” entre sítios de expressão de VSG permite aos *Trypanosomas* mudar constantemente as características dos receptores para captar uma molécula de transferrina de um hospedeiro específico. (Ramasamy, 1998; Barry et al, 2001).

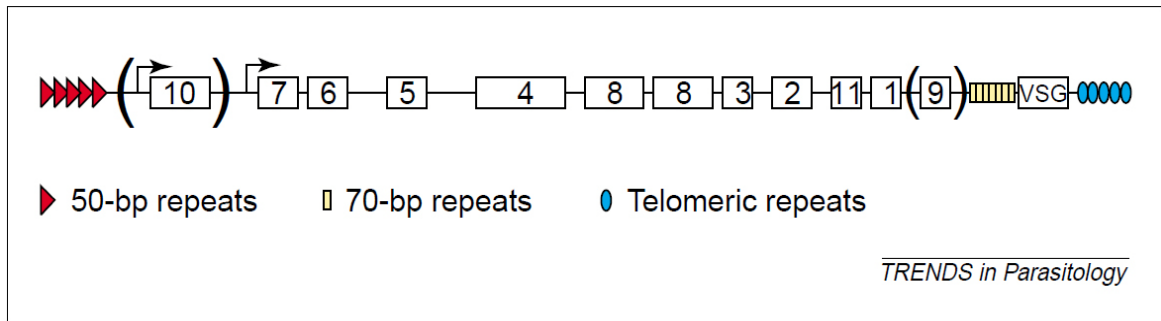


Figura 4: Sítio de Expressão de uma VSG de um *T. brucei*

Fonte: Barry, 2001

Como consequência isto ajuda o parasita no escape e nos sucessivos casos de parasitemia característicos da doença provocada por este parasita, podendo o hospedeiro ser infectado por parasitas relacionados entre si, sem serem iguais o que faz com que seja mais complexo o desenvolvimento de uma vacina para esta doença. (Allred, 2001).

Os intervalos de tempo que ocorrem entre o aparecimento de novas variantes são benéficos para o *Trypanosoma* continuar uma infecção por um longo período de tempo; permitem ao parasita prolongar a infecção escapando aos anticorpos que já tentaram constituir uma resposta à forma anterior da VSG. (Gross et al., 1997).

Uma regra da variação antigénica neste parasitas é que só um único gene é totalmente activo uma única vez e apenas quando o parasita se encontra na corrente sanguínea. A transcrição pode ocorrer em vários genes ao mesmo tempo mas o processo acaba por abortar com excepção do único “activo”. Para muitos genes VSG a única forma de se tornarem activos é a substituição do gene num local de expressão activo e vários são os mecanismos considerados. (Pays, 2006)

Este é o mecanismo de variação antigénica mais frequentemente usado por este parasita para promover as variantes da glicoproteína citada. (Allred, 2001).

A extensão de conversão genica no *T. brucei* é extremamente variável, em particular nas conversões de partes de genes em que VSG activos geralmente geram sequências

rearranjadas de híbridos de diferentes doadores o que leva à formação de novos genes. (Pays 2006).

Entre os diferentes mecanismos que adoptam para sobreviver dentro do hospedeiro é, sem dúvida, a variação antigénica, aquela que demonstra o máximo da sua capacidade de escape. (Pays, 2006).

O *P. falciparum* constitui também exemplo fulcral de variação antigénica como meio de escape ao sistema imune por parte de um parasita; invade eritrócitos e evita a resposta imune, ao nível do baço, onde os eritrócitos parasitados são eliminados da circulação. (Gross et al., 1997). Este parasita só circula no sangue no período correspondente a metade do ciclo de vida do eritrócito.

Aproximadamente 18 horas após a invasão, **VSAs**, antígenos de superfície variantes, começam a surgir nas células eritrocitárias e vão mediar a adesão destas a ligandos pertencentes ao endotélio do hospedeiro. Isto evita que os eritrócitos parasitados passem para o baço a fim de serem destruídos e eliminados. Para tal é necessário que estes VSAs estejam em permanente variação de configuração a fim de evitarem o reconhecimento imune. Parasitas que falham na expressão de VSAs têm maior probabilidade de induzirem um nível mais baixo de parasitémia, conseqüentemente a resposta imunitária é mais eficaz. Diferentes VSAs conseguem mediar a ligação a diferentes receptores endoteliais do hospedeiro, sendo esta capacidade de promover adesão, fundamental, em termos evolutivos para o parasita. (Newbold, 1999).

O *P.falciparum* contem várias famílias de genes que codificam para as proteínas **PfEMP-1**, “Plasmodium falciparum Erythrocyte Membrane Protein 1”, **Rifin**, Repetitive Interspersed Family”, **Stevor**, “Subtelomeric Variable Open Reading Frame” e **Pfmc-2TM**, Maurer’s Cleft Two Membrane”. Estes genes são fortemente regulados a nível da transcrição e apenas um gene de cada família é expresso de cada vez. Embora os receptores para Rifin, Stevor e Pfmc-2TM não tenham sido identificados, no caso da proteína PfEMP-1 sabe-se que esta se liga a receptores do hospedeiro, tais como, CD36, **ICAM-1**, “Intercellular Adhesion Molecule-1” **TSP**, “Trombospondin”, CR1, **VCAM-1** “Vascular Adhesion Molecule –1” e **CSA** “Chondroitin Sulfate A”. (Casares et al., 2001).

A proteína PfEMP-1 deste parasita é a proteína de membrana cujas propriedades são mais conhecidas: pertence a uma família de genes altamente polimórficos e possui um elevado peso molecular. (Newbold, 1999). Situa-se na superfície dos glóbulos vermelhos e medeia a citoaderência dos eritrócitos ao endotélio venular o que também caracteriza as complicações cerebrais da doença da malária. As variações constantes nesta proteína afectam igualmente o reconhecimento por parte dos anticorpos devido à apresentação constante de novos epitopes. (Craig et al., 2001).

A proteína PfEMP-1 exhibe, ainda, zonas de ligandos que estão envolvidos na ligação das células endoteliais aos eritrócitos. (Kemp, 1992; Allred, 2001). Esta proteína é codificada por um gene denominado *var* com um repertório entre 40 a 50 cópias. A principal característica deste gene é a expressão exclusiva mútua ou seja apenas uma única cópia da família é expressa na superfície de um eritrócito infectado. (Craig et al., 2001).

Ao contrário do que acontece em muitos outros sistemas onde ocorre variação antigénica, no *P.falciparum* o mecanismo de “switch” não é acompanhado pela duplicação genica no sítio de expressão, através de rearranjos do **DNA**, ácido desoxirribonucleico, ou mesmo alterações na metilação padrão, junto do gene *var*. (Newbold, 1999).

O mecanismo de **gene “switching (in) activation”** é portanto, aquele que acontece prevalentemente neste parasita e é definido como regulador da transcrição por mecanismos semelhantes ao que também ocorrerem no *T. brucei*.

O antígeno variante é expresso na superfície dos eritrócitos e é reconhecido e aglutinado pelos anticorpos específicos para este durante a fase de convalescência, sendo que o alvo destes anticorpos é especificamente a proteína existente na membrana do eritrócito. (Kemp, 1992; Allred, 2001).

Para além do *P. falciparum* foi detectada variação antigénica nas moléculas existentes na superfície de eritrócitos infectados, nomeadamente, no *Plasmodium knowlesi*,

Plasmodium chaubadi, *Plasmodium fragile* e *Plasmodium vivax*. Desta forma é possível concluir que no caso dos agentes causadores da malária, a variação genética é um mecanismo constante nestes parasitas. Caso não haja passagem para nenhuma outra célula ou sejam eliminados, os antígenos variantes na superfície dos eritrócitos regulam o crescimento do parasita e estão envolvidos no estabelecimento de uma infecção crónica. (Craig et al., 2001; Ralph et al., 2005).

Comparando as duas espécies de parasitas já referidos e que utilizam o mesmo mecanismo de escape verifica-se uma situação contrastante entre eles, o *T. brucei* ao multiplicar-se na corrente sanguínea encontra-se francamente exposto ao ataque do sistema imunológico, dependendo a sua sobrevivência do mecanismo de variação antigénica que a sua proteína de revestimento sofre. Por seu lado o *P. falciparum* encontra-se aparentemente escondido do sistema imune por invadir as células eritrocitárias. No entanto, mesmo dentro das células sanguíneas o parasita não passa totalmente incógnito, visto que a célula parasitada expressa proteínas que são reconhecidas pelo sistema imune e ao contrário do que acontece com a VSG do *T. brucei*, estas proteínas têm como única função mediar a ligação a moléculas do hospedeiro nas células endoteliais, resultando no aprisionamento de eritrócitos infectados, evitando desta forma a eliminação das células infectadas no baço. (Rudenko, 1999).

Por último exemplo deste mecanismo o caso da *G. lamblia*, este parasita possui uma grande capacidade para alterar as propriedades antigénicas da sua superfície; sendo este processo mediado por uma única família de proteínas ricas em cisteína, designadas por **VSPs**, proteínas de superfície variantes. Estas proteínas representam a maior cobertura antigénica do parasita e cobrem totalmente o trofozito.

O mecanismo pelo qual ocorre variação é feito através da substituição de um tipo de VSP inicial por uma mistura de novos tipos de VSP. Este mecanismo foi observado em populações de trofozoítos no intestino e também em trofozoítos individuais após a sua libertação dos quistos não proliferativos. (Gottstein e al., 1998).

5.2. LOCAIS IMUNOPRIVILEGIADOS

Os locais invadidos habitualmente pelos parasitas, como o interior das células hospedeiras não são considerados privilegiados uma vez que estes podem ser detectados, nomeadamente através das alterações no número de moléculas de MHC. (Chiodini et al., 1993). Locais onde normalmente não circulam linfócitos, mesmo em condições desfavoráveis para o parasita, constituem um local imunologicamente privilegiado de esconderijo onde estes podem proliferar. (Inal, 2004).

Estes sítios incluem o SNC, sistema nervoso central, as articulações, testículos e placenta. Nestes locais a circulação de linfócitos é menos intensa, havendo também um acesso mais restrito a anticorpos, bem como, à actuação do sistema complemento. No entanto quando a resposta imunitária é induzida, anticorpos, linfócitos e monócitos podem chegar rapidamente a estes locais. (Chiodini et al, 1993).

Outros locais imunoprivilegiados incluem o olho e o cérebro. O olho constitui um sítio no qual a resposta imune se encontra suprimida a fim de evitar a destruição dos sensíveis tecidos que o constituem. Sob normais condições os fluidos intra-oculares contêm citocinas que apresentam propriedades imunossupressoras. (Bhopale, 2002).

Os parasitas não só habitam estes locais, como também, conseguem criar o seu próprio local imunoprivilegiado, formando o seu próprio nicho. Isto é conseguido através da formação de quistos que envolvem os ovos do parasita com um tecido fibroso que actua como uma barreira física e reduz o acesso aos componentes do sistema imune. Para além de reduzir o acesso ainda limita a estimulação de respostas imunes visto o parasita estar rodeado por uma cobertura não imunogénica. (Brown et al., 1996).

O parasita *Echinococcus granulosus* é o exemplo de um parasita que consegue criar o seu próprio local privilegiado, é o que acontece ao formar-se o quisto hidático no fígado, cérebro ou pulmão. Nestes locais o verme consegue sobreviver independentemente do facto do sangue do hospedeiro conter grandes níveis de anticorpos.

Um caso de uma escolha de um local imunopreviligiado para tentar escapar à resposta imune é também o do parasita *T. gondii*, este parasita invade locais como o cérebro e a retina para, de uma forma passiva, tentar evadir-se à resposta imune do hospedeiro.

Este facto foi comprovado pela presença de taquizoitos e cistos encontrados em pigmentos da retina do olho humano de doentes com toxoplasmose ocular. (Bhopale, 2002).

VI. MECANISMOS DE EVASÃO ACTIVA

6.1. DISSIMULAÇÃO DOS ANTIGÉNIOS

Alguns parasitas evitam a resposta imune devido à ocultação/dissimulação dos seus antigénios usando a própria semelhança que os seus receptores de superfície apresentam com os do seu hospedeiro. (Würzner, 1999).

Estes receptores interagem com os ligandos do hospedeiro e permitem o seu crescimento e diferenciação, utilizando mesmo os principais factores de crescimento do hospedeiro. Desta forma, a interacção com o hospedeiro e com os seus factores de crescimento podem contribuir para o crescimento do parasita e promover a sua proliferação.

A imitação (mímica) dos componentes do complemento ou dos seus receptores permite aos parasitas evitar a sua eliminação por inibição da activação do complemento ou pela interferência na sua regulação; por outro lado permite também usá-los para a entrada nas células do hospedeiro. (Würzner, 1999).

Para além da mímica das moléculas do hospedeiro outros parasitas capturam essas mesmas moléculas do hospedeiro, maioritariamente reguladores do complemento a fim de recobrirem a sua superfície e tornarem-se “invisíveis” ao sistema imunitário.

6.1.1.MIMÍCA

Este mecanismo é baseado na forma como o parasita consegue expressar epitopes semelhantes e por vezes, mesmo, iguais aos do hospedeiro, modificando a resposta imune directamente através das suas próprias moléculas (via semelhanças autoregulatórias) ou indirectamente por desregulação das células efectoras do hospedeiro.

Como referido anteriormente foi a descoberta de antigénios comuns entre vertebrados e o parasita *Schistosoma*, seguida da observação de muitos outros parasitas que levou ao conceito inicial de mímica molecular. (Capron et al., 2000).

Esta similaridade entre os antigénios presentes no parasita com aqueles que existem no hospedeiro é resultado da co-evolução hospedeiro-parasita, que leva a que estes últimos tenham sofrido uma evolução similar nas suas estruturas de acordo com as do seu hospedeiro. Esta co-evolução estrutural permitiu a sua adaptação e sobrevivência no interior deste. Ao longo dos anos têm sido identificados um número considerável de proteínas no parasita que partilham características funcionais e estruturais com as proteínas e receptores do complemento do hospedeiro. (Würzner, 1999). No entanto, para alguns parasitas a presença destas proteínas deve-se à aquisição destas de uma forma activa, por captação das moléculas do hospedeiro. (Capron et al., 2000).

Mimica molecular é frequentemente usada pelo parasita de forma a evitar o reconhecimento por parte do sistema imune, nomeadamente pelo sistema complemento, promovendo desta forma, a inibição deste sistema através da “imitação” de proteínas e reguladores que o controlam. (Würzner, 1999), tabela IV. Este mecanismo está subjacente a um outro mecanismo de conservação molecular em que a homologia entre as sequências de DNA do hospedeiro e do parasita apontam para a incorporação de material genético do hospedeiro no genoma do parasita. (Capron et al., 2000).

Existem múltiplos exemplos de parasitas que utilizam esta estratégia como forma de escape ao sistema imune entre estes destacam-se os exemplos do *P. falciparum* e do *T. cruzi*.

Relativamente ao *P. falciparum*, este apresenta duas proteínas, **Ag 332** e **Ag 11-1**, que demonstram uma sequência homóloga a uma hormona peptídica do timo, α ₁-timosina que modela a diferenciação das células T. Estes péptidos do *P. falciparum* vão ter o mesmo efeito biológico que a hormona timica e consequentemente actuar nas células T interferindo com o desenvolvimento de imunidade celular contra a malária. (Ramasamy, 1998).

Outro exemplo de mimíca referenciada para este parasita é a que se relaciona com a secreção de **TCTP** proteína homóloga ao factor de libertação de histamina, **HRF**, nos mamíferos. Nos humanos este péptido é responsável pela libertação de histamina e ainda de IL-4 e IL-3 a partir dos basófilos e mais recentemente descobriu-se que também promove a secreção de IL-8 a partir de eosinófilos purificados. Pensa-se que os níveis de histamina e secreção de IL-8 se encontram muito elevado em pessoas que tenham malária, exactamente devido à presença desta proteína homóloga.

Foi recentemente identificada uma TCTP no *P.falciparum*, com elevada homologia com o factor humano, a sequência de aminoácidos era 33% iguais e 54% semelhantes. (Bhisutthibhan et al., 2001).

Foi feito um estudo a fim de determinar se TCTP é de facto encontrada no citoplasma de células de pessoas infectadas com o parasita e determinar se esta proteína tem actividade biológica. TCTP foi detectado em adultos infectados e em crianças com doença severa, mas não foi detectada em não pacientes infectados. (Bhisutthibhan et al., 2001).

De acordo com os resultados do teste “*in vitro*”, a proteína TCTP recombinante, homóloga ao HRF, também estimula a libertação de histamina pelos basófilos bem como a libertação de IL-8 pelos eosinófilos, em doentes com malária. (Bhisutthibhan et al., 2001).

Os efeitos vasodilatadores da histamina cuja libertação é estimulada pela proteína do parasita permitem a este circular mais facilmente pelas estreitas veias sanguíneas. (Bhisutthibhan et al., 2001).

Para o parasita *Typanosoma cruzi* a activação da via clássica, como forma de resposta imune, é feita através do reconhecimento do complexo antigénio-anticorpo mediado pelo componente C1 e por **PAMPS**, moléculas padrão associadas ao antigénio. (Bhisutthibhan et al., 2001).

Qualquer interferência com a geração dos sinais de resposta durante a activação do complemento vai resultar numa inibição deste. Este parasita apresenta também na sua superfície algumas proteínas que mimetizam as proteínas humanas que interferem na regulação da via, nomeadamente a CRP ou o DAF (T-DAF), tabela IV.

Ou ainda a proteína designada por **TcCRT**, semelhante à humana **HuCRT** que inibe a activação da via clássica do complemento graças à sua capacidade de interferir com o componente C1 iniciador da via resultando na inibição da resposta gerada pelo complemento o que lhe permite a evasão ao sistema imune, bem como, aumento da infecção. (Bhisutthibhan et al., 2001).

Tabela IV: Exemplos de parasitas que mimetizam determinados reguladores do complemento como forma de evitar a sua eliminação.

Fonte: Würzner, 1999.

Pathogen	Functional mimicry ^c	Structural similarity	Antigenic cross-react.	Sequence homology	Host ligand	Reference ^a
Mimicry of C1qR						
<i>Onchocerca volvulus</i> , RAL-1				C1qR	C1q ^b	Malhotra et al. (1993)
<i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> , <i>C. freundii</i> , <i>P. aeruginosa</i>	C1qR ^b				C1q	Van den Berg et al. (1996)
Mimicry of C3 convertase controlling proteins (CRI, DAF, C4bp)						
Blocking assembly of AP C3 convertase						
<i>Trypanosoma cruzi</i> gp58/68	CRI ^b					Fischer et al. (1988)
Blocking assembly of CP & AP C3 convertase						
<i>Trypanosoma cruzi</i> gp160	DAF	DAF	DAF	DAF	C4b,C3b	Norris et al. (1991)
Blocking assembly of CP & AP C3 convertase and accelerating decay of CP C3 convertase						
<i>Vaccinia Virus</i> VCP, gp35	CRI	C4bp		C4bp, DAF,MCP,H	C4b,C3b	Kotwal et al. (1990)
Accelerating decay of AP C3 convertase						
<i>Epstein-Barr-Virus</i>	CRI				C3b,iC3b,C4	Mold et al. (1988)
<i>Herpes Simplex Virus</i> —1/2 gC1/2	CRI ^b		CRI	CRI	C3b,iC3b	Friedman et al. (1984)
<i>Human Herpes Virus</i> 8 (HHV8) (ORF-4)	C4bp ^b , DAF ^b			C4bp,DAF,MCP		Neipel et al. (1997)
<i>Herpes Virus Saimiri</i> CCPH (ORF-4)	C4bp ^b , DAF ^b	DAF		C4bp,DAF,MCP		Albrecht and Fleckenstein (1992)
Accelerating decay of CP and AP C3 convertase						
<i>HIV-1</i> gp120	C4bp		C4bp	C4bp	iC3,C3b,C4b	Stoiber et al. (1995b)
<i>Trypanosoma cruzi</i> gp87-93		CRI, DAF		DAF		Joiner et al. (1988)
Mimicry of CD59 limiting membrane attack						
<i>Herpes Virus Saimiri</i> ORF-15 (ORF-LS)	CD59	CD59			C9 ^b	Albrecht et al. (1992)
<i>Entamoeba histolytica</i> adhesin, 170 kDa subunit	CD59		CD59	CD59	C8, C9	Braga et al. (1992)
<i>Schistosoma mansoni</i> , SCIP-1, 94 kDa	CD59	CD59	CD59		C8, C9	Parizade et al. (1994)

^a Due to space restrictions only one reference per subject.

^b Assumed/proposed.

^c Not necessarily comprising all functions of the human protein.

i) Mímica e Indução de Auto-Imunidade

A mímica molecular entre hospedeiro e parasita pode também ser responsável pela indução de auto-imunidade – auto anti-corpos associados às infecções parasitárias ligam-se tanto aos próprios antígenos do hospedeiro como a antígenos do microorganismo. (Abu-Shakra et al., 1999). Uma resposta imune contra um dado epítotope de um parasita pode tornar-se numa resposta auto-agressiva, por reconhecimento cruzado de um antígeno “self”. (Anderton et al., 2007).

Na sua forma mais simples o conceito de mímica molecular estabelece que os determinantes antigénicos dos agentes infecciosos se assemelham a estruturas no tecido do hospedeiro para serem reconhecidos por este como “self”. Actualmente este fenómeno em que vários determinantes estruturais dos patogénios imitam e mimetizam sequencial e estruturalmente epitopes do próprio hospedeiro indicia fortemente a predisposição deste mecanismo para a geração de auto-imunidade.

Como tal a presença de epítotoes comuns entre hospedeiro e parasita leva a um acréscimo de células linfocitárias reactivas e ao desenvolvimento de auto-imunidade, que ocorre por ligação de auto-anticorpos aos antígenos do parasita;

Os microorganismos podem induzir uma doença autoimune de acordo com dois papéis que podem desempenhar perante um resposta imune (figura 5) que depende do reconhecimento de antígenos específicos pelos receptores das células T e B e um número de não antígenos específicos, designados por sinais não clonais. De acordo com isto o parasita pode induzir a resposta de duas maneiras: promove os sinais antigénicos específicos que mimetizam os do hospedeiro (sendo já esta uma forma que o parasita adoptou previamente para não serem reconhecidos os seus) ou ainda por libertação de antígenos “self” que vai buscar aos tecidos celulares do próprio hospedeiro. Ou de uma segunda maneira causando inflamação e assim promovendo um meio adjuvante sob a forma de hiperregulação de moléculas co-estimulatórias, sinais não específicos, e outros produtos de inflamação. (Rose, 2001).

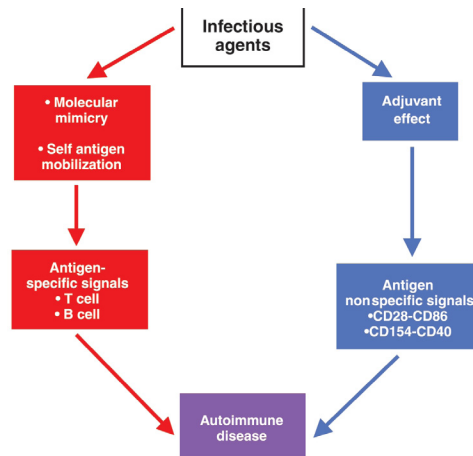


Figura 5: Possibilidade de um parasita causar patologia auto-imune, por via de dois caminhos diferentes
Fonte: Rose, 2001.

Com o processo inflamatório que se segue após a infecção do parasita (ativação de células e secreção de mediadores inflamatórios) ocorre, para além de danos e alterações estruturais no hospedeiro, um processo de libertação de antígenos isolados que não sendo reconhecidos como próprios (“auto”) levam a maior indução da produção de anticorpos, bem como, à formação de células auto-reactivas T e B. (Abu-Shakra et al., 1999).

Exemplos de parasitas que cuja mímica evasiva pode levar à indução de auto-imunidade são o *T. cruzi* e o *S. mansoni*.

O parasita *T. cruzi* apresenta um gene, FL-160, que codifica a parte COOH (final) de uma proteína que se encontra associada ao flagelo do *T. cruzi*. Esta proteína tem um epítoto com doze aminoácidos semelhantes a proteínas do tecido nervoso, presentes no nervo ciático e no plexo mesentérico do SNC. Este gene pertence a uma família de genes altamente relacionada entre si em que mais de 750 cópias do gene estão presentes no DNA do parasita; análises sequenciais a este gene revelam que todas as cópias

apresentam os 12 aminoácidos que mimetizam a sequência humana. (Abu-Shakra et al., 1999).

No caso da doença de Chagas, causada pelo *T. cruzi* os indivíduos infectados desenvolvem um anticorpo, GP-50/55, que se devia ligar ao antígeno, presente na membrana do parasita *T. cruzi*, 50/55kDa, no entanto, este acaba por fazer a ligação a um antígeno “self” 28kDa presente na membrana das células activadas (T e B). Desta forma o antígeno 50/55 fica livre e provoca supressão da proliferação das células T e B. Este facto indicia que a semelhança entre *T. cruzi* e os antígenos humanos pode ser um factor de prevalência e imunossupressão na doença de Chagas. (Abu-Shakra et al., 1999).

Por outro lado a inflamação cardíaca associada à doença acima referida, numa aparente ausência de parasitas, sugere que o *Trypanossoma* induz uma resposta autoimune que também afecta o coração. No soro de pacientes com esta patologia foi descoberto um péptido designado por **Cha**; este péptido, encontrado em abundância no coração humano, reage com o soro de pacientes com a doença de Chagas numa fase mais crónica da doença, activando células B e T. Estas reacções cruzadas foram documentadas tanto para as células B como para as células T, tornando-se um dos principais indutores de cardiomegalia vista nestes pacientes. (Rose, 2001).

A mímica molecular, representante desta situação, foi, também, encontrada entre os antígenos de superfície de granulócitos humanos e alguns epítopes de *S. mansoni*. No soro de doentes com Schistosomíase foi identificado um antígeno “self”, **CCA**, antígeno de circulação catódico, uma glicoproteína cujas cadeiras laterais polissacarídicas contêm unidades repetidas do trissacarídeo L (exemplo). Os anticorpos anti CCA acabam por se ligar a antígenos “self” que não reconhecem como próprio, visto serem semelhantes aos do parasita. Desta ligação resulta a lise dos granulócitos e uma reacção cruzada associada com a neutropenia moderada existente na doença schistosómica. (Abu-Shakra et al., 1999).

6.1.2. CAPTAÇÃO DE MOLÉCULAS DO HOSPEDEIRO

O complemento exerce sobre os parasitas aquilo que se pode chamar de pressão evolutiva, ou seja, só tentando combatê-lo ou evitando-o lhes é possível evoluir e sobreviver. (Schroeder et al., 2008).

Muitos organismos têm acabado por encontrar maneiras para se adaptar ligando-se de forma estável a reguladores solúveis do complemento no plasma humano. (Geisbrecht et al., 2008).

Esta estratégia assenta na ligação ou captura de reguladores do complemento do hospedeiro à superfície do parasita e apresenta como principal vantagem o facto de os **RCA**, reguladores de activação do complemento, serem naturais, cujas actividades se restringem à mesma espécie, num fenómeno designado por restrição homóloga. Estes são produzidos naturalmente pelo hospedeiro e partilham características estruturais comuns com o parasita, designados por locais “repeat” o que permite que a mesma molécula do parasita recrute diferentes reguladores de um hospedeiro para sua própria defesa. (Schroeder et al., 2008).

Graças à sua disponibilidade como proteínas solúveis C4BP, factor H e FHL são os primeiros alvos dos parasitas. Estes três reguladores apresentam aceleração de dissociação e mantêm ao mesmo tempo a actividade do co-factor. (Maizels, 2009).

Os parasitas adsorvem estes factores à sua superfície com a finalidade de inibir as cascatas de activação do complemento nas diferentes fases dependentes da regulação destes factores. Os parasitas têm estas ligações facilitadas sobretudo se estes componentes possuírem glicosilfosfoinositol. (Skerka et al., 2008).

Devido ao seu tamanho e polivalência, os reguladores capturados não perdem, normalmente, a sua actividade global. Este processo de “antigenic coating” não está restrito à captura de reguladores solúveis, sendo também utilizado para reguladores ligados à membrana como o DAF, MCP e o CD59. (Geisbrecht et al., 2008).

O número de **RASPs**, “receptor acquiring surface proteins”, está em constante crescimento e estas apresentam diferentes características entre si nomeadamente polimorfismo; uma única RASP consegue ligar-se a vários reguladores de um hospedeiro apresentam múltiplas funções e podem ser expressas simultaneamente (esta característica última faz com que um único parasita possa utilizar uma vasta gama de proteínas de escape). (Würzner, 1999).

Assim, durante a infecção, uma única proteína é capaz de controlar diversos passos da activação do complemento, interferindo na cascata de activação, bem como, interferindo na adesão às células do hospedeiro e destruição dos tecidos. (Würzner, 1999).

O parasita *Entamoeba histolytica* é um exemplo de como os parasitas captam moléculas reguladoras como meio de escape parasitário; este parasita embora active a via alternativa do complemento, escapa ao efeito deste bem como da resposta inflamatória por captura de moléculas reguladoras do complemento e, também é capaz de inactivar os mediadores C3a e C5a.

Este parasita apresenta também uma estratégia de evasão denominada “capping” durante este processo após exposição aos ligandos, os receptores são captados (recrutados) para sítios específicos nas células. A concentração local dos complexos receptor-ligando leva então à formação da cobertura, “capping”. (Arhets et al., 1995).

6.2. IMUNOSSUPRESSÃO

Uma larga variedade de parasitas causa imunossupressão do organismo infectado. O hospedeiro pode mostrar uma resposta imune deprimida/deficiente aos antígenos parasitários (antígenos específicos de supressão) mas também e, mais comumente a antígenos não relacionados com supressão. De uma forma geral a imunossupressão, enquanto dura, dá ao parasita tempo suficiente para crescer e disseminar-se.

Uma imunossupressão duradoura também pode ser perigosa para o parasita pois a susceptibilidade do hospedeiro a outras infecções pode causar-lhe danos desnecessários. (Würzner, 1999).

Esta envolve, geralmente, a infecção de células do sistema imune, células T, células B, macrófagos e células dendríticas e pode levar ao comprometimento do seu funcionamento: bloqueamento da divisão celular, impedimento da libertação de IL-2 ou outras citocinas ou mesmo à morte da própria célula. (Würzner, 1999).

Este processo de imunossupressão ocorre essencialmente devido à libertação de moléculas imunossupressoras pelos parasitas. Estas para além de evitarem o reconhecimento pelo sistema complemento são também utilizadas como meio de evitar a sua erradicação do sistema imune no seu sentido mais lato. Alguns parasitas promovem degradação proteolítica e fosforilação e ainda a inactivação das anafilotoxinas conseguindo desta forma evitar quimiotaxia, opsonização e até a lise celular. (Würzner, 1999).

Até ao momento alguns inibidores directos do sistema complemento foram identificados como é o caso das proteases (Geisbrecht e tal., 2008), enzimas que catalizam a hidrólise de ligações peptídicas. (McKerrow, 1989).

6.2.1.ESCAPE À FAGOCITOSE

Nem sempre o processo de opsonização é prejudicial para os parasitas; os fragmentos do complemento depositados na sua superfície, particularmente C3b e iC3b, podem ser uma forma do parasita se inserir dentro das células do hospedeiro, ocorrendo uma resposta muito mais fraca por parte das células fagocíticas e permitindo ao parasita passar do meio extracelular para o meio intracelular, escapando aos processos de neutralização. (Skerka et al., 2007).

T. cruzi, *E. histolytica*, *Leishmania spp* e *Necator americanus* são exemplos de parasitas que conseguem escapar à fagocitose, aumentando assim a sua permanência dentro do hospedeiro.

O primeiro apresenta uma molécula que mimetiza a proteína C9 – uma porina, a fim de escapar aos fagolisossomas acabando por invadir células não fagocíticas. (Würzner, 1999).

Este parasita consegue igualmente escapar à fagocitose pela alteração dos padrões de libertação de citocinas pelas células do sistema imune.

Uma mucina ancorada à membrana de glicosilfosfotidinositol do *Trypanosoma* consegue ligar-se à superfície dos macrófagos e induzir a secreção de IL-1 β mas não de IL-12 ou TNF- α , factores considerados essenciais na defesa contra a doença de Chagas. Pelo contrário o parasita ainda estimula a produção de IL-10 e de TGF β , factor de crescimento tumoral, nos macrófagos infectados o que leva à inibição da indução e efeitos da IL-12. (Carrero et al., 2002).

Durante a infecção por *E. histolytica* a capacidade citotóxica dos macrófagos bem como, dos antígenos por si apresentados, e ainda das células secretoras de citocinas encontra-se bastante reduzida - fase aguda do chamado abscesso hepático, causado por este parasita.

O trofozoíto de *Entamoeba* inibe o chamado “respiratory burst” que ocorre durante a fagocitose por diferentes células do sistema imune. Para além disso o parasita também promove supressão dos macrófagos por aquilo que parece ser um evento mediado localmente sempre que estes se encontram sob a acção de produtos libertados pelo próprio parasita. (Carrero et al., 2002).

A *Leishmania* é outro exemplo de parasita que consegue escapar à fagocitose; apresenta duas moléculas que ajudam no seu escape à fagocitose, por inibição dos processos proteolíticos dos macrófagos: a protease de superfície **gp 63**, “anchored zinc metaloprotease leishmanolysin glycoprotein” e lipofosfoliglicano, **LPG**. Durante os

primeiros estados do ciclo de vida o LPG promove a sobrevivência intracelular do parasita pela inibição da fusão do fagossoma com os lisossomas. Caso esta inibição não seja suficiente, e o fagolisossoma se forme a GP63 assume uma função de protecção através da inibição das enzimas fagolisossómicas. (Carrero et al., 2002).

Num estágio mais tardio do seu ciclo de vida (promastigotas) já dentro dos macrófagos eles adaptam-se ao meio ácido característico dos fagolisossomas, visto que nesta fase eles são mais activos em meio ácido que em meio neutro.

A sobrevivência dos amastigotas, ao contrário dos promastigotas, que apresentam uma série de enzimas catalíticas e superóxido dismutases, está dependente da sua capacidade de evitar o “respiratory burst”. Mais uma vez LPG e GP63 possuem um papel fundamental pois contribuem para o bloqueio deste mecanismo por activação de uma proteína quinase C e redução da sua deslocação para a membrana. Para além disso, LPG está directamente envolvido na eliminação dos intermediários de oxigénio graças à sua estrutura que contém unidades repetidas de dissacarídeos fosforilados oxidáveis. (Carrero et al., 2002).

O parasita ao induzir a libertação de **PGE** e **TNF β** também promove o bloqueio da funcionalidade dos macrófagos; através de LPG controla a resposta dos macrófagos infectados pela diminuição da expressão dos receptores de **TNF- α** e também inibe a quimiotaxia de neutrófilos e monócitos. (Carrero et al., 2002; Goldberg et al., 2002).

6.2.2.MOLÉCULAS IMUNOSSUPRESSORAS-PROTEASES

Alguns parasitas libertam moléculas que suprimem o sistema imune como o ácido siálico, glicoproteínas de superfície e glicofosfolípidos.

Outros como forma de escapar ao complemento, secretam moléculas denominadas proteases que, activadas, inibem a acção do complemento. (Würzner, 1999).

Estas enzimas catalizam um largo espectro de reacções biológicas como tal não é surpreendente que tenham um papel crucial na acção parasitária a nível de patogénia/escape. Facilitam a invasão dos tecidos do hospedeiro, permitem aos parasitas digerir as proteínas deste, ajudam-nos a evadir-se e impedem a coagulação do sangue. (McKerrow, 1989).

Proteases que degradam sequências finais das cadeias polipéptidicas designam-se por peptidases e as que clivam a parte mais interna do péptido são denominadas de endopeptidases ou proteinases.

Nas tabelas V e VI destacam-se algumas proteases secretadas pelos parasitas: *Fasciola hepática*, *Trypanosoma*, *Leishmania*, *Schistosoma* e *E. histolytica*.

Tabela V: Proteases secretadas por diferentes agentes patogénicos.

Fonte: Würzner, 1999.

Pathogen	Host	Reference ^a
Prevention of access of C to the cell membrane—distant insertion		
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Smooth lipopolysaccharides	Merino et al. (1992)
<i>Leishmania major</i>	Elongated lipophosphoglycans	Puentes et al. (1990)
<i>Leishmania amazoniensis</i>	Outer membrane constituents	Nunes et al. (1997)
<i>Trypanosoma cruzi</i> , amastigotes	Outer membrane constituents	Iida et al. (1989)
<i>Schistosoma mansoni</i>	Double membrane	McLaren and Hockley (1977)
Inhibition of CP activation via C1q/C1 s binding molecules		
<i>Salmonella mimesota</i>	39 kDa porin	Stemmer and Loos (1985)
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Protein H	Berge et al. (1997)
<i>Schistosoma mansoni</i>	Paramyosin; CAA	Laclette et al. (1992); van Dam et al. (1993)
<i>Taenia solium</i>	Paramyosin	Laclette et al. (1992)
<i>Trichinella spiralis</i>		Hong et al. (1992)
Inhibition of TP activation via terminal C binding molecules		
<i>Borrelia burgdorferi</i>		No deposition of C6 on cell Breitner-Ruddock et al. (1997)
<i>Escherichia coli</i>	TraT	Inhibition/inactivation of C5b6 Pramoonjago et al. (1992)
<i>Streptococcus pyogenes</i>	SIC	Binding to sC5b-9, clusterin Akesson et al. (1996)
<i>Salmonella</i> spp.	17 kDa protein (<i>rck</i>)	Prevention of C9 polymerisation Heffernan et al. (1992)

^a Due to space restrictions only one reference per subject.

Tabela VI: Proteases libertadas por agentes patogénicos.

Fonte: Würzner, 1999.

Pathogen		Host	Reference ^a
Shedding of initial immune complexes and C1 from the cell surface			
<i>Fasciola hepatica</i>			Duffus and Franks (1980)
Shedding of C3 from the cell surface			
<i>Trypanosoma cruzi</i>	CRP-bound C3 using a 75 kDa protease		Norris (1996)
Shedding of C5b-9 from the cell surface			
<i>Escherichia coli</i>			Joiner (1988)
<i>Salmonella minessota</i>			Joiner et al. (1982)
<i>Leishmania major</i>			Puentes et al. (1990)
<i>Naegleria fowleri</i>			Toney and Marciano-Cabral (1994)
Consumption, C activation in the fluid phase off target depleting C			
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Protein H		Berge et al. (1997)
Proteolytic cleavage of C components			
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Elastase and alkaline protease	C1q, C3	Hong and Ghebrehwet (1992)
<i>Serratia liquefaciens</i>	53 kDa metalloprotease	C4, C3, C5-C9	Wolf et al. (1991)
<i>Helicobacter pylori</i>	Urease	C3	Rokita et al. (1998)
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	80 kDa and/or 97k Da protease	C3	Grenier (1992); Schenkein et al. (1995)
<i>Paragonimus westermani</i>	27 kDa acid cysteine protease	C3	Yamakami et al. (1995)
<i>Schistosoma mansoni</i>	28 kDa serine protease	C3, C9	Markovsky et al. (1990)
Phosphorylation of C components			
<i>Leishmania</i> spp.	Proteinkinases	C3, C5, C9	Hermoso et al. (1991)
Inactivation of anaphylatoxins C3a, C5a			
<i>Entamoeba histolytica</i>	56 kDa cystein protease	C3a, C5a	Reed et al. (1995)
<i>Serratia marcescens</i>	56 kDa protease	C5a	Oda et al. (1990)

^a Due to space restrictions only one reference per subject.

A libertação de proteases é um método frequentemente utilizado como escape pelo parasita *S. mansoni*; através de uma proteína membranar designada por **membranocalice** ou **protease cercarial** – (Schroeder et al., 2008; Caffrey et al., 2006). Durante a fase larvar esta superfície recobre o parasita tornando-o rapidamente resistente ao ataque imune, nomeadamente ao ataque do complemento. Esta membrana contém uma série de proteínas do próprio parasita e ao mesmo tempo consegue captar algumas moléculas do hospedeiro que impedem o funcionamento deste sistema. (Caffrey et al., 2006).

Este parasita é um exemplo de patogénio que utiliza as suas próprias moléculas (proteases) ou as moléculas por si capturadas para evitar o ataque do complemento.

Os complexos C2 e C8/C9 foram todos identificados na superfície deste parasita sendo que as proteínas do *Schistosoma* C8 e C9 foram inicialmente designadas por **SCIP-1**, “Schistosome Complement Inhibitor Protein-1”, e, apresentam funções semelhantes à proteína humana inibidora do complemento CD59. Análises sequenciais posteriores

revelaram que SCIP era anteriormente designada por paramiosina. Esta proteína nativa e recombinante, consegue ligar-se às proteínas humanas C8 e C9 e inibir a polimerização de C9 nas células eritrocitárias (Schroeder, 1999). Outra situação na qual esta proteína pode inibir o sistema complemento é por apresentar na sua superfície ligandos Fc, aos quais as imunoglobulinas do hospedeiro se vão ligar, limitando a activação via do complemento pela via clássica. (Carrero et al., 2002).

O regulador DAF, também presente neste parasita, consegue dissociar o complexo C3 convertase e assim, impedir a activação da cascata.

Outras moléculas encontradas no *S. mansoni* incluem as cadeias α C3c e C3dg do fragmento C3 o que sugere que C3 bem como outros RCAs terão sido, muito provavelmente, capturados ao próprio hospedeiro. (Carrero et al., 2002).

A *Leishmania* é outro parasita que demonstra bem a eficácia imunossupressora das próprias moléculas que produz ou possui na sua superfície. Pensa-se que consegue resistir ao complemento, eliminando os componentes que activam o complexo de ataque à membrana muito provavelmente devido ao fosfoglicano existente na sua membrana. (Carrero et al., 2002).

A protease GP 63 é o maior antígeno de superfície deste parasita, revestindo-o totalmente, é uma metaloprotease apenas activa em condições ácidas, o que só acontece após a entrada do parasita para o macrófago. Uma das suas funções principais no escape parasitário e imunossupressão é promover a conversão proteolítica do factor C3b em C3bi, na superfície destes. (McKerrow, 1989).

Este parasita apresenta também algumas cinases que conseguem fosforilar outras proteínas do complemento como por exemplo C3, C5 e C9, bloqueando assim as vias de activação deste e evitando a lise. (Carrero et al., 2002).

Complexos existentes à superfície do *T. brucei* activam os macrófagos e células T CD8⁺ de forma a causar alterações nos padrões de libertação das citocinas que essas células libertam. Entre estas está a molécula de GPI que induz células CD8⁺ a secretar

elevados níveis de IFN γ . Para além da molécula GPI, este parasita apresenta outra proteína que estimula directamente a produção de IFN γ : a proteína TLTF, “T. lymphocyte triggering factor”. (Donelson et al., 1998). Em sinergia estes elevados níveis de IFN γ vão levar à redução da síntese de citocina IL-2, o que prejudica a activação da resposta promovida celular, bem como à produção de uma proteína cinase activada – MAP considerada um dos factores responsáveis pela proliferação do parasita na corrente sanguínea. (Carrero et al., 2002)

A proteína TLFT é considerada uma tripanocina visto ser um factor secretado pelos tripanossomas a fim de modelar a libertação de citocinas promovidas pelo hospedeiro para benefício do parasita. Para além de molécula imunossupressora acaba por, também, ao mesmo tempo, mimetizar a actividade das proteínas do próprio hospedeiro. (Carrero et al., 2002).

Neste parasita foram também identificados genes que codificam uma proteína com características em tudo semelhantes à proteína GP63 da *Leishmania*. A determinação da sequência completa codificadora do DNA deste parasita evidencia que a posição de 40% dos aminoácidos da proteína codificada do *Trypanossoma* é igual à que acontece na *Leishmania*. Estas semelhanças são indicativas que a proteína tripanossómica partilha características estruturais, bem como, actividade de protease GP 63 da *Leishmania*, a nível de supressão da resposta imune. (Carrero et al., 2002).

O parasita *T. cruzi* expressa directamente inibidores do complemento como por exemplo a proteína trispanossómica que quebra a interacção entre C2 e C4 e com isso evita a formação da C3 convertase da via clássica. (Würzner, 1999).

Este parasita produz também moléculas com acção anti-complemento como por exemplo: T-DAF, GP58/68 e gp160. (Carrero et al., 2002).

Relativamente ao *P. falciparum*, algumas proteínas deste parasita apresentam elevado polimorfismo após infecções recorrentes que podem alterar o fenótipo de células T activadas; as duas maiores formas alélicas da proteína PfMSP-1 conseguem inibir mutuamente a proliferação de células T específicas.

Considera-se que os epítopes polimórficos da proteína PfCSP também promovem a supressão das células T através da secreção de IL-10 inibindo a resposta inflamatória. (Richie et al., 2001).

Outro exemplo é o caso da *F. hepática* que liberta proteases do género catepsina L cuja função é separar a porção Fc da porção Fab da Imunoglobulina G do hospedeiro de forma a evitar que as células efectoras do hospedeiro se liguem a esta porção e consequentemente evita a desgranulação das células granulócitas. (Tindall, 1994).

6.2.3. MODELAÇÃO DA MORTE CELULAR PROGRAMADA

A morte celular programada (apoptose) é um importante sistema regulador da resposta imune do hospedeiro, durante a infecção por parasitas, nomeadamente protozoários intracelulares.

Após infecção celular por determinado parasita, o hospedeiro pode contrariar esta acção invasiva e danosa iniciando a sua própria morte celular. Acontece de uma maneira natural aos linfócitos T activados devido à acção das enzimas proteolíticas denominadas caspases. As células que sofrem este processo são reconhecidas e fagocitadas pelos macrófagos e o parasita é potencialmente eliminado com elas. No entanto, e como seria de esperar, a evolução parasitária também tem sido feita no sentido de arranjar diversas estratégias de forma a induzir ou inibir a apoptose celular, com o objectivo de promover a disseminação do parasita ou assegurar a sua sobrevivência intracelular. Efeitos directos do parasita, bem como, produtos por si libertados ou mecanismos indirectos participam na modulação da morte celular do hospedeiro. (Gross et al., 2001). Embora esses mecanismos possam diferir entre si quanto à entrada do parasita na célula, bem como, a sua localização final, eles acabam por activar vias semelhantes, no hospedeiro, com a finalidade comum de modelar a apoptose celular, representado na figura 6. (Heussler et al., 2001).

A apoptose tem um papel fulcral na remoção das células danificadas ou que não estão aptas durante o seu desenvolvimento, na garantia da homeostasia dos tecidos e no crescimento dos organismos multicelulares; possui, ainda, um papel fundamental durante o desenvolvimento do sistema imunológico e dos linfócitos T e B, funcionando como um mecanismo que limita o nível e a duração de uma resposta imunológica mediada por estas células. (Arosa et al., 2007; Gross et al., 2001).

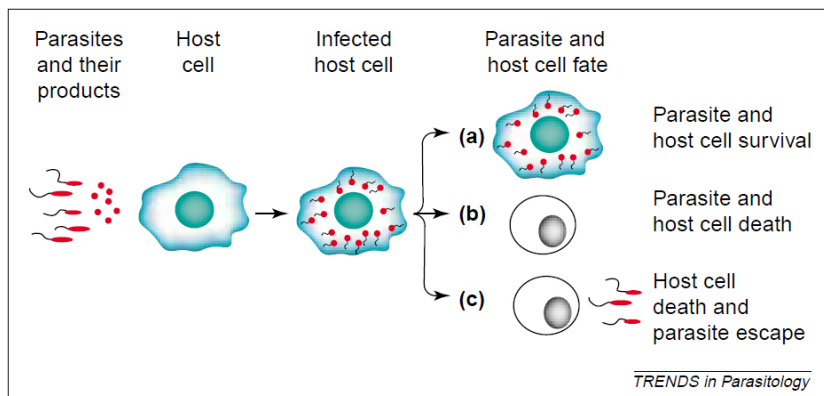


Figura 6: Influência da acção parasitária na morte celular programada do hospedeiro.

Fonte: Gross et al, 2001

Os responsáveis pela regulação deste processo são duas famílias de proteínas: família dos receptores da morte celular e família Bcl-2.

Receptores da morte celular: existem, pelo menos, cinco tipos diferentes de receptores da morte celular, sendo os mais estudados os receptores **TNFR1** e **CD95 (Fas/ APO-1)**, cujos ligandos naturais são o **TNF- α** e o **CD95L**. Após a ligação destes aos respectivos receptores forma-se o designado **Domínio da Morte (DD)** que irá permitir a ligação dos adaptadores **FADD**, “faz associatede death domain” e **TRADD**, “TNFR associated death domain”

Proteínas Bcl-2: de forma semelhante aos receptores TNFR as proteínas Bcl-2 apresentam membros pró-apoptóticos e membros anti-apoptóticos que controlam o futuro dos linfócitos após a activação destes. A família destas proteínas é caracterizada por mais que uma sequência e são designadas colectivamente por domínios **BH**.

O mecanismo utilizado por estas proteínas para regular a morte celular prende-se com a integralidade da membrana mitocondrial. Assim as proteínas anti-apoptóticas mantêm estável o potencial da membrana, as pró-apoptóticas, por sua vez, destabilizam-no, através da formação de canais. (Arosa et al., 2007).

Para sobreviver dentro do hospedeiro, protozoários e helmintas demonstram a capacidade para modular as vias apoptóticas a fim de tirar vantagem destas e manter a sua sobrevivência, prevenindo a apoptose em células habitadas infectadas. (Green et al., 2004).

Durante a infecção aguda por *P. falciparum*, assim como em diferentes espécies, ocorre apoptose de várias células do sistema imune e isto é crucial para a modelação da resposta imune.

No caso específico deste parasita a morte celular é induzida através de ligandos Fas em células T activadas que expressam um aumento substancial da expressão destas moléculas quando infectadas. A depleção do número de células do hospedeiro devido à activação da morte celular induzida pode também contribuir para uma diminuição do número de linfócitos em circulação, bem como, uma redução da resposta imune em relação aos antígenos da malária, figura 7. (Gross et al., 2001).

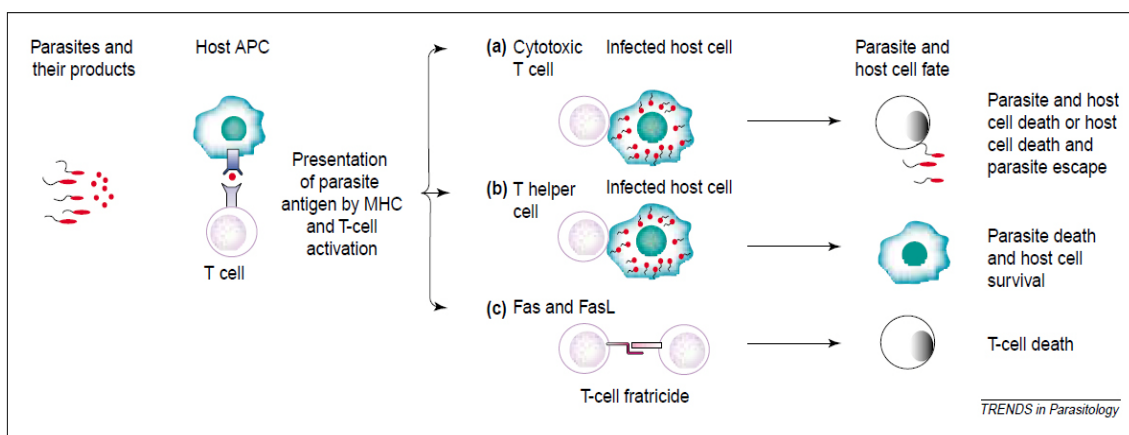


Figura 7: Interferência do parasita Plasmodium falciparum na apoptose

Fonte: Gross et al, 2001

O parasita *T. Gondii* tanto induz a morte celular programada como, por outro lado, a inibe. Os factores que justificam isto, apesar de não totalmente esclarecidos prendem-se com o estado da infecção de cada célula, o grau de virulência do parasita e o tipo de célula infectada. (Gross et al., 2001).

Após se investigar o efeito da infecção de várias células com este parasita demonstrou-se que taquizoitos intracelulares inibiam a acção de sinais pró-apoptóticos, nomeadamente induzidos por radiações gamma e U.V. e acção de químicos. Para além destes factores nem a ligação Fas/FasL ou a graenzima B eram capazes de induzir apoptose na presença deste parasita, sendo esta inibição muito provavelmente feita ao nível das caspases. (Heussler et al., 2001).

Estudos recentes revelaram que este parasita promove a inibição deste mecanismo através da caspase efectora 3 e ao nível transcripcional pelo factor NF-kB. O parasita *T.gondii* ao induzir este factor induz consequentemente a transcrição de genes anti-apoptóticos. (Heussler et al., 2001).

Experiências *in vitro* demonstram a acção inibitória deste parasita sobre a morte celular programada foi demonstrada pela infecção de linhas celulares viáveis e que apresentam resistência à apoptose quando induzidas por um dos estímulos mais fortes da morte celular: a actimiocina D. (Heussler et al., 2001).

Em contraste com esta inibição da apoptose em células infectada, *T. gondii* também pode induzir a apoptose: experiências realizadas com esplenócitos CD4⁺ demonstraram a indução da expressão de Fas/FasL na presença deste parasita. (Gross et al., 2001; Heussler et al., 2001).

Pela indução de apoptose, nomeadamente em células T, este parasita contribui para a supressão das respostas imunes específicas. Experiências posteriores revelaram também a apoptose em macrófagos peritoneiais após infecção com uma estirpe muito virulenta de *T. gondii*; através da indução deste processo limita-se, também, de forma esmagadora, a resposta inflamatória e reduz-se os sintomas clínicos de infecção.

O parasita “sabe” que depende da integridade da célula do hospedeiro e de um fornecimento contínuo de metabolitos e que a iniciação do processo de apoptose leva à redução de parasitas viáveis. Por outro lado a indução da apoptose nas células do hospedeiro leva à supressão de respostas imunes específicas o que acaba por ser também essencial para a sua sobrevivência. (Heussler et al., 2001)

Outro exemplo de modulação da apoptose ocorre em hospedeiros infectados pelo parasita *Leishmania*, a diminuição de linfócitos Th1 está associada com a restrita propagação do parasita e tal poderá ser induzido pelo aumento da apoptose celular nos subconjuntos de células T. (Gross et al., 2001).

No caso da *Leishmania donovani* foi concluído que a acção indutora da apoptose, nomeadamente, sobre células Th1 está acompanhada de uma reacção de hipersensibilidade retardada, **DTH**, e inibição de secreção de IL-2 e IFN- γ o que se traduz num imunocomprometimento da resposta imunitária ao nível das células Th1. (Gross et al., 2001).

Na *Leishmania braziliensis*, a fase aguda da doença está igualmente associada à indução da morte celular programada nomeadamente nas células CD8⁺ e CD4⁺; nestes casos a indução deste mecanismo inibe de forma eficiente a resposta imune anti-leishmania e permite a propagação do parasita sem restrições. (Gross et al., 2001).

A apoptose linfocitária induzida por *T. cruzi* restringe a acção imune sobre o T. cruzi durante o curso da infecção. Ambos os tipos de células T (CD4⁺ e CD8⁺) participam nessa resposta imune bem como macrófagos prevenindo também a reactivação da infecção durante a fase crónica. Foi demonstrado que a indução do processo apoptótico promovia o crescimento deste parasita nos macrófagos infectados. (Gross et al., 2001; Heussler et al., 2001).

A proliferação de *T. cruzi* dentro dos macrófagos é reforçada pela fagocitose de linfócitos que sofreram morte celular programada. A fagocitose nos macrófagos infectados é mediada pelo receptor vitronectina que se liga à molécula de trombospondina nas células apoptóticas.

T. cruzi é um dos exemplos mais esclarecedores de que os parasitas podem beneficiar da moderação da morte celular programada, promovendo mecanismos que a induzam e/ou mecanismos que a inibam.

As moléculas trans-sialidases secretadas por este parasita têm-se mostrado responsáveis pela indução da apoptose a nível do timo, baço e gânglios linfáticos e ao mesmo tempo a inibição desta ao nível das células neurais. A “sobrevivência” das células nervosas, através da trans-sialidase, prolonga o parasitismo no hospedeiro. (Heussler e tal., 2001).

Este parasita também consegue inibir o processo de morte celular programada pela indução da expressão de HSP65, em macrófagos infectados e, desta forma, os factores envolvidos na apoptose são inibidos resultando numa patologia pouco virulenta; se, por outro lado, a acção de HSP65, é totalmente suprimida as células infectadas são então rapidamente destruídas o que se traduz numa grave doença. (Heussler et al., 2001).

Por último o parasita *S. mansoni* produz uma proteína específica designada por Factor Apoptótico de *S. mansoni*, identificada a partir de shistosomulas que induz apoptose numa restrita população de linfócitos do hospedeiro que normalmente têm este estágio do parasita na pele. O resultado traduz-se na possibilidade dos ovos conseguirem migrar através dos tecidos. (Green et al., 2004).

VII. CONCLUSÃO

A co-evolução entre parasita e sistema imune permite concluir que o primeiro tem tido uma associação íntima com os diferentes mecanismos reguladores deste sistema e com isto gerado métodos através dos quais este pode ser explorado.

A sobrevivência do parasita, de uma forma bem sucedida depende principalmente dos mecanismos que adoptam para escapar ao sistema imune que se traduzem na forma como penetram na célula do hospedeiro sem serem reconhecidos, na variação antigénica da sua superfície, eliminação da sua capa proteica ou troca por outra semelhante à do hospedeiro e ainda através da modulação e imunossupressão do sistema imune. Muitas vezes estes mecanismos misturam-se entre si e constituem a base de outros.

As estratégias de evasão estão essencialmente dependentes das necessidades momentâneas do parasita que por sua vez estão sujeitas à fase de vida em que o parasita se encontra, bem como o local onde está alojado (sangue, mucosas, dentro das células...).

O alvo destes mecanismos é, geralmente, a resposta imune celular, sendo o ataque ao sistema do complemento um importante intermediário na ligação entre os dois tipos de resposta.

A base das suas acções consiste na secreção de moléculas que modulam ou suprimem o sistema imune (geralmente resultante de uma evolução convergente) ou caso não as produzam, nas tentativas de captura destas do próprio hospedeiro a fim de tentarem tornarem-se indistinguíveis para as células do sistema imune, ou para assim controlarem citocinas que activam as células efectoras imunes ou bloqueiam os seus receptores. Controlando ou interagindo com a rede de citoquinas o parasita fica apto a “atacar o coração” dos mecanismos de controlo do sistema imune.

As proteínas parasitárias, debaixo de um processo contínuo de pressão para não induzirem imunidade, evoluem de forma a permitir que só alguns epitopes sejam reconhecidos e que outros permaneçam escondidos.

De forma passiva, mas igualmente ágil os parasitas também se vão alterando, de acordo com as pressões a que vão estando sujeitos, nomeadamente a sua configuração antigénica, o que os torna irreconhecíveis perante o hospedeiro em cada reinfecção.

É importante ter em conta que apesar do uso destes mecanismos para assegurar a sua prevalência no organismo humano, fazem-no de uma maneira que permita a sobrevivência do hospedeiro permitindo até a este o combate a outras infecções. Isto constitui uma regra básica para o parasita que sabe que sem o hospedeiro a sobrevivência esta claramente comprometida.

É possível que muitos mais mecanismos de evasão sejam descobertos no futuro e que os suportes práticos destes mecanismos sejam identificados e devidamente explicados; a sequência genómica é um objectivo que irá possibilitar o melhor conhecimento destes mecanismos e desta forma possibilitar o desenvolvimento de novos meios terapêuticos.

BIBLIOGRAFIA

Abu-Shakra, M., Buskila, D. e Shoenfeld. (1999). Molecular mimicry between host and pathogen: examples from parasites and implication, *Immunology Letters*, 67, pp. 147-152.

Allred, D.R. (2001). Molecular technology and antigenic variation among intraerythrocytic hemoparasites: do we see reality?, *Veterinary Parasitology*, 101, pp. 261-274.

Anderton, S.M., Ryan, Patel, S. D., K. R., e Stephens, L.A. (2007). Death, adaptation and regulation: The three pillars of immune tolerance restrict the risk of autoimmune disease caused by molecular mimicry, *Journal of Autoimmunity*, 29, pp. 262-271.

Arhets, P., Guillen, N., Gounon, P. e Sansonetti, P. (1995). Myosin II is involved in capping and uroid formation in the human pathogen *Entamoeba histolytica*, *Infection and Immunity*, 63(11/Novembro), pp. 4358-4367.

Arosa, F. A., Cardoso, E.M e Pacheco, F.C. (2007). Imunidade Inata e Adquirida. In: Cardoso, E.M e Pacheco, F. C. (ed.). *Fundamentos de Imunologia*. Lisboa, Lidel, pp. 35-60.

Arosa, F. A., Cardoso, E.M. e Pacheco, F. C. (2007). Imunoglobulinas. In: Cardoso, E. M. (ed.). *Fundamentos de Imunologia*. Lisboa, Lidel. pp. 97-111.

Arosa, F.A., Cardoso, E.M. e Pacheco, F.C. (2007). Células e Orgãos do Sistema Imune. In: Cardoso, E. M (ed.). *Fundamentos de Imunologia*. Lisboa, Lidel, pp. 19-33.

Barbour, A. G. e Frank, S. A. (2006). Within-host dynamics of antigenic variation, *Infection, Genetics and Evolution*, 6, pp. 141-146.

Barry, J.D., McCulloch, R., Pays. E. e Vanhamme, L. (2001). An update on antigenic variation in African trypanosomes, *TRENDS in Parasitology*, 17 (7/july), pp. 338-343.

Belkaid, Y., Bouladoux. N. e Sun, C.M. (2006). Parasites and immunoregulatory T cells, *Current Opinion in Immunology*, 18, pp. 406-412.

Bhisutthibhan, J., Langdon, J. M., MacDonald, S. M., Meshnick, S.R., Rogerson. S.J., Shapiro, T. A., Taylor, T.E. e Tembo, M. (2001). Immune mimicry in malária: *Plasmodium falciparum* secretes a functional histamine-releasing factor homolog *in vitro* and *in vivo*, *PNAS*, 98 (19/September), pp. 10829-10832.

Bhopale, G.M. (2002). Pathogenesis of toxoplasmosis, *Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases*, 26, pp. 213-222.

Blom, A. M., Hallström, T. e Riesbeck, K. (2009). Complement evasion strategies of pathogens – Acquisition of inhibitors and beyond, *Molecular Immunology*, 46, pp. 2808-2817.

Brostoff, J., Male, D. e Roitt. I. (1997). Imunidade aos Protozoários e Vermes. In: Brostoff, J., Male, D. e Roitt. I. *Imunologia I*. 6ª edição. Pp. 259-275.

Brostoff, J., Male, D. e Roitt. I. (1998). Introdução ao Sistema Imune. In: Brostoff, J., Male, D. e Roitt. I. *Imunologia I*. 2ª edição. Pp. 1-12.

Brown, L., Jackson, D., Riffkin, M., Seow H. e Wood, P. (1996). Defense against the immune barrage: Helminth survival strategies, *Immunology and Cell Biology*, 74, pp. 564-574.

Caffrey, C., Kelly, B., Loke, P., McKerrow, J. H. e Sajid M. (2006). Proteases in Parasitic Diseases, *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*, 1, pp. 497-536.

Capron, A., Salzet, M. e Stefano, G.B. (2000). Molecular Crosstalk in Host-Parasite Relationships: Schistosome and Leech-Host Interactions, *Parasitology Today*, 16 (12), pp. 536-540.

Carrero, J.C., Ortiz-Ortiz, L., Rosales-Borjas, D. e Zambrano-Villa, S. (2002). How protozoan parasites evade the immune response, *TRENDS in Parasitology*, 18 (6), pp. 272-278.

Casares, S. e Richie, T. L. (2009). Immune evasion by malaria parasites: a challenge for vaccine development, *Current Opinion in Immunology*, 21, pp. 321-330.

Cohen, I. R. (2001). Antigenic Mimicry, Clonal Selection and Autoimmunity, *Journal of Autoimmunity*, 16, pp. 337-340.

Craig, A. e Scherf, A. (2001). Molecules on the surface of the *Plasmodium falciparum* infected erythrocyte and their role in malaria pathogenesis and immune evasion, *Molecular & Biochemical Parasitology*, 115, pp. 129-143.

Damian, R.T. (1997). Parasite immune evasion and exploitation: reflections and projections, *Parasitology*, 115, 169-175.

Donelson, J. E., El-Sayed, M. A. e Hill, K. L. (1998). Multiple mechanisms of immune evasion by African trypanosomes, *Molecular and Biochemical Parasitology*, 91, pp. 51-66.

Ferreira, A., Ferreira, V. P., López, N., Maldonado, I., Ramírez, G., Ribeiro, C. H., Sánchez, G., Schwaeble, W. e Valck, C. (2010). Molecular mechanisms involved in the inactivation of the first component of human complement by *Trypanosoma cruzi* calreticulin, *Molecular Immunology*, 47, pp. 1516-1521.

Geisbrecht, B. V., Lambris, J.D. e Ricklin, D. (2008). Complement evasion by human pathogens, *Nat. Rev. Microbiol.*, 6(2), pp.1-22.

Goldberg, D. E. e Klemba, M. (2002). Biological Roles of Proteases in Parasitic Protozoa, *Annu. Ver. Biochem.*, 71, pp. 275-305.

Gomez-Garcia, L., Terrazas, C. e Terrazas, L. (2009). Modulation of Dendritic Cell Responses by Parasites: A Common Strategy to Survive, *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2010, pags 1- 19.

Gottstein, B. e Müller, N. (1998). Antigenic variation and the murine immune response to *Giardia lamblia*, *International Journal of Parasitology*, 28, pp. 1829-1839.

Green, D. R. e James, E. R. (2004). Manipulation of apoptosis in the host-parasite interaction, *TRENDS in Parasitology*, 20 (6/June), pp. 280-287.

Gross, U., Lanzer, M. e Moll, H. (1997). Mechanisms of Parasite Persistence and Immune Evasion, *Parasitology Today*, 13, pp. 1- 2

Gross, U., Lopes, M.F e Lüder, C. G.K. (2001). Intracellular protozoan parasites and apoptosis: diverse strategies to modulate parasite-host interactions, *TRENDS in Parasitology*, 17 (10), pp. 480-486.

Gupta, S. (2005). Parasite immune escape: new views into host-parasite interactions, *Current Opinion in Microbiology*, 8, pp. 428-433.

Hempel, S. P. (2005). Parasite Immune evasion: a molecular war, *Trends in Ecology and Evolution*, 23 (6), pp. 318- 324.

Heussler, V. T., Küenzi, P. e Rottenberg, S. (2001). Inhibition of apoptosis by intracellular protozoan parasites, *International Journal for Parasitology*, 31, pp. 1166-1176.

Inal, J. M. (2004). Parasite interaction with host complement: beyond attack regulation, *TRENDS in Parasitology*, 20 (9), pp. 407-412.

Kemp, D. J. (1992). Antigenic diversity and variation in blood stages of *Plasmodium falciparum*, *Immunology and Cell Biology*, 70, pp. 201-207.

Maizels, R. M. (2009). Parasite immunomodulation and polymorphisms of the immune system, *Journal of Biology*, 166, pp 61-64.

McKerrow, J. H. (1989). Parasite Proteases, *Experimental Parasitology*, 68, pp. 111-115.

Chiodini, R.V., Dockrell, H. M., Goering, R. V., Mims, C., Roitt, I. M., Wakelin, D. e Zuckerman, M. (1993). Parasite Survival Strategies and Persistent Infections. In: Mims *et alii*. *Medical Microbiology*. Londres, Mosby, pp. 151-156.

Newbold, C. (1999). Antigenic variation in *Plasmodium falciparum*: mechanisms and consequences, *Current Opinion in Microbiology*, 2, pp. 420-425.

Pangburn, M. K. (2000). Host recognition and target differentiation by factor H, a regulator of the alternative pathway of complement, *Immunopharmacology*, 49, pp. 149-157.

Pays, E. (2006). The variant surface glycoprotein as a tool for adaptation in African trypanosomes, *Microbes and Infection*, 8, pp. 930-937.

Ralph, S.A. e Scherf. (2005). The epigenetic control of antigenic variation in *Plasmodium falciparum*, *Current Opinion in Microbiology*, 8, pp. 434-440.

Ramasamy, R. (1998). Molecular basis for evasion of host immunity and pathogenesis in malária, *Biochimica et Biophysica Acta*, 1406, pp. 10-27.

Ray, L. Mecanismos Executores da Resposta Imunológica. (1991). In: Ray, L. *Parasitas e Doenças do Homem nas Américas e na Ásia*. 2ª edição. Guanabara Koogan, pp. 80-93.

Ray, L. Os Ciclos Parasitários e a Teoria dos Focos Naturais. (1991). In: Ray, L. *Parasitas e Doenças do Homem nas Américas e na África*. 2ª edição. Guanabara Koogan, pp. 53-59.

Ray, L. Os Parasitos, o Ambiente e o Homem. (2002). In: Ray, L. *Bases da Parasitologia Médica*. 2ª edição. Guanabara Koogan, pp. 4-14.

Rose, N. R. (2001). Infections, mimics, and autoimmune disease, *The Journal of Clinical Investigation*, 107 (8/ April), pp. 943-944

Rosenthal, B. M. (2001). Defining and interpreting intraspecific molecular variation, *Veterinary Parasitology*, 101, pp. 187-200.

Rudenko, G. (1999). Genes involved in phenotypic and antigenic variation in African trypanosomes and malária, *Current Opinion in Microbiology*, 2, pp. 651-656.

Schmid-Hempel, P. (2009). Immune defence, parasite evasion strategies and their relevance for “macroscopic phenomena” such as virulence, *Philosophical Transactions of The Royal Society B*, 364, pp. 85-89.

Schroeder, H., Skelly, P., Vanderplasschen, A. e Zipel P.F. (2008). Subversion of complement by hematophagous parasites, *Dev. Comp. Immunol.*, 33 (1), pp. 5-13.

Skerka, C., Würzner, R. e Zipfel P. F. (2007). Complement evasion of pathogens: Common strategies are shared by diverse organisms, *Molecular Immunology*, 44, pp. 3850 – 3857.

Tindall, B. (1994). How parasites tolerate their hosts, *British Veterinary Journal*, 150, pp. 311-312.

Würzener, R. (1999). Evasion of pathogens by avoiding recognition or eradication by complement, in part via molecular mimicry. *Molecular Immunology*, 36, pp. 249-260.

