

Doença de **CHAGAS** e evolução

Antonio Teixeira

N.Cham 616.937.3 T266d 2007

* Autor: Teixeira, Antonio R L(Raimundo)

Título: Doença de Chagas e evolução .



10069010

Ac. 199911

Ex.4 BCE

EDITORA

UnB

FINATEC
FUNDAÇÃO DE AMPARO A INVESTIMENTOS
CIENTÍFICOS E TECNOLÓGICOS



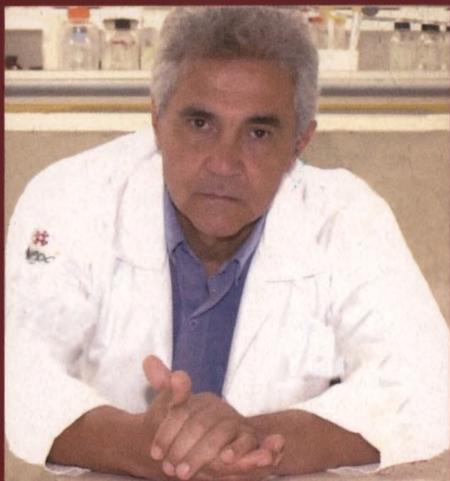


Foto : J. Freitas

ANTONIO TEIXEIRA diplomou-se em Medicina pela Universidade Federal da Bahia, onde exerceu a docência. Tem doutorado em Patologia pela Universidade Federal de Minas Gerais. Fez pós-doutorado no National Institutes of Health, EUA, e diversos estudos científicos na Universidade Cornell, de Nova York, no L'Institut de Cancérologie et d'Immunogénétique, em Villejuif, França, e no Departamento de Imunologia da Universidade de Manitoba, Canadá. A Commonwealth, a Fulbright Foundation e o Ministère des Affaires Étrangères da França concederam-lhe bolsas de pesquisa. Professor titular da Universidade de Brasília, atualmente leciona a disciplina Parasitologia. Sua atividade de pesquisa científica está concentrada no tema doença de Chagas. Diante da abrangência do tema e da necessidade de abordá-lo com o auxílio de diversas metodologias, ele estabeleceu o Laboratório Multidisciplinar de Pesquisa em Doença de Chagas e, juntamente com colegas nas áreas de genética, bioquímica, imunologia, parasitologia, patologia e clínica médica, iniciou o Programa de Pós-Graduação em Patologia Molecular na Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília. Tem mais de uma centena de trabalhos científicos publicados em revistas nacionais e internacionais indexadas. Doutor Antonio Teixeira é Pesquisador Sênior 1A do CNPq.

Doença de Chagas e evolução



FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

REITOR

Timothy Martin Mulholland

VICE-REITOR

Edgar Nobuo Mamiya



DIRETOR . Henryk Siewierski

DIRETOR-EXECUTIVO . Alexandre Lima

CONSELHO EDITORIAL : Beatriz de Freitas Salles . Dione Oliveira Moura . Henryk Siewierski .

Jader Soares Marinho Filho . Lia Zanotta Machado . Maria José Moreira Serra da Silva .

Paulo César Coelho Abrantes . Ricardo Silveira Bernardes . Suzete Venturelli

FUNDAÇÃO DE EMPREENDIMENTOS CIENTÍFICOS E TECNOLÓGICOS – FINATEC

CONSELHO SUPERIOR

Presidente: Prof. Antonio Manoel Dias Henriques

Conselheiros:

Prof. André Pacheco de Assis

Prof. João Manoel Dias Pimenta

Prof. Antonio Raimundo Lima Cruz Teixeira

Prof. José Maurício Santos Torres da Motta

Prof. Augusto César Bittencourt Pires

Prof. Márcio Nunes I Aranha Oliveira

Prof. Fernando Jorge Rodrigues Neves

Prof. Milton Luiz Siqueira

Prof. Guilherme Sales S. Azevedo Melo

Prof. Valdir Filgueiras Pessoa

Prof. Ivan Marques de Toledo Camargo

CONSELHO FISCAL

Presidente: Prof. Nelson Martin

Conselheiros:

Prof. José Imana Encinas – Titular

Prof. Roberto Francisco Bobenrieth Miserda – Titular

Prof. Flamínio Levy Neto – 1º Suplente

Prof. Edson Paulo da Silva – 2º Suplente

Prof. Zulmira Guerrero M. Lacava – 3º Suplente

DIRETORIA EXECUTIVA

Prof. Sadek Crisóstomo Absi Alfaro – Diretor Presidente

Prof. Carlos Alberto Bezerra Tomaz – Diretor Secretário

Prof. Francisco Ricardo da Cunha – Diretor Financeiro



Antonio Teixeira

Doença de Chagas e evolução



Brasília, 2007

EDITORA

UnB

FINATEC 

Este livro foi aprovado pelo Conselho Editorial da Universidade de Brasília e a edição apoiada pela **Fundação de Empreendimentos Científicos e Tecnológicos - FINATEC**

Equipe editorial

Rejane de Meneses · SUPERVISÃO EDITORIAL
Sonja Cavalcanti · ACOMPANHAMENTO EDITORIAL
Rejane de Meneses e Yana Palankof ·
PREPARAÇÃO DE ORIGINAIS E REVISÃO
Formatos Design Gráfico · CAPA
Fernando Manoel das Neves · Ivanise Oliveira de Brito · EDITORAÇÃO ELETRÔNICA
Elmano Rodrigues Pinheiro · ACOMPANHAMENTO GRÁFICO

Copyright © 2007 by Antonio Teixeira

Impresso no Brasil

Direitos exclusivos para esta edição:

Editora Universidade de Brasília	Finatec – Universidade de Brasília
SCS Q. 2 - Bloco C - nº 78	Campus Universitário Darcy Ribeiro
Ed. OK – 1º andar	Ed. Finatec – Asa Norte
70302-907 – Brasília-DF	70910-900 – Brasília-DF
Tel.: (61) 3035-4211	Tel.: (61) 3348-0400
Fax: (61) 3035-4223	Fax: (61) 3307-3201
www.editora.unb.br	www.finatec.org.br
www.livrariauniversidade.unb.br	<i>e-mail:</i> finatec@finatec.org.br
<i>e-mail:</i> direcao@editora.unb.br	

Todos os direitos reservados. Nenhuma parte desta publicação poderá ser armazenada ou reproduzida por qualquer meio sem a autorização por escrito das Editoras.

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade de Brasília

T266 Teixeira, Antonio
 Doença de Chagas e evolução / Antonio Teixeira. – Brasília : Editora
 Universidade de Brasília : Finatec, 2007.
 310 p.

ISBN: 85-230-0858-6 Editora Universidade de Brasília
ISBN: 85-85862-34-3 Finatec

1. Clínica médica. 2. Doença de Chagas. 3. *Trypanosoma cruzi*. 4. Genética.
5. Patologia – evolução.

CDU 61

IN MEMORIAM

*Ao meu avô Firmino, fazendeiro
que sucumbiu à doença de Chagas, aos 42
anos de idade, deixando a avó Virginia e
seis filhos órfãos.*

*Aos meus pais, Deraldo e Flora, que
me ensinaram a aprender fazendo e a
amar a liberdade.*

Nota do autor

A vida nunca foi lógica, tampouco parece lógica a via que me conduziu a esta análise do que seria uma possível contribuição à ciência. Entretanto, ao longo de quarenta anos de militância na pesquisa sobre a doença de Chagas foi possível, neste ponto, avaliar como tem sido o percurso da produção do conhecimento que, finalmente, aparece em forma de capítulos deste livro.

O olhar retrospectivo mostra uma periodicidade nesta forma de prestação de contas perante a sociedade que patrocinou a produção científica. Se dissesse ao leitor que não planejei fazê-la, poderia ser reprovável, diante da exigência de alguns fóruns de estringência que admitem que o intuitivo não participe significativamente do processo de construção do conhecimento. Porém, seria recomendável usar uma citação como álibi: “Intuição é o que você não sabe que sabe, mas sabe”, frase que li na autobiografia do genial Tostão. Mais além, esta prestação de contas pode evidenciar a idéia de que gostaria de continuar sendo depositário da confiança da sociedade.

Intuitivamente, parei para lançar olhar retrospectivo a cada dez anos. Em 1977, escrevi o capítulo *Immunoprophylaxis against Chagas disease*, do livro *Immunity to blood parasites of animals and man*, da série *Advances in experimental medicine and biology*, editado por L. H. Miller, J. A. Pino e J. J. McKelvey Jr., Plenum Press, New York. Em 1987, convidado pelo editor E. S. L. Soulsby, escrevi o capítulo *The stercorearian trypanosomes* para o livro *Immune responses in parasitic infections: immunology, immunopathology and immunoprophylaxis*, CRC Press, Boca Raton, Flórida. Novamente, em 1996, convidado a contribuir para o capítulo “Autoimmunity in Chagas Disease”, do livro *Microorganisms and autoimmune diseases*, da série *Infectious Agents and Pathogenesis*, editado por H. Friedman, N. R. Rose, M. Benedelli, Plenum Press, London. E, em 2006, convidado para contribuir com o artigo de revisão “Evolution and pathology in Chagas disease”, para o conceituado jornal científico *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, do Rio de Janeiro. Essa frequência na apresentação de artigos de revisão, que considero parcimoniosa, pode ser explicada no mundo científico, que considera a produção da verdadeira contribuição ao conhecimento novo mais significativa que o papel de sua divulgação.

A percepção desse segundo livro nasceu de negociações com os editores de jornais científicos que cederam o direito sobre os artigos antes publicados na língua inglesa. Esta também foi a gênese do primeiro livro, intitulado *Doença de Chagas e outras doenças por trypanossomos*, publicada pela Editora Universidade de Brasília/CNPq em 1987. No prefácio do livro, o saudoso Professor Phillip Marsden destaca:

Um dos maiores problemas em biomedicina ainda é a comunicação. Por exemplo, quem no Brasil tem conhecimento dos avanços recentes, neste campo, que se conquistaram na China e na União Soviética? Um fator dominante deste isolamento que atinge muitos povos é a linguagem. Não se prevê o advento de um esperanto científico neste momento. Uma solução parcial é publicar o material de referência útil em mais de uma língua.

Sigo até hoje essa recomendação de Phil Marsden. Dessa forma, o livro foi elaborado para o acesso do leitor curioso, que não necessariamente se limita ao especialista.

Outra constatação que pode ser feita pelo leitor ao seguir para as próximas páginas é que Guimarães Rosa estava certo ao afirmar: “Ciência é mutirão de muitos”. A construção coletiva do saber é marca de quatro décadas de experiência descrita aqui. Jamais esta obra teria sido possível se o autor não tivesse tido a felicidade de juntar jovens de diversas origens, tendo como único argumento a força da idéia na investigação de uma doença intrinsecamente presente na vida das famílias. E nada mais pode ser dito, pois jamais foi garantido o que vai acontecer na pesquisa feita no Brasil no ano seguinte. E, finalmente, o melhor de tudo: a vida é algo muito precioso para ser dedicada à segunda coisa que mais se ama. Feita a escolha, chegam as forças necessárias à construção do saber.

Tenho enorme débito com todos que contribuíram direta ou indiretamente com a realização do trabalho apresentado neste livro. Muitos deles, que permanecem no anonimato, tiveram uma participação significativa na organização dos meios para execução do trabalho. Outros, os colaboradores, são reconhecidos pelos nomes na literatura citada na obra. Os agradecimentos estendem-se às fontes de fomento à pesquisa e à pós-graduação: Financiadora de Estudos e Projetos (Finep), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Ministério da Ciência e Tecnologia, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) Ministério da Educação, Divisão de Ciência e Tecnologia do Ministério da Saúde e Fundação de Empreendimentos Científicos e Tecnológicos (Finatec).

Sou particularmente reconhecido à Universidade de Brasília (UnB), que ao longo desses anos me tem oferecido a ambiência aconchegante essencial para o cumprimento da missão compartilhada na produção e na transmissão de conhecimento novo. O reconhecimento estende-se à Universidade Federal de Minas Gerais, que me acolheu e me concedeu o título de Doutor mediante defesa direta de tese. Agradeço ainda à Cornell Medical College e a outras instituições no exterior que me ajudaram no ritual de passagem em busca de conhecimento.

O livro foi escrito com o cuidado necessário, de forma que cada informação expressa em frase ou parágrafo está sustentada em citações que identificam a origem

do conhecimento empregado na elaboração do conceito. Possivelmente, uma intenção do autor foi dar continuidade ao seu papel de instigador da discussão pertinente ao tema. Nesse particular, cuidou-se de fazer um livro não dogmático, provocativo e mesmo polêmico no sentido de que o progresso da ciência requer o embate das idéias expostas com foco no conhecimento e com auxílio da tolerância, prática verdadeiramente religiosa na época em que vivemos.

Brasília
Novembro de 2006



Endereço dos colaboradores

Ana Carolina Bussacos

Antonio Teixeira

Clever Gomes Cardoso

David Neves

Glória Restrepo-Cadavid

Izabela M. Dourado Bastos

Jaime M. Santana

Liana Lauria-Pires

Mariana Machado Hecht

Meire Lima

Nadjar Nitz

Teresa Cristina d'Assumpção

Laboratório Multidisciplinar de Pesquisa em Doença de Chagas
Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília
Caixa Postal 04536. CEP 70.919-970
Brasília, Distrito Federal, Brasil.

Christine A. Romana

Laboratoire de Géographie Physique, Université de Paris V, UMR 8591, CNRS.

1 place Aristide Briand, 92195 Meudon.

Pesquisadora Associada ao Centro de Desenvolvimento Sustentável da Universidade de Brasília (Brasil) e responsável pelo Grupo Intensa do Laboratório de Geografia Física (UMR 8591) do Centro Nacional de Pesquisa Científica (CNRS).

Cleudson Nery de Castro

Núcleo de Medicina Tropical

Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília

70.900-910, Brasília, Distrito Federal, Brasil

Liléia Diotaiuti

Centro de Pesquisas René Rachou, Fiocruz.

Av. Augusto de Lima 1715, 30190-002, Belo Horizonte, MG, Brasil.

Nancy R. Sturm

Department of Immunology, Microbiology and Molecular Biology, David Geffen School of Medicine, University of California at Los Angeles, USA

Silene de Paulino Lozzi

Departamento de Genética e Morfologia

Instituto de Biologia, Universidade de Brasília

70.900-910, Brasília, Distrito Federal, Brasil

Sumário

PREFÁCIO 15

Evando Mirra de Paula e Silva

CAPÍTULO 1

A ORIGEM DOS SERES VIVOS 19

Nadjar Nitz

Ana Carolina Bussacos

Antonio Teixeira

CAPÍTULO 2

OS JOGOS EÔNICOS 29

Antonio Teixeira

CAPÍTULO 3

O AGENTE INFECCIOSO E O HOSPEDEIRO 51

Antonio Teixeira

Mariana M. Hecht

CAPÍTULO 4

REDES ENTRELAÇADAS 59

Nancy R. Sturm

Antonio Teixeira

CAPÍTULO 5

DIVERSIDADE E TROCAS GENÉTICAS 65

Antonio Teixeira

Nancy R. Sturm

	CAPÍTULO 6	
IMUNIDADE ADQUIRIDA CONTRA INFECÇÕES PELO <i>TRYPANOSOMA CRUZI</i>	73	
	<i>Antonio Teixeira</i>	
	<i>Nadjar Nitz</i>	
	CAPÍTULO 7	
APRESENTAÇÕES CLÍNICAS DA DOENÇA DE CHAGAS	79	
	<i>Antonio Teixeira</i>	
	CAPÍTULO 8	
PATOLOGIA DA DOENÇA DE CHAGAS HUMANA	89	
	<i>Antonio Teixeira</i>	
	CAPÍTULO 9	
PATOLOGIA COMPARADA DA DOENÇA DE CHAGAS	103	
	<i>Antonio Teixeira</i>	
	CAPÍTULO 10	
PATOGÊNESE DA DOENÇA DE CHAGAS	131	
	<i>Antonio Teixeira</i>	
	CAPÍTULO 11	
TRANSFERÊNCIA HORIZONTAL DE SEQÜÊNCIAS DE MINICÍRCULOS DE kDNA DE <i>TRYPANOSOMA CRUZI</i> PARA O GENOMA DO HOSPEDEIRO VERTEBRADO	139	
	<i>Antonio Teixeira</i>	
	<i>Nadjar Nitz</i>	
	CAPÍTULO 12	
HERANÇA DE kDNA E PATOGÊNESE	151	
	<i>Antonio Teixeira</i>	
	<i>Cleber Gomes Cardoso</i>	
	CAPÍTULO 13	
A EVOLUÇÃO	159	
	<i>Antonio Teixeira</i>	

CAPÍTULO 14	
TRATAMENTO	167
<i>Liana Lauria-Pires</i>	
<i>Cleudson Nery de Castro</i>	
CAPÍTULO 15	
PERSPECTIVA DE NOVAS DROGAS PARA TRATAMENTO DA	
DOENÇA DE CHAGAS	181
<i>Izabela M. Dourado Bastos, David Neves, Meire Lima,</i>	
<i>Gloria Restrepo-Cadavid e Jaime Santana</i>	
CAPÍTULO 16	
TRITOMÍNEOS	205
<i>Liléia Diotaiuti</i>	
CAPÍTULO 17	
O CONTROLE DA TRIPANOSSOMÍASE AMERICANA REQUER	
VIGILÂNCIA ECOLÓGICA E SOCIAL DA EMERGÊNCIA DO RISCO	233
<i>Christine A. Romana</i>	
CAPÍTULO 18	
O CONTROLE DA TRANSMISSÃO DA DOENÇA DE CHAGAS E A	
PESQUISA SOBRE TRITOMÍNEOS	253
<i>Silene P. Lozzi</i>	
<i>Teresa Cristina d'Assumpção</i>	
CAPÍTULO 19	
ANÁLISE ECONÔMICA DA DOENÇA DE CHAGAS	275
<i>Antonio Teixeira</i>	
<i>Ana Carolina Bussacos</i>	
CAPÍTULO 20	
ASPECTOS MÉDICO-SOCIAIS DA DOENÇA DE CHAGAS	293
<i>Antonio Teixeira</i>	
GLOSSÁRIO	305

CAPÍTULO 18

O controle da transmissão da doença de Chagas e a pesquisa sobre triatomíneos

Silene P. Lozzi

Teresa Cristina d'Assumpção

Na sua atividade, triatomíneos parecem seringas voadoras.

O controle da transmissão das infecções pelo *Trypanosoma cruzi* tem sido feito por meio de inseticidas. Há necessidade de desenvolver método eficiente de controle biológico da transmissão. Uma abordagem visando a esse objetivo consiste na identificação de alvos específicos no corpo do inseto transmissor do protozoário flagelado para o hospedeiro vertebrado, com possibilidade de inibir o repasto do inseto e, conseqüentemente, interferir no seu ciclo de vida. Dois alvos preferenciais têm sido usados para alcançar o objetivo. De um lado, a pesquisa concentra-se na busca de proteínas farmacologicamente ativas nas glândulas salivares dos triatomíneos. Do outro, ela tem-se focalizado nas proteases do inseto associadas com a digestão do sangue. Essas linhas de pesquisa têm revelado aspectos fundamentais sobre as aminas bioativas das glândulas salivares, tais como vasodilatadores, fatores antiagregadores de plaquetas e fatores anticoagulantes. Essas moléculas têm alto interesse biotecnológico. Também atividades proteolíticas no intestino dos triatomíneos são consideradas alvos importantes. De igual interesse, insetos hematófagos têm desenvolvido mecanismos de escape altamente eficientes; daí a garantia do repasto de sangue obtido de um hospedeiro imunizado após várias décadas de exposição às picadas de insetos. Um mecanismo de escape eficiente é a redundância de múltiplas proteínas farmacologicamente ativas nas glândulas salivares do inseto, cada uma delas pronta para efetuar aquelas funções cruciais, as quais têm sido associadas com a ruptura da homeostasia e a garantia do repasto de sangue. Desafortunadamente, as tentativas de inibir esses fatores cruciais não produziram dano ao inseto porque ele possui uma gama de diferentes moléculas que exerce atividade similar. Isso explica por que os triatomíneos têm sido tão bem-sucedidos ao longo de 90 milhões de anos. Entretanto, o papel da ciência é reverter essa vantagem em favor da preservação da saúde humana.

Introdução

Existem mais de 1 milhão de espécies de insetos, com 14.000 delas praticando o hábito de se alimentar de sangue de várias classes de vertebrados. Os triatomíneos, também conhecidos como “barbeiros” ou “chupões”, são insetos hematófagos transmissores da doença de Chagas. A maior parte das espécies dos triatomíneos é silvícola, entretanto algumas espécies (notadamente *Triatoma infestans*, *Triatoma brasiliensis*, *Panstrongylus megistus* e *Rhodnius prolixus*) ocupam áreas peridomésticas, como galinheiros e currais, alcançando algumas vezes áreas residenciais precárias, demonstrando tendências antropofílicas. Essa característica confere a essas espécies extraordinária importância epidemiológica.¹

Os insetos transmissores do *T. cruzi* alimentam-se do sangue de vertebrados pertencentes a várias classes de mamíferos.² Uma hematofagia estabelecida com a evolução dos triatomíneos tem sido fundamental para sua sobrevivência e desenvolvimento ao longo de cinco estádios ninfais até o estágio adulto. Na classe Insecta a hematofagia teria surgido, independentemente, em várias ocasiões.³ O processo de evolução convergente explica vários fenômenos característicos desses animais, como, por exemplo, a duplicação de genes que codificam proteínas relacionadas com a prevenção da hemostasia por parte do hospedeiro. A redundância resultante na presença de vários fatores relacionados com uma mesma função na saliva assegura a obtenção do sangue da presa essencial para a sobrevivência dos triatomíneos, pois se um fator for inibido seu homólogo entra prontamente em ação.

Como os barbeiros ingerem sangue?

Ao longo da evolução, os barbeiros adquiriram várias características morfológicas e fisiológicas que possibilitaram sua adaptação plena à hematofagia. Uma delas foi o desenvolvimento de um proboscídeo ou ferrão, especializado na sucção de sangue, constituído por dois canais, um alimentar e um salivar, e finos estiletos que perfuram a pele do hospedeiro para atingir os vasos sanguíneos.¹ Além disso, sabe-se que vários fatores físicos e químicos influenciam a alimentação dos insetos hematófagos. No caso do *R. prolixus*, o processo alimentar é descrito como uma cadeia de reflexos em que o inseto é atraído ao repasto pelos receptores de calor e correntes de ar. Esses receptores estão presentes nas antenas do inseto. Após a identificação da presa, o inseto aplica seu ferrão na pele e inicia movimentos sincronizados de penetração e retração do aparelho sugador. Nesse ínterim, inicia-se a fase exploratória de busca e localização do sangue, dentro de vasos de pequeno calibre na pele. Em seguida à localização e à perfuração do vaso sanguíneo, o inseto inicia o bombeamento do sangue. A ingestão de sangue continua até que o inseto se transforme de achatado em globular, quando alcança a completa saturação dos receptores de estiramento dos músculos da parede abdominal. Entre os vários fagoestimulantes que influenciam no processo de alimentação do *R. prolixus* encontram-se gradientes de temperatura, CO₂, odores e estímulos visuais,

composição da dieta, pressão osmótica, pH, íons, longo intervalo de tempo entre as refeições e o grau de distensão abdominal.⁴

As glândulas salivares com seus conteúdos protéicos (aminas bioativas) exercem notável papel no processo de localização dos vasos e na ingestão de sangue. A ablação das glândulas salivares implica dificuldade na identificação dos vasos e menor volume de sangue ingerido por unidade de tempo. Isso implica diminuição da frequência e do volume de defecação e, conseqüentemente, menor chance de transmissão do protozoário para o vertebrado. A importância das glândulas salivares na alimentação dos reduvídeos hematófagos foi satisfatoriamente ilustrada.⁵ Foi demonstrado que *R. prolixus* que tinham as glândulas salivares removidas sugavam menor volume de sangue por unidade de tempo, comparativamente com os insetos não salivarectomizados. Essa observação é interessante, porque além das funções anti-hemostáticas a saliva dos triatomíneos também contribui para a digestão, diluindo e ajustando o conteúdo de íons (pH) no sangue ingerido. Além disso, a secreção salivar tem papel central na regulação e na ativação de eventos endócrinos que regulam a diurese, mudanças no exoesqueleto, acasalamento e reprodução dos triatomíneos. Por exemplo, a passagem de um estágio de ninfa para o seguinte só acontece se precedida por uma alimentação com sangue.

As glândulas salivares dos triatomíneos

A descrição anatômica de glândulas salivares do *Triatoma infestans* evidencia um par de glândulas composto pelas subunidades D1, D2 e D3 (Figura 18.1). Os ductos principais dessas glândulas atravessam a cabeça do triatomíneo em linha reta, acompanhando o esôfago por todo o protórax. Esses canais são separados do esôfago por partes da camada visceral do corpo gorduroso. As três unidades salivares da glândula de *T. infestans* sofrem modificações de volume de acordo com a atividade alimentar do inseto.

A unidade glandular anterior (D1) encontra-se lateralmente ao esôfago, o par mediano (D2) situa-se, em comparação com D1, mais próximo ao proventrículo e o par D3 posteriormente em relação aos primeiros, geralmente paralelo ao proventrículo. Vale lembrar que a posição dos ductos e das glândulas salivares pode variar, dependendo do volume de secreção acumulado, assim como do grau de distensão do intestino após o repasto. A organização tecidual das três unidades das glândulas salivares de *T. infestans* mostra revestimento de epitélio de células em camada única, apoiado em lâmina basal, revestidas externamente por músculos estriados, que auxiliam na saída da saliva acumulada no lúmen das glândulas. A ultra-estrutura exhibe microvilosidades apicais nas células epiteliais, além de eventuais microvesículas junto a elas. Ocasionalmente, as vesículas são encontradas entre as microvilosidades com volumes consideráveis de secreção associada a componentes citoplasmáticos, indícios de secreção apócrina das células glandulares.

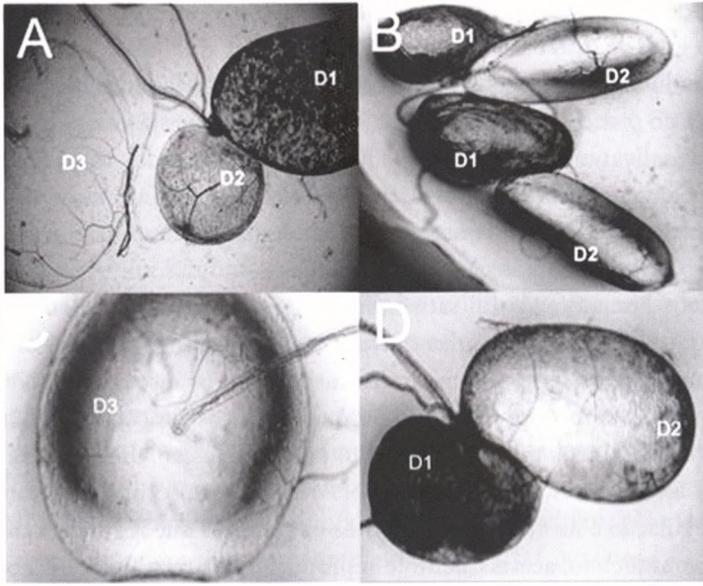


Figura 18.1 Aspectos microscópicos das três unidades da glândula salivar de *T. infestans*. A) Localização das glândulas D1, D2 e D3. B) Detalhes de D1, anterior e globosa, e de D2, posterior e ovalada. C) Detalhe de D3. D) Proximidade entre D1 e D2
 Fonte: Fernandes, E. S., tese, Universidade de Brasília, 2005

Existem diferenças funcionais entre as unidades das glândulas salivares de *T. infestans*. A função anticoagulante está presente nas unidades D1, hemolítica nas unidades D2 e as propriedades emolientes nas unidades D3. A descrição dos três pares de unidades glandulares para *T. infestans* propiciou a citolocalização de alguns componentes salivares. Exemplo disso foi uma identificação de significativa atividade sialidásica nas unidades D1 e D2 e atividade residual nas unidades D3.⁶ Essa enzima



remove os resíduos de ácido siálico do sangue dos hospedeiros vertebrados, prevenindo, assim, sua coagulação no aparelho bucal do inseto (Figura 18.2). Uma protease⁷ denominada triapsina foi identificada, a qual é secretada em sua *pro forma* inativa pelas unidades D2. Aparentemente, essa protease não apresenta função digestiva típica, necessitando, para sua atuação, de uma clivagem pela trialsina, outra enzima da saliva.

Figura 18.2. Saliva excretada espontaneamente via proboscídea (seta) do *Triatoma infestans* em contato com a mão do pesquisador
 Fonte: Fernandes, E. S., tese, Universidade de Brasília, 2005

Uma apirase foi purificada também e localizada nas glândulas salivares D2 de *T. infestans*,^{8, 10} corroborando a idéia de que as unidades apresentam atividades funcionais distintas. O conhecimento desse fato e o isolamento das unidades podem facilitar a purificação dos diversos componentes da secreção salivar.

Identificação de moléculas de interesse na saliva

Uma das estratégias mais utilizadas ultimamente para identificação molecular das substâncias bioativas da saliva de artrópodes hematófagos tem sido a obtenção do total de RNA mensageiros (sialoma) destes. Assim, vários pesquisadores apresentaram o sialoma de suas espécies de estudo, ou seja, um conjunto de seqüências de mRNA das proteínas encontradas nas glândulas salivares desses invertebrados, a saber: *Aedes aegypti*,¹¹ *Ixodes scapularis*,¹² *Anopheles stephensi*,¹³ *Anopheles darlingi*,¹⁴ *Culex quinquefasciatus*¹⁵ e *R. prolixus*.¹⁶ De modo geral, os pesquisadores verificaram que o sialoma desses invertebrados é mais complexo do que o esperado. Exemplo desses achados inesperados é a presença, no sialoma de *R. prolixus*, de uma considerável família de proteínas conhecidas como lipocalinas. Essas moléculas exercem muitas funções diferentes, mas, em comum, atuam como carreadores de pequenos ligantes nos vertebrados e nos invertebrados.¹⁷ Pesquisadores da Universidade de Brasília¹⁸ fizeram um inventário das proteínas (proteoma) na saliva do *T. infestans*. O conjunto das proteínas identificadas foi agrupado em 13 diferentes categorias funcionais, propiciando o estabelecimento de uma classificação funcional proteômica. Nessa classificação, foram consideradas atividades funcionais já descritas e caracterizadas, além de outras que foram obtidas mediante consultas em bancos de dados que correlacionavam função, similaridade e presença de domínios conservados nas proteínas. Na classificação proposta, as proteínas salivares foram separadas em grupos funcionais relacionados com:

- a) comportamento, incluindo aquelas proteínas relacionadas às percepções, aos estímulos externos por meio de receptores odorantes, a transdução de sinal, neuropeptídios, etc.;
- b) biogênese e/ou biossíntese, agrupando as proteínas envolvidas na síntese, no controle, na organização celular (histonas), nos fatores de iniciação de transcrição, nos fatores de alongação e de manutenção da estrutura de cromossomos;
- c) crescimento e/ou manutenção celular, proteínas associadas com possíveis fatores de transcrição; os fatores de crescimento epidermal, a exportação de proteínas (translocases, tireodoxinas), o metabolismo mitocondrial (citocromos e ATP sintases), e o complexo proteassoma envolvidos na degradação de proteínas foram incluídos neste grupo;
- d) defesa, proteínas envolvidas no sistema imune inato do inseto (sistema de ativação e sinalização das profenoloxidasas, cecropinas, defensinas, serino-proteases e seus inibidores);

- e) desenvolvimento, incluindo principalmente os fatores que atuam na regulação da transcrição e alguns mecanismos neuro-hormonais complexos e ainda não totalmente esclarecidos;
- f) digestão, proteínas (serino proteases, tripsinas, alfa-amilases, maltases, etc.) envolvidas na digestão;
- g) regulação gênica, incluindo principalmente as transposases e outras proteínas codificadas por retrotransposons;
- h) hematofagia, proteínas envolvidas na facilitação da alimentação de sangue presentes na glândula salivar;
- i) resistência a inseticidas, detoxificação envolvendo citocromo P450, outras detoxificações, glutathione S-transferase;
- j) nutrição, proteínas envolvidas na facilitação de transporte de lipídios, de ferro e outros mecanismos de transportes que auxiliam na nutrição;
- l) miscelânea, proteínas que participam de muitas atividades funcionais, assumindo papéis variados, seja na facilitação do transporte, como componente da organização estrutural da célula, etc.;
- m) estrutura, proteínas da cutícula relacionadas com citoesqueleto e metabolismo de carboidratos;
- n) desconhecida, que apesar de estar anotada em bancos de dados ainda é desconhecido seu papel molecular e biológico.

Muitas das funções relacionadas às proteínas ejetadas na saliva do *T. infestans* não estão diretamente ligadas à atividade sugadora do inseto. Assim, tais proteínas podem ser eventuais contaminantes ou, ainda, podem também existir de fato na saliva, onde teriam papel a esclarecer.

O potencial farmacológico na saliva dos triatomíneos

A indiscutível importância da ação de componentes farmacologicamente ativos na saliva de triatomíneos pode ser apreciada nas propriedades anti-hemostáticas ou modificadoras dos fatores que impedem a coagulação do sangue, uma vez que sua fluidez é essencial para o fluxo através do aparelho sugador. Tais propriedades modificadoras ou anti-hemostáticas resultam das atividades anticoagulante, antiagregadora de plaquetas e vasodilatadora mediada por moléculas ativas na saliva do triatomíneo.⁵ Diferentes atividades farmacológicas potenciam diretamente os sistemas imunológico e inflamatório do hospedeiro vertebrado.¹⁹ Assim, a saliva pode produzir um ambiente favorável à entrada de patógeno transmitido pelo inseto-vetor, uma vez que a reação infamatória no local da picada e a atividade anti-hemostática do hospedeiro estejam prejudicadas. Por exemplo, tais atividades podem ser induzidas por enzimas hidrolásicas (apirases) presentes na saliva do triatomíneo.^{8 10} Também já foi encontrada atividade microbicida na saliva de triatomíneos. Uma proteína recombinante da saliva de *T. infestans* apresentou efeito microbicida sobre *Escherichia coli*, *T. cruzi*, *Leishmania*

donovani.²⁰ Essa molécula foi também caracterizada na proteína nativa de 22 kDa presente na saliva de *T. infestans*²¹ tendo recebido o nome de trialisina, capaz de lisar parasitas e bactérias.²⁰ Uma soma dessas observações permite sugerir que essa proteína é um componente da imunidade inata de *T. infestans*, prevenindo a ocorrência e a proliferação de microorganismos no trato alimentar do inseto.

Vasodilatadores

A sobrevivência do triatomíneo depende da sua eficácia na obtenção do repasto, e isto depende de bioaminas ativas na saliva injetada na pele do hospedeiro. Essa saliva contém moléculas de ação vasodilatadora que facilitam a localização de vasos pelo proboscídeo do inseto, à medida que também aumenta o fluxo sangüíneo local. Essa ação ocorre mediante moléculas com efeito antagônico àqueles de substâncias vasoconstrictoras produzidas pelo hospedeiro mamífero após abrasão produzida nos tecidos da pele pelo aparelho sugador do inseto.^{19, 8} Os vasodilatadores da saliva do inseto agem direta ou indiretamente sobre células musculares lisas ativando enzimas intracelulares, como adenilato ciclase e guanilato ciclase, que, por sua vez, levam à formação de AMPc e GMPc, respectivamente.²²

O primeiro peptídeo vasoativo identificado, clonado e expressado na saliva de triatomíneos, foi o maxadilán, considerado cem vezes mais potente que a calcitonina.²³⁻²⁵ A ação vasodilatadora associa-se na modulação de reações imunes de importância crucial, por exemplo, na patogênese das Leishmanioses Tegumentar e Visceral, causadas, respectivamente, por *Leishmania brasiliensis* e *L. chagasi*, ambas transmitidas pelo mosquito-palha.²⁵

Um grupo de moléculas com efeito vasodilatador importante são as nitroforinas, identificadas na saliva de *R. prolixus*, uma espécie transmissora do *T. cruzi* em vários ecossistemas na América do Sul (vide Capítulo 17). Essas moléculas são hemeproteínas, também descritas para o hemíptero hematófago *Cimex lectularius*. Quatro formas homólogas foram identificadas na saliva de *R. prolixus*, denominadas NP1 a NP4, de acordo com sua relativa abundância nas glândulas. Nessas moléculas, o óxido nítrico (NO) liga-se ao ferro do grupamento heme (Fe³⁺), sendo transportado para exercer seu efeito vasodilatador no local da picada. Fatores como a ligação das nitroforinas com histamina ou aumento do pH (o pH salivar é próximo de 5, e o dos tecidos do hospedeiro é de 7,4) facilita a liberação do NO nos tecidos vasculares, induzindo a vasodilatação e, com isso, aumentando o fluxo sangüíneo local. A cristalização de nitroforinas revelou uma estrutura do tipo-lipocalina em forma de barril, com três hélices-alfa e duas pontes dissulfeto, sendo o pigmento heme inserido em um dos pólos do barril.²⁶ As nitroforinas consistem em quatro proteínas de aproximadamente 20 kDa que se ligam ao grupo heme em sua estrutura, podendo armazenar e transportar moléculas de óxido nítrico. Quando essas moléculas são liberadas, ligam-se à enzima guanilato ciclase, produzindo relaxamento muscular e vasodilatação. Além disso, a atividade tiol-oxidase das nitroforinas pode provocar a destruição de moléculas de noradrenalina, integrantes

de uma das vias de vasoconstrição.²⁷ Uma lipocalina adicional remove a serotonina e os mediadores adrenérgicos da vasoconstrição.²⁸⁻³⁰ Essas proteínas têm alta afinidade de ligação com a histamina, alterando a resposta inflamatória do hospedeiro.³¹

Inibidores da coagulação sanguínea

A cascata coagulação do sangue é um sistema com vários pontos de amplificação e controle complexos.²⁹⁻³² Varias foram as substâncias com ação anticoagulante descritas na saliva de artrópodes hematófagos, geralmente atuando sobre proteases, como a trombina, e sobre fatores da coagulação, principalmente fator VIII e Xa. Foram identificadas³¹ no homogeneizado de glândulas salivares do mosquito *Cimex lectularius* proteína com massa molecular de 17 kDa que impedia a clivagem do fator X no fator Xa da coagulação. Mais recentemente, peptídeo com atividade antitrombina, a anofelina, foi isolado das glândulas salivares do mosquito *Anopheles albimanus*. A clonagem do gene e a síntese peptídica correspondente confirmaram a especificidade da molécula em relação à trombina, apesar de similaridades com outras seqüências em bancos de dados não terem sido detectadas.³²

Nas glândulas salivares de *R. prolixus* foram identificados e purificados o inibidor do fator VIII da coagulação¹⁹ e o inibidor da trombina.³³ Além disso, uma proteína isolada de glândulas salivares de *Triatoma pallidipennis*,³⁴ denominada triabina, mostrou atividade anticoagulante porque formou um complexo molecular com a trombina e prolongou o tempo de coagulação do sangue. Também foi encontrada nas glândulas salivares de *T. infestans* uma molécula com atividade anticoagulante similar à triabina.³⁵ De interesse, foi demonstrado que uma das nitroforinas que apresenta ação vasodilatadora foi também capaz de inibir a via intrínseca de coagulação do sangue ao bloquear a clivagem do fator X.^{36,37}

Antiagregadores de plaquetas

A atividade antiagregadora de plaquetas consiste em uma etapa crucial na prevenção da hemostasia por parte do hospedeiro vertebrado. A atividade de agregação e formação de um trombo plaquetário requer que esses elementos figurados do sangue possam ser ativados por moléculas agonistas, tais como ADP (adenosina difosfato), fator ativador de plaquetas (FAP), trombina e colágeno. A partir da agregação das plaquetas há liberação de substâncias vasoconstritoras. Essa observação sugere que o bloqueio dessa alça da cascata da coagulação amplifica a rede de eventos anti-hemostáticos, impedindo também a vasoconstrição. A inibição dos efeitos de trombina e colágeno estimulando a agregação de plaquetas foi relatada.⁹ Já a ação antiagregadora pela hidrólise de FAP foi identificada mais recentemente.^{38,39} Apesar da inquestionável significância desses antagonistas da agregação plaquetária identificados na saliva de insetos hematófagos, atribui-se importância especial às hidrolases. Essas enzimas conhecidas como apirases promovem a hidrólise do ADP, principal indutor dessa alça hemostática; moléculas de ADP são liberadas pelas plaquetas durante fenômeno de



agregação. As apirases, enzimas também conhecidas como ATP-difosfohidrolases geralmente convertem o ATP em ADP, e este, em AMP, diminuindo drasticamente os níveis dessas moléculas no sangue e, com isso, aumentando as chances de inibição da formação de trombo plaquetário.^{8 10, 32} As apirases já foram descritas em mosquitos como *Aedes aegypti*,⁴⁰ *Anopheles gambiae*⁴¹ e *Cimex lectularius*.⁴² Em triatomíneos foi identificada atividade apirásica na secreção salivar de *R. prolixus*¹³ e, mais recentemente, de *T. infestans*.⁸⁻¹⁰ Nesse triatomíneo, tal atividade foi atribuída a cinco apirases, pertencentes à família das 5-nucleotidases, semelhantes à apirase de *A. aegypti*, anteriormente citada. A aparente redundância de múltiplas apirases pode representar, em *T. infestans*, mecanismos para a garantia da obtenção do alimento, desenvolvidos durante a evolução do hábito hematofágico. Outro exemplo de expansão de proteínas da saliva de triatomíneos ocorre no triatomíneo *R. prolixus*, no qual as lipocalinas constituem uma família de muitos membros e com várias funções, desde a de transportar o óxido nítrico, até a formação de complexos moleculares com nucleotídeos e aminas, inibindo a coagulação sangüínea.^{5, 19, 26, 29, 44}

Outro mecanismo que colabora para a inibição da agregação das plaquetas é o bloqueio do PAF, também envolvido em reações alérgicas e inflamatórias. Uma fosfolipase C identificada na saliva do *Culex quinquefasciatus* promove a clivagem desse fator, diminuindo a agregação de plaquetas do sangue.³⁹ Com atividade semelhante, foi identificada fosfolipase A2 na saliva de *T. infestans*, atuando sobre o PAF.⁴⁵ Como mencionado, antiagregadores de plaquetas identificados na saliva de insetos hematofágos podem atuar sobre outros agonistas, como colágeno³⁴ e tromboxano A2.⁴⁶

O sistema digestório dos triatomíneos

Os hemípteros apresentam adaptações fisiológicas em relação a vários outros artrópodes hematofagos, entre elas a hematofagia obrigatória em todas as fases de desenvolvimento (Figura 18.3). Esses insetos são conhecidos por ingerir volume de sangue muitas vezes superior a seu próprio peso, sendo essa ingestão seguida por uma rápida e acentuada diurese, digestão muito lenta e, eventualmente, grandes períodos de jejum. Com todas essas particularidades, esses animais sobrevivem durante vários meses sem novo repasto, como foi comprovado para ninfas de terceiro estágio de *Dipetalogaster maximus*, onde o sangue ingerido permite sua sobrevivência em até 125 dias.⁴⁷

Na evolução dos insetos há evidências de que inicialmente houve uma diferenciação no padrão estrutural do intestino nas diferentes ordens e, depois, especialização em relação à dieta. Assim, verifica-se maior semelhança entre o processo digestivo de membros de uma mesma ordem do que entre membros de diferentes ordens que adotaram a mesma dieta alimentar. Isso se observa quando *Dysdercus peruvianus* (não hematofago) e *R. prolixus* (ambos da ordem Hemiptera) são comparados quanto à organização estrutural de seu sistema digestório. Neles, verifica-se maior similaridade do que na comparação de *R. prolixus* (ordem Hemiptera) e *Ae. aegypti* (ordem Diptera).⁴⁸

Nos insetos, em geral, reconhecem-se três regiões do intestino: anterior, médio e posterior, a partir de suas origens embriológicas, sendo os intestinos anterior e posterior derivados do ectoderma e o intestino médio tem origem endodérmica. Em todos os insetos, independentemente da ordem a que pertença, o alimento percorre inicialmente a cavidade bucal (onde são encontradas as glândulas salivares), depois a faringe e o esôfago (intestino anterior), o estômago e o intestino delgado (intestino médio anterior e médio posterior, respectivamente) e o intestino posterior.

O intestino médio do *R. prolixus*⁴⁹ tem duas regiões funcionais: uma região anterior, de estocagem e concentração do alimento, e uma região posterior, onde se inicia a função digestória. Sabe-se que no intestino médio anterior, além do armazenamento e da concentração do sangue com perda de água, também ocorre lise da membrana de eritrócitos e armazenamento intracelular de lipídios. Também a digestão de glicídios se inicia no estômago. A função secretora concentra-se no intestino médio anterior, enquanto a absorção se faz na parte posterior desse segmento,⁵⁰ ainda que não se encontrem diferenças teciduais que justifiquem a diferença funcional existente. Várias enzimas são encontradas no intestino médio anterior, sendo algumas delas provenientes da secreção salivar (apirase) ou de organismos simbioses (amilase). As enzimas secretadas pelas próprias células epiteliais desse compartimento são β -acetilglicosaminidase, α -galactosidase, α -glicosidase, α -manosidase, lisozima, fosfatase alcalina e aminopeptidase.

O intestino médio posterior é o local onde ocorrem a síntese e a secreção de enzimas, a absorção de nutrientes e a maior parte da digestão do sangue.⁵¹ Além das enzimas anteriormente mencionadas para o intestino médio anterior, são ali encontradas β -glicosidase, β -manosidase, fosfatase ácida, proteases do tipo catepsina B e D e as carboxipeptidases A e B.⁵²

Os hemípteros não têm uma matriz peritrófica semelhante àquela presente no intestino médio de outros insetos hematófagos. A matriz peritrófica é secretada por células de revestimento do intestino médio⁵³ e tem a função de proteger o epitélio do intestino dos insetos contra danos mecânicos e injúrias por patógenos, toxinas e compostos químicos. Assim, essa matriz agiria como uma membrana semipermeável que regula a passagem de moléculas entre os diferentes compartimentos do intestino médio, separando-os do seu

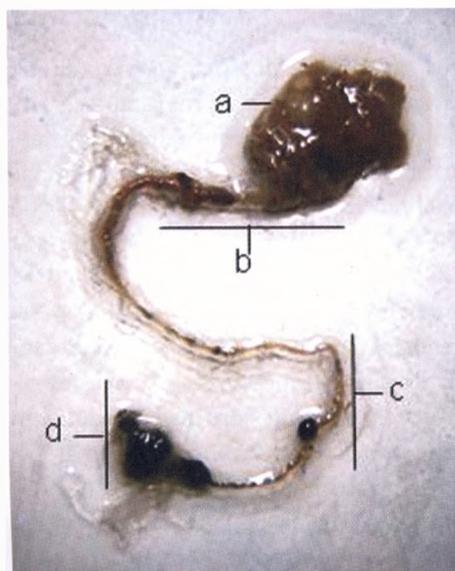


Figura 18.3 Morfologia interna do intestino do *Dipetalogaster maximus* mostrando: a) porção anterior do intestino médio; b) intestino médio posterior; c) parte distal do intestino médio posterior; d) reto com túbulos de Malpighi

Fonte: arquivo da dra. Silene P. Lozzi

lúmen.⁵⁴ Em vez de apresentarem essa membrana de natureza quitino-protéica (matriz peritrófica) revestindo a luz do intestino, os hemípteros apresentam uma membrana perimicrovilar, que consiste em um conjunto de películas de composição protéico-lipídica aderidas às microvilosidades das células epiteliais de revestimento, apresentando funções análogas às desempenhadas pela matriz peritrófica.^{50, 55-57} Acredita-se que a matriz peritrófica tenha sido perdida nos prováveis ancestrais hemípteros durante o processo de adaptação à sucção do floema.^{48, 55}

Na região de divisão entre o intestino médio e o posterior situam-se os túbulos de Malpighi, órgãos excretores que se ramificam do intestino em seguida ao esfíncter pilórico. O intestino posterior é circundado por uma cutícula e inclui o íleo e o reto, este último envolvido na absorção de água e íons, terminando no ânus.⁵¹ No reto encontra-se o material fecal onde podem ser encontrados os tripomastigotas metacíclicos de *T. cruzi*.¹

Diferentes tipos de células compõem o epitélio de revestimento do intestino médio, porém as células colunares são as mais encontradas. Essas células participam dos processos de absorção e secreção de água, secreção de enzimas digestivas, digestão (enzimas associadas com as membranas perimicrovilares) e absorção de nutrientes.⁵⁸ Ao longo do canal alimentar há um epitélio com uma só camada de células apoiada na membrana basal e uma fina e descontínua camada de músculos externos longitudinais e circulares.⁵⁶

O que acontece no intestino dos triatomíneos durante o processo digestivo

As regiões do intestino médio e posterior dos triatomíneos diferem morfologicamente conforme seu estado nutricional. Maiores variações entre os diferentes hemípteros e entre os vários segmentos do órgão são verificadas quanto ao epitélio de revestimento, onde são encontradas células colunares (mais numerosas, podendo assumir diferentes formas), células fonte ou de reserva e células endócrinas.^{50, 51} Embora em todas as fases de digestão possam ser visualizados os mesmos tipos celulares, há variações morfológicas e de proporção numérica entre estes. Verificou-se⁵⁷ que *R. prolixus* não alimentados apresentam células colunares altas na porção anterior do intestino médio, com aspecto achatado nos cinco dias seguintes à alimentação sanguínea. Já as células de revestimento do intestino médio posterior apresentam forma cúbica.

As modificações observadas no intestino médio de *R. prolixus* não são exclusivas de triatomíneos, também sendo observadas em mosquitos hematófagos. Logo após a ingestão de sangue, as células de revestimento do intestino de *Culex tarsalis* medem 2-5 µm, apresentando-se achatadas e com microvilosidades esparsas. No intestino do mesmo inseto em jejum, as mesmas células chegam a medir 20-25 µm de altura.⁵⁹ Também a lâmina basal do *C. tarsalis* apresenta alteração em sua espessura em resposta à dieta sanguínea, fornecendo indícios de aumento de permeabilidade.⁶⁰ Observações semelhantes foram feitas⁶¹ para *Ae. aegypti*.

Um estudo histológico verificou modificações ocorridas no intestino médio de *D. maximus* durante a digestão do sangue, semelhantes àqueles aspectos descritos para *R. prolixus*, com algumas diferenças.⁶² Nesses animais a membrana perimicrovilar foi identificada no intestino médio anterior do primeiro ao vigésimo dia e no intestino posterior do terceiro em diante, o que demonstra a relação direta dessa membrana com o processo digestivo e absorptivo. Após ingestão e chegada do sangue no intestino médio posterior, observa-se o aparecimento de um labirinto nas células epiteliais basal de revestimento, com papel na absorção de nutrientes. De modo geral, a altura das células colunares de revestimento varia de modo inversamente proporcional ao conteúdo alimentar existente nos compartimentos funcionais do intestino.

As proteases e a digestão em insetos

As proteínas são componentes essenciais do sangue, e, então, a presença e a ação de proteases têm fundamental importância no processo digestivo nos insetos hematófagos. A atuação dessas enzimas na digestão do sangue possibilita a absorção dos produtos da digestão e afeta o crescimento, a maturação sexual e a ovoposição dos insetos. Particularmente, nos mosquitos há uma participação majoritária de serino-proteases na digestão do sangue. Em contraste, nos triatomíneos a principal atividade proteolítica é do tipo catepsina. Essa diferença pode ser explicada pela história evolutiva dos homópteros à alimentação com seiva (carboidratos), quando esses reduvídeos teriam perdido as serino-proteases, já que, então, a digestão proteica não era significativa. No decorrer da evolução, com o aparecimento dos hábitos hematofágicos em alguns hemípteros, teria havido necessidade de ação proteolítica na digestão do sangue. Então, a ação serino-proteásica foi substituída pela atividade de enzimas lisossomiais.⁶³ Uma presença das diferentes classes de enzimas proteolíticas envolvidas na digestão de insetos, normalmente, correlaciona-se com o tipo de dieta alimentar e com aspectos da filogenia destes.

As principais proteases⁵¹ presentes no intestino médio de triatomíneos são cisteína-proteases, catepsinas D (aspártico-proteinasas) e aminopeptidases (metalo-proteases). Tais atividades proteolíticas somam-se àquelas de carboxipeptidase A e B.^{64,65} O triatomíneo *R. prolixus* tem sido o mais estudado no que se refere à digestão, sendo a atividade endoproteolítica predominante exercida por cisteína-proteases, como a do tipo catepsina B e catepsina L. Foi identificado um gene de catepsina L em *R. prolixus*.^{65,66} Atividades proteolíticas dos tipos aspártico-proteásica, representadas por uma tiol protease do tipo pepsina,⁶⁴ e catepsina D,⁶⁶ também foram identificadas em *Rhodnius*. Verificou-se que a ingestão de sangue contaminado com *T. cruzi* regula o nível de atividade da catepsina D no intestino médio posterior do triatomíneo. Atividade análoga foi descrita na mosca *Glossina morsitans*, onde a expressão do gene de catepsina B foi aumentada após sua infecção com tripanossomos africanos.⁶⁷





A cinética das proteases envolvidas na digestão do sangue ainda não foi completamente elucidada.⁶⁸ Entretanto, sabe-se que após a hidrólise de eritrócitos na parte anterior do intestino médio de *R. prolixus* as proteínas sofrem a ação de cisteína-proteinasas e os oligopeptídeos resultantes dessa ação são transportados para dentro do espaço perimicrovilar (entre a membrana perimicrovilar e os microvilos das células epiteliais), onde há atuação de aminopeptidases. Os produtos da digestão sofrem ação de dipeptidases, e só então os componentes finais do processo são absorvidos.

As aminopeptidases do intestino médio de insetos possuem uma importante função na digestão intermediária das proteínas.⁵¹ Essas enzimas são exopeptidases que hidrolisam ligações peptídicas na porção N-terminal extrema de proteínas ou peptídeos, sendo geralmente ativadas pela presença de cátions divalentes. Em sua maioria, as aminopeptidases do intestino dos hematófagos possuem massa relativa entre 61 e 240 kDa e valores de ponto isoelétrico entre 3,5 e 5. O pH ótimo para a atuação das enzimas é básico, situando-se entre 7,2 e 8,5. As principais aminopeptidases descritas foram a dos dípteros *Rhynchosciara americana*,⁹³ *Anopheles stephensi*,⁹⁷ a do hemíptero *Rhodnius prolixus*^{64, 76} e a do lepdóptera *Manduca sexta*.⁷¹ Uma leucil-aminopeptidase do intestino de *D. maximus* também foi identificada e purificada.⁷²

As carboxipeptidases também são exopeptidases, hidrolisando ligações peptídicas na porção carboxi-terminal das proteínas, sendo o nucleófilo catalítico o hidroxil reativo da cadeia lateral do aminoácido serina. Em sua maioria, as carboxipeptidases de intestino dos hematófagos possuem massa relativa entre 26 e 90 kDa e valores de ponto isoelétrico situados entre 3,5 e 5. O melhor pH para atuação dessas enzimas costuma ser básico, situado na faixa entre 7,5 e 9,0. Aparentemente, por apresentarem atividade relativamente baixa, quando comparadas a enzimas de outras classes, as carboxipeptidases não são descritas com freqüência. Carboxipeptidases dos tipos A e B são encontradas no intestino de *R. prolixus*.^{64, 66}

Os hemípteros apresentam hematofagia obrigatória em todas as fases de seu crescimento. Eles ingerem volume de sangue muito superior a seu próprio peso, digerindo-o lentamente. Por causa do lauto repasto, ninfas de terceiro estágio de *D. maximus* sobrevivem até 125 dias sob jejum. Foi caracterizado bioquimicamente no intestino desses insetos um inibidor de trombina,⁷³ com propriedade anticoagulante; o gene codificante dessa proteína foi clonado e a proteína recombinante^{74, 75} recebeu a designação de dipetalogastina. A identificação, a purificação e a caracterização molecular de leucil-aminopeptidase no intestino de *D. maximus*⁷² acrescentou evidência de sua participação na digestão do sangue. A enzima purificada do intestino médio foi testada contra substratos fluorogênicos, apresentando seus níveis mais significativos em pH 7,0 e temperatura 50 °C, em concordância com as características cinéticas de outras leucil-aminopeptidases. Além disso, foi visto que essa enzima possui estrutura oligomérica, pois a perda de sua atividade estava relacionada à redução de sua massa molecular.



Profilaxia da transmissão do *T. cruzi* pelo inseto vetor

As características de grande endemicidade das infecções pelo *T. cruzi* transmitidas pelos triatomíneos aos mamíferos e, particularmente, ao homem são elementos do cotidiano na vida das famílias em alguns ecossistemas do continente latino-americano. A infecção pelo *T. cruzi* e a doença de Chagas que se manifesta clinicamente em um terço dos indivíduos infectados produzem pesados ônus social e econômico. Diante da definição do problema, a ciência oferece caminhos na busca de uma solução. As abordagens visando ao controle da transmissão da infecção pelo *T. cruzi* para o homem têm sido adotadas em vários níveis da cadeia epidemiológica. De um lado, a possibilidade de produzir uma vacina para proteger as pessoas já infectadas pelo *T. cruzi* não parece promissora pelas razões explicadas no Capítulo IV. De outro, os cientistas têm pensado em encontrar um meio efetivo de interromper o ciclo de transmissão da infecção do *T. cruzi* durante o repasto do triatomíneo no corpo humano.

A ética na ciência encaminha a pesquisa para a abordagem do problema, sempre visando à interrupção da transmissão da infecção chagásica para o homem. A pesquisa que visa a direcionar o combate ao *T. cruzi* profundamente arraigado na natureza há mais de 90 milhões de anos é tarefa difícil, pois o conhecimento científico básico relatado neste capítulo ainda é insuficiente para resolver aspectos intrincados na interação do inseto com o hospedeiro vertebrado.

A trombina é uma enzima importante na cascata de coagulação sangüínea e, conseqüentemente, um interessante alvo para inibição pelos insetos hematófagos. Algumas substâncias com propriedades inibitórias no intestino de insetos hematófagos já foram descritas. A infestina, um inibidor de trombina encontrado na porção anterior do intestino do *T. infestans*, e a dipetalogastina,⁷⁴ descrita em *D. maximus*, inibem tanto a trombina quanto a tripsina.⁷³ Um inibidor do fator XIIa também já foi descrito no intestino do *T. infestans*.^{75, 76} Essas moléculas inibem a formação do coágulo no trato digestivo desses insetos. Muitas dessas moléculas poderiam servir de alvo para a inibição do ciclo de vida do triatomíneo, mas existe redundância de proteínas diferentes para o exercício das mesmas funções na alimentação e na digestão do inseto. Isso explica porque ainda não foi possível inibir o repasto de sangue por meios bioquímicos e imunológicos efetivos contra o inseto. Há necessidade de produzir e aprofundar o conhecimento sobre os mecanismos de escape do inseto, visando à interrupção da transmissão.

Controle da transmissão do *Trypanosoma cruzi*

A idéia básica neste tópico sugere a possibilidade de controlar a transmissão do *T. cruzi* pela picada do inseto. Um coquetel de aminas bioativas na saliva do barbeiro é injetado no homem no momento da obtenção do repasto de sangue. Numa área de transmissão endêmica da infecção, ocorrem inoculações repetidas de uma gama de proteínas imunogênicas que poderiam induzir a um processo imunizante natural. De fato, existe relação entre as reações imunes de anticorpos e células em alguns indivíduos sujeitos à picada de triatomíneos. Essas reações sugeriram a possibilidade de o

estado imune do hospedeiro interferir no hábito alimentar do inseto. Tal interferência seria uma prova em favor de uma vacina que mudaria a dinâmica de transmissão das infecções do *T. cruzi* para o homem.⁷⁴

Pesquisadores da Universidade de Brasília⁷⁷ imunizaram galinhas com proteínas da saliva do *T. infestans*. As aves desenvolveram respostas imunes que foram caracterizadas. Então, foram estabelecidos parâmetros para avaliar os efeitos desse procedimento sobre o ciclo de vida do inseto. Ao contrário do que se esperava, verificou-se que o *T. infestans* obtinha seu repasto de sangue de galinhas imunes em apenas 15 minutos, mas necessitava de 40 minutos para completar seu repasto em galinhas não imunes. Verificou-se também que os triatomíneos procuravam as galinhas imunes para se alimentar. Os insetos alimentados em galinhas imunes cresciam mais rápido que aqueles alimentados em galinhas não imunes, e aqueles alcançavam o estágio adulto quarenta dias antes destes últimos. Esses achados sugerem que o estado imunológico da população de hospedeiros vertebrados favorece o hábito alimentar do *T. infestans* transmissor do *T. cruzi*. Tais resultados mostram que a perspectiva de alcançar imunoprofilaxia das infecções pelo *T. cruzi* ainda não pode ser obtida com base no conhecimento até então disponível.

Não obstante, os cientistas continuam as investigações na busca de alvos mais adequados para impedir a transmissão do *T. cruzi* para o homem. O trabalho tem base no conhecimento de que a saliva e o trato digestivo dos triatomíneos são importantes no processo de sua alimentação e metabolismo. Existe a expectativa de identificação de um alvo promissor para agir por meios bioquímicos visando à interrupção da continuidade do ciclo de vida do *T. cruzi*. Nesse ínterim, a estratégia mais efetiva no controle da doença de Chagas continua sendo o combate ao inseto vetor com inseticidas. Porém, os danos que esses químicos causam ao meio ambiente os tornam inaceitáveis e impraticáveis para uso por tempo indeterminado. Uma solução prática, efetiva e aceitável pelos ambientalistas e pela sociedade ainda não foi encontrada. O conhecimento adquirido sobre o assunto é um patrimônio social de valor inestimável, pois, mais cedo ou mais tarde, a ciência encontrará a melhor solução para o problema. Por isso mesmo, é importante continuar a busca de novos meios de profilaxia da picada do inseto e da transmissão do *T. cruzi*. Nesse sentido, a saliva e o intestino dos triatomíneos devem ser mais estudados como alvos visando ao encontro de novos meios de profilaxia da transmissão da doença de Chagas.

Abstract

The control of the insect-transmitted *Trypanosoma cruzi* infections have basis on the employment of insecticides. There is a need to develop a method aiming at the biologic control of the disease transmission. The search for an effective tool to prevent and control the triatomine-vector's transmission of *T. cruzi* infections to humans is a key objective of fundamental scientific research. An approach aiming at this objective consists in identifying specific targets in the body of an insect-transmitter of flagellate protozoan to vertebrate host, which could possibly inhibit the insect's feeding and, consequently, interfering with its lifecycle. Two preferential targets have

aimed at achieving this objective. In one hand, it has been conducted searches for pharmacologically active proteins in salivary glands of triatomines. On the other, it has focused on the proteases associated with insect's digesting blood fills. These research lines have revealed fundamental features showing that the salivary glands of triatomines possess active bioamines with vasodilator, anti-platelet aggregation and anti-clotting factors. These are moieties with high biotechnologic interest. Also, proteolytic enzymes in the intestines of triatomines are considered as important targets. Meanwhile, hematophagous insects have developed highly efficient escape mechanism; hence warranting blood fills from a fully immune host after several decades of exposure to insect's bites. An efficient escape mechanism is a redundancy of pharmacologically active proteins in the insect's salivary glands, each ready to undertake those crucial activities, which have been associated with rupture of homeostasis thus allowing blood feeding. Unfortunately, attempts to inhibit a key factor have not resulted in the insect's jeopardy, because it possesses a gamut of different molecules exerting a similar activity. This explains why these triatomines have well succeeded so after 90 million years. However, the science role is to counteract and make an advantage in favor of preservation of human's health.

Notas bibliográficas

268

1. BRENER, Z.; ANDRADE, Z. A.; BARRAL-NETTO, M. *Trypanosoma cruzi e doença de Chagas*. 2. ed. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan, 2000.
2. LEHANE, M. J. *Blood-sucking insects: the blood-sucking insects groups*. 1st ed. London: Harper Collins Academic, 1991. p. 199-204.
3. LAW, J. H.; RIBEIRO, J. M. C.; WELLS, M. A. Biochemical insights derived from insect diversity. *An. Ver. Biochem.*, 61, p. 87-111, 1992.
4. FRIEND, W. G.; SMITH, J. J. B. Factors affecting feeding by bloodsucking insects. *Ann. Rev. Entomol.*, 22, p. 309-310, 1977.
5. RIBEIRO, J. M. C.; GARCIA, E. S. The role of salivary-glands in feeding in *Rhodnius prolixus*. *J. Exp. Biol.*, 94, p. 219-230, 1981.
6. AMINO, R.; PORTO, R. M.; CHAMMAS, R.; EGAMI, M. I.; SCHENKMAN, S. Identification and characterization of a sialidase released by the salivary gland of the hematophagous insect *Triatoma infestans*. *J. Biol. Chem.*, 273, p. 24575-24582, 1998.
7. AMINO, R.; TANAKA, A. S.; SCHENKMAN, S. Triapsina, an unusual activatable serine protease from the saliva of the hematophagous vector of Chagas disease *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae). *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 31, p. 465-472, 2001.
8. FAUDRY, E.; ROCHA, P. S.; VERNET, T.; LOZZI, S. P.; TEIXEIRA, A. R. Kinetics of expression of the salivary apyrases in *Triatoma infestans*. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 34, p. 1051-1058, 2004.



9. FAUDRY, E.; LOZZI, S. P.; SANTANA, J. M.; D'SOUZA-AULT, M.; KIEFFER, S.; FELIX, C. R.; RICART, C. A.; SOUSA, M. V.; VERNET, T.; TEIXEIRA, A. R. *Triatoma infestans* apyrases belong to the 5'-nucleotidase family. *J. Biol. Chem.*, 7, p. 19607-19613, 2004.
10. FAUDRY, E.; SANTANA, J. M.; EBEL, C.; VERNET, T.; TEIXEIRA, A. R. Salivary apyrases of *Triatoma infestans* are assembled into homo-oligomers. *Biochem. J.*, 396, p. 509-515, 2006.
11. VALENZUELA, J. G.; PHAM, V.; GARFIELD, M.; FRANCISCHETTI, I.; RIBEIRO, J. M. Toward a description of the sialome of the adult female mosquito *Aedes aegypti*. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 32, p. 1101-1122, 2002a.
12. VALENZUELA, J. G.; FRANCISCHETTI, I. M.; PHAM, V. M.; GARFIELD, M. K.; MATHER, T. N.; RIBEIRO, J. M. Exploring the sialome of the tick *Ixodes scapularis*. *J. Exp. Biol.*, 205, p. 2843-2864, 2002.
13. VALENZUELA, J. G.; FRANCISCHETTI, I. M. B.; PHAM, V. M.; GARFIELD, M. K.; RIBEIRO, J. M. C. Exploring the salivary gland transcriptome and proteome of the *Anopheles stephensi* mosquito. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 33, p. 717-732, 2003.
14. CALVO, E.; ANDERSEN, J.; FRANCISCHETTI, I. M.; DE'BIANCHI, A. G.; JAMES, A. A.; RIBEIRO, J. M. C.; MARINOTTI, O. The transcriptome of adult female *Anopheles darlingi* salivary gland. *Insect Mol. Biol.*, 13, p. 73-88, 2004.
15. RIBEIRO, J. M. C.; CHARLAB, R.; PHAM, M. P.; GARFIELD, M.; VALENZUELA, J. G. An insight into salivary transcriptome and proteome of adult female mosquito *Culex pipiens quinquefasciatus*. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 34, p. 543-563, 2004.
16. RIBEIRO, J. M. C.; ANDERSEN, J.; SILVA-NETO, M. A.; PHAM, V. M.; GARFIELD, M. K.; VALENZUELA, J. G. Exploring the sialome of the blood-sucking bug *Rhodnius prolixus*. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 34, p. 61-79, 2004.
17. FLOWER, D. R.; NORTH, A. C.; SANSOM, C. E. The lipocalin protein family: structural and sequence overview. *Biochim. Biophys. Acta*, 1482, p. 9-24, 2000.
18. FERNANDES, E. S. O. *Aspectos funcionais das 5'-nucleotidasas na saliva do Triatoma infestans*. Tese Doutorado – Universidade de Brasília, Brasília, 2005.
19. RIBEIRO, J. M. C. Blood-feeding arthropods: live syringe or invertebrate pharmacologists? *Infect. Agents Dis.*, 4, p. 143-152, 1995.
20. CORRÊA, P. S. *Efeito antimicrobiano e citolítico da trialisina recombinante da saliva de Triatoma infestans*. Tese de Doutorado – Faculdade de Medicina, Universidade de Brasília, Brasília, 2002.
21. AMINO, R.; MARTINS, R. M.; PROCÓPIO, J.; HIRATA, I. Y.; JULIANO, M. A.; SCHENKMAN, S. Trialysin, a novel pore-forming protein from saliva of hematophagous insects activated by limited proteolysis. *J. Biol. Chem.*, 277, p. 6207-6213, 2002.

22. RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M. *Farmacologia*, 3. ed. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan, 1997.
23. LERNER, E. A.; RIBEIRO, J. M.; NELSON, R. J.; LERNER, M. R. Isolation of maxadilan, a potent vasodilatory peptide from the salivary glands of the sand fly *Lutzomyia longipalpis*. *J. Biol. Chem.*, 266, p. 11234-11236, Jun. 1991.
24. LERNER, E. A.; SHOEMAKER, C.B. Maxadilan. Cloning and functional expression of the gene encoding this potent vasodilator peptide. *J. Biol. Chem.*, 267, p. 1062-1066, 1992.
25. QURESHI, A. A.; ASAHINA, A.; OHNUMA, M.; TAJIMA, M.; GRANSTEIN, R. D.; LERNER, E.A. Immunomodulatory properties of maxadilan, the vasodilator peptide from sand fly salivary gland extracts. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 54, p. 665-711, 1996.
26. MONTFORT, W. R.; WEICHSEL, A.; ANDERSEN, J. F. Nitrophorins and related antihemostatic lipocalins from *Rhodnius prolixus* and other blood-sucking arthropods. *Biochim. Biophys. Acta*, 1482, p. 110-118, 2000.
27. VALENZUELA, J. G.; RIBEIRO, J. M. C. Purification and cloning of the salivary nitrophorin from the hemipteran *Cimex lectularius*. *J. Exp. Med.*, 201, p. 2659-2664, 1998.
28. WEICHSEL, A.; MAES, E. M.; ANDERSEN, J. F.; VALENZUELA, J. G.; SHOKHIREVA, T. K.; WALKER, F. A.; MONTFORT, W. R. Heme-assisted S-nitrosation of a proximal thiolate in a nitric oxide transport protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 102, p. 594-599, 2005.
29. ANDERSEN, J. F.; FRANCISCHETTI, I. M.; VALENZUELA, J. G.; SCHUCK, P.; RIBEIRO, J. M. Inhibition of hemostasis by a high affinity biogenic amine-binding protein from the saliva of a blood-feeding insect. *J. Biol. Chem.*, 278, p. 4611-4617, 2003.
30. RIBEIRO, J. M. C.; WALKER, F. A. High affinity histamine-binding and antihistaminic activity of the salivary nitric oxide-carrying heme protein (nitrophorin) of *Rhodnius prolixus*. *J. Exp. Med.*, 180, p. 225-257, 1994.
31. VALENZUELA, J. G.; GUIMARÃES, J. A.; RIBEIRO, J. M. C. A novel inhibitor of factor X activation from the salivary glands of the bed bug *Cimex lectularius*. *Exp. Biol.*, 83, p. 184-190, 1996.
32. RIBEIRO, J. M. C.; SCHNEIDER, M.; GUIMARÃES, J. A. Purification and characterization of prolixin S (nitrophorin 2), the salivary anticoagulant of the blood-sucking bug *Rhodnius prolixus*. *Biochem. J.*, 308, p. 243-249, 1995.
33. FRIDERICH, T.; KROGER, B.; BIALOJAN, S.; LEMAIRE, H. G.; HOFFEN, H. W.; REUSCHENBACH, P.; OTTE, M.; DODT, J. A. Kazal-type inhibitor with thrombin specificity from *Rhodnius prolixus*. *J. Biol. Chem.*, 268, p. 16216-16222, 1993.
34. NOESKE-JUNGBLUT, C.; HAENDLER, B.; DONNER, P.; ALAGON, A.; POSSANI, S.; SCHLEUNING, W. D. Triabin, a highly potent exosite inhibitor of thrombin. *J. Biol. Chem.*, 270, p. 28629-28634, 1995.
35. FEIJÓ, G. C. *Proteínas recombinantes da saliva do Triatoma infestans*. Tese de Doutorado – Universidade de Brasília, Brasília, 2001.



36. SANT'ANNA, C. M.; VIANA, A. S.; NASCIMENTO JUNIOR, N. M. A semiempirical study of acetylcholine hydrolysis catalyzed by *Drosophila melanogaster* acetylcholinesterase. *Bioorg. Chem.*, 34, p. 77-89, 2006.
37. ZHANG, Y.; RIBEIRO, J. M.; GUIMARAES, J. A.; WALSH, P. N. Nitrophorin-2: a novel mixed-type reversible specific inhibitor of the intrinsic factor-X activating complex. *Biochem.*, 37, p. 10681-10690, 1998.
38. RIBEIRO, J. M. C.; SHNEIDER, M.; ISAIAS, T.; JURBERG, J.; GALVÃO, C.; GUIMARÃES, J. A. Role of antihemostatic components in blood feeding by triatomine Bugs (Heteroptera). *J. Med. Entomol.*, 35, p. 599-610, 1998.
39. RIBEIRO, J. M. C.; FRANCISCHETTI, I. M. B. Platelet-activating-factor-hydrolyzing phospholipase C in the salivary glands and saliva of the mosquito *Culex quinquefasciatus*. *J. Exp. Biol.*, 204, p. 3887-3894, 2001.
40. CHAMPAGNE, D.; SMART, C. T.; RIBEIRO, J. M.; JAMES, A. A. The salivary gland-specific apyrase of the mosquito *Aedes aegypti* is a member of the 5'-nucleotidase family. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 92, p. 694-698, 1995.
41. ARCA, B.; LOMBARDO, F.; DE LARA CAPURRO, M.; DELLA TORRE, A.; DIMOPOULOS, G.; JAMES, A. A.; COLUZZI, M. Trapping cDNAs encoding secreted proteins from the salivary glands of the malaria vector *Anopheles gambiae*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 96, p. 1516-1521, 1999.
42. VALENZUELA, J. G.; CHARLAB, R.; GALPERIN, M. Y.; RIBEIRO, J. M. C. Purification, cloning, and expression of an apyrase from the bed bug *Cimex lectularius*. A new type of nucleotide-binding enzyme. *J. Biol. Chem.*, 273, p. 30583-30590, 1998.
43. SARKIS, J. J. F.; GUIMARÃES, J. A.; RIBEIRO, J. M. C. Salivary apyrase of *Rhodnius prolixus*: kinetics and purification. *Biochem. J.*, 233, p. 885-891, 1986.
44. FRANCISCHETTI, I. M. B.; ANDERSEN, J. F.; RIBEIRO, J. M. C. Biochemical and functional characterization of recombinant *Rhodnius prolixus* platelet aggregation inhibitor 1 as a novel lipocalina with high affinity for adenosine diphosphate and other adenine. *Nucleotides Biochem.*, 41, p. 3810-3818, 2002.
45. ASSUMPÇÃO, T. C. F. *Identificação e purificação de PAF-acetil hidrolase da saliva de Triatoma infestans*. Dissertação de Mestrado – Universidade de Brasília, Brasília, 2001.
46. NOESKE-JUNGBLUT, C.; KRATZSCHMAR, J.; HAENDLER, B.; ALAGON, A.; POSSANI, L.; VERHALLEN, P.; DONNER, P.; SCHLEUNING, W. D. An inhibitor of collagen-induced platelet aggregation from the saliva of *Triatoma pallidipennis*. *J. Biol. Chem.*, 269, p. 5050-5053, 1994.
47. BARRETO, A. C.; PRATA, A. R.; MARSDEN, P. D.; CUBA, C. C.; TRIGUEIRA, P. C. Aspectos biológicos e criação em massa de *Dipetalogaster maximus* (Triatominae). *Rev. Inst. Med. Trop.*, 23, p. 18-27, São Paulo, 1981.
48. SILVA, C. P.; TERRA, W. R. Digestive and absorptive sites along the midgut of the cotton seed sucker bug *Dysdercus peruvianus* (Hemiptera: Pyrrhocoridae). *Insect Biochem. Molec. Biol.*, 34, p. 493-505, 1993.

49. WIGGLESWORTH, V. B.; GILLET, J. D. The function of the antennae in *Rhodnius prolixus* (Hemiptera) and mechanism of orientation to the host. *J. Exp. Biol.*, 2, p. 120-139, 1934.
50. BILLINGSLEY, P. F.; DOWNE, A. E. R. Ultrastructural changes in posterior midgut cells associated with blood feeding in adult female *Rhodnius prolixus* Stal (Hemiptera: Reduviidae). *Can. J. Zool.*, 61, p. 2574-2586, 1983.
51. TERRA, W. R.; FERREIRA, C. Insect digestive enzymes: properties compartmentalization and function. *Comp. Biochem. Physiol.*, 109b, p. 1-62, 1994.
52. KOLLIEN, A.; SCHAUB, G. Development of *Trypanosoma cruzi* in triatomine. *Parasitol. Today*, 16, 381-387, 2000.
53. BALBIANI, E. G. Études anatomiques et histologiques sur le tube digestif dès *Cryptops* Arch. *Zool. Exp. Gen.*, 8, p. 1-82, 1890.
54. LEHANE, M. T. Peritrophic membrane structure and function. *Annu. Rev. Entomol.*, 42, p. 525-550, 1997.
55. SILVA, C. P.; RIBEIRO, A. F.; GULBENKIAN, S.; TERRA, W. R. Organization, origin and function of the outer microvillar (perimicrovillar) membranes of *Dysdercus peruvianus* (Hemiptera) midgut cells. *J. Insect Physiol.*, 41, p. 1093-1103, 1995.
56. DOW, J. A. T. Insect midgut function. *Adv. Insect Physiol.*, 19, p. 188-328, 1986.
57. BILLINGSLEY, P. Blood digestion in the mosquito, *Anopheles stephensi* Liston (Diptera: Culicidae): partial characterization and post-feeding activity of midgut aminopeptidase. *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 15, 149-163, 1990.
58. TERRA, W. R.; FERREIRA, C.; GARCIA, E. S. Origin, distribution, properties and functions of the major *Rhodnius prolixus* midgut hydrolases. *Insect Biochem.*, 18, p. 423-434, 1988.
59. HOUK, E. J.; HARDY, J. L. Midgut cellular responses to bloodmeal digestion in the mosquito *Culex tarsalis* Coquille (Diptera: Culicidae). *Int. J. Insect Morphol. Embriol.*, 11, p. 109-119, 1982.
60. HOUK, E. J. Midgut ultrastructure of *Culex tarsalis* (Diptera: Culicidae) before and after a bloodmeal. *Tissue Cell*, 9, p. 103-118, 1977.
61. REINHARDT, C.; HECKER, H. Structure and function of the basal lamina and of the cell junctions in the midgut epithelium (stomach) of female *Aedes aegypti* L. (Insecta: Diptera). *Acta Tropica*, 30, p. 213-236, 1973.
62. CALIXTO, C. C. *Aspectos histológicos do intestino médio de Dipetalogaster maximus antes e após a ingestão de sangue*. Dissertação de Mestrado – Universidade de Brasília, Brasília, 2005.
63. BILLINGSLEY, P. F.; DOWNE, A. E. R. Ultrastructural localization of cathepsin B in the midgut of *Rhodnius prolixus* Stal (Hemiptera: Reduviidae) during blood digestion. *Intern. J. Insect Morphol. Embryol.*, 17, p. 295-302, 1988.
64. GARCIA, E. S.; GUIMARÃES, J. A.; PRADO, J. L. Purification and characterization of a sulfhydryl-dependent protease from *Rhodnius prolixus* midgut. *Arch. Biochem. Biophys.*, 188, p. 315-322, 1978.



65. LOPEZ-ORDONEZ, T.; RODRIGUEZ, M. H.; HERNANDEZ-HERNANDEZ, F. D. Characterization of a cDNA encoding a cathepsin L-like protein of *Rhodnius prolixus*. *Insect Mol. Biol.*, 10, p. 505-511, 2001.
66. BORGES, E. C.; MACHADO, E. M.; GARCIA, E. S.; AZAMBUJA, P. *Trypanosoma cruzi*: effects of infection on cathepsin D activity in the midgut of *Rhodnius prolixus*. *Exp. Parasitol.*, 112, p. 130-133, 2006.
67. YAN, J.; CHENG, Q.; LI, C. B.; AKSOY, S. Molecular characterization of three gut genes from *Glossina morsitans morsitans*: cathepsin B, zinc-metalloprotease and zinc-carboxypeptidase. *Insect Mol. Biol.*, 11, p. 57-65, 2002.
68. BILLINGSLEY, P. F.; DOWNE, A. E. R. Cellular localization of aminopeptidase in the midgut of *Rhodnius prolixus* Stal (Hemiptera: Reduviidae). *Cell Tissue Res.*, 241, p. 421-428, 1985.
69. KLINKOWSTROM, A. M.; TERRA, W. R.; FERREIRA, C. Aminopeptidase a from *Rhynchosciara americana* (Diptera) larvae midguts. Properties and midgut distribution. *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 27, p. 301-315, 1994.
70. GARCIA, E. S.; GUIMARAES, J. A. Proteolytic enzymes in the *Rhodnius prolixus* midgut. *Experientia*, 35, p. 305-306, 1979.
71. STEPHENS, E.; SUGARS, J.; MASLEN, S. L.; WILLIAMS, D. H.; PACKMAN, L. C.; ELLAR, D. J. The N-linked oligosaccharides of aminopeptidase N from *Manduca sexta*: site localization and identification of novel N-glycan structures. *Eur. J. Biochem.*, 271, p. 4241-4258, 2004.
72. MACEDO, T. C. Identificação, purificação e caracterização bioquímica e molecular de leucil-aminopeptidase do intestino de *Dipetalogaster maximus*. Dissertação de Mestrado – Universidade de Brasília, Brasília, 2005.
73. LANGE, U.; KEILHOLZ, W.; SCHAUB, G. A.; LANDMANN, H.; MARKWARDT, F.; NOWAK, G. Biochemical characterization of a thrombin inhibitor from the bloodsucking bug *Dipetalogaster maximus*. *Haemostasis*, 29, p. 204-211, 1999.
74. MENDE, K.; PETOUKHOVA, O.; KOULITCHKOVA, V.; SCHAUB, G. A.; LANGE, U.; KAUFMANN, R.; NOWAK, G. Dipetalogastin, a potent thrombin inhibitor from the blood-sucking insect. *Dipetalogaster maximus* cDNA cloning, expression and characterization. *Eur. J. Biochem.*, 266, p. 583-590, 1999.
75. CAMPOS, I. T.; TANAKA-AZEVEDO, A. M.; TANAKA, A. S. Identification and characterization of a novel factor XIIa inhibitor in the hematophagous insect, *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae). *FEBS Lett.*, 577, p. 512-516, 2004.
76. CAMPOS, I. T.; AMINO, R.; SAMPAIO, C. A.; AUERSWALD, E. A.; FRIEDRICH, T.; LEMAIRE, H. G.; SCHENKMAN, S.; TANAKA, A. S. Infestin, a thrombin inhibitor presents in *Triatoma infestans* midgut, a Chagas disease vector: gene cloning, expression and characterization of the inhibitor. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 32, p. 991-997, 2002.
77. HECHT, M. M.; BUSSACOS, A. C.; LOZZI, S. P.; SANTANA, J. M.; TELXEIRA, A. L. The *Triatoma infestans* chooses the immune prey to feeding upon. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 75, p. 893-900, 2006.

Glossário

Acetilcolinesterase: Enzima que catalisa a clivagem da acetilcolina em colina e acetatos. No sistema nervoso esta enzima desempenha uma função na junção neuromuscular periférica.

Agente etiológico: Micróbio causador ou responsável pela origem da doença. Pode ser vírus, bactéria, fungo, protozoário ou helminto.

Aldosterona: Hormônio da glândula supra-renal. Promove a reabsorção do sódio no túbulo distal do rim e controla o volume circulante de sangue.

Alogênico: Refere-se a indivíduos possuidores de diferenças gênicas.

Amastigota: Forma do *Trypanosoma cruzi* que se multiplica no interior da célula do hospedeiro mamífero.

Aneuploidia: Qualquer número cromossômico que não seja um múltiplo exato do número haplóide ou uma pessoa com um número cromossômico aneuplóide.

Angiotensina: Oligopeptídeo com efeito vasoconstritor.

Aquisição primária: Aquela que passou diretamente, p. ex., do barbeiro para os primeiros hospedeiros mamíferos.

Aquisição secundária: Aquela que sucede o primeiro estágio, p. ex., secundária no homem porque existia primariamente nos mamíferos silvestres.

Autóctone: Indígena nascido na própria terra em que vive.

Axênica: Com um único tipo de célula em crescimento, sem contaminante.

Berenice: Nome que se deu ao *Trypanosoma cruzi* isolado pelo dr. Carlos Chagas do sangue de uma criancinha com este nome.

Betabloqueador: Droga que bloqueia receptor beta na membrana das células do coração.

Bodonida: Protozoário cinetoplastida parasita de peixes e anfíbios, p. ex., *Boldo saltans*, o mais provável ancestral do *Trypanosoma cruzi*.

Bomba cibarial: Estrutura reguladora da sucção no ato alimentar do inseto.

Cardiovagal: Reflexo do coração dependente do nervo vago parassimpático.

Catecolaminas: Bioaminas com efeitos excitatórios e inibitórios dos sistemas nervoso central e periférico. As principais catecolaminas são a norepinefrina, a epinefrina e a dopamina.

Cisteíno-protease: Ver protease.

Colinérgico: Estímulo transmitido pela acetilcolina na placa que liga o nervo à membrana muscular.

Criptobiida: Protozoário flagelado ancestral dos cinetoplastidas.

Diaforase dinucleotídica nicotinamida adenina: Enzima que faz a síntese do óxido nítrico.

Digitálico: Droga usada no tratamento de doença do coração, tipos arritmia e insuficiência cardíaca. O digitálico inibe a bomba de sódio na membrana das células.

Disfagia: Dificuldade na deglutição.

Ecótopo: Determinado tipo de *habitat* dentro de uma área geográfica ampla, meio ambiente de um ecossistema ou conjunto de *habitats* em que uma determinada espécie vive.

Endemia: Doença particular a um povo ou a uma região por motivo de uma causa local.

Endossoma: Organela ou vesícula celular que acumula proteínas de pH ácido.

Enzootia: Epidemia periódica nos animais em certos países ou regiões.

Epicárdio: A lâmina que reveste o coração.

Epigastria: Dor no epigástrico, região do abdome logo abaixo do esterno.

Epimastigota: Forma replicativa do *Trypanosoma cruzi* encontrada na porção anterior do intestino do triatomíneo.

Epítopo: Local da molécula do antígeno reconhecido pelo anticorpo, também denominado determinante antigênico.

Estercoraria: Refere-se aos tripanossomos que completam o ciclo de vida no intestino posterior do inseto, p. ex., *Trypanosoma cruzi*.



Estímulo colinérgico: Estímulo transmitido de uma célula a outra através do neurotransmissor acetilcolina.

Extensor digitorum brevis: Músculo no dorso do pé.

Falossoma: Orgão genital.

Feixe de His: Pequeno feixe de fibras especializadas da musculatura cardíaca que se origina no nódulo atrioventricular e estende-se pela porção membranácea do septo interventricular.

Hibridização *in situ*: Técnica que identifica um DNA complementar em sua nova localização. A identificação é feita por uma sonda (fita simples de RNA ou DNA) marcada com fluorocromo.

Hipocinesia: Movimento diminuído ou lento da musculatura do corpo.

Hipoestesia sensorial: Diminuição dos reflexos de sensibilidade.

Hipotênar: Conjunto de pequenos músculos cujos ventres formam a eminência hipotênar na região antero-interna da mão. Os movimentos do 5º dedo, nomeadamente a adução, tendem a fazer aumentar o volume destes músculos.

ICAM-1: Molécula de adesão intercelular.

Imino: Grupamento (-NH-) que substitui um grupo amino (-NH₂) no aminoácido prolina. Os demais aminoácidos apresentam na sua molécula um grupo amino e um grupo carboxila (-COOH).

Integrina: Molécula de adesão dependente de cálcio que permite a interação de células com a matriz extracelular.

Intramural: O que se encontra dentro da parede, por exemplo, do ventrículo no coração.

LINE: Sigla em inglês (Long Interspersed Nuclear Elements) para designar elementos móveis (retrotransposons) presentes no genoma de animais e plantas.

Macrófago ED1+ e ED2+: Marcadores que identificam moléculas específicas na membrana da célula.

Marcador genotípico: Identifica um *locus* característico do genoma.

Maxicírculo: Sequência de DNA do cinetoplasto que se parece à corda de puxar a rede de minicírculos.

Metaloprotease: Ver protease.

Mimetismo molecular: Propriedade da estrutura de uma molécula imitando ou simulando o que lhe parece similar.



Minicírculo: Estrutura de DNA circular que forma uma rede (cinetoplasto) na mitocôndria do *T. cruzi*.

Miocitólise: Lise da célula muscular rejeitada pelo sistema imune.

ORF: Sigla em inglês (**O**pen **R**eading **F**rame) traduzida como fase aberta de leitura de um gene codificador de proteína.

Ortólogo: Gene ou cromossomo de diferentes espécies que evoluíram de um ancestral comum, apresentando seqüência e função similar.

Parestesia: Desordem nervosa caracterizada por sensações anormais e alucinações sensoriais.

PCR: Sigla em inglês (**P**olymerase **C**hain **R**eaction) para a reação em cadeia da polimerase. A técnica consiste em ciclos de desnaturação, anelamento de *primers* iniciadores e extensão da fita que se quer amplificar pela enzima DNA polimerase.

Piretróide: Inseticida usado no combate aos triatomíneos no domicílio e no peridomicílio.

Proteases: Enzimas que hidrolisam as ligações peptídicas entre aminoácidos. Podem ser classificadas de acordo com a presença do aminoácido (cisteíno, aspártico ou serino-protease) ou de um metal no sítio catalítico (metaloprotease).

QRS: Uma onda típica no registro eletrocardiográfico.

5'-RACE: Sigla originada do inglês (**R**apid **A**mplification of **c**DNA **E**nd) que significa uma estratégia de PCR para amplificação de DNA com ajuda de seqüências aneladoras características.

Simbiose: Associação íntima entre dois seres vivos com proveito mútuo.

Simbioticismo: Relacionamento ecológico e físico entre dois tipos de organismos, constituindo a mais íntima das associações entre seres vivos.

Sinal de Romaña: Inchaço ocular endurecido, bpalpebral e unilateral, indicativo da infecção aguda pelo *Trypanosoma cruzi*.

SINE: Sigla em inglês para os elementos curtos repetidos no genoma de animais e plantas.

Singênico: Refere-se a indivíduos geneticamente idênticos.

Sintopia: Convivência no mesmo nicho ecológico.

Sinusal: Nódulo sinusal onde nascem os estímulos elétricos nas aurículas.

Sistema biológico limpo: Aquele que não deixa possibilidade de contaminação.

SN parassimpático: Sistema nervoso antagonista do SN simpático.

SN simpático: Sistema nervoso simpático que regula os estímulos da vida vegetativa ou inconsciente.

Soleus: Músculo formador da panturrilha juntamente com o gastrocnêmio.

SSUrRNA: Pequena subunidade de RNA ribossomal usada em análise filogenética.

T e ST: Ondas que identificam aspectos da condução elétrica no coração.

Taxa: Plural de taxon, forma abreviada de taxonomia (ciência da classificação dos seres vivos).

Tênar: Conjunto de pequenos músculos cujos ventres formam a eminência tênar na região antero-externa da mão. Os movimentos do polegar, nomeadamente a adução, tendem a fazer aumentar o volume destes músculos.

Testes NAT: Teste de ácidos nucleicos que identifica marcador molecular.

Transferência passiva: Consiste na reprodução de uma situação pela simples passagem de células de um indivíduo imune para outro não imune.

Tripomastigota: Forma infectante (metacíclica), não replicativa do *Trypanosoma cruzi* que se diferencia da epimastigota ou da amastigota intracelular. As formas tripomastigotas são encontradas no sangue ou no fluido intersticial do mamífero hospedeiro.

Tulahuén: Nome que se deu ao *Trypanosoma cruzi* isolado na localidade.

Unidade mínima de rejeição: Identifica o ataque de células do sistema imune levando à rejeição da fibra muscular não parasitada no chagásico.

Xenodiagnóstico: Diagnóstico feito mediante utilização de um elemento estranho (xeno), como aquele que emprega o barbeiro para isolar e identificar o *Trypanosoma cruzi* no sangue do indivíduo suspeito de ter a doença de Chagas.

Zimodema: Padrão de bandas de proteínas (enzimas) separadas pela eletroforese de uma célula ou indivíduo.

Zoomastigophorea: Classe de protozoários que inclui a ordem Cinetoplastida; família Trypanosomatidae; gênero *Trypanosoma*; espécie *Trypanosoma cruzi*.



Este livro foi composto em Adobe Caslon Pro 10,5/13,5
no formato 170 x 240 mm e impresso no sistema off-set sobre
papel AP 75 g/m², com capa em papel
Cartão Supremo 250 g/m², na Dupligráfica



**Outros lançamentos da Editora
Universidade de Brasília**

*Ação afirmativa e universidade: experiências
nacionais comparadas*

João Feres Júnior e Jonas Zoninsein
(Organizadores)

Reconsiderar a riqueza

Patrick Viveret

*Sociologia e realidade: pesquisa social no
século XXI*

Maria Stela Grossi Porto e Tom Dwyer
(Organizadores)

*Os direitos humanos e a questão agrária no
Brasil: a situação do sudeste do Pará*

Wilson Rodrigues Ataíde Júnior

*Intermediate States, regional leadership and
security: India, Brazil and South Africa*

Alcides Costa Vaz (Editor)

*J. Borges por J. Borges: gravura e cordel do
Brasil*

Clodo Ferreira (Organizador)

*A teoria da aprendizagem significativa e sua
implementação em sala de aula*

Marco Antonio Moreira

Na Estação Central

Edwin Morgan

(Coleção Poetas do Mundo)

Em *Doença de Chagas e evolução*, o leitor encontra conhecimento científico atualizado, escrito de forma clara e sucinta para especialistas e curiosos, principalmente para o chagásico e sua família. Nele o leitor apreciará os elementos envolvidos na doença de Chagas resultantes de longa cadeia evolutiva, postos juntos pela circunstância há 90 milhões de anos. Hoje, a infecção alcança potencialmente 1.150 espécies de mamíferos permissivos ao protozoário *Trypanosoma cruzi* transmitido pelo triatomíneo, popularmente conhecido como barbeiro, inseto hematófago que desjejua na pele da face. O ameríndio entrou nessa cadeia de transmissão há 9 mil anos. Ao chegarem ao novo continente há cerca de 500 anos, os colonizadores europeus e africanos rapidamente adquiriram a infecção, finalmente descoberta por Carlos Chagas há apenas um século. Hoje, essa doença faz parte da história das famílias que habitam o continente latino-americano há três ou mais gerações, cujos entes sucumbiram ao mal de Chagas. Presentemente, o tratamento é insatisfatório. Porém, a pesquisa continua produzindo conhecimento e ferramentas usadas no combate à infecção. O desalojamento dos barbeiros das residências humanas em alguns ecossistemas reduziu os níveis de infecção espetacularmente. Aspectos intrincados da doença são aqueles que se associam à produção das lesões no coração, no tubo digestivo e no sistema nervoso periférico em um terço dos 18 milhões de pessoas infectadas pelo *T. cruzi*. O assunto está analisado detalhadamente neste livro, cujas ilustrações facilitam a compreensão e geram curiosidade crescente no leitor. Nesse passo da ciência, verifica-se que o controle, o tratamento e a profilaxia da doença de Chagas poderão ser alcançados. O livro mostra como o conhecimento sobre a doença de Chagas – que produz 100 mil mortes por ano e deixa atrás um quadro sombrio de orfandade e desolação – poderá contribuir para minimizar o pavor que esse flagelo ainda provoca.

A publicação desta obra foi apoiada pela Fundação de Empreendimentos Científicos e Tecnológicos - FINATEC.

A FINATEC, instituída no âmbito da Universidade de Brasília em 13 de março de 1992, é uma fundação de apoio sem fins lucrativos que tem por finalidade institucional promover e apoiar o desenvolvimento científico e tecnológico, a transferência de tecnologia, a pós-graduação e a pesquisa.

Cód. EDU 418099

ISBN 85-230-0858-6



9 788523 008581

Editora Universidade de Brasília

ISBN 85-85862-34-3



9 788585 862343

Finatec