



Modulação da resposta imune do hospedeiro pelos carrapatos*

Modulation of the host Immune system by *ticks*

Luís Fernando Parizi¹, Aoi Masuda¹ & Itabajara da Silva Vaz Junior^{1,2}

RESUMO

Os carrapatos são ectoparasitos hematófagos que acarretam grandes prejuízos à produção animal. Também causam danos na saúde humana e animal pela transmissão de agentes causadores de doenças. O principal método de controle desses parasitos é baseado no uso de acaricidas. O controle imunológico surge como um método alternativo promissor. Para o sucesso desse controle, moléculas fundamentais na fisiologia do carrapato devem ser identificadas. Carrapatos da família Ixodidae podem se alimentar sobre os hospedeiros por períodos de mais de duas semanas, ativando, assim, a imunidade inata e adaptativa, como também respostas hemostáticas desses animais parasitados. Contudo, durante o curso da infestação, os carrapatos são hábeis em evadir essas defesas naturais dos hospedeiros. A saliva dos carrapatos possui um efeito inibitório sobre a ativação do sistema complemento, a inflamação e a coagulação sanguínea. Porém, são relativamente recentes os estudos na caracterização de componentes da saliva dos carrapatos com funções anticomplemento e anticoagulantes. Nos últimos anos, diversas proteínas vêm sendo descritas com essas atividades na saliva dos carrapatos, revelando um papel fundamental dessas moléculas na sobrevivência desses parasitos. Essas proteínas constituem um alvo potencial para o combate aos carrapatos.

Descritores: carrapato, glândula salivar, anticomplemento, anticoagulação, evasão imunológica.

ABSTRACT

Parasitism by ticks, and infection by tick-borne pathogens, are significant medical and veterinary problems. In this moment, the main method of control is based on the acaricides. However, the use of vaccines has been studied as a promising control method. The key to the success in this strategy is the characterization of tick molecules that can be useful as antigens. Ixodid tick species feed on a host for long periods of two weeks or more, so the host can produce protection against the tick, which include haemostatic responses and activation of innate and adaptive immunity. However, ticks are able to evade the immune response during the normal course of an infestation. Inhibitory effects of saliva in the complement activation, inflammation and blood coagulation are observed in many tick species. Recently, novel salivary molecules involved in the host-parasite interaction and in tick evasion mechanism have been described and these molecules can be useful in studies geared to develop methods to control tick infestation.

Key words: tick, salivary gland, anticomplement, immune evasion, anticoagulation.

I. INTRODUÇÃO

II. MOLÉCULAS DA GLÂNDULA SALIVAR QUE MODULAM A FISIOLOGIA DO HOSPEDEIRO

1. Modulação da resposta imune adquirida

2. Modulação do sistema complemento

3. Modulação da coagulação sanguínea

III. DISCUSSÃO

I. INTRODUÇÃO

Para realizarem seu comportamento hematófago caracterizado por longos períodos de alimentação sobre o hospedeiro, os carrapatos tiveram que desenvolver mecanismos para modular muitos dos processos fisiológicos dos seus hospedeiros [8], como por exemplo, a vasoconstrição, a inflamação e a resposta imunológica [41]. Apenas uma pequena resposta inflamatória na pele é observada quando os carrapatos estão se alimentando em seus hospedeiros naturais. Esta resposta inflamatória deficiente deve-se a fatores imunomoduladores secretados pelos carrapatos durante a sua alimentação no local da lesão [8]. Essa modulação do sistema imune possivelmente ocorre em decorrência a alterações na resposta imune induzida por linfócitos T [27].

Para modular essas defesas do hospedeiro, os carrapatos possuem substâncias com efeitos vasodilatadores e imunossupressores que auxiliam sua alimentação. Com os efeitos de vasoconstrição, inflamação e da resposta imunológica prejudicados, os carrapatos conseguem se fixar mais facilmente, mantendo o sangue fluindo sem a ocorrência de resposta fisiológica efetiva do hospedeiro para a eliminação do parasito. Conseqüentemente, patógenos têm sua transmissão facilitada durante o período em que o carrapato está se alimentando. Assim, certos patógenos podem utilizar esta lesão na pele do hospedeiro que está profundamente alterada pelos efeitos da saliva do carrapato como porta de entrada para uma infecção [41].

São relativamente recentes a identificação molecular e a caracterização de componentes da saliva dos carrapatos com funções anticomplemento e anticoagulantes. Nos últimos anos, diversas proteínas vêm sendo descritas com essas atividades na saliva dos carrapatos, revelando um papel fundamental dessas moléculas na sobrevivência desses parasitos. Essa

constatação tem sido reforçada com estudos que examinam esses fatores da saliva [41]. O complemento é um dos primeiros mecanismos do sistema imunológico ativado pelos carrapatos quando esses ectoparasitos se alimentam no hospedeiro. A ativação desse sistema pode resultar em danos para o carrapato mediado pela resposta inflamatória do hospedeiro [43].

Para se alimentarem, os animais hematófagos precisam bloquear os mecanismos de hemostasia do hospedeiro produzindo substâncias antagonistas que serão secretadas nos hospedeiros através da saliva. A atividade anticoagulante dos componentes da saliva dos carrapatos ainda não foi precisamente caracterizada. As pesquisas dessas substâncias têm revelado uma enorme variedade de funções anticoagulantes, revelando o uso potencial dessas moléculas para terapêutica ou como ferramentas para estudos da fisiologia dos processos vasculares e hemostáticos [4].

II. MOLÉCULAS DA GLÂNDULA SALIVAR QUE MODULAM A FISIOLOGIA DO HOSPEDEIRO

1. Modulação da resposta imune adquirida

A saliva dos carrapatos contém proteínas que são secretadas no organismo dos animais parasitados, onde podem induzir respostas imunes do tipo humoral e celular. O animal parasitado tem reações inflamatórias na pele, devido à hipersensibilidade a essas proteínas secretadas pelo carrapato. Isso causa eritema e edema que prejudica a fixação do parasito, embora essa modificação não seja suficiente para afetar seriamente o parasito. Esse processo de inflamação cutânea do animal parasitado pode restringir o fluxo sanguíneo para o local de fixação do carrapato, prejudicando, assim a fonte de alimentação dos carrapatos [42].

A resposta imunológica dos hospedeiros contra carrapatos envolve células apresentadoras de antígenos, citocinas, linfócitos B e T, granulócitos, entre

outras células e moléculas [49]. Organismos causadores de doenças são hábeis em suprimir ou desviar a resposta imune inata e específica dos hospedeiros. Algumas dessas estratégias imunomodulatórias empregadas incluem: bloquear a função das células apresentadoras de antígenos; reduzir a atividade dos linfócitos T; suprimir e desativar a produção e ação de citocinas; diminuir a resposta a anticorpos e bloquear a ativação do sistema complemento [50].

Para modular as respostas do hospedeiro contra o parasitismo, os carrapatos secretam moléculas que modulam o sistema imune do hospedeiro [43]. Proteínas que se ligam à histamina e a IgG foram encontradas na saliva do carrapato *Rhipicephalus appendiculatus*, subvertendo o sistema de defesa do hospedeiro [35].

Estudos comprovam que esses parasitos interferem no estímulo de para a ativação de linfócitos T. Pode-se citar como exemplo um estudo em que o extrato de glândula salivar do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* inibiu a proliferação de células T de bovinos que foram estimuladas, *in vitro*, com mitógenos [43]. A diferenciação de células T CD4⁺ em células T_{h1} ou T_{h2} é influenciada pelo ambiente da pele parasitada e por moléculas da saliva do carrapato [27]. A natureza do agente invasor e os tipos de resposta imune inata envolvida determinam qual o tipo de célula T auxiliar irá se desenvolver [20].

A saliva e o extrato da glândula salivar da espécie de carrapato *Ixodes ricinus* possui um efeito supressivo na resposta imune inata em camundongos BALB/c [29]. Estudos *in vitro* demonstram que a saliva do carrapato *I. ricinus* polariza a resposta imune para o tipo T_{h2}, revelando a importância da saliva na habilidade de modular o sistema imune por reduzir a resposta imune tipo T_{h1} e estimulação do tipo T_{h2} [27]. Foram comparados grupos de camundongos BALB/c que foram ou infestados com *I. ricinus* parasitados com *Borrelia burgdorferi* ou infectados experimentalmente. Nos camundongos infectados experimentalmente, desenvolveu-se uma resposta imune do tipo T_{h1} e T_{h2} com a produção de IgG2a antiborrélica. Em contraste, nos camundongos infestados pelos carrapatos ocorreu uma modulação da resposta imune celular para o tipo T_{h2}, com a produção de IgG2a antiborrélica diminuída [6].

Um estudo *in vitro* foi realizado comparando-se o efeito de diferentes concentrações de saliva e extrato de glândula salivar de *I. ricinus* na imunidade

adquirida em camundongos BALB/c. O efeito de antígenos da glândula salivar e da saliva no sistema imunológico foi estudado pela proliferação de linfócitos e a secreção de IL-4 por células do linfonodo. Baixas concentrações de antígenos revelaram serem estimuladoras do sistema imune, enquanto altas concentrações de antígenos mostraram serem depressoras do sistema imune. A proliferação de linfócitos e a secreção de IL-4 aumentaram em resposta a baixas doses de antígenos do carrapato. Contudo, quando altas doses desses antígenos eram usadas, a proliferação de linfócitos e a secreção de IL-4 foram reduzidas [29].

Em *Ixodes scapularis* foi identificada uma proteína salivar (Salp15) que é diretamente responsável pela repressão da produção de interleucina-2 (IL-2) durante o desenvolvimento da resposta imune. Essa proteína é responsável, pelo menos parcialmente, na ação imunomodulatória da saliva do carrapato na resposta imune do hospedeiro [2]. Essa modulação seria feita pela ligação específica da Salp15 com as moléculas CD4 de células T. Em células T, a glicoproteína CD4 funciona com um co-receptor do receptor de células T (TCR). Esse co-receptor amplifica o sinal gerado pelo TCR recrutando Lck, que é essencial para a ativação de muitas moléculas envolvidas na cascata de sinalização de células T ativada. Essa interação entre Salp15 e CD4 causa a redução na produção de IL-2 durante o estímulo das células T [19].

As prostaglandinas aparentemente auxiliam a reverter o efeito dos vasoconstritores liberados pelas plaquetas e/ou aumentar o fluxo sanguíneo na pele [21]. Além dessa função inibitória de vasoconstrição, as prostaglandinas presentes na saliva de *R. microplus* mostraram atividade de supressão da produção de IFN-g e IL-2, que são citocinas produzidas por células T_{h1} [43].

Entre os mecanismos de evasão dos carrapatos através da modulação da resposta imunológica, é sugerido um mecanismo de “seqüestro” de imunoglobulinas do hospedeiro no intestino do carrapato com posterior transporte dessas proteínas até as glândulas salivares. Essas imunoglobulinas são secretadas junto com a saliva do carrapato durante a alimentação do parasito [45].

2. MODULAÇÃO DO SISTEMA COMPLEMENTO

O dano tecidual causado durante a lesão na pele na fase de fixação do carrapato pode resultar em uma rápida ativação do sistema complemento do

hospedeiro pela resposta da fase aguda. Conseqüentemente, a imediata inibição da atividade da via alternativa do complemento se faz necessária para o sucesso da alimentação. Presumivelmente, o carrapato necessitaria estocar esses fatores anticomplemento nos ácinos da glândula salivar antes da fase de alimentação. A atividade anticomplemento das espécies da família Ixodidae é espécie-específica para parasita-hospedeiro, sugerindo diferentes alvos de atividade anticomplemento entre as diferentes espécies dessa família de carrapatos [22]. Contudo, devemos atentar que fatores ecológicos e fisiológicos exercem também um papel na determinação da suscetibilidade de um hospedeiro para uma espécie de carrapato em particular [22].

Entre as diversas atividades imunossupressoras encontradas na saliva dos carrapatos encontra-se a habilidade de bloquear ou inibir a ação do sistema complemento. Quando cobaias previamente infestadas por *Dermacentor andersoni* foram tratadas com um veneno de serpente capaz de inibir o sistema complemento apresentaram diminuição na expressão da resistência adquirida. Por outro lado, cobaias deficientes em C4 (componente da via clássica) não mostraram diferença na rejeição a carrapatos, sugerindo o envolvimento da via alternativa no processo de resistência [48]. A atividade anticomplemento já foi demonstrada em carrapatos através de estudos *in vitro* com extrato de glândula salivar de *I. ricinus* [22], *I. hexagonus* [22], *I. uriae* [22], *I. scapularis* [38] e *Ornithodoros moubata* [3].

Os níveis de C3 aumentam quando o hospedeiro desenvolve resistência, ocorrendo a deposição de C3 no intestino dos carrapatos alimentados e também nas vesículas epidérmicas que se desenvolvem no hospedeiro abaixo do ponto de fixação do carrapato [1,37]. A atividade anticomplemento vem sendo descrita em diversas espécies através de diferentes pontos na cascata do complemento. Por exemplo, o parasito *Echinococcus granulosus* inibe a ativação do complemento através do seqüestro do fator H dentro da parede do cisto hidático [10]. Diferentemente, a forma resistente ao sistema complemento de *Schistosoma mansoni* secreta uma protease que hidrolisa C3 e C9 *in vitro* [25]. Estudos mostram também que a saliva do carrapato *I. dammini* contém um inibidor da ativação da via alternativa do complemento que inibe a deposição de C3b e a liberação da anafilatoxina C3a [38].

O processo de ativação da via alternativa está ligado aos reguladores de ativação do complemento (RAC). Através desses reguladores da via alternativa, o hospedeiro inibe a ação do sistema complemento nas próprias células. Os RAC possuem em comum uma estrutura formada por pequenas repetições (SCR) que funcionam como unidades funcionais, capazes de inibir a ação do complemento em vários pontos da cascata do complemento [28]. Cada SCR contém quatro cisteínas que formam pontes dissulfetos conferindo uma forma de pérola aos domínios SCR. Os carrapatos, ao tentarem inibir o sistema complemento, secretam, através da saliva, proteínas com funções análogas a esses RCA. Uma nova proteína anticomplemento, denominada Isac, foi descrita na glândula salivar de *I. scapularis*. Essa proteína possui uma função reguladora do sistema complemento pela via alternativa de uma maneira similar a duas proteínas RCA (fator acelerador da dissociação e o fator H). Isac não possui similaridade com nenhuma molécula anticomplemento já descrita. Contudo, a presença de quatro cisteínas em Isac sugere que possa haver uma homologia funcional a SCR derivada por evolução convergente. Em *I. ricinus*, estudos revelaram duas dessas proteínas (IRAC I e II). Essas proteínas seriam expressas constitutivamente na glândula salivar desse carrapato tendo sua expressão aumentada durante a alimentação do parasito. As proteínas anticomplemento da família Ixodidae não possuem homologia detectável com nenhuma seqüência protéica já reportada previamente. Isso sugere que a atividade anticomplemento das IRACs, que possuem um sítio ativo semelhante às RAC, foi desenvolvida por um processo de evolução convergente [8].

A atividade anticomplemento da saliva do carrapato *I. ricinus* foi testada através de experimentos de hemólise com hemácias de ovelha. Ficou demonstrado que a atividade anticomplemento é estimulada conforme a concentração de proteínas da saliva é aumentada. Ocorre inibição máxima do sistema complemento com redução de 70% de lise das hemácias [29].

Uma proteína inibidora do sistema complemento foi descrita recentemente no carrapato *O. moubata* [34]. Essa proteína, pertencente à família das lipocalinas, foi denominada OmCI. Sua estrutura está relacionada com a ligação de histamina [24,36]. OmCI inibe o sistema complemento pela via clássica e pela via alternativa e atua especificamente na molécula

de C5 da cascata de ativação do complemento porque previne a produção de C5a a partir de C5, não afetando, contudo, a produção de C3a pela ativação de C3. Assim, OmCI apresenta a sua atividade por um mecanismo inteiramente diferente ao do inibidor contido na saliva de *I. scapularis*, que é específico na inibição da via alternativa e previne a deposição de C3b e a liberação de C3a [38], provavelmente pela dissociação acelerada do fator Bb a partir da C3 convertase. O mecanismo preciso de ligação a C5, estrutura, e funções acessórias nos fatores séricos ainda não foram elucidados [34].

A calreticulina é uma proteína que possui participação em diversas funções celulares como ligação ao cálcio, e está presente na saliva dos carrapatos [11]. Estudos revelaram que em diversos modelos parasito-hospedeiro, essa proteína possui atividade anticomplemento. Experimentos *in vitro* revelaram que a inibição do sistema complemento ocorre pela ligação da calreticulina com C1q [18,29]. No carrapato *Amblyomma americanum* foi demonstrado a secreção de calreticulina na saliva diretamente no hospedeiro, sendo sugerido que atue modulando o sistema imune e/ou a hemostasia do hospedeiro [17].

A atividade anticomplemento dos carrapatos pode ter também um papel fundamental na transmissão de patógenos como a espiroqueta *B. burgdorferi* [46]. Ratos deficientes de C3 e C5 são suscetíveis à febre recorrente. Essa suscetibilidade não ocorre quando o sistema imune dos roedores está íntegro [7]. O tratamento de patógenos sensíveis ao soro de mamíferos (como por exemplo, a *B. garinni*), com extrato de glândula salivar de *I. ricinus* reduz a atividade do soro contra esse organismo. Assim, o bloqueio da atividade anticomplemento em espécies de carrapatos da família Ixodidae podem ajudar na proteção de espécies suscetíveis a *B. garinni* quando esses patógenos são transmitidos da saliva do carrapato para o organismo do hospedeiro. Essa proteção não acontece quando a *B. garinni* está no intestino do carrapato, ficando, assim, suscetível ao sistema de defesa do hospedeiro [22]. Sendo assim, os organismos patogênicos são mais infectantes quando estão na presença da saliva do carrapato, reforçando o conceito de transmissão ativada pela saliva como uma ação paralela do carrapato, aumentando, assim, a transmissão de patógenos para o hospedeiro.

3. MODULAÇÃO DA COAGULAÇÃO SANGUÍNEA

Ao longo da evolução, as espécies de animais hematófagos desenvolveram um grande repertório de substâncias anti-hemostáticas. A capacidade de hematofagia é um fenômeno que surgiu diversas vezes na evolução das espécies de maneira independente. Algumas famílias e mesmo gêneros de insetos que possuem espécies hematófagas divergiram antes do aparecimento dos mamíferos, de modo que mesmo espécies muito próximas apresentam soluções diferentes para bloquear a hemostasia dos respectivos hospedeiros [16,35].

As pequenas quantidades dos fatores de coagulação nos organismos dificultam seu estudo. Mesmo assim, o isolamento de agentes anticoagulantes e a caracterização dos seus sítios de ação vem sendo cada vez maior devido ao desenvolvimento da química de proteínas, da biologia molecular e da elucidação da bioquímica da coagulação [26,51].

Os alvos mais frequentes para os inibidores da cascata de coagulação são o fator Xa e a trombina. Essas duas moléculas fazem parte tanto da via extrínseca como da via intrínseca. A trombina desenvolve um papel central na hemostasia, não apenas convertendo fibrinogênio em fibrina, mas também por regular a sua própria produção pela ativação de outros fatores da coagulação (fV, fVIII, fXI, e proteína C) [15].

Foi caracterizado um inibidor de fXa na espécie de carrapato *I. ricinus* que foi denominado de ixodina [26]. *I. ricinus* apresenta também um inibidor de trombina denominado ixina, que inibe também a agregação plaquetária induzida por trombina [14].

O TAP é um inibidor de serinoproteases de baixo peso molecular, isolado de extratos do carrapato *O. moubata* e é um ligador específico para o fator Xa. O TAP inicialmente se liga ao fator Xa com baixa afinidade, em um sítio distinto do sítio catalítico e, posteriormente, interage com alta afinidade com o sítio ativo, formando um complexo inibidor-enzima estável. A inibição do fator Xa pelo TAP é dependente de dose. Verificou-se através de ensaios *in vitro*, que essa proteína atua como um anticoagulante plasmático humano. O TAP tem homologia limitada com os inibidores de Kunitz, sendo, diferentemente dos inibidores dessa classe, inibidor específico do fator Xa [47].

Uma proteína anticoagulante denominada Salp14 foi purificada da saliva do carrapato *I. scapu-*

laris. Verificou-se que a proteína recombinante Salp14 teve a capacidade de inibir a atividade do fator Xa de uma maneira dose dependente. Anticorpos gerados contra a Salp14 recombinante inibiu mais de 80% da atividade anticoagulante da saliva do carrapato. Isso sugere uma grande participação dessa proteína na atividade anticoagulante na saliva desse carrapato. A inabilidade do anti-soro para Salp14 provocar a completa inibição da atividade anticoagulante sugere que existem outros fatores inibindo a cascata de coagulação do hospedeiro [31].

O TFPI (*tissue factor pathway inhibitor*) é um inibidor do fator VIIa, dependente do fator Xa, que está presente em pequena quantidade no sangue, na forma livre ou estocado em plaquetas. A maior parte desse inibidor está ligada a lipoproteínas ou ao endotélio. O TFPI inibe diretamente o fator Xa e isso serve como co-fator para inibição do complexo fator tecidual/fator VIIa [9]. Recentemente, foi obtido a partir de uma biblioteca de DNA complementar de glândula salivar de *I. scapularis* uma proteína recombinante com propriedades semelhantes ao inibidor da via extrínseca da coagulação TFPI. A proteína recombinante obtida é um inibidor específico do fVIIa/FT dependente de fX ou fXa. O ixolaris, como esse inibidor foi chamado, apresenta similaridade com membros da família de inibidores Kunitz. O mecanismo de ação proposto para o ixolaris é a interação com o fVIIa/FT via domínio Kunitz 1 e com fX(a) via domínio Kunitz 2, formando um complexo quaternário fVIIa/FT/ixolaris/fX(a) [12]. Embora ixolaris apresente uma grande homologia de estrutura primária com TFPI, essa proteína não se liga ao sítio catalítico FXa. Diferentemente, a formação do complexo é mediada por um número de resíduos com superfície carregada que constituem um exsítio ligador de heparina de FXa [30]. Testes realizados com a administração intravenosa e subcutânea de ixolaris recombinante em ratos mostraram que essa proteína possui um potente efeito antitrombótico, com uma meia-vida prolongada e com baixos efeitos colaterais de hemorragia e de sangramento [32]. Mais recentemente, uma proteína recombinante com propriedades semelhantes a TFPI foi encontrada também na glândula salivar do carrapato *I. scapularis*. Diferentemente da ixolaris que possui dois domínios Kunitz, essa proteína recombinante, denominada penthalaris, possui cinco domínios Kunitz [6].

A saliva do carrapato *D. andersoni* também possui atividade anticoagulante. A via intrínseca e extrínseca de coagulação é inibida com extratos de glândula salivar desses carrapatos. Esses anticoagulantes são direcionados contra o fator V e VII [13]. Foi descrito o isolamento de uma proteína, denominada variabilina, da glândula salivar de *D. andersoni*. Essa proteína é um potente inibidor de agregação plaquetária induzida por ADP, colágeno e trombina, e também inibe a adesão do fibrinogênio a GPIIb/IIIa. A inibição da coagulação ocorre porque a variabilina contém a seqüência RGD. Os parasitas hematófagos tem usado a habilidade da seqüência RGD, contida em suas moléculas, para inibir a ligação de Fg e outras proteínas ao GPIIb-IIIa como base da ação de uma variedade de agentes naturais antiplaquetários. A variabilina é o primeiro antagonista, contendo RGD, de GPIIb-IIIa encontrado em carrapatos [46].

Estudos revelaram que a saliva do carrapato *R. microplus* é um inibidor das vias extrínsecas e intrínsecas da cascata de coagulação. Um anticoagulante denominado BmAP (*Boophilus microplus Anticoagulant Protein*), foi isolado da saliva desse carrapato. Essa proteína mostrou um tempo prolongado de recalcificação e de protrombina em ensaios com plasma de bovino. A BmAP inibe a agregação plaquetária induzida por trombina ligando-se ao sítio ativo dessa proteína provavelmente pelo exsítio I [4,15]. A saliva desse carrapato contém ainda outra molécula inibidora de trombina, que foi denominada de microfilina pelo seu tamanho reduzido. De fato, essa proteína é a menor inibidora de trombina encontrada na saliva de carrapatos já descrita. Seu mecanismo de ação para a inibição da agregação plaquetária é semelhante ao da BmAP. A microfilina atua bloqueando o exsítio I da trombina [5].

III. DISCUSSÃO

Nas últimas décadas, o controle do carrapato vem sendo realizado principalmente com produtos químicos. Mas com o passar dos anos, esse método de controle vem se tornando cada vez mais difícil, pois os carrapatos resistentes a esses compostos acabam sobrevivendo, tornando o princípio ativo do acaricida obsoleto, devido a seleção de populações resistentes [44]. Como consequência, tem-se o aumento das doses de acaricidas, e isso agrava a contami-

nação de produtos alimentícios derivados de origem animal, além de causar poluição química no ambiente. Adicionalmente, há cada vez mais a preocupação, por parte da população, do consumo de alimentos produzidos sem o uso de agentes químicos [33]. A falta de atenção a essas tendências de consumo de alimentos pelos mercados consumidores pode ter efeitos negativos às exportações de alimentos. Por essas razões, estão sendo desenvolvidas alternativas para o controle dos carrapatos, entre elas, o uso de vacinas [23].

A alimentação de carrapatos sobre os seus respectivos hospedeiros, resistentes ou não a esses ectoparasitos, resulta na ativação de uma resposta inflamatória e imunológica [41]. As espécies de carrapatos da família Ixodidae se alimentam por períodos extensos de mais de 14 dias de duração, permitindo um amplo tempo de ativação da resposta imune inata e adaptativa. Proteínas do sistema complemento são ativadas em resposta a infestação por esses carrapatos. O sucesso da alimentação dos carrapatos depende da capacidade de suprimir as defesas dos hospedeiros por antagonismo das respostas inflamatórias montadas pelos animais parasitados. Para tanto, utilizam moléculas bioativas contidas nas glândulas salivares e as secretam nos locais de alimentação pela saliva [38].

Se a saliva dos carrapatos favorece a transmissão de organismos infecciosos, seria possível controlar a transmissão desses patógenos pela vacinação do hospedeiro contra as moléculas contidas na saliva que potencializam a infecção. Assim, ter-se-ia o bloqueio do efeito da saliva dificultando o estabelecimento do patógeno. Esta possibilidade é uma das mais importantes razões para se estudar efeitos imunomodulatórios na saliva dos carrapatos e assim oferecer um novo método para o controle de muitas doenças transmitidas por esses ectoparasitos [41].

Os efeitos imunoreguladores da saliva dos carrapatos são realizados por diversos inibidores de células T. Uma explicação de o porquê de tantos inibidores diferentes do sistema imune seria que os carrapatos da família Ixodidae, por se alimentarem por diversos dias, necessitariam de múltiplos mecanismos para inibir a resposta imune e a inflamação causada pela sua presença no hospedeiro [41]. Os carrapatos desenvolveram, portanto, diversas moléculas moduladoras do sistema imune do hospedeiro como resposta adaptativa.

A possibilidade de neutralizar a ação dos componentes da saliva relacionados com o aumento na transmissão de patógenos abre uma nova possibilidade no desenvolvimento de vacinas, pois, além de combater os carrapatos, limitaria a transmissão de patógenos por eles transmitidos. No entanto, é necessário melhorar a eficácia do controle imunológico. Para isso, é fundamental o estudo de moléculas envolvidas na fisiologia dos carrapatos que propiciam parasitismo. O contato da saliva secretada pelo carrapato com os componentes do sistema imune e de coagulação causa uma modulação desses sistemas. O parasitismo seria prejudicado se a ação dessas moléculas presentes na saliva dos carrapatos fosse bloqueada. Por essa razão, são pesquisados na saliva alvos potenciais para o desenvolvimento de vacinas.

O mecanismo da modulação do sistema imune do hospedeiro pelos carrapatos está sendo cada vez mais elucidado. A proteína Salp15 que interage especificamente com co-receptores de células T de mamíferos pode ter outra utilidade além da prevenção da fixação dos carrapatos e da possível transmissão de patógenos para o hospedeiro. Além disso, esses estudos podem ser utilizados com finalidades terapêuticas, para diversas doenças auto-imunes mediadas por células T e para o desenvolvimento de medicamentos para tolerância a transplantes [19].

Estudos demonstram que a saliva do carrapato *I. ricinus* polariza a resposta imune para o tipo T_H2 . Essa dicotomia na atividade das células T auxiliaadoras é em parte associada com a suscetibilidade ou resistência a patógenos. Esses resultados evidenciam a importância da saliva dos carrapatos sobre a polarização da resposta imune para a produção de T_H2 . A neutralização dessas moléculas salivares poderia interferir com o estabelecimento da resposta imune por T_H2 e subsequentemente afetar a transmissão de patógenos transmitidos pela saliva dos carrapatos [6].

Em quase todos os sistemas analisados, a saliva dos carrapatos tem favorecido a infecção dos patógenos. Quando isso não ocorre, também não há a diminuição do poder de infecção desses patógenos. Isso revela o quanto os agentes de doenças se adaptaram aos mecanismos de evasão dos carrapatos para o seu desenvolvimento. A identificação de novas moléculas anticomplemento presentes na saliva dos carrapatos irá embasar a importância da atividade inibidora desenvolvida na relação parasito-hospedeiro.

Esses estudos ajudarão no desenvolvimento de novos alvos potenciais para o desenvolvimento de vacinas contra os carrapatos.

Podemos encontrar na glândula salivar dos carrapatos algumas moléculas com efeitos redundantes na modulação dos processos fisiológicos dos hospedeiros. É o caso das proteínas ixolares e penthalaris que inibem a cascata de coagulação por mecanismos semelhantes permitindo, assim, a permanência da alimentação do carrapato *I. scapularis* por longos períodos. A evolução parece ter selecionado carra-

patos capazes de inibir a cascata de coagulação para que esses animais pudessem passar um longo tempo se alimentando sobre o hospedeiro [26,32].

Outra possibilidade que se abre na pesquisa da glândula salivar dos carrapatos seria o estudo de moléculas inibidoras da cascata de coagulação no que diz respeito à utilização dessas substâncias como fármacos pela indústria médica. Inibidores específicos da coagulação podem ser usado como fármacos anticoagulantes pelo seu valor terapêutico, como é o caso do TAP, que inibe especificamente o fator Xa [47].

REFERÊNCIAS

- 1 **Allen J.R., Khalil H.M. & Graham J.E. 1979.** The location of tick salivary antigens, complement and immunoglobulin in the skin of guinea-pigs infested with *Dermacentor andersoni* larvae. *Immunology*. 38: 467-472.
- 2 **Anguita J., Ramamoorthi N., Hovius J., Das S., Thomas V., Persinski R., Conze D., Askenase P., Rincón M. & Kantor F. 2002.** Salp15, an *Ixodes scapularis* salivary protein, inhibits CD4+ T cell activation. *Immunity*. 16: 849-859.
- 3 **Astigarraga A., Oleaga-Perez A., Perez-Sanchez R., Baranda J.A. & Encinas-Grandes A. 1997.** Host immune response evasion strategies in *Ornithodoros erraticus* and *O. moubata* and their relationship to the development of an antiargasid vaccine. *Parasite Immunology*. 19: 401-410.
- 4 **Ciprandi A., Horn F. & Termignoni C. 2003.** Saliva de animais hematófagos: fonte de novos anticoagulantes. *Revista brasileira de hematologia e hemoterapia*. 25: 250-262.
- 5 **Ciprandi A., De Oliveira S.K., Masuda A., Horn F. & Termignoni C. 2006.** *Boophilus microplus*: Its saliva contains microphilin, a small thrombin inhibitor. *Experimental Parasitology*. 114: 40-46.
- 6 **Christe M., Rutti B. & Brossard M. 2000.** Cytokines (IL-4 and IFN- γ) and antibodies (IgE and IgG2a) produced in mice infected with *Borrelia burgdorferi* sensu stricto via nymphs of *Ixodes ricinus* ticks or syringe inoculations. *Parasitology Research*. 86: 491-496.
- 7 **Connolly S.E. & Benach J.L. 2001.** Cutting edge: the spirochetemia of murine relapsing fever is cleared by complement-independent bactericidal antibodies. *The Journal of Immunology*. 167: 3029-3032.
- 8 **Daix V., Schroeder H., Praet N., Georjin J.P., Chiappino I., Gillet L., De Fays K., Decrem Y., Leboulle G., Godfroid E., Bollen A., Pastoret P.P., Gern L., Sharp P.M. & Vanderplasschen A. 2007.** *Ixodes* ticks belonging to the *Ixodes ricinus* complex encode a family of anticomplement proteins. *Insect Molecular Biology*. 16: 155-166.
- 9 **De Oliveira L.C.O. & Franco R.F. 2001.** Novas drogas anticoagulantes. In: *Simpósio: hemostasia e trombose* (Ribeirão Preto, Brasil). p. 276-281.
- 10 **Diaz A., Ferreira A. & Sim R.B. 1997.** Complement evasion by *Echinococcus granulosus*: sequestration of host factor H in the hydatid cyst wall. *The Journal of Immunology*. 158: 3779-3786.
- 11 **Ferreira C.A.S., Vaz I.D., Da Silva S.S., Haag K.L., Valenzuela J.G. & Masuda A. 2002.** Cloning and partial characterization of a *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) calreticulin. *Experimental Parasitology*. 101: 25-34.
- 12 **Francischetti I.M.B., Valenzuela J.G., Andersen J.F., Mather T.N. & Ribeiro J.M.C. 2002.** Ixolaris, a novel recombinant tissue factor pathway inhibitor (TFPI) from the salivary gland of the tick *Ixodes scapularis*: identification of factor X and factor Xa as scaffolds for the inhibition of factor VIIa/tissue factor complex. *Blood*. 99: 3602-3612.
- 13 **Gordon J.R. & Allen J.R. 1991.** Factors V and VII anticoagulant activities in the salivary glands of feeding *Dermacentor andersoni* ticks. *The Journal of Parasitology*. 77: 167-170.
- 14 **Hoffmann A., Walsmann P., Riesener G., Paintz M. & Markwardt F. 1991.** Isolation and characterization of a thrombin inhibitor from the tick *Ixodes ricinus*. *Pharmazie*. 46: 209-212.
- 15 **Horn F., Dos Santos P.C. & Termignoni C. 2000.** *Boophilus microplus* anticoagulant protein: an antithrombin inhibitor isolated from the cattle tick saliva. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 384: 68-73.
- 16 **Imamura S., Vaz I.D., Sugino M., Ohashi K. & Onuma M. 2005.** A serine protease inhibitor (serpin) from *Haemaphysalis longicornis* as an anti-tick vaccine. *Vaccine*. 23: 1301-1311.

- 17 **Jaworski D. C., Simmen F. A., Lamoreaux W., Coons L. B., Muller M. T. & Needham G. R. 1995.** A secreted calreticulin protein in ixodid tick (*Amblyomma americanum*) saliva. *Journal of Insect Physiology.* 41: 369-375.
- 18 **Johnson S., Michalak M., Opas M. & Eggleton P. 2001.** The ins and outs of calreticulin: from the ER lumen to the extra-cellular space. *Trends in Cell Biology.* 11: 122-129.
- 19 **Juncadella I.J., Garg R., Ananthnarayanan S.K., Yengo C.M. & Anguita J. 2007.** T-cell signaling pathways inhibit by the tick saliva immunosuppressor, Salp15. *Immunology & Medical Microbiology.* 49: 433-438.
- 20 **Kitano H. & Oda K. 2006.** Robustness trade-offs and host-microbial symbiosis in the immune system. *Molecular Systems Biology.* doi: 10.1038/msb4100039.
- 21 **Law J.H., Ribeiro J.M.C. & Wells M.A. 1992.** Biochemical insights derived from insect diversity. *Annual Review of Biochemistry.* 61: 87-111.
- 22 **Lawrie C.H., Randolph S.E. & Nuttall P.A. 1999.** Ixodes ticks: serum species sensitivity of anticomplement activity. *Experimental Parasitology.* 93: 207-214.
- 23 **Leal A.T., Seixas A., Pohl P.C., Ferreira C.A.S., Logullo C., Oliveira P.L., Farias S.E., Termignoni C., Vaz I.D. & Masuda A. 2006.** Vaccination of bovines with recombinant *Boophilus* Yolk pro-Cathepsin. *Veterinary Immunology and Immunopathology.* 114: 341-345.
- 24 **Mans B.J., Louw A.I. & Neitz A.W.H. 2003.** The major tick salivary gland proteins and toxins from the soft tick, *Ornithodoros savignyi*, are part of the tick lipocalin family: Implications for the origins of tick toxicoses. *Molecular Biology and Evolution.* 20: 1158-1167.
- 25 **Marikovskiy M., Arnon R. & Fishelson Z. 1990.** *Schistosoma mansoni*: localization of the 28 kDa secreted protease in cercaria. *Parasite Immunology.* 12 389-401.
- 26 **Markwardt F. 1994.** Coagulation inhibitors from blood-sucking animals. A new line of developing antithrombotic drugs. *Pharmazie.* 49: 313-316.
- 27 **Mejri N. & Brossard M. 2007.** Splenic dendritic cells pulsed with *Ixodes ricinus* tick saliva prime naive CD4⁺t to induce γ_2 cell differentiation *in vitro* and *in vivo*. *International Immunology.* 19: 535-543.
- 28 **Meri S. & Jarva H. 1998.** Complement regulation. *Vox Sang.* 74: 291-302.
- 29 **Michalak M., Corbett E.F., Mesaeli N., Nakamura K. & Opas M. 1999.** Calreticulin: one protein, one gene, many functions. *Biochemical Journal.* 344: 281-292.
- 30 **Monteiro R.Q., Rezaie A.R., Ribeiro J.M.C. & Francischetti I.M.B. 2005.** Ixolaris: a factor Xa heparin-binding exosite inhibitor. *Biochemical Journal.* 387: 871-877.
- 31 **Narasimhan S., Koski R.A., Beaulieu B., Anderson J.F., Ramamoorthi N., Kantor F., Cappello M. & Fikrig E. 2002.** A novel family of anticoagulants from the saliva of *Ixodes scapularis*. *Insect Molecular Biology.* 11: 641-650.
- 32 **Nazareth R.A., Tomaz L.S., Ortiz-Costa S., Atella G.C., Ribeiro J.M.C., Francischetti I.M.B. & Monteiro R.Q. 2006.** Antithrombotic properties of Ixolaris, a potent inhibitor of the extrinsic pathway of the coagulation cascade. *Thrombosis and Haemostasis.* 96: 7-13.
- 33 **Nolan J. 1985.** Mechanisms of resistance to chemicals in arthropod parasites of veterinary importance. *Veterinary Parasitology.* 18: 155-166.
- 34 **Nunn M.A., Sharma A., Paesen G.C., Adamson S., Lissina O., Willis A.C. & Nuttall P.A. 2005.** Complement Inhibitor of C5 Activation from the Soft Tick *Ornithodoros moubata*. *The Journal of Immunology.* 174: 2084-91.
- 35 **Paesen G.C., Adams P.L., Harlos K., Nuttall P.A. & Stuart D.I. 1999.** Tick histamine-binding proteins: isolation, cloning, and three-dimensional structure. *Molecular Cell.* 3: 661-671.
- 36 **Paesen G.C., Adams P.L., Nuttall P.A. & Stuart D.L. 2000.** Tick histamine binding proteins: lipocalins with a second binding cavity. *Biochimica et Biophysica Acta.* 1482: 92-101.
- 37 **Papatheodorou V. & Brossard M. 1987.** C3 levels in the sera of rabbits infested and reinfested with *Ixodes ricinus* and in the midguts of fed ticks. *Experimental and Applied Acarology.* 3: 53-59.
- 38 **Ribeiro J.M. 1987.** *Ixodes dammini*: salivary anti-complement activity. *Experimental Parasitology.* 64: 347-353.
- 39 **Ribeiro J.M. 1995.** Blood-feeding arthropods: live syringes or invertebrate pharmacologists? *Infect Agents Disease.* 4: 143-152.
- 40 **Till W.M. 1961.** A contribution to the anatomy and histology of the brown ear tick *Rhipicephalus appendiculatus* Neumann. *Memoirs of the Entomological Society of South Africa.* 6: 1-124.
- 41 **Titus R.G., Bishop J.V. & Mejia J.S. 2006.** The immunomodulatory factors of arthropod saliva and the potential for these factors to serve as vaccine targets to prevent pathogen transmission. *Parasite Immunology.* 28: 131-141.

- 42 **Tizard I.R. 2000.** *Immunity to Parasites. In: Veterinary Immunology: An Introduction.* Philadelphia: W. B. Saunders, pp. 280-294.
- 43 **Turni C., Lee R.P. & Jackson L.A. 2007.** The effects of salivary gland extracts from *Boophilus microplus* ticks on mitogen-stimulated bovine lymphocytes. *Veterinary Research Communications*. 31: 545-552.
- 44 **Vaz, I.D., Lermen T.T., Michelin A., Ferreira C.A.S., Freitas D.R.J., Termignoni C. & Masuda A. 2004.** Effect of acaricides on the activity of a *Boophilus microplus* glutathione S-transferase. *Veterinary Parasitology*. 119: 237-245.
- 45 **Wang H. & Nuttall P.A. 1999.** Immunoglobulin-binding proteins in ticks: new target for vaccine development against a blood-feeding parasite. *Cell and Molecular Life Sciences*. 56: 286-295.
- 46 **Wang X., Coons L.B., Taylor D.B., Stevens S.E. & Gartner T.K. 1996.** Variabilin a novel RGD-containing antagonist of glycoprotein IIb-IIIa and platelet aggregation inhibitor from the hard tick *Dermacentor variabilis*. *The Journal of Biological Chemistry*. 271: 17.785-17.790.
- 47 **Waxman L., Smith D.E., Arcuri K.E. & Vlasuk G.P. 1990.** Tick anticoagulant peptide (TAP) is a novel inhibitor of blood coagulation factor Xa. *Science*. 248: 593-596.
- 48 **Wikel S.K. & Allen J.R. 1977.** Acquired resistance to ticks: III Cobra venom factor and the resistance response. *Immunology*. 32: 457-465.
- 49 **Wikel S.K. 1999(a).** Modulation of the host immune system by ectoparasitic arthropods. *BioScience*. 49: 311-320.
- 50 **Wikel S.K. 1999(b).** Tick modulation of host immunity: an important factor in pathogen transmission. *International Journal for Parasitology*. 29: 851-859.
- 51 **Zavalova L.L., Basanova A.V. & Baskova I.P. 2002.** Fibrinogen-fibrin system regulators from bloodsuckers. *Biochemistry (Mosc)*. 67: 135-142.