

MECANISMOS ESPECÍFICOS DE PATOGENICIDADE DE PROTOZOÁRIOS DE MUCOSA: *ENTAMOEBIA HISTOLYTICA*, *GIARDIA LAMBLIA* E *TRICHOMONAS VAGINALIS*

SPECIFIC PATHOGENIC MECHANISMS OF MUCOSAL PROTOZOANS: *ENTAMOEBIA HISTOLYTICA*, *GIARDIA LAMBLIA* AND *TRICHOMONAS VAGINALIS*

Patrícia de Brum Vieira¹, Clara Lia Costa Brandelli¹,
Carolina De Marco Veríssimo², Tiana Tasca¹

RESUMO

Entamoeba histolytica e *Giardia lamblia* são protozoários que podem parasitar a mucosa intestinal, causando principalmente diarreia. *Trichomonas vaginalis* coloniza a mucosa vaginal causando tricomonose, a doença sexualmente transmissível não viral mais comum no mundo. Embora coletivamente estes parasitos infectem mais de um bilhão de pessoas a cada ano, seus mecanismos de patogenicidade ainda não estão totalmente esclarecidos. Assim, esta revisão reúne os principais mecanismos envolvidos na patogenicidade destes protozoários, bem como os fatores do microambiente que podem interferir no sucesso da colonização. A patogênese da *E. histolytica* envolve adesão, lise, fagocitose de células epiteliais e bactérias, invasão tecidual por ação de enzimas e evasão da resposta imune do hospedeiro. A lectina Gal/GalNAc, os amebaporos e as cisteína proteases são as principais moléculas envolvidas nesses processos. O estabelecimento da giardiose depende de diversos mecanismos patogênicos e de virulência desenvolvidos pela *G. lamblia*, tais como as moléculas envolvidas na adesão, encistamento e variação antigênica. Para o sucesso da colonização da mucosa vaginal, o *T. vaginalis* expressa moléculas como as adesinas de superfície, lipofosfoglicanos e galectina, envolvidas na adesão às células epiteliais vaginais e alteração da expressão gênica, tanto do parasito como do hospedeiro.

Palavras-chave: *Entamoeba histolytica*; *Giardia lamblia*; *Trichomonas vaginalis*; patogenicidade; fatores de virulência; interação parasito-hospedeiro

ABSTRACT

Entamoeba histolytica and *Giardia lamblia* are protozoans that may parasitize the intestinal mucosa, mainly causing diarrhea. *Trichomonas vaginalis* colonizes the vaginal mucosa causing trichomonosis, the most common non-viral sexually transmitted disease in the world. Although collectively these parasites infect over a billion people each year, their pathogenic mechanisms have not been completely understood so far. Hence, this review of the literature demonstrates the main mechanisms involved in the pathogenicity of these protozoans, as well as the microenvironmental factors that can interfere with successful colonization. The pathogenesis of *E. histolytica* involves adhesion, lysis, phagocytosis of epithelial cells and bacteria, tissue invasion by enzymatic action, and evasion of host immune response. Lectin Gal/GalNAc, amoebapores, and cysteine proteases are the main molecules involved in these processes. The establishment of giardiasis depends on several pathogenic mechanisms and virulence developed by *G. lamblia*, such as molecules involved in adhesion, encystation and antigenic variation. For successful colonization of vaginal mucosa, *T. vaginalis* express molecules like adhesins on the surface and galectin and lipophosphoglycan, involved in the adherence to vaginal epithelial cells and altered gene expression of both the parasite and the host.

Keywords: *Entamoeba histolytica*; *Giardia lamblia*; *Trichomonas vaginalis*; pathogenicity; virulence factors; parasite-host interaction

Revista HCPA. 2012;32(1):58-70

¹Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).

²Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, UFRGS.

Contato:

Tiana Tasca
tiana.tasca@ufrgs.br
Porto Alegre, RS, Brasil

Um pequeno grupo de diferentes protozoários parasitos tem impacto significativo na saúde da mucosa de humanos. Este grupo inclui os organismos *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia* (também conhecida como *Giardia intestinalis* e *Giardia duodenalis*) e *Trichomonas vaginalis*. Coletivamente, estes parasitos infectam mais de um bilhão de pessoas cada ano no mundo. A *E. histolytica* é o agente responsável pela amebíase intestinal e pode evoluir para amebíase invasiva extraintestinal, que se apresenta principalmente na forma de abscessos no fígado. Estima-se que cerca de 500 milhões de pessoas estejam infectadas com este protozoário. Contudo, somente 10% dos casos são sintomáticos, sendo que 80 a 98% dos sintomas são intestinais (1). As manifestações clínicas incluem infecção assintomática, diarreia, disenteria, dor abdominal, náuseas, megacólon e abscessos no fígado, pulmão ou cérebro (2,3). O tratamento da amebíase é recomendado pela Organização Mundial da Saúde (OMS) e Organização Pan-Americana da Saúde a todos os pacientes com infecção confirmada por *E. histolytica*, independente da presença de sintomas. A *G. lamblia* é uma das causas de infecções parasitárias mais comuns no mundo, contribuindo para 280 milhões de indivíduos sintomáticos, tendo sido recentemente incluída na lista de Doenças Negligenciadas da OMS (4,5). A giardiose é caracterizada por diarreia aguda ou crônica, dor epigástrica, náusea, vômito e malabsorção, levando à perda de peso, particularmente em crianças (6). Tanto a *E. histolytica* quanto a *G. lamblia* possuem um ciclo de vida simples, com uma forma cística de resistência e o trofozoíto vegetativo, que habita a mucosa intestinal, principalmente. As principais formas de contaminação, para ambos parasitos, incluem a ingestão de água e alimentos contaminados com cistos (7). É impossível definir o diagnóstico da amebíase e da giardiose somente através de dados clínicos, sendo que o mesmo deve ser realizado através de técnicas laboratoriais, principalmente do exame parasitológico de fezes (EPF). O EPF apresenta uma série de vantagens, como a execução por técnicas de baixo custo e rapidez na obtenção do resultado, com consequente início imediato do tratamento (8). O *T. vaginalis* é o agente causador da tricomonose, a doença sexualmente transmissível (DST) não viral mais comum no mundo, acometendo cerca de 170 milhões de pessoas por ano no mundo (9). Em mulheres, a infecção é clinicamente caracterizada por corrimento espumoso e purulento, prurido e odor (10). O patógeno está associado a sérias consequências, incluindo complicações na gravidez e nascimento prematuro (11), infertilidade

(12), predisposição ao câncer cervical (13) e doença inflamatória pélvica (14). A tricomonose também é considerada um agente facilitador da transmissão e aquisição do vírus da imunodeficiência adquirida (HIV) (15,16). Em homens, a tricomonose é geralmente assintomática, caracterizando-os como vetores da doença. Em alguns casos, os sintomas revelam uma uretrite purulenta ou sintomas clinicamente inespecíficos, os quais caracterizam uretrites não-clamidal e não-gonococcal (10,17). Da mesma forma que a amebíase e a giardiose, a tricomonose também exige o diagnóstico laboratorial para confirmação da infecção, incluindo o exame direto a fresco de secreção vaginal e uretral ou urina e/ou a inoculação em meio de cultura, considerado padrão-ouro (18).

Os fármacos de escolha para o tratamento dessas parasitoses são os derivados dos 5'-nitroimidazóis, metronidazol e tinidazol, ambos aprovados pelo Food and Drug Administration (FDA, EUA). O metronidazol é um pró-fármaco e o grupo 5-nitro é reduzido dentro das células ou organelas do parasito por redutases, o que resulta na produção de intermediários radicais-nitro citotóxicos que quebram as fitas de DNA conduzindo à morte do organismo suscetível (19). Outro dado relevante é que a ativação do metronidazol só ocorre sob fortes condições de redução. Embora as taxas de cura sejam expressivas, falhas no tratamento podem ser observadas. Frequentemente, as falhas são atribuídas a não adesão ao tratamento ou reinfecção, porém fatores como a pobre absorção do fármaco ou a biodisponibilidade insuficiente também podem ser motivos de falhas no tratamento (20). O metronidazol penetra na célula através de difusão e a ativação ocorre pela redução do grupamento nitro por ferredoxinas, encontradas somente em organismos anaeróbios, daí sua toxicidade seletiva (21). Portanto, o metronidazol pode ser considerado um pró-fármaco pois requer ativação metabólica. A atividade antimicrobiana provavelmente resulta da formação de intermediários lábeis, quimicamente reativos, produzidos durante a redução do grupo nitro, os quais apresentam efeito citotóxico através de reações com macromoléculas intracelulares, tais como DNA, proteínas e membranas (22). Entretanto, a principal causa de insucesso no tratamento é o desenvolvimento de isolados resistentes de *T. vaginalis*, *G. lamblia* e *E. histolytica*, sendo que a redução nas funções dos hidrogenossomos e atividade da enzima PFOR são os principais mecanismos de resistência observados em organismos anaeróbios como o *T. vaginalis* (23). Entre os isolados de *T. vaginalis*, estima-se que 2 a 5% apresentam resistência (24). Além do desenvolvimento de resistência, o metronidazol pode apresentar uma série de efeitos adversos como

náusea, vômito, diarreia, desconforto abdominal, intolerância ao álcool tipo dissulfiram, vertigens, paralisias, em raros casos encefalopatias ou convulsões, dor de cabeça e leucopenia (7). Helms et al. 2008, do Centers for Disease Control and Prevention, CDC, Atlanta, USA, demonstraram a frequência de efeitos colaterais causados pelo metronidazol em mulheres com tricomonose: urticária (47%) e edema facial (11%) (25). Outro estudo demonstrou que o número de indivíduos com giardiose tratados com metronidazol apresentou significativamente mais efeitos adversos incluindo cefaleia, vômito e tontura que o grupo de indivíduos tratado com albendazol (26). Neste contexto, benzotriazóis e indazóis demonstraram-se promissoras alternativas ao metronidazol no tratamento contra *E. histolytica* (27). Além disso, efeitos mutagênicos e carcinogênicos já foram descritos (28). Neste contexto, o entendimento dos mecanismos de patogênese desses protozoários é muito importante, pois pode identificar novos alvos em potencial para o tratamento dessas parasitoses. Esta revisão tem como objetivo demonstrar os principais mecanismos envolvidos na patogenicidade dos protozoários de mucosa *T. vaginalis*, *G. lamblia* e *E. histolytica*, bem como os fatores do microambiente que podem afetar o sucesso da colonização do sítio de infecção.

ENTAMOEBIA HISTOLYTICA

A patogênese da amebíase requer eventos coordenados que abrangem a adesão dos trofozoítos às células do hospedeiro, lise e fagocitose de células epiteliais e bactérias, destruição e invasão dos tecidos pela ação de enzimas amebianas e liberadas durante a lise dos neutrófilos. Três classes de moléculas amebianas têm sido principalmente apontadas como os principais fatores de virulência da *E. histolytica*: a lectina galactose/N-acetilgalactosamina (Gal/GalNac), os amebaporos e as cisteína proteases (29,30). O desenvolvimento de novas ferramentas de pesquisa e, principalmente o sequenciamento do genoma da *E. histolytica* (31), possibilitou a investigação de genes e novas moléculas que também têm sido implicadas na virulência deste protozoário. A resposta imune do hospedeiro é um outro fator importante na evolução da infecção, visto que os neutrófilos podem desempenhar um papel-chave tanto para o dano tecidual quanto para o controle da infecção amebiana (32).

O primeiro passo para colonização do intestino pela *E. histolytica* é a adesão dos trofozoítos às células epiteliais do cólon. A principal molécula implicada neste processo é a lectina galactose/N-acetilgalactosamina (Gal/GalNac), uma proteína complexa, constituída por uma subunidade pesada de 170-kDa e uma subunidade menor de 30 a 35 kDa, ancorada à superfície externa

da ameba, capaz de se ligar a receptores para lectina nas células do hospedeiro (33,34). A lectina Gal/GalNac possui uma sequência muito similar ao CD59, molécula com a qual possui reatividade cruzada. Como tal, a lectina Gal/GalNac pode impedir a destruição do trofozoíto por sua atividade anti-complemento, através da inibição da formação do complexo de ataque a membrana (MAC) C5b-9 (32,34). Também foi demonstrado que esta lectina funciona como importante agente imunógeno, estimulando a produção de óxido nítrico (ON), interleucina 12 (IL-12) e fator de necrose tumoral (TNF) por macrófagos ativados, favorecendo uma resposta inflamatória no local (35,36) (figura 1A). Possivelmente a lectina Gal/GalNac desempenha um papel na iniciação da resposta imune contra *E. histolytica* (34). A importância da lectina Gal/GalNac para a virulência da *E. histolytica* foi demonstrada em trofozoítos transfectados que não expressavam a lectina Gal/GalNac adequadamente e não foram capazes de desenvolver abscessos hepáticos durante a infecção experimental em hamster (37).

Uma característica da invasão tecidual pela *E. histolytica* é a sua capacidade de lisar as células humanas pelo contato direto e destruir a matriz extracelular (MEC) durante a invasão (38). Uma das moléculas potencialmente envolvidas na citotoxicidade e citólise é o amebaporo. Amebaporos constituem uma família de três pequenos polipeptídeos de 77 aminoácidos, armazenados no interior dos grânulos citoplasmáticos dos trofozoítos e liberados pelo contato com a membrana da célula-alvo. São estrutural e funcionalmente semelhantes às perforinas das células natural killers (NK), contudo possuem cerca de cinco vezes mais capacidade para formar poros (39). Após a adesão dos trofozoítos, os amebaporos causam a lise celular, sem necessidade de interação com um receptor específico na membrana da célula do hospedeiro (40). Ao lisar neutrófilos, os amebaporos contribuem para a resposta inflamatória, já que o conteúdo enzimático liberado dos neutrófilos destruídos pode intensificar a resposta inflamatória, pela liberação de maior quantidade de mediadores químicos (32). Estudos utilizando técnicas de silenciamento epigenético e RNA de interferência (iRNA) têm demonstrado o papel dos amebaporos na virulência da *E. histolytica*, já que após o bloqueio do gene responsável pela expressão desta molécula, os trofozoítos passaram a apresentar fenótipo avirulento (30,34).

Cisteína proteases (CPs) secretadas por *E. histolytica* desempenham um papel fundamental na invasão tecidual, na evasão das defesas do hospedeiro e na indução da inflamação intestinal pelo parasito. Após a adesão e destruição da mucosa do cólon, o processo de invasão dos trofozoítos é mediado pela ação das

CPs, que degradam proteínas da MEC, como colágeno, elastina, fibrinogênio e laminina, eliminando obstáculos mecânicos que dificultariam a invasão (32,41). Redd et al. (42) observaram que a secreção destas proteases é entre 10 e 1000 vezes maior na *E. histolytica*, quando comparada a *E. dispar*, espécie não patogênica. A maior parte da atividade proteolítica detectada na *E. histolytica* é atribuída à expressão dos genes ehcp1, ehcp2, ehcp3 e ehcp5 (43).

As CPs amebianas podem desempenhar um importante papel na resposta inflamatória e dano tecidual do hospedeiro, contribuindo para a colite amebiana através da ativação proteolítica da pré-interleucina-1 β (pIL-1 β), liberada pelo epitélio necrosado. A pIL-1 β clivada forma a citocina ativa, IL-1 β ativada, que induz a expressão de fator nuclear κ B (NF- κ B), que por sua vez leva à secreção de mediadores da inflamação como IL-1, IL-8, TNF e ciclooxigenase (COX), ativando macrófagos e neutrófilos (32,44,45) (Figura 1A). Além disso, as CPs têm uma função fundamental na evasão da resposta imune do hospedeiro, pois podem destruir as anafilatoxinas C3a e C5a, evitando assim a ação do complemento, e ainda clivam IgA e IgG humana, impedindo a resposta imune adaptativa (34,42). Trofozoítos deficientes em produzir CPs apresentam um fenótipo menos virulento, observado por níveis diminuídos de IL-1 e IL-8 e pela redução dos danos teciduais na mucosa intestinal. Esta deficiência pode refletir uma incapacidade em decompor proteínas da MEC, reduzindo o potencial de invasão dos trofozoítos (44).

Em protozoários, fosfoglicanos no glicocálix podem atuar como uma barreira física contra o MAC (34). Lipopeptídeo fosfoglicano (LPPG, do inglês lipopeptidophosphoglycan) é uma macromolécula imunogênica complexa que recobre a superfície do parasito, estando ancorada a uma molécula de glicosilfosfatidilinositol (GPI, do inglês glicosilphosphatidilinositol) (46). O LPPG tem sido convincentemente associado à virulência da *E. histolytica* e pode servir como uma barreira física para os componentes do complemento (3). Estudos que comparam as espécies patogênicas e não patogênicas de *Entamoeba* observaram que a *E. dispar* carece de uma camada superficial significativa de glicocálix (47). Além disso, foi evidenciado que trofozoítos com a síntese de moléculas de GPI bloqueada são altamente sensíveis à ação das moléculas do complemento e não são capazes de formar abscessos no fígado de hamsters, destacando a importância destas moléculas para patogenicidade e resistência do trofozoíto (34).

Receptores Toll-Like (TLRs) são componentes críticos do sistema imunológico inato, aptos a provocar e regular a resposta imune adaptativa. Eles reconhecem

moléculas amplamente distribuídas e conservadas entre os grupos de microrganismos, os chamados "Padrões Moleculares Associados a Patógenos" (PAMPs, do inglês pathogen associated molecular patterns). Este reconhecimento leva à ativação de NF- κ B e conseqüentemente à expressão de citocinas pró-inflamatórias, IL-1, IL-6 e IL-8, bem como a expressão de CD80, uma molécula co-estimulatória necessária para a ativação de linfócitos T (3) (Figura 1A). O LPPG livre, resultante da lise de trofozoítos pela ação de células da imunidade inata, como neutrófilos e macrófagos, pode ser internalizado por macrófagos e células dendríticas, processado e apresentado pelas moléculas do complexo principal de histocompatibilidade (MHC do inglês major histocompatibility complex), induzindo assim uma resposta imune específica (2,3).

Campos-Rodríguez e Jarillo-Luna (48) em seu trabalho sugerem a hipótese de que a patogenicidade da ameba depende da expressão de PAMPs, que não são devidamente reconhecidos pelos mecanismos da imunidade inata do hospedeiro. Desta maneira, os autores destacam o papel decisivo da resposta imune do hospedeiro para a virulência da *E. histolytica*, salientando que tanto a resposta da imunidade inata quanto a adquirida limitam a infecção amebiana e que diferenças genéticas na suscetibilidade à amebíase podem manifestar-se na capacidade destas respostas. Ainda de acordo com a hipótese sugerida, a modulação da patogenicidade por transcrição e expressão dos genes necessários para a síntese das moléculas envolvidas na patogênese poderia ser influenciada por fatores no ambiente do trofozoíto, como níveis de cálcio e ferro, temperatura, pressão alta de oxigênio, bactérias, ligação ao colágeno e inflamação. Ou seja, pressões do ambiente, intrínsecas do hospedeiro, poderiam determinar a expressão de um fenótipo virulento.

De fato, alguns autores têm associado a patogenicidade da *E. histolytica* à fagocitose de bactérias presentes no intestino do hospedeiro. Galván-Moroyoqui et al. (49) estudaram de que maneira a interação ameba-bactérias pode ter efeito sobre a virulência do patógeno e resposta do hospedeiro. Os autores compararam a interação de *E. histolytica* e *E. dispar* com duas cepas de enterobactérias patogênicas, *Escherichia coli* enteropatogênica (EPEC) e , e com *E. coli* não patogênica. Os resultados demonstraram que trofozoítos de *E. histolytica* em associação com bactérias enteropatogênicas apresentaram maior virulência, visto pela melhor capacidade de aderência das amebas às células epiteliais, com subsequente aumento do efeito citopático, assim como pela maior detecção de fatores quimiotáticos para neutrófilos e alteração da barreira epitelial. In vivo, pode-se supor que tais condições podem conferir maior capacidade ao patógeno de

penetrar as camadas epiteliais e manifestar as formas mais graves da doença (Galván-Moroyoqui et al., 2008). Também foi demonstrado que a interação entre a *E. histolytica* e bactérias da flora intestinal, como *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis* e *Neisseria gonorrhoeae*, pode favorecer o metabolismo redutor das amebas e auxiliar na degradação de IgA secretória na mucosa (50).

Atualmente muitos trabalhos têm se concentrado em identificar novos fatores determinantes para a virulência de isolados (34,46,51,52). Evidências revelam que mais de um gene ou fator contribuem para o fenótipo virulento de algumas cepas, visto que existe diferença na virulência não somente entre as espécies, *E. histolytica* e *E. dispar*, mas também inter-espécie, no caso da patogênica *E. histolytica*.

GIARDIA LAMBLIA

A *G. lamblia* possui um ciclo de vida simples, no qual se alterna entre duas formas biológicas e morfologicamente distintas: trofozoítos flagelados que causam a patologia pela colonização do intestino delgado, e os cistos que são resistentes ao ambiente e altamente infecciosos (5,53,54). A infecção geralmente é iniciada pela ingestão do cisto pelo hospedeiro (6). Após a passagem pelo estômago, os trofozoítos emergem do cisto (desencistamento) e estabelecem a infecção duodenal ocasionando os sintomas característicos da giardiose (5). Os trofozoítos podem formar cistos infectantes que, através das fezes do hospedeiro contaminam o ambiente e são ingeridos por outro hospedeiro para propagar o ciclo de vida (55). Fatores de virulência têm sido pouco identificados em *G. lamblia*, mas os principais mecanismos de patogenicidade elucidados até o momento incluem moléculas envolvidas na adesão, encistamento e variação antigênica (figura 1B) (5).

O lúmen do jejuno e duodeno, onde a *G. lamblia* coloniza preferencialmente se replicando aderida ao muco ou a células epiteliais intestinais, é um ambiente muito hostil para microrganismos (56). A adesão é multifatorial e envolve a sucção do disco ventral além de moléculas de superfície que permitem a ligação com receptores nas células epiteliais intestinais do hospedeiro, chamadas de adesinas ou lectinas (57,58). Evidências demonstram que os trofozoítos de *G. lamblia* contêm e/ou liberam enzimas proteolíticas que podem estar envolvidas com a patogenicidade deste parasito (57,59). Atualmente se sabe que a cisteína protease possui um papel importante na adesão dos trofozoítos às células epiteliais (57). Estudos recentes mostram que a giardina alfa-1, uma proteína altamente imunorreativa dependente de cálcio, pode desempenhar um papel fundamental na interação

parasito-hospedeiro (58). Isto porque esta proteína está presente na superfície da membrana dos trofozoítos recém desencistados e possui a capacidade de ligar-se a glicosaminoglicanos (GAGs) do intestino. A maioria dos epítomos presentes na giardina alfa-1, são expostos na superfície da membrana, facilitando o acesso para a interação com as células do hospedeiro. A giardina alfa-1 é abundante em fezes de pacientes com giardiose e novos estudos devem demonstrar se esta proteína, assim como outras lectinas, causa diminuição das microvilosidades do intestino, contribuindo com a fisiopatologia da giardiose (60). Também já foram identificadas três proteínas liberadas pela *G. lamblia* durante a infecção em células intestinais: a arginina deaminase (ADI), a ornitina carbamil transferase (OCT) e a enolase (60). Sabe-se que OCT e ADI são utilizadas para ativar o metabolismo da arginina na geração de energia pela *G. lamblia*. Este mecanismo esgota a arginina do meio ocorrendo depleção da mesma, que induz a apoptose de células humanas e na giardiose, os pacientes apresentam apoptose de células epiteliais intestinais. Além disso, a redução de arginina impede a produção de óxido nítrico (ON) pelas células epiteliais intestinais. O ON é uma molécula com ação antimicrobiana e promove a inibição do encistamento e desencistamento da *G. lamblia*, que poderia interferir na sua transmissão, sugerindo que o parasito evoluiu estratégias para evasão deste potencial mecanismo de defesa do hospedeiro (53). Portanto, a secreção de enzimas do metabolismo da arginina, poderia ser um mecanismo geral utilizado por patógenos de mucosa (60).

O encistamento é um processo de diferenciação de trofozoítos em cistos e é desencadeado por fatores do hospedeiro como altos níveis de bile, baixos níveis de colesterol e pH alcalino (5,6). Em resposta a estes estímulos ambientais, os trofozoítos produzem níveis abundantes de proteínas de parede do cisto (CWPs, do inglês cyst wall proteins) que são empacotadas em vesículas de encistamento específicas (ESVs, do inglês encystation-specific vesicles) (5,55,61). Essas vesículas crescem, amadurecem e trafegam para a membrana plasmática do trofozoíto, onde as CWPs são secretadas para a formação da parede cística (55). Cisteína proteases são indispensáveis no desencistamento e encistamento da *G. lamblia* e a CWP2 é a cisteína protease mais abundante (5). Recentemente descobriu-se que a CP2 é a cisteína protease mais expressa tanto em trofozoítos quanto em cistos de *G. lamblia*, com um aumento dramático durante o encistamento (55). Além disso, a CP2 está co-localizada com as CWPs dentro das ESVs da parede do cisto, sendo, portanto, essencial para o processo de encistamento (figura 1B).

Outro mecanismo adaptativo utilizado pelo

parasito para enfrentar o ambiente hostil do intestino delgado, para infectar uma vasta gama de hospedeiros e evadir o sistema imune do hospedeiro, é conhecido como variação antigênica (54). Este processo permite a contínua mudança de antígenos de superfície altamente imunogênicos, chamados de proteínas variantes de superfície (VSPs, do inglês variant-specific surface proteins) (5,6,54,62). As VSPs recobrem toda a superfície do parasito, incluindo o disco ventral e flagelos, como um compacto revestimento, que fornece uma densa interface entre parasito e hospedeiro (62). Curiosamente, a variação antigênica ocorre não só no intestino do hospedeiro, mas também in vitro (62). A família VSP compreende um repertório de aproximadamente 200 genes e apenas um gene é expresso na superfície do parasito, a qualquer momento. A mudança de VSPs ocorre espontaneamente a cada 6-13 gerações e é sugerido que mecanismos epigenéticos estão envolvidos na regulação das VSPs (5,62). Nos últimos anos, tornou-se evidente que o silenciamento pós-transcricional dos genes VSP acontece por um mecanismo similar ao iRNA, onde várias enzimas estão diretamente envolvidas no silenciamento e/ou transcrição do mRNA (54).

Todos estes mecanismos de patogenicidade desenvolvidos pela *G. lamblia* estão sendo exaustivamente estudados nos últimos anos e muitas informações a serem obtidas através de ferramentas da biologia molecular e mecanismos epigenéticos são promissoras para o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas.

TRICHOMONAS VAGINALIS

O entendimento dos mecanismos envolvidos na infecção e patogênese da tricomonose é baseado no estudo da interação parasito-hospedeiro. O sucesso da colonização da mucosa do hospedeiro pelo *T. vaginalis* é um processo complexo de múltiplos passos, envolvendo distintos mecanismos de interação com macromoléculas, células e tecidos (63). O primeiro passo na colonização das células epiteliais vaginais (CEV) é a interação e ligação à mucina (64), seguido por uma dramática transformação morfológica, passando da forma elipsóide para a forma amebóide, resultando em uma maior superfície de contato (65). Em seguida, ocorrem interações do tipo ligante-receptor entre o *T. vaginalis* e as CEVs. Cinco proteínas de superfície ou adesinas foram identificadas como mediadores na citoaderência, as AP120, 65, 51, 33 e 23, denominadas desta forma conforme o peso molecular (66-68). As adesinas são expressas por uma família de multigenes, indicando a grande importância na geração de um elevado número de moléculas protéicas bem como na diversidade funcional dessas proteínas, visto que

estas i) possuem função de adesinas durante a adesão do parasito às células epiteliais; ii) possuem atividade metabólica, pois apresentam grande homologia com as enzimas hidrogenossomais como a piruvato:ferredoxina oxidoreductase (PFOR), enzima málica e subunidades alfa- e beta-succinil-CoA sintetase; iii) podem mediar a ligação à hemoglobina para a aquisição de ferro, principalmente durante ciclo menstrual devido à grande disponibilidade de eritrócitos, visto que o ferro é um nutriente essencial para o parasito; e iv) são consideradas moléculas mimetizadoras (69), pois possuem grande identidade com enzimas do hospedeiro, com exceção da AP120 (68,70,71). A interação parasito-hospedeiro mediada pelas adesinas é do tipo ligante-receptor, no entanto, até o momento nenhum receptor nas CEVs para as adesinas foi identificado. Entretanto, Garcia e Alderete (72) demonstraram que a AP65 e possivelmente as outras adesinas, podem ser secretadas antes da ligação do parasito. Conforme o modelo proposto, a AP65 é secretada no meio extracelular e liga-se como um monômero ou dímero a um sítio específico na superfície do parasito. Na forma dimérica a AP65 possui uma extremidade N-terminal livre que se liga no sítio específico de ligação na superfície das CEVs (figura 1C).

O processo de citoaderência do *T. vaginalis* às células epiteliais vaginais modula a expressão gênica de proteínas funcionais das células hospedeiras associadas à manutenção da estrutura celular, componentes da MEC, moléculas pró-inflamatórias e pró-apoptóticas (67). Dentre os genes cuja expressão foi aumentada após a interação com o parasito, destacam-se os genes que codificam i) a fibronectina, uma glicoproteína constituinte da MEC; ii) IL-8, uma citocina pró-inflamatória que possui efeitos estimulantes e quimiotáticos em células T e sua produção está aumentada em neutrófilos e monócitos após contato com *T. vaginalis* (73); iii) a COX-2, molécula pró-inflamatória que inibe a apoptose e iv) a proteína quimiotática de monócitos (MCP-1), citocina capaz de induzir resposta em células T. O parasito pode utilizar componentes da MEC e membrana basal, como fibronectina e laminina, para o estabelecimento da colonização e infecção persistente, como demonstrado por Crouch e Alderete (74). Considerando a indução da expressão de genes que codificam a fibronectina, que medeia a interação dos parasitos às células epiteliais vaginais, pode-se considerar esse mecanismo como uma via alternativa às adesinas para a colonização do epitélio vaginal. A tricomonose é caracterizada por intensa inflamação (75) e a IL-8 foi encontrada no corrimento de pacientes (76). Assim como demonstrado, a produção de IL-8 está aumentada em neutrófilos induzidos por *T. vaginalis* (73), dessa forma a maior

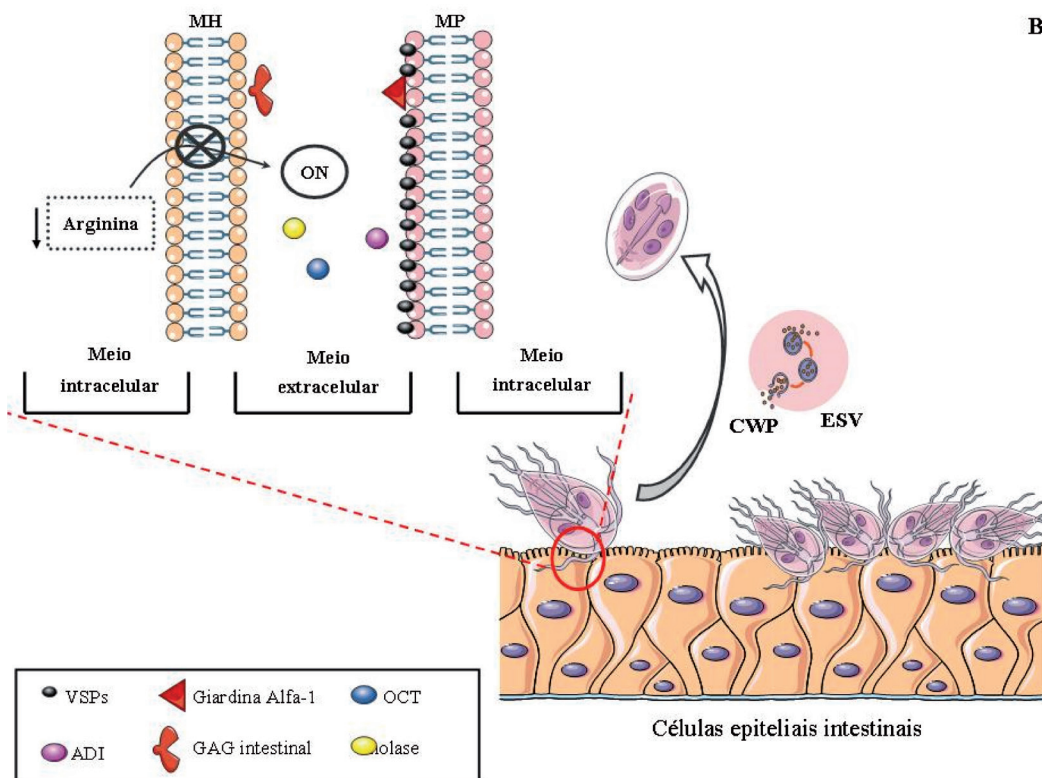
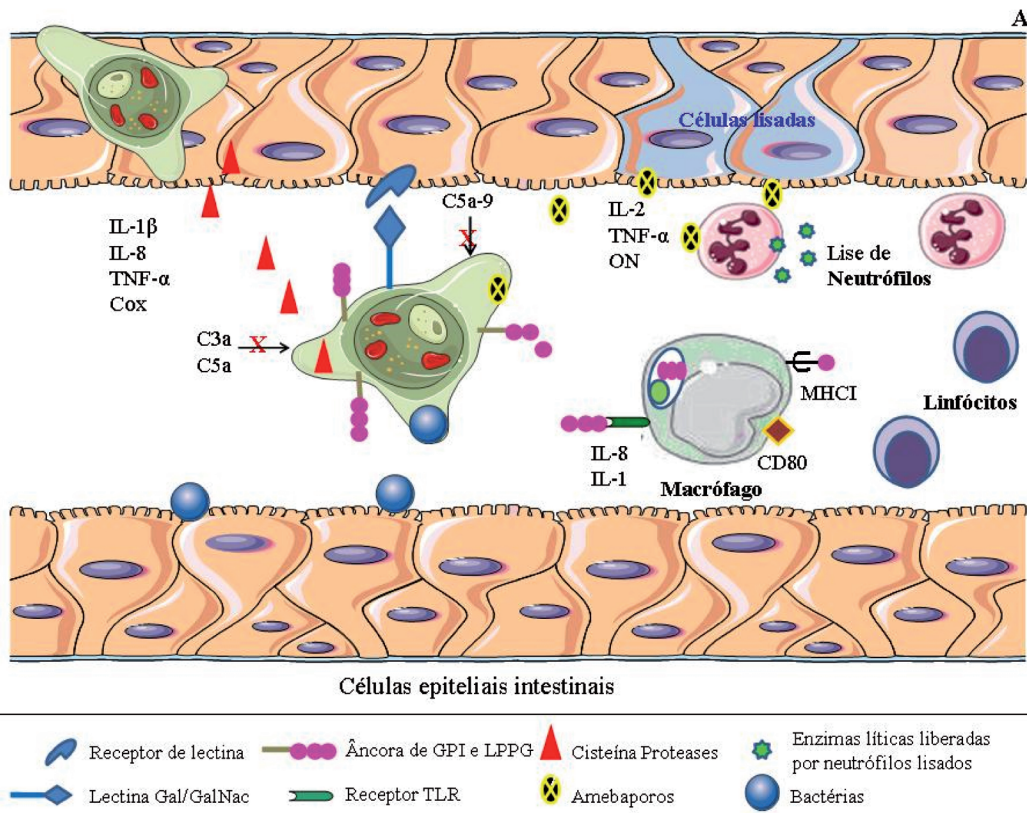
produção de IL-8 induz um maior recrutamento de neutrófilos para o sítio de inflamação, estes entram em contato com *T. vaginalis* e liberam mais IL-8, resultando na exacerbação da inflamação. A MCP-1 auxilia no recrutamento de células para o sítio de infecção, no entanto, pouco se sabe. Estudos demonstram a relação entre *T. vaginalis* e câncer cervical (13) e uma possível relação com a COX-2 pode ser inferida, visto que esta molécula inibe a apoptose, promove a proliferação de células cancerígenas e angiogênese, porém mais estudos são necessários para confirmar essa hipótese.

A superfície do *T. vaginalis* é coberta por uma molécula glicosilada, o lipofosfoglicano (LPG, do inglês *Lipophosphoglycan*), o qual desempenha um papel importante na adesão e citotoxicidade do parasito ao epitélio vaginal. O LPG está ancorado à superfície do trofozoíto por uma âncora de ceramida fosfoinositol (CPI, do inglês *Ceramide Phospho-Inositol*) e contém principalmente lipídios e carboidratos, sendo que os carboidratos mais abundantes são a galactose e a N-acetilgalactosamina e constituem porções repetidas de poli-N-acetilactosamina (77), importante para interação com possíveis receptores nas células epiteliais, como será discutido a seguir. O LPG induz a liberação de IL-8, desencadeando o mecanismo já discutido anteriormente. Ocorre indução do NF- κ , o qual ativa mediadores aumentando a atividade pró-inflamatória. Além do papel na inflamação, o LPG correlaciona-se com a adesão do parasito às células epiteliais. As frações repetidas de poli-N-acetilactosamina agem como ligantes para lectinas de ligação a β -galactosídeos, como vários membros da família das galectinas. As galectinas são expressas em vários tipos celulares e, em recente estudo, foi demonstrada a presença da galectina-1 (GAL-1) em células epiteliais, a qual medeia a interação parasito-hospedeiro. As galectinas são proteínas homodiméricas, onde uma subunidade liga-se à superfície do parasito mediada pelas frações de poli-N-acetilactosamina,

enquanto a outra subunidade se liga à célula do hospedeiro através de açúcares similares na superfície das CEVs (figura 1C), esta ligação forma uma efetiva ponte entre parasito-hospedeiro (78).

Todos os organismos vivos, desde os mais primitivos até os mais complexos, requerem o ferro para muitas funções biológicas como: transporte de oxigênio, síntese de DNA, transporte de elétrons e reações metabólicas. No entanto, os níveis de ferro devem ser rigorosamente regulados, pois esse cátion reage com o oxigênio e produz espécies reativas que causam danos oxidativos a proteínas e ácidos nucleicos (79). O *T. vaginalis* possui múltiplos sistemas de aquisição de ferro, como a presença de um receptor de ligação com a holo-lactoferrina do hospedeiro e receptores para hemoglobina, hemina, heme e adesinas dos eritrócitos e células epiteliais (68,80,81). Neste contexto, o ferro exerce um papel fundamental na modulação da patogênese da tricomonose e corroborando com este fato, os sintomas da tricomonose são pronunciados no período pós-menstrual, no qual o parasito adquire o ferro a partir dos eritrócitos (10). Na presença de ferro a citoaderência está aumentada visto que o ferro provoca um aumento na síntese das adesinas AP120, 65, 51, 33 e 23 e modula a compartimentalização das mesmas (68-70), regula proteínas tipo-fibronectina presentes na superfície do parasito (82) e aumenta a resistência ao complemento (65). No entanto, os níveis de ferro devem ser precisamente regulados para evitar os danos oxidativos. Assim, um sistema de regulação tipo IRE/IRP (elementos responsivos ao ferro/proteína regulatória de ferro) pós-transcricional foi identificado em *T. vaginalis* o qual está inativado em meio com baixas concentrações de ferro (79).

Coletivamente esses dados refletem a complexidade do mecanismo de patogênese do *T. vaginalis* e o entendimento desses mecanismos possibilita a descoberta de potenciais novos sítios-alvo para o tratamento desta parasitose.



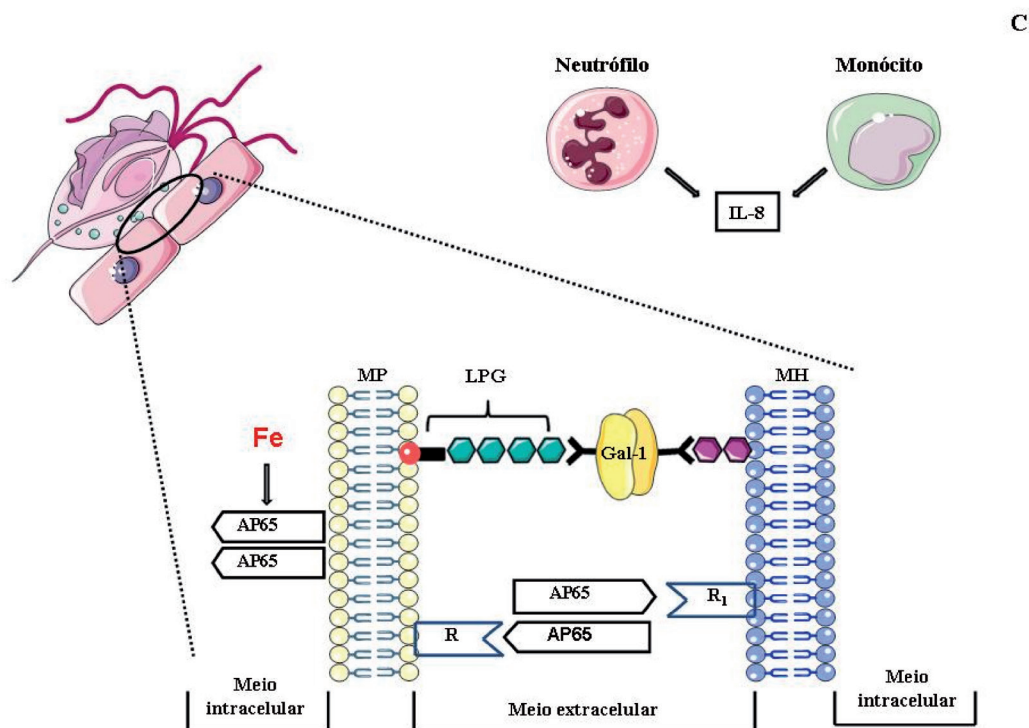


Figura 1 - Esquema representativo dos principais mecanismos de patogenicidade de A) *E. histolytica*. Adesão dos trofozoítos pela interação da lectina Gal/GalNac com o receptor de lectina na célula do hospedeiro e liberação de mediadores químicos para o meio; Liberação dos Amebaporos e lise das células da mucosa e de neutrófilos; as CPs auxiliam na invasão tecidual da ameba e na evasão da resposta imune do hospedeiro; reconhecimento do LPPG por macrófagos, via TLR, fagocitose e apresentação na molécula via MHC, ativando linfócitos. B) *G. lamblia*. Adesão dos trofozoítos às células epiteliais intestinais do hospedeiro: interação giardina alfa-1 e GAG intestinal; liberação de ADI, OCT e enolase, esgotando a arginina do meio e depleção de ON; encistamento: CWP secretadas por ESV para formação da parede cística resistente ao ambiente; variação antigênica: por expressão de VSPs em toda a superfície do parasito; C) *T. vaginalis*. LPG: lipofosfoglicano; Gal-1: galectina-1; AP65: adesina de 65 kDa; R e R1: sítio específico de ligação da AP65 à superfície do parasito e hospedeiro, respectivamente. MP: membrana do parasito; MH: membrana do hospedeiro. (Elementos gráficos utilizados na construção do esquema obtidos através do site www.servier.fr).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Amebíase, giardiose e tricomonose são consideradas problemas de saúde pública, principalmente nos países em desenvolvimento. Um crescente número de casos de resistência aos fármacos utilizados no tratamento destas parasitoses tem sido relatado e assim, a pesquisa por alternativas para o tratamento, bem como novos alvos terapêuticos, é requerida. Nesse contexto, o entendimento dos mecanismos de patogênese destes parasitos é de grande importância.

Nesta revisão, observou-se que uma grande variedade de moléculas pode contribuir para a virulência destes protozoários, contudo etapas-chave comuns aos três parasitos são requisitos para o sucesso da infecção, como é o caso da adesão e evasão do sistema imune, que dependem da interação de moléculas do parasito com receptores do hospedeiro. Além de moléculas intrínsecas aos parasitos, é importante destacar o papel fundamental do sistema imunológico, principalmente em relação à inflamação, e de fatores do microambiente das mucosas do hospedeiro, os

quais estão sendo extensivamente estudados e cada vez mais associados à patogênese destas parasitoses. Caracterizar estas moléculas e desvendar os mecanismos por elas exercidos quando em contato com o hospedeiro certamente favorecerá o desenvolvimento de alternativas de tratamento e prevenção cada vez mais eficazes, além de novos

marcadores para o diagnóstico. Educação em saúde, saneamento básico e hábitos de higiene, para amebíase e giardiose, e a prática de sexo seguro através do uso de preservativos para evitar a tricomonose, são medidas preventivas que devem ser estimuladas entre a população.

REFERÊNCIAS

1. Araujo J, García ME, Díaz-Suárez O, Urdaneta H. Amebiasis: importance of the diagnosis and treatment. Minireview. *Investigacion Clinica*. 2008; 49:265-71
2. Baxt LA, Singh U. New insights into *Entamoeba histolytica* pathogenesis. *Curr Opin Infect Dis*. 2008;21:489-94. 410.1097 / QCO.1090b1013 e32830ce32875f
3. Wong-Baeza I, Alcantara-Hernandez M, Mancilla-Herrera I, Ramirez-Saldivar I, Arriaga-Pizano L, Ferat-Osorio E, et al. The Role of Lipopeptidophosphoglycan in the Immune Response to *Entamoeba histolytica*. *J Biomed Biotechnol*. 2010.
4. Savioli L, Smith H, Thompson A. *Giardia* and *Cryptosporidium* join the "Neglected Diseases Initiative". *Trends Parasitol*. 2006;22:203-8.
5. Ankarklev J, Jerlström-Hultqvist J, Ringqvist E, Troell K, Svärd SG. Behind the smile: cell biology and disease mechanisms of *Giardia* species. *Nat Rev Microbiol*. 2010;8:413-22.
6. Adam RD. Biology of *Giardia lamblia*. *Clin Microbiol Rev*. 2001;14:447-75.
7. Ali V, Nozaki T. Current Therapeutics, Their Problems, and Sulfur-Containing-Amino-Acid Metabolism as a Novel Target against Infections by "Amitochondriate" Protozoan Parasites. *Clin Microbiol Rev* 2007;20:164-87.
8. De Carli GA. Parasitologia Clínica: Seleção de Métodos e Técnicas de Laboratório para o Diagnóstico das Parasitoses Humanas. In: *Análise macroscópica e microscópica de espécimes fecais frescos e preservados*. 2nd ed. São Paulo: Atheneu; 2007. Pp. 29-82.
9. WHO. World Health Organization. Global prevalence and incidence of selected curable sexually transmitted infections. Overview and Estimates, WHO/HIV_AIDS/2001.02 and WHO/CDS/CSR/EDC/2001.10. In; 2001.
10. Petrin D, Delgaty K, Bhatt R, Garber G. Clinical and Microbiological Aspects of *Trichomonas vaginalis*. *Clin Microbiol Rev* 1998;11:300-17.
11. Klebanoff MA, Carey JC, Hauth JC, Hillier SL, Nugent RP, Thom EA, et al. The National Institute of Child Health Human Development Network of Maternal-Fetal Medicine U. Failure of Metronidazole to Prevent Preterm Delivery among Pregnant Women with Asymptomatic *Trichomonas vaginalis* Infection. *N Engl J Med*. 2001;345:487-93.
12. Grodstein F, Goldman MB, Cramer DW. Relation of Tubal Infertility to History of Sexually Transmitted Diseases. *American J Epidemiol*. 1993;137:577-84.
13. Viikki M, Pukkala E, Nieminen P, Hakama M. Gynaecological infections as risk determinants of subsequent cervical neoplasia. *Acta Oncol*. 2000;39:71-5.
14. Cherpes TL, Wiesenfeld HC, Melan MA, Kant JA, Cosentino LA, Meyn LA, et al. The Associations Between Pelvic Inflammatory Disease, *Trichomonas vaginalis* Infection, and Positive Herpes Simplex Virus Type 2 Serology. *Sex Transm Dis*. 2006;33:747-52.
15. Sorvillo F, Smith L, Kerndt P, Ash L. *Trichomonas vaginalis*, HIV, and Africans. *Emerg Infect Dis*. 2001;7:927-32.
16. Van Der Pol B, Kwok C, Pierre-Louis B, Rinaldi A, Salata Robert A, Chen P-L, et al. *Trichomonas vaginalis* Infection and Human Immunodeficiency Virus Acquisition in African Women. *J Infect Dis*. 2008;197:548-54.
17. Bakare RA, Ashiru JO, Adeyemi-Doro FA, Ekweozor CC, Oni AA, Okesola AO, Adebayo JA. Non-gonococcal urethritis (NGU) due to *Trichomonas vaginalis* in Ibadan. *West Afr J Med*. 1999;18:64-8.
18. De Carli GA, Tasca T. *Trichomonas vaginalis*. In: De Carli, GA, editor. *Parasitologia Clínica: Seleção de Métodos e Técnicas de Laboratório para o Diagnóstico das Parasitoses Humanas*. 2 ed. Rio de Janeiro: Atheneu; 2007. Pp. 453-72.
19. Kulda J. *Trichomonads*, hydrogenosomes and drug resistance. *Int J Parasitol*. 1999;29:199-212.
20. Lumsden WHR, Robertson DHH, Heyworth R, Harrison C. Treatment failure in *Trichomonas vaginalis* vaginitis. *Genitourin Med* 1988;64:217-8.
21. Kulda J. *Trichomonads*, hydrogenosomes and drug resistance. *Int J Parasitol*. 1999;29:199-212.
22. Edwards DI. Nitroimidazole drugs – action and resistance mechanisms. I. Mechanisms of action. *J Antimicrob Chem*. 1993;31:9-20.

23. Borst P, Ouellette M. New Mechanisms of Drug-resistance in Parasitic Protozoa. *Annu Rev Microbiol.* 1995;49:427-60.
24. Centers for Disease Control and Prevention. Sexually Transmitted Diseases Treatment Guidelines. *MMWR* 2006;55(No. RR-11):1-93.
25. Helms DJ, Mosure DJ, Secor WE, Workowski KA. Management of *Trichomonas vaginalis* in women with suspected metronidazole hypersensitivity. *Am J Obstet Gynecol.* 2008;198:370.e1-7.
26. Cañete R, Rodríguez P, Mesa L, Brito K, Prior A, Guilhem D, et al. Albendazole versus metronidazole in the treatment of adult giardiasis: a randomized, double-blind, clinical trial. *Curr Med Res Opin.* No prelo 2011.
27. López-Vallejo F, Castillo R, Yépez-Mulia L, Medina-Franco JL. Benzotriazoles and indazoles are scaffolds with biological activity against *Entamoeba histolytica*. *J Biomol Screen.* 2011;16:862-8.
28. Alizadeh A, Ranjbar M, Kashani KM, Taheri MM, Bodaghi M. Albendazole versus metronidazole in the treatment of patients with giardiasis in the Islamic Republic of Iran. *Eastern Mediterranean Region Epidemiol bulletin.* 2006;12:548-54.
29. Lejeune M, Rybicka JM, Chadee K. Recent discoveries in the pathogenesis and immune response toward *Entamoeba histolytica*. *Future Microbiol.* 2009;4:105-18.
30. Mirelman D, Anbar M, Bracha R. Trophozoites of *Entamoeba histolytica* epigenetically silenced in several genes are virulence-attenuated. *Parasite* 2008;15:266-74.
31. Loftus B, Anderson I, Davies R, Alsmark UCM, Samuelson J, Amedeo P, et al. The genome of the protist parasite *Entamoeba histolytica*. *Nature.* 2005;433:865-8.
32. Stanley SL, Reed SL. VI. *Entamoeba histolytica*: parasite-host interactions. *American Journal of Physiology* - Gastrointestinal Liver Physiol. 2001;280:G1049-54.
33. Vines RR, Ramakrishnan G, Rogers JB, Lockhart LA, Mann BJ, Petri Jr WA. Regulation of Adherence and Virulence by the *Entamoeba histolytica* Lectin Cytoplasmic Domain, Which Contains a beta 2 Integrin Motif. *Mol Biol Cell.* 1998; 9:2069-79.
34. Santi-Rocca J, Rigotherier M-C, Guillen N. Host-Microbe Interactions and Defense Mechanisms in the Development of Amoebic Liver Abscesses. *Clin Microbiol Rev.* 2009;22:65-75.
35. Campbell D, Mann BJ, Chadee K. A subunit vaccine candidate region of the *Entamoeba histolytica* galactose-adherence lectin promotes interleukin-12 gene transcription and protein production in human macrophages. *European Journal Immunol.* 2000;30:423-30.
36. Seguin R, Mann BJ, Keller K, Chadee K. The tumor necrosis factor alpha-stimulating region of galactose-inhibitable lectin of *Entamoeba histolytica* activates gamma interferon-primed macrophages for amebicidal activity mediated by nitric oxide. *Infect Immun.* 1997;65:2522-7.
37. Blazquez S, Rigotherier M-C, Huerre M, Guillén N. Initiation of inflammation and cell death during liver abscess formation by *Entamoeba histolytica* depends on activity of the galactose/N-acetyl-d-galactosamine lectin. *Int J Parasitol.* 2007;37:425-33.
38. Talamas-Rohana P, Meza I. Interaction between pathogenic amebas and fibronectin: substrate degradation and changes in cytoskeleton organization. *J Cell Biol.* 1988;106:1787-94.
39. Leippe M, Ebel S, Schoenberger OL, Horstmann RD, Müller-Eberhard HJ. Pore-forming peptide of pathogenic *Entamoeba histolytica*. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 1991; 88:7659-63.
40. Leippe M, Bahr E, Tannich E, Horstmann RD. Comparison of pore-forming peptides from pathogenic and nonpathogenic *Entamoeba histolytica*. *Mol Biochem Parasitol* 1993;59:101-9.
41. Que X, Reed SL. The role of extracellular cysteine proteinases in pathogenesis of *Entamoeba histolytica* invasion. *Parasitology Today.* 1997;13:190-4.
42. Reed SL, Keene WE, McKerrow JH. Thiol proteinase expression and pathogenicity of *Entamoeba histolytica*. *J Clin Microbiol.* 1989;27:2772-7.
43. Reed SL, Ember JA, Herdman DS, DiScipio RG, Hugli TE, Gigli I. The extracellular neutral cysteine proteinase of *Entamoeba histolytica* degrades anaphylatoxins C3a and C5a. *J Immunol.* 1995;155:266-74.
44. Zhang Z, Le Y, Wang L, Seydel KB, Li E, Ankri S, et al. *Entamoeba histolytica* cysteine proteinases with interleukin-1 beta converting enzyme (ICE) activity cause intestinal inflammation and tissue damage in amoebiasis. *Molecular Microbiol.* 2000;37:542-8.
45. Seydel KB, Li E, Swanson PE, Stanley SLJ. Human intestinal epithelial cells produce pro-inflammatory cytokines in response to infection in SCID mouse human intestinal xenograph model of amoebiasis. *Infect Immunol.* 1997;65:1631-9.
46. Vivanco-Cid H, Alpuche-Aranda C, Wong-Baeza I, Rocha-Ramírez LM, Rios-Sarabia N, Estrada-García I, et al. Lipopeptide phosphoglycan from *Entamoeba histolytica* activates human macrophages and dendritic cells and reaches their late endosomes. *Parasite Immunol.* 2007;29:467-74.
47. Espinosa-Cantellano M, Martínez-Palomo A. Pathogenesis of Intestinal Amebiasis: From Molecules to Disease. *Clin Microbiol Rev.* 2000;13:318-31.
48. Campos-Rodríguez R, Jarillo-Luna A. The pathogenicity of *Entamoeba histolytica* is related to the capacity of evading innate immunity. *Parasite Immunol.* 2005;27:1-8.

49. Galvan-Moroyoqui JM, Dominguez-Robles MdC, Franco E, Meza I. The Interplay between Entamoeba and Enteropathogenic Bacteria Modulates Epithelial Cell Damage. *PLoS Neglected Tropical Disease*. 2008;2:e266.
50. Tekwani BL, Mehlotra RK. Molecular basis of defence against oxidative stress in Entamoeba histolytica and Giardia lamblia. *Microbes and Infection*. 1999;1:385-94.
51. Gutiérrez-Alarcón A, Moguel-Torres M, Mata-Leyva O, Cuellar-Nevárez G, Siqueiros-Cendón T, Erosa G, et al. Entamoeba histolytica: Inflammatory process during amoebic liver abscess formation involves cyclooxygenase-2 expression in macrophages and trophozoites. *Exp Parasitol*. 2006;114:154-9.
52. Davis PH, Zhang X, Guo J, Townsend RR, Stanley SL. Comparative proteomic analysis of two Entamoeba histolytica strains with different virulence phenotypes identifies peroxiredoxin as an important component of amoebic virulence. *Molecular Microbiol*. 2006;61:1523-32.
53. Eckmann L, Laurent F, Langford TD, Hetsko ML, Smith JR, Kagnoff MF, et al. Nitric Oxide Production by Human Intestinal Epithelial Cells and Competition for Arginine as Potential Determinants of Host Defense Against the Lumen-Dwelling Pathogen Giardia lamblia. *J. Immunol*. 2000;164:1478-87.
54. Puccia CG, Lujan HD. Antigenic variation in Giardia lamblia. *Cell Microbiol*. 2009;11:1706-15.
55. DuBois KN, Abodeely M, Sakanari J, Craik CS, Lee M, McKerrow JH, et al. Identification of the Major Cysteine Protease of Giardia and Its Role in Encystation. *J Biol Chemistry*. 2008;283:18024-31.
56. Roxström-Lindquist K, Palm D, Reiner D, Ringqvist E, Svärd SG. Giardia immunity - an update. *Trends Parasitol*. 2006;22:26-31.
57. Rodriguez-Fuentes GB, Cedillo-Rivera R, Fonseca-Linan R, Arguello-Garcia R, Munoz O, Ortega-Pierres G, Yopez-Mulia L. Giardia duodenalis: analysis of secreted proteases upon trophozoite-epithelial cell interaction in vitro. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* 2006;101:693-6.
58. Weiland MEL, Palm JED, Griffiths WJ, McCaffery JM, Svärd SG. Characterisation of alpha-1 giardin: an immunodominant Giardia lamblia annexin with glycosaminoglycan-binding activity. *Int J Parasitol*. 2003;33:1341-51.
59. de Carvalho T, David É, Coradi S, Guimarães S. Protease activity in extracellular products secreted in vitro by trophozoites of Giardia duodenalis. *Parasitol Res*. 2008;104:185-90.
60. Ringqvist E, Palm JED, Skarin H, Hehl AB, Weiland M, Davids BJ, et al. Release of metabolic enzymes by Giardia in response to interaction with intestinal epithelial cells. *Mol Biochem Parasitol*. 2008;159:85-91.
61. Lauwaet T, Davids BJ, Reiner DS, Gillin FD. Encystation of Giardia lamblia: a model for other parasites. *Current Opinion in Microbiology* 2007;10:554-9.
62. Nash TE. Surface antigenic variation in Giardia lamblia. *Molecular Microbiology* 2002;45:585-90.
63. Alderete JF, Nguyen J, Mundodi V, Leher MW. Heme-iron increases levels of AP65-mediated adherence by Trichomonas vaginalis. *Microb Pathog*. 2004;36:263-71.
64. Leher MW, Sweeney D. Trichomonad invasion of the mucous layer requires adhesins, mucinases, and motility. *Sex Transm Infect*. 1999;75:231-8.
65. Alderete JF, Garza GE. Identification and properties of Trichomonas vaginalis proteins involved in cytoadherence. *Infect Immun*. 1988;56:28-33.
66. Engbring J, Alderete JF. Three genes encode distinct AP33 proteins involved in Trichomonas vaginalis cytoadherence. *Molecular Microbiology* 1998; 28:305-13.
67. Kucknoor AS, Mundodi V, Alderete JF. Adherence to human vaginal epithelial cells signals for increased expression of Trichomonas vaginalis genes. *Infect Immun*. 2005;73:6472-8.
68. Moreno-Brito V, Yáñez-Gómez C, Meza-Cervantez P, Ávila-González L, Rodríguez MA, Ortega-López J, et al. A Trichomonas vaginalis 120kDa protein with identity to hydrogenosome pyruvate:ferredoxin oxidoreductase is a surface adhesin induced by iron. *Cellular Microbiol*. 2005;7:245-58.
69. Alderete JF, Millsap KW, Leher MW, Benchimol M. Enzymes on microbial pathogens and Trichomonas vaginalis: molecular mimicry and functional diversity. *Cellular Microbiol*. 2001;3:359-70.
70. Alderete JF, Provenzano D, Leher MW. Iron mediates Trichomonas vaginalis resistance to complement lysis. *Microb Pathog*. 1995;19:93-103.
71. Engbring JA, Alderete JF. Characterization of Trichomonas vaginalis AP33 adhesin and cell surface interactive domains. In; 1998:3011-8.
72. Garcia A, Alderete JF. Characterization of the Trichomonas vaginalis surface-associated AP65 and binding domain interacting with trichomonads and host cells. *BMC Microbiology* 2007;7:116.
73. Ryu J-S, Kang J-H, Jung S-Y, Shin M-H, Kim J-M, Park H, et al. Production of Interleukin-8 by Human Neutrophils Stimulated with Trichomonas vaginalis. *Infect Immun*. 2004;72:1326-32.
74. Crouch M-L, Alderete JF. Trichomonas vaginalis interactions with fibronectin and laminin. *Microbiology*. 1999;145:2835-43.
75. Krieger JN. Urologic aspects of trichomoniasis. *Investigative Urology* 1981;18:411-7.
76. Shaio MF, Lin PR. Leucotriene B4 levels in the vaginal discharges from cases

- of trichomoniasis. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*. 1995;89:85-8.
77. Singh B, Hayes G, Lucas J, Sommer U, Viseux N, Mirgorodskaya E, et al. Structural details and composition of *Trichomonas vaginalis* lipophosphoglycan in relevance to the epithelial immune function. *Glycoconjugate Journal*. 2009;26:3-17.
78. Okumura CYM, Baum LG, Johnson PJ. Galectin-1 on cervical epithelial cells is a receptor for the sexually transmitted human parasite *Trichomonas vaginalis*. *Cellular Microbiol*. 2008;10:2078-90.
79. Torres-Romero JC, Arroyo R. Responsiveness of *Trichomonas vaginalis* to iron concentrations: evidence for a post-transcriptional iron regulation by an IRE/IRP-like system. *Infection, Genetics and Evolution*. 2009;9:1065-74.
80. Ardalan S, Craig Lee B, Garber GE. *Trichomonas vaginalis*: The adhesins AP51 and AP65 bind heme and hemoglobin. *Exp Parasitol*. 2009;121:300-6.
81. Lehker MW, Arroyo R, Alderete JF. The regulation by iron of the synthesis of adhesins and cytoadherence levels in the protozoan *Trichomonas vaginalis*. *J Experim Medic*. 1991;174:311-8.
82. Crouch MLV, Benchimol M, Alderete JF. Binding of fibronectin by *Trichomonas vaginalis* is influenced by iron and calcium. *Microb Pathog*. 2001;31:131-44.

Recebido: 22/08/2011

Aceito: 28/03/2012