



RESPOSTA IMUNE E MECANISMOS DE EVASÃO DESENVOLVIDOS PELO PROTOZOÁRIO PARASITA *Trypanosoma cruzi*, AGENTE CAUSADOR DA DOENÇA DE CHAGAS

Fabiano Costa Santiliano¹; Bethânia Ribeiro de Almeida²

¹. Mestre em Biociências e Biotecnologia. Departamento de Produção Vegetal, Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo. Cx. Postal 16, Alegre, ES – Brasil. fabianosantiliano@yahoo.com.br

². Professora do Departamento de Zootecnia. Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo.

Recebido em: 04/05/2012 – Aprovado em: 15/06/2012 – Publicado em: 30/06/2012

RESUMO

A infecção pelo *Trypanosoma cruzi*, semelhante ao que ocorre em outras infecções por micro-organismos patogênicos intracelulares, mobiliza diversos mecanismos efetores do sistema imune, havendo a ativação de fatores relacionados à imunidade inata e à imunidade adquirida. Durante seu desenvolvimento, o parasita desenvolve uma série de mudanças que o capacita a sobreviver no hospedeiro vertebrado, como a expressão de moléculas em sua superfície com capacidade de interferir na ativação das vias clássica e alternativa do Complemento. Um destes componentes é uma glicoproteína de 87-93 kDa denominada Fator Acelerador de Decaimento de *Trypanosoma* (T-DAF), que é responsável pela resistência à ação lítica do Complemento. Outros mecanismos de evasão utilizados são a renovação de moléculas de superfície através de vias endocíticas que auxiliam o parasito a livrar-se de anticorpos ligados à sua membrana, e a liberação de imunocomplexos ligados à membrana mediada por clivagem de glicoproteínas ancoradas através de âncoras de glicosil fosfatidil inositol (GPI), mediada por fosfolipases.

PALAVRAS-CHAVES: *Trypanosoma cruzi*, Doença de Chagas, resposta imune.

IMMUNE RESPONSE AND EVASION MECHANISMS DEVELOPMENTS BY PROTOZOAN PARASITE *Trypanosoma cruzi*, CAUSATIVE AGENT OF CHAGAS' DISEASE

ABSTRACT

The infection by *Trypanosoma cruzi*, similar to what occurs in other infections caused by intracellular pathogenic micro-organisms, mobilize various effector mechanisms of the immune system, with the activation of factors related to innate immunity and acquired immunity. During its development, the parasite develops a series of changes which enables him to survive in the vertebrate host, as the expression of molecules on their surface capable of interfering with the activation of the classical and alternative pathways of complement. One of these components is a 87-93 kDa glycoprotein called Decay Accelerating Factor of *Trypanosoma* (T-DAF), which is responsible for the resistance of lytic complement. Other evasion mechanisms used are the renewal of surface molecules through endocytic pathways that help the parasite to get rid of antibodies bound to the membrane, and release of membrane-

bound immune complex-mediated cleavage of glycoproteins anchored via glycosyl phosphatidylinositol anchors inositol (GPI), mediated by phospholipases.

KEYWORDS: *Trypanosoma cruzi*, Chagas Disease, immune response.

INTRODUÇÃO

O hemoprotozoário *Trypanosoma cruzi* agente etiológico da Doença de Chagas, foi descoberto por Carlos Ribeiro Justiniano das Chagas, em 1909, sendo a doença, o agente etiológico, os transmissores e reservatórios domésticos e silvestres, parte da patogenia e sintomatologia descritas por este cientista. Há estimativas de que cerca de 10 milhões de pessoas estejam infectadas ao redor do mundo, a maioria na América Latina onde a doença é endêmica. Mais de 25 milhões de pessoas vivem nas áreas de risco e estima-se que 10.000 morreram em consequência da doença em 2008 (WHO, 2008).

O ciclo evolutivo do *T. cruzi* envolve dois tipos de hospedeiros, um invertebrado e outro vertebrado, e três formas evolutivas bem definidas, que são: a) amastigota, forma replicativa no hospedeiro vertebrado encontrado no interior das células infectadas; b) tripomastigota, forma infectiva encontrada no sangue circulante de vertebrados e nas fezes do vetor invertebrado; c) epimastigota, forma replicativa, encontrada nos intestinos médio e posterior do vetor triatomíneo contaminado, forma esta que não é infectiva para o hospedeiro vertebrado.

Um fator importante na infecção intracelular do *T. cruzi*, assim como em outros parasitas intracelulares, é a sua capacidade de se desenvolver e multiplicar num ambiente hostil quanto o sistema imune do hospedeiro. A identificação dos componentes biologicamente importantes, dos eventuais receptores celulares com os quais interagem, das vias de indução de sinais que acionam, dos genes específicos que ativam e dos eventuais mediadores que produzem na célula hospedeira, constituem tópicos relevantes para estudo.

INTERAÇÃO PARASITO-HOSPEDEIRO

A fase inicial do processo de interação *T. cruzi*-célula hospedeira envolve, inicialmente, a adesão do parasita à superfície da célula. Todas as formas do ciclo evolutivo aderem-se à célula, sendo o grau de adesão, variável de acordo com a cepa do parasita, com a forma evolutiva e com o tipo de célula hospedeira.

A adesão decorre de um processo de reconhecimento celular em que proteínas e glicoproteínas, presentes tanto na superfície celular do hospedeiro como do parasito, estão envolvidas, tendo sido identificadas, ou por meios indiretos usando anticorpos monoclonais específicos ou por meios diretos usando ensaios de ligação (DE PABLOS et al., 2011; DE PABLOS & OSUNA, 2012).

A participação do ácido siálico no processo de interação é evidente. Formas tripomastigotas expressam, em sua superfície, grandes quantidades de uma proteína com atividade transialidásica, pertencente a uma grupo de famílias multigênicas que codificam para um grupo heterogêneo de proteínas enzimaticamente ativas, que variam de 100 a 200 kDa (BARROS et al., 1996). A trans-sialidase está ligada à membrana do parasita através de âncoras de glicosil fosfatidil inositol (GPI) e atua especificamente removendo resíduos de ácido siálico ligados na posição α -2,3 de glicoproteínas, glicolípídeos e oligossacarídeos, transferindo-os para moléculas aceptoras localizadas na superfície do parasito, como oligossacarídeos O-ligados de glicoproteínas de 70-200 kDa, conhecidos como Ssp3. Em formas tripomastigotas metacíclicas, o ácido siálico é incorporado

em antígenos de 35/55 kDa. A remoção de resíduos de ácido siálico de sua superfície promovem um aumento da interação do parasito com a célula hospedeira. As vias de sinalização acionadas são distintas de acordo com a cepa do parasito (NEIRA et al., 2002).

A glicoproteína pertencente à família das trans-sialidases, denominada gp83, possui importante papel na interação de *T. cruzi* com a célula hospedeira, interagindo com o receptor p74 presente na superfície celular do hospedeiro, atuando como um ligante universal utilizado por *T. cruzi* para a infecção de células fagocíticas e não-fagocíticas (VILLALTA et al., 2001). Outras proteínas são, a gp85, capaz de se ligar a laminina e fibronectina, e a penetrina, ambas relacionadas ao processo de invasão de células utilizado pela forma tripomastigota.

A glicoproteína gp82, presente na forma tripomastigota metacíclica é uma molécula de adesão (NEIRA et al., 2003) que se liga na célula hospedeira via receptores específicos, levando a uma via de sinalização, mediada por PTK e outros mensageiros, disparando uma mobilização de Ca^{2+} , um evento essencial para a internalização do parasito (YOSHIDA et al., 2000).

Estudos de KULKARNI et al. (2009) demonstram a importância da glicoproteína pertencente à família das metaloproteases, GP63, no processo de infecção da célula hospedeira. Expressa em todas as etapas do ciclo de vida do parasito, esta possui diferentes isoformas que participam na invasão celular.

No processo de invasão celular, diversas moléculas presentes na superfície das formas infectantes são mobilizadas. Os primeiros estágios dentro das células hospedeiras compreendem a formação de vacúolos ligados à membrana celular seguido de ruptura da membrana e do acesso do parasito ao citoplasma. O vacúolo no qual o parasito se instala tem pH ácido, condição que pode ser modificada através de agentes que inibem o processo de acidificação e permitem o escape do parasito para o citoplasma. O parasito, neste estágio, sintetiza e secreta uma proteína formadora de poros transmembrânicos (Tc-Tox) que compartilha epítomos com o componente C9 do sistema complemento.

Outras proteínas estágio-específicas, importantes em diversos processos biológicos do parasito, têm sido descritas em muitos trabalhos. Em formas epimastigotas, existem evidências de que uma glicoproteína de 72 kDa, conhecida como gp72, atue como receptor do componente C3 do complemento, participando da ativação da via alternativa e também levando estas formas à lise quando incubadas com soro fresco (JOINER et al., 1985). Estudos apontam que gp72 está envolvida na adesão do flagelo ao corpo celular (COTRIM et al., 1995). Em relação à forma amastigota, uma proteína bem caracterizada é a glicoproteína de 84 kDa, que representa a proteína de superfície majoritária ancorada à membrana via GPI, facilmente liberada da superfície celular (BARROS et al., 1996).

O PAPEL DO SISTEMA COMPLEMENTO NA RESPOSTA IMUNE

O Sistema Complemento consiste num conjunto de aproximadamente 30 proteínas plasmáticas, a maioria das quais zimógenos, presentes na fase fluída ou como integrantes de membranas celulares atuando como um importante mecanismo efetor da imunidade humoral tendo participação em uma série de eventos da imunidade inata, como a inflamação, fagocitose e citólise celular, podendo atuar tanto em indivíduos imunes, que possuem anticorpos ou células capazes de responder a componentes do agente invasor, como em indivíduos não imunes, basicamente através de duas vias de ativação, a via clássica e a alternativa. De uma maneira geral seus componentes formam um sistema de

ativação altamente organizado que através de proteólise sequencial, geram enzimas ativas com propriedades proteolíticas. Este sistema é encontrado em mamíferos, aves, répteis, anfíbios e peixes. Suas principais funções biológicas são a lise celular, opsonização por fragmentos proteolíticos que potencializam o processo fagocítico, eliminação de imunocomplexos, formados por ligação antígeno-anticorpo, da circulação sanguínea e ativação de processos inflamatórios através da ativação de leucócitos polimorfonucleares e respostas vasculares. Além disso, o C representa um eficiente sistema de discriminação do "próprio" e "não próprio" (YOSHIDA, 2006).

A ativação do C pode ocorrer por meio de duas vias principais: a via clássica que é ativada na presença de certos isótipos de anticorpos (IgG e IgM), e a via alternativa que independe da presença de anticorpos para sua ativação, sendo ativada sobre a superfície celular de micro-organismos. Uma terceira cascata de ativação recebe o nome de via das lectinas, por ser ativada pela ligação de polissacarídeos na superfície de micro-organismos à lectinas circulantes, como as lectinas ligantes de manose (MBL). As três vias distinguem-se quanto aos passos iniciais da ativação, mas culminam na formação de um complexo enzimaticamente ativo que atua sobre uma das principais proteínas que fazem parte deste sistema, a proteína C3. A partir daí inicia-se uma sequência de eventos comuns levando à inserção do complexo de ataque à membrana (MAC) como ponto final. A sequência de ativação consiste numa etapa inicial, seguida da etapa de amplificação da cascata e finaliza na etapa lítica, correspondente à formação do MAC.

A ativação da via clássica se dá pela ligação de anticorpos à antígenos presentes na fase fluída ou ligados à superfície de células alvo. Em seguida à agregação do anticorpo com o antígeno, o primeiro componente, denominado C1 (complexo macromolecular de três proteínas, C1q, C1r e C1s), liga-se através do subcomponente C1q à porção Fc do anticorpo, promovendo uma mudança conformacional fazendo com que C1r exponha um sítio ativo capaz de clivar C1s, transformando-o numa enzima proteolítica com atividade de esterase, que então cliva o componente C4 em duas subunidades, C4a e C4b. Este último, após a clivagem, expõe um grupamento tio-éster especial que contribui com a energia química nele armazenada para ser utilizada na sua ligação covalente à superfície do micro-organismo.

Posteriormente o componente C2 liga-se a C4b, sendo também clivado pela subunidade C1s, gerando dois fragmentos, C2a e C2b. O fragmento C2a permanece ligado ao componente C4b formando a enzima conhecida como C3 convertase da via clássica, cujo sítio enzimaticamente ativo presente em C2a apresenta afinidade pela proteína C3, clivando-a e gerando fragmentos C3b de relevante função no sistema (ABBAS et al., 2012).

A via alternativa consiste em um primeiro mecanismo de reconhecimento no hospedeiro não imune para uma gama de micro-organismos. Sua ativação, de maneira constante, ocorre no plasma em condições normais, através da hidrólise espontânea de uma ligação tio-éster, presente na molécula de C3 nativa, gerando uma C3 convertase inicial, a C3(H₂O). Com alta instabilidade, esta molécula forma ligações com sítios aceptores localizados na superfície de células alvo, onde se liga ao fator B, que é clivado pelo fator D, gerando os fragmentos Ba e Bb, permanecendo Bb ligado ao complexo, conhecido como C3 convertase de iniciação que cliva C3 em C3a e C3b. Quando grandes quantidades de C3b

reativos depositam-se sobre aceptores nas superfícies celulares, criam-se condições para a formação e amplificação da C3 convertase da via alternativa.

Outra via de ativação do sistema complemento, denominada via das lectinas, inicia-se pela ligação de MBL a carboidratos contendo manose presentes em micro-organismos. Esta via inicia-se pela ativação de duas serinas proteinases associadas à MBL, MASP-1 e MASP-2, que são homólogas a C1r e C1s. Sua ativação leva à clivagem de C4 e C2, gerando C4bC2a, que é a C3 convertase da via clássica, ativando-se desta forma o sistema complemento (MATSUSHITA et al., 2000).

A última etapa da ativação do complemento inicia-se com a formação das C5 convertases, pela agregação de fragmentos C3b às C3 convertases formadas por qualquer das três vias. Subsequentemente, o componente C5 é clivado, gerando os fragmentos C5a e C5b. A formação do MAC ocorre pela associação das proteínas C6, C7, C8 e várias moléculas de C9 ao fragmento C5b levando à inserção de uma estrutura em forma de poro na membrana celular, que através de um desequilíbrio osmótico, promove a lise celular.

Da ativação do sistema complemento, formam-se peptídeos potencialmente capazes de operar como mediadores do processo inflamatório, da fagocitose e da citotoxicidade. Os fragmentos C5a, C3a e C4a, denominados anafilatoxinas, participam dos fenômenos iniciais no processo inflamatório agudo, enquanto os fragmentos C3b e C4b, depositados na superfície do patógeno são reconhecidos por células portadoras de receptores específicos, potencializando a fagocitose ou citotoxicidade.

A ativação do sistema complemento precisa ser regulada para evitar que ocorra um consumo desnecessário de seus componentes e para que não haja ativação e deposição do complexo MAC sobre as próprias células do indivíduo. Tal controle é realizado através de proteínas regulatórias que se encontram solúveis no plasma e na membrana celular. Essa regulação pode ocorrer através de: 1) decaimento espontâneo de proteínas e complexos enzimáticos ativados; 2) desestabilização e inibição da ativação de complexos; e 3) clivagem proteolítica de componentes ativados.

As células do hospedeiro vertebrado são protegidas do ataque lítico devido à presença de componentes inibitórios dos processos de ativação.

A regulação do sistema complemento pode ocorrer antes e/ou após a formação de C3b, proteína chave no funcionamento da cascata, sendo que muitos dos mecanismos visam o controle da geração de C3b (ABBAS et al., 2012). Estas proteínas regulatórias podem se apresentar como componentes de membrana, como o fator acelerador de decaimento (Decay Accelerating Factor - DAF ou CD55); receptor tipo 1 do complemento (Complement Receptor 1 - CR1 ou CD35); fator de restrição homóloga (Human Restriction Factor - HRF); inibidor de membrana da lise reativa (MIRL ou CD59) e proteína cofator de membrana (Membrane Cofactor Protein - MCP ou CD46), ou na fase fluída como o inibidor de C1 esterase (C1 inhibitor - C1 INH), Fator I, Fator H, proteína ligante de C4 (C4 binding protein - C4bp), entre outros.

A glicoproteína denominada fator acelerador do decaimento das C3 convertases (DAF) possui um peso molecular de 70 kDa, podendo apresentar diferentes massas moleculares dependendo do tecido em que se apresenta. DAF é expressa essencialmente em células hematopoiéticas e células endoteliais, mas está presente também na fase fluída e possui a função biológica de acelerar o decaimento das C3 convertases das vias clássica e alternativa. Atua

acelerando a dissociação dos fragmentos C2a e Bb dos seus respectivos sítios de ligação, prevenindo assim a permanência funcional das C3 convertases das vias clássica e alternativa (ABBAS et al., 2012). A proteína DAF purificada tem a capacidade de reincorporar-se nas membranas celulares como uma proteína de membrana funcional. Semelhantemente à proteína reguladora CD59 e outros componentes do sistema complemento, DAF está ligada à superfície celular através de âncoras de glicosil fosfatidil inositol (GPI).

RESPOSTA IMUNE NA DOENÇA DE CHAGAS

A infecção pelo *T. cruzi*, semelhante ao que ocorre em outras infecções por micro-organismos patogênicos intracelulares, mobiliza diversos mecanismos efetores do sistema imune, havendo a ativação de fatores relacionados à imunidade inata e à imunidade adquirida. Consequentemente, o parasita passa a ser continuamente combatido, e tem sua multiplicação reduzida nos tecidos do hospedeiro. No entanto, a persistência indefinida do parasita, leva a uma atividade prolongada do sistema imune, culminando no aparecimento de lesões teciduais e, eventualmente a alterações funcionais musculares e nervosas, características da Doença de Chagas. As células e mecanismos efetores do sistema imune seriam então responsáveis, tanto pelo controle da multiplicação do parasita nos tecidos como pelas lesões locais resultantes da atividade antiparasitária.

IMUNIDADE INATA

Diversos mecanismos efetores humorais e celulares estão envolvidos na resposta imune inata do hospedeiro à infecção pelo *T. cruzi* (CUERVO et al., 2011).

A via alternativa do Complemento é ativada sobre as formas epimastigotas, levando-as à lise. As formas tripomastigotas infectantes são resistentes à ação lítica do Complemento, sendo esta resistência associada à expressão de moléculas em sua superfície com propriedades associadas à proteína regulatória DAF humana, uma proteína de membrana que desestabiliza a estrutura da C3 convertase depositada. Ao menos duas proteínas clonadas e identificadas de tripomastigotas, T-DAF e gp160, apresentam homologia na sequência de DNA com o DAF e estão implicadas na resistência do parasita ao ataque do Complemento (TAMBOURGI et al., 1993).

Um importante sistema de reconhecimento da imunidade inata é definido pela proteína ligante de manose e pelo receptor de manose, expresso na superfície de macrófagos e células dendríticas. Estas proteínas reconhecem padrões moleculares na superfície de micro-organismos, que normalmente estão ausentes nas células do hospedeiro, discriminando assim o não próprio, permitindo sua internalização por células fagocíticas. Formas amastigotas, diferentemente de tripomastigotas e epimastigotas, portam a capacidade de se ligarem à proteína ligante de manose sérica e de aderirem a macrófagos expressando o receptor de manose (KAHN et al., 1995).

As células NK são de grande importância na imunidade inata contra o *T. cruzi*, limitando o crescimento parasitário e promovendo o desenvolvimento da imunidade adquirida (SCOTT e TRINCHIERI, 1995). A invasão de macrófagos, leva à secreção de IL-12, que ativa as células NK a produzirem IFN- γ (ALIBERTI et al., 1996), que atua reciprocamente sobre macrófagos ativando-os para a atividade microbicida (GAZZINELI et al., 1992). A citocina pró-inflamatória TNF- α produzida por macrófagos durante a infecção por *T. cruzi*, participa dessa interação de forma sinérgica tanto com IL-12 como com IFN- γ . Diversos estudos demonstraram os

papéis protetores de IFN- γ (OSWALD et al., 1992) e de TNF- α (SANTOS LIMA et al., 1997), sendo que TNF- α também apresenta efeitos deletérios na resposta do hospedeiro. Em associação ao TNF- α , o IFN- γ induz a produção de NO, através da ativação da expressão da enzima NO-sintase em macrófagos, com atividade tóxica sobre *T. cruzi* (MUÑOZ-FERNANDEZ et al., 1992).

Citocinas como IL-10 e TGF- β exibem um importante papel regulatório na infecção por *T. cruzi*, inibindo *in vitro* a produção de NO e a atividade tripanocida de macrófagos infectados e ativados por IFN- γ (GAZZINELI et al., 1992; ROFFÊ et al., 2012).

IL-17 consiste numa citocina chave na resposta inflamatória em infecções bacteriana e fúngicas, sendo importante na proteção do hospedeiro contra a infecção de *T. cruzi* em sua fase aguda (MIYAZAKI et al., 2010).

IMUNIDADE ADQUIRIDA

A infecção do hospedeiro pelo *T. cruzi* difere de maneira importante de outros micro-organismos patogênicos intracelulares, devido à importância imunoprotetora que a resposta imune humoral apresenta na doença de Chagas. A infecção aguda causa uma intensa e diversificada ativação de linfócitos B, com hiperprodução de imunoglobulinas. O aparecimento de anticorpos específicos está relacionado com a queda da parasitemia (NORRIS et al., 1994) e os isotipos IgG1, IgG2a e IgG2b estão associados com anticorpos envolvidos na eliminação de formas sanguíneas do parasita. Estudos demonstraram a existência de anticorpos associados com um estado de proteção do hospedeiro, capazes de reagir apenas com formas vivas do parasita, e de induzir nestas a lise por Complemento. Estes anticorpos foram denominados anticorpos líticos (KRETTLI & BRENER, 1982). O nível destes decai muito em animais cronicamente infectados, após tratamento quimioterápico, diferentemente dos anticorpos anti-*T. cruzi* convencionais, que permanecem presentes, sendo a ausência de anticorpos líticos então, utilizada como critério de cura para a doença de Chagas.

A resposta imune celular efetora contra a infecção por *T. cruzi* tem sido alvo de diversos estudos, que demonstraram que a resistência à infecção caracteriza-se por uma resposta do tipo Th1 mais precoce e de maior amplitude, sendo que a evolução para a forma crônica caracteriza-se por uma perda na atividade Th1, com uma substituição para a atividade Th2 (ZHANG & TARLETON, 1996; KUMAR & TARLETON, 2001).

MECANISMOS DE EVASÃO

O complexo ciclo de vida do *T. cruzi* envolve o surgimento de uma série de características que permitem a sua sobrevivência nos diversos microambientes no inseto vetor e no hospedeiro vertebrado. As formas infectantes para o hospedeiro vertebrado desenvolveram diversos mecanismos que permitissem a sua sobrevivência no meio hostil, representado pelas células e pela corrente sanguínea do hospedeiro, como a expressão de moléculas em sua superfície com capacidade de interferir na ativação das vias clássica e alternativa do Complemento (ANSA-ADDO & INAL, 2010). Outros mecanismos de evasão utilizados são a renovação de moléculas de superfície através de vias endocíticas que auxiliam o parasito a livrar-se de anticorpos ligados à sua membrana, e a liberação de imunocomplexos ligados à membrana mediada por clivagem de glicoproteínas ancoradas através de âncoras de glicosil fosfatidil inositol (GPI), mediada por fosfolipases.

Com relação à atividade anticomplemento, os parasitas podem resistir à lise, porque eles não iniciam a ativação do complemento, porque eles bloqueiam a cascata após sua iniciação, ou porque o complexo MAC não causa prejuízo à estrutura da membrana. Formas amastigotas, por exemplo, são muito eficientes em ativar o complemento, mas escapam da morte através da expressão de uma proteína em sua superfície que se liga ao complexo C5b-9 interferindo na inserção de poros funcionais na membrana do parasita. Tripomastigotas podem se tornar resistentes à lise, pela ligação ineficiente do fator B ao componente.

A base da resistência de tripomastigotas à lise mediada pelo complemento é de natureza multifatorial. Diversas glicoproteínas de membrana específicas de tripomastigotas participam e previnem eficientemente a ativação do complemento sobre a superfície do parasita. Algumas destas moléculas como gp160, gp58/68, e T-DAF, que possuem atividade regulatória do complemento, têm sido identificadas baseadas em sua habilidade de inibir o desenvolvimento e/ou acelerar o decaimento da C3 convertase, a enzima central na cascata do complemento.

Gp160 encontra-se ligada na superfície através de uma âncora de glicosil fosfatidil inositol (GPI), sendo inicialmente isolada de proteínas ativamente liberadas por parasitas e caracterizada como tendo uma massa molecular de aproximadamente 160 kDa (NORRIS & SCHRIMPF, 1994). Esta glicoproteína foi clonada, apresentando similaridades funcionais e genéticas com a proteína DAF humana (CD55), interferindo na formação das C3 convertases das vias clássica e alternativa, através da sua ligação a C3b e C4b. A sequência gênica obtida na clonagem, denominada *CRP-10* codifica uma variante de gp160 que se mostrou funcional através da transfecção do gene em formas epimastogotas sensíveis ao complemento, que após a transfecção produziram uma proteína funcional ligante de C3 tornando-se resistentes à lise pelo complemento (NORRIS, 1998).

Outra glicoproteína tripomastigota-específica denominada gp58/68, também é encontrada na superfície do parasita, atuando na inibição apenas da C3 convertase da via alternativa, interagindo com o fator B mais eficientemente do que com C3b, não apresentando atividade aceleradora de decaimento de convertases.

Diversos trabalhos demonstraram que certos componentes de superfície de tripomastigotas que interferem na ativação do complemento, quando inativados por tratamento enzimático, removidos ou bloqueados por sensibilização com fragmentos Fab de IgG obtidos de camundongos infectados, transformam os parasitos em ativadores da via alternativa do complemento (KIPNIS et al., 1985; KIPNIS et al., 1987). O aquecimento das formas tripomastigotas a 45°C por 10 minutos as torna susceptíveis à lise pela via alternativa. Os sobrenadantes destes parasitas aquecidos foram recuperados e testados em ensaio de lise de hemácias de carneiro, mostrando-se capazes de inibir a formação da C3 convertase da via clássica do Complemento, readquirindo a resistência à lise após 4 horas a 37°C. Esta atividade parecia ser análoga àquela desempenhada pelo DAF humano e por esta similaridade, estes componentes foram denominados T-DAF (Trypomastigote-Decay Accelerating Factor) (KIPNIS et al., 1986).

Estudos de CESTARI et al., (2012) apresentam evidências de um novo mecanismo de evasão ao sistema imune desenvolvido por *T. cruzi*, mediado por vesículas derivadas da membrana plasmática da célula do hospedeiro. Formas tripomastigotas metacíclicas induzem a formação destas vesículas, que após liberadas formam um complexo na superfície do parasito levando à estabilização e inibição da C3 convertase resultando no aumento da sobrevivência do parasito.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A Doença de Chagas constitui um grave problema de saúde pública especialmente na América Latina, onde é considerada como uma das principais causas de problemas cardíacos. Embora a doença venha sendo intensamente estudada, tanto em modelos animais como em seres humanos, muitos aspectos ainda carecem de elucidação. A capacidade do parasita de evadir aos mecanismos efetores do sistema imune permite que este possa colonizar, se desenvolver e sobreviver no organismo hospedeiro. Por esta razão, proteínas presentes na superfície do *T. cruzi*, especialmente as com atividade anticomplemento, a resposta inflamatória desencadeada pelo mesmo, fatores genéticos e os distintos mecanismos utilizados pelo parasita, há décadas vêm tornando-se alvos potenciais de estudos e pesquisas que buscam o entendimento da biologia do *T. cruzi*, o aprimoramento dos métodos de diagnóstico e o desenvolvimento de terapias mais efetivas para a doença de Chagas.

REFERÊNCIAS

- ABBAS, A. K.; LICHMAN, A. H.; PILLAI, S. **Imunologia celular e molecular**. 7ª Edição. São Paulo: Elsevier, 2012.
- ALIBERTI, J. C. S.; CARDOSO, M. A. A. G.; MARTINS, G. A.; GAZZINELLI, R. T.; VIEIRA, L. Q.; SILVA, J. S. Interleukin-12 mediates resistance to *Trypanosoma cruzi* in mice and is produced by murine macrophages in response to live trypomastigotes. **Infection and Immunity**, v. 64, p.1961-1967, 1996.
- ANSA-ADDO, E.; INAL, J. *T. cruzi* interference with host cell membrane integrity triggers the release of Plasma Membrane-derived Vesicles: A mechanism for entry into mammalian cells. **The Journal of Immunology**, v. 184, 137.1, 2010.
- BARROS, H. C.; SILVA, S.; VERBISCK, N. V.; ARAGUTH, M. F.; TEDESCO, R. C.; PROCÓPIO, D. O.; MORTARA, R. A. Release of membrane-bound trails by *Trypanosoma cruzi* amastigotes onto modified surfaces and mammalian cells. **The Journal of Eukaryotic Microbiology**, v. 43, p. 275-285, 1996.
- CESTARI, I.; ANSA-ADDO, E.; DEOLINDO, P.; INAL, J. M.; RAMIREZ, M. I. *Trypanosoma cruzi* Immune Evasion Mediated by Host Cell-Derived Microvesicles. **The Journal of Immunology**, v. 188, p. 1942-1952, 2012.
- COTRIM, P. C.; PARANHOS-BACCALA, G.; SANTOS, M. R.; MORTENSEN, C.; CANO, M. I.; JOLIVET, M.; CAMARGO, M. E.; MORTARA, R. A.; SILVEIRA, J. F. Organization and expression of the gene encoding an immunodominant repetitive antigen associated to the cytoskeleton of *Trypanosoma cruzi*. **Molecular and Biochemical Parasitology**, v. 71, p. 89-98, 1995.
- CUERVO, H.; GUERRERO, N. A.; CARBAJOSA, S.; BESCHIN, A.; BAETSELIER, P.; GIRONÈS, N.; FRESNO, M. Myeloid-Derived Suppressor Cells Infiltrate the Heart in Acute *Trypanosoma cruzi* Infection. **The Journal of Immunology**, v. 187, p. 2656-2665, 2011.

DE PABLOS, L. M.; GONZÁLEZ, G. G.; PARADA, J. S.; HIDALGO, V. S.; LOZANO, I. M. D.; SAMBLÁS, M. M. G.; BUSTOS, T. C.; OSUNA, A. Differential Expression and Characterization of a Member of the Mucin-Associated Surface Protein Family Secreted by *Trypanosoma cruzi*. **Infection and Immunity**, v. 79, p. 3993-4001, 2011.

DE PABLOS, L. M.; OSUNA, A. Conserved Regions as Markers of Different Patterns of Expression and Distribution of the Mucin-Associated Surface Proteins of *Trypanosoma cruzi*. **Infection and Immunity**, v. 80, p. 169-174, 2012.

GAZZINELLI, R. T.; OSWALD, I. P.; HIENY, S.; JAMES, S. L.; SHER, A. The microbicidal activity of interferon-gamma-treated macrophages against *Trypanosoma cruzi* involves in the L-arginine-dependent, nitrogen oxide-mediated mechanism inhibitable by interleukin-10 and transforming growth factor-beta. **European Journal of Immunology**, v. 22, p. 2501-2506, 1992.

JOINER, K. A.; HIENY, S.; KIRCHHOFF, L. V.; SHER, A. Gp 72, the 72 kilodalton glycoprotein, is the membrane acceptor site for C3 on *Trypanosoma cruzi* epimastigote. **Journal of Experimental Medicine**, v. 161, p. 1196-1212, 1985.

KAHN, S.; WLEKLINSKI, M.; ARUFFO, A.; FARR, A.; CODER, D.; KAHN, M. *Trypanosoma cruzi* amastigote adhesion to macrophages is facilitated by the mannose receptor. **Journal of Experimental Medicine**, v. 182, p. 1243-1258, 1995.

KRETTLI, A. U.; BRENER, Z. Resistance against *Trypanosoma cruzi* associated to anti-living trypomastigote antibodies. **The Journal of Immunology**, v. 128, p. 2009, 1982.

KIPNIS, T. L.; KRETTLI, A. U.; DIAS DA SILVA, W. Transformation of trypomastigotes forms of *Trypanosoma cruzi* into activators of alternative complement pathway by immune IgG fragments. **Scandinavian Journal of Immunology**, v. 22, n. 2, p. 217-226, 1985.

KIPNIS, T. L.; TAMBOURGI, D. V.; SUCUPIRA, M.; DIAS DA SILVA, W. Effect of membrane components on the formation of the classical path C3 convertase. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 19, p. 271-278, 1986.

KIPNIS, T. L.; SUCUPIRA, M.; DIAS DA SILVA, W. Transformation of *Trypanosoma cruzi* trypomastigote bloodstream forms by immune IgM and its Fab μ fragment into activators of the alternative complement pathway. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 20, p. 105-114, 1987.

KULKARNI, M. M.; OLSON, C. L.; ENGMAN, D. M.; BRADFORD, S.; MCGWIRE, B. S. *Trypanosoma cruzi* GP63 Proteins Undergo Stage-Specific Differential Posttranslational Modification and Are Important for Host Cell Infection. **Infection and Immunity**, v. 77, p. 2193-2200, 2009.

KUMAR, S.; TARLETON, R. L. Antigen-Specific Th1 But Not Th2 Cells Provide Protection from Lethal *Trypanosoma cruzi* Infection in Mice. **The Journal of Immunology**, v. 166, p. 4596-4603, 2001.

MIYAZAKI, Y.; HAMANO, S.; WANG, S.; SHIMANOE, Y.; IWAKURA, Y.; YOSHIDA, H. IL-17 is necessary for host protection against acute-phase *Trypanosoma cruzi* infection. **The Journal of Immunology**, v. 185, p. 1150-1157, 2010.

MATSUSHITA, M.; THIEL, S; JENSENIUS, J. C. Proteolytic activities of two types of mannose-binding lectin-associated serine protease. **The Journal of Immunology**, v. 165, p. 2637-2642, 2000.

MUÑOZ-FERNANDEZ, M. A.; FERNANDEZ, M. A.; FRESNO, M. Synergism between tumor necrosis factor-alpha and interferon-gamma on macrophage activation for the killing of intracellular *Trypanosoma cruzi* through a nitric oxide-dependent mechanism. **European Journal of Immunology**, v. 22, p. 301-307, 1992.

NEIRA, I.; FERREIRA, A. T.; YOSHIDA, N. Activation of distinct signal transduction pathways in *Trypanosoma cruzi* isolates with differential capacity to invade host cells. **International Journal of Parasitology**, v. 32, p. 405-414, 2002.

NEIRA, I.; SILVA, F. A.; CORTEZ, M.; YOSHIDA, N. Involvement of *Trypanosoma cruzi* metacyclic trypomastigote surface molecule gp82 in adhesion to gastric mucin and invasion of epithelial cells. **Infection and Immunity**, v. 71, p. 557-561, 2003.

NORRIS, K. A.; GALVÃO, L. M.; SCHRIMPF, J. E.; CANÇADO, J. R.; KRETTLI, A. U. Humoral immune response to the *T. cruzi* complement regulatory protein as an indicator of parasitologic clearance in human Chaga's disease. **Infection and Immunity**, v. 62, p. 4072-4074, 1994.

NORRIS, K. A.; SCHRIMPF, J. E. Biochemical analysis of the membrane and soluble forms of the complement regulatory protein of *Trypanosoma cruzi*. **Infection and Immunity**, v. 62, p. 236-243, 1994.

NORRIS, K. A. Stable transfection of *Trypanosoma cruzi* epimastigotes with the trypomastigote-specific complement regulatory protein cDNA confers complement resistance. **Infection and Immunity**, v. 66, p. 2460-2465, 1998.

OSWALD, I. P.; WYNN, T. A.; SHER, A.; JAMES, S. L. Interleukin-10 inhibits macrophage microbicidal activity by blocking the endogenous production of tumor necrosis factor-alfa required as a costimulatory factor for interferon-gamma-induced activation. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, v. 89, p. 8676-8680, 1992.

ROFFÊ, E.; ROTHFUCHS, A. G. ; SANTIAGO, H.C.; MARINO, A. P. M. P.; RIBEIRO-GOMES, F. L.; ECKHAUS, M.; ANTONELLI, L. R. V.; MURPHY, P. M. IL-10 Limits Parasite Burden and Protects against Fatal Myocarditis in a Mouse Model of *Trypanosoma cruzi* Infection. **The Journal of Immunology**, v. 188, p. 649-660, 2012.

SANTOS LIMA, E. C.; GARCIA, I.; VICENTELLI, M. H.; VASSALI, P.; MINOPRIO, P. Evidence for a protective role of tumor necrosis factor in the acute phase of *Trypanosoma cruzi* infection in mice. **Infection and Immunity**, v. 65, p. 457-465, 1997.

SCOTT, P.; TRINCHIERI, G. The role of natural killer cells in host-parasite interactions. **Current Opinion in Immunology**, v. 7, p. 34, 1995.

TAMBOURGI, D. V.; KIPNIS, T. L.; DIAS DA SILVA, W.; JOINER, K. A.; SHER, A.; HEATH, S.; HALL, B. F.; ODGEN, G. B. A partial cDNA clone of trypomastigote decay- accelerating factor (T-DAF), a developmentally regulated complement inhibitor of *Trypanosoma cruzi*, has genetic and functional similarities to the human complement inhibitor DAF. **Infection and Immunity**, v. 61, p. 3656-3663, 1993.

VILLALTA, F.; SMITH, C. M.; RUIZ-RUANO, A.; LIMA, M. F. A ligand that *Trypanosoma cruzi* uses to bind to mammalian cells to initiate infection. **FEBS Letters**, v. 505, p. 383-388, 2001.

YOSHIDA, N.; FAVORETO, S. J.; FERREIRA, A. T.; MANQUE, P. M. Signal transduction induced in *Trypanosoma cruzi* metacyclic trypomastigotes during the invasion of mammalian cells. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 33, p. 269-278, 2000.

YOSHIDA, N. Molecular basis of mammalian cell invasion by *Trypanosoma cruzi*. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 78, n. 1, p. 87-111, 2006.

ZHANG, L.; TARLETON, R. L. Characterization of cytokine production in murine *Trypanosoma cruzi* infection by in situ immunocytochemistry: lack of association between susceptibility and type 2 cytokine production. **European Journal of Immunology**, v. 26, p. 102-109, 1996.

WHO. Chagas disease (American trypanosomiasis). Disponível em <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs340/en/>. Acessado em Janeiro de 2012.