

Universidade Federal do Triângulo Mineiro - UFTM
Instituto de Ciências Biológicas e Naturais – ICBN
Curso de Pós-graduação em Ciências Fisiológicas

Tamires Marielem de Carvalho Costa

Efeitos imunossupressores da saliva do carrapato *Amblyomma cajennense* em células
dendríticas murinas

Uberaba

2014

Tamires Marielem de Carvalho Costa

Efeitos imunossupressores da saliva do carrapato *Amblyomma cajennense* em células dendríticas murinas

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas, da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, como requisito parcial para obtenção do título de mestre.

Área de concentração: Imunologia, Microbiologia e Parasitologia

Orientador: Prof. Dr. Carlo José Freire de Oliveira

Uberaba

2014

**Catálogo na fonte: Biblioteca da Universidade Federal do
Triângulo Mineiro**

C876e Carvalho-Costa, Tamires Marielem de
Efeitos imunossupressores da saliva do carrapato *Amblyomma cajennense*
em células dendríticas murinas / Tamires Marielem de Carvalho Costa. --
2014.
82 f. : il., fig., graf.

Dissertação (Mestrado em Ciências Fisiológicas) -- Universidade Fede-
ral do Triângulo Mineiro, Uberaba, MG, 2014
Orientador: Prof. Dr. Carlo José Freire de Oliveira

1. Carrapatos. 2. *Amblyomma cajennense*. 3. Saliva. 4. Células dendríticas.
I. Oliveira, Carlo José Freire de. II. Universidade Federal do Triângulo Mi-
neiro. III. Título.

CDU 595.42

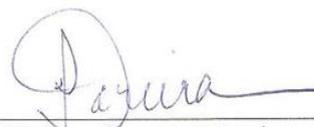
Tamires Marielem de Carvalho Costa

Efeitos imunossupressores da saliva de carrapato *Amblyomma cajennense* em células dendríticas murinas

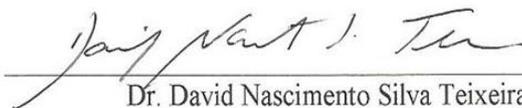
Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas, da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, como requisito parcial para obtenção do título de mestre.
Área de concentração: Imunologia, Microbiologia e Parasitologia.

12 de Setembro de 2014.

Banca Examinadora:



Dra. Vanessa Carregaro Pereira
FMRP/USP, Ribeirão Preto – SP



Dr. David Nascimento Silva Teixeira
Universidade Federal do Triângulo Mineiro



Dr. Carlo José Freire de Oliveira - Orientador
Universidade Federal do Triângulo Mineiro

Dedico este trabalho aos meus pais, José e Zélia, ao meu marido, João e aos meus irmãos Thayson, Tharles e Thiago. Obrigada por acreditarem em mim e pelo amor que nos une.

AGRADECIMENTOS

A Deus...

Ao meu orientador Prof. Dr. Carlo José Freire de Oliveira pela oportunidade, incentivo e generosidade em transmitir seus conhecimentos a mim, por sempre me motivar a ir além da “fronteira do conhecimento”. Obrigada pela confiança, pelo exemplo e pelo crescimento. Obrigada por me tornar diferente do que eu era.

Ao Prof. Dr. Virmondes Rodrigues Júnior por ceder a estrutura laboratorial que permitiu a execução de todos os experimentos.

A Profa. Dra. Ana Anhô, pela capacidade de transmitir seus conhecimentos tão generosamente, pela motivação, apoio e amizade.

Ao Prof. Ramirez, por me estimular a ser melhor, pelo acolhimento e por acreditar que eu poderia contribuir para a ciência.

Ao Prof. Lazo, por nos ceder os animais utilizados neste trabalho.

A todos os docentes da Pós-graduação da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, pelos ensinamentos transmitidos.

Aos funcionários do laboratório de imunologia e parasitologia pelo apoio técnico prestado. Em especial à Cidinha pelo auxílio com a esterilização dos materiais, e à Mônica e Betânia, pela disponibilidade.

A todos os colegas do laboratório de imunologia e parasitologia, por contribuírem direta ou indiretamente com este trabalho, pelo acolhimento, amizade e risadas.

A todos os colegas de pós-Graduação (Ciências Fisiológicas), pelo companheirismo nas disciplinas.

Ao Thiago, pelo tempo dedicado à minha introdução ao laboratório, por me passar todo o conhecimento prático de pesquisa científica, pelas alegrias e tristezas que nos fazem amigos.

Às amigas Bia, Kamila, Ana Luiza e Maria Tays, por permitir que as exaustivas horas de biotério fossem mais amenas, pelas risadas e parceria de trabalho.

Aos colegas e ex-colegas da pós-graduação, César, Tati, Cecília, Jhony, Ana Paula, Eduardo e Djalma, pelos conhecimentos partilhados e bons momentos de convivência.

Às pessoas mais especiais que eu poderia ter encontrado nesta fase da minha vida, amigos preciosos que levarei pra sempre comigo. Ao Marcos, pela disposição constante, pelo conhecimento, conselhos, risadas, apoio e motivação, quero ser como você um dia! À Lara, pelos almoços de conversas animadas, pelas risadas no inglês, pela companhia no ônibus e

por ser simplesmente a Lara, brava e sincera! À Monique, pelas horas de paciência a minha espera em dias de experimentos, pelas caronas maravilhosas, pelas alegrias que vivemos, por ser exemplo de superação e força. À Maria Tays, por ter me acolhido tão bem, pelas risadas de cansaço, pela amizade que cresceu a cada dia de laboratório, por ser minha best, que de tão especial me faltam palavras, desejo o melhor nesta nova fase, saudades! Obrigada a cada um de vocês, por permitirem que eu faça parte de suas vidas, vocês são únicos!

A todos os meus familiares pelo incentivo. Em especial aos meus pais que sempre estão comigo, mesmo longe, apoiando minhas investidas, pelo amor que me fortalece, por abdicarem muitos de seus sonhos para realizar os meus. Aos meus irmãos Thayson, Tharles e Thiago, que me motivam a crescer e ser melhor a cada dia. Amo vocês! Às minhas cunhadas, pelo apoio e palavras.

Ao meu marido João, que aguentou firme esta fase longe, pelo apoio que me motivou a continuar mesmo cheia de saudade, pela ajuda e compreensão de todos os momentos de ausência. Obrigada por estar na minha vida, não foi fácil e seria impossível sem você do meu lado.

Aos meus sogros Sr. José e D. Olímpia, aos cunhados Wiliam, Ilara e Rhobison, pelas palavras e orações.

A todos que direto ou indiretamente ajudaram na execução desse trabalho

Ao apoio financeiro através da concessão da bolsa, pela CAPES, que permitiu a execução deste trabalho. A todas as agências financiadoras que colaboraram: FAPEMIG, CNPq, REDE MINEIRA DE DOENÇAS INFECCIOSAS e UFTM.

"Amarre seu vagão a uma estrela."

Ralph Waldo Emerson

"A excelência pode ser obtida se você se importa mais do que os outros julgam ser necessário; se arrisca mais do que os outros julgam ser seguro, sonha mais do que os outros julgam ser prático, e espera mais do que os outros julgam ser possível."

Vince Lombardi

"Tudo o que você decidir, nós te apoiamos. Vai dar certo."

José e Zélia (Pais)

RESUMO

Carvalho-Costa, T.M. **Efeitos imunossupressores da saliva de *Amblyomma cajennense* em células dendríticas derivadas de medula óssea murina.** 82 f. Dissertação (Mestrado) – Pós-graduação em Ciências Fisiológicas, Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba/MG, 2014.

As células dendríticas (CDs) são células apresentadoras de antígenos profissionais com funções essenciais na ativação da imunidade do hospedeiro. Carrapatos são artrópodes hematófagos que secretam através da saliva, compostos bioativos com propriedades anti-hemostáticas e imunomoduladoras. Sabe-se que algumas espécies de carrapatos modulam a biologia de CDs com diferentes intensidades. No entanto, estudos com *Amblyomma cajennense*, ainda não foram desenvolvidos, embora esta espécie seja considerada uma das mais qualificadas para imunomodulação justamente por ser capaz de infestar diferentes hospedeiros. Neste trabalho, demonstrou-se que a adição de saliva de *A. cajennense* em células da medula óssea, inibe a diferenciação de CDs. Esta inibição não foi acompanhada por inibição ou indução de moléculas co- ou estimuladoras, tais como MHC-II, CD40, CD80 e CD86. CDs imaturas ou maduras pré-expostas à saliva mostraram redução da migração estimulada pelas quimiocinas RANTES e MIP-3 β , respectivamente. Esta inibição foi mediada pela saliva, que reduziu significativamente a expressão dos receptores de quimiocina CCR5 ou CCR7. A saliva deste carrapato também inibiu, de forma concentração dependente, a produção das citocinas IL-12p40, IL-6 e TNF- α , enquanto potencializou a produção de IL-10 por CDs estimuladas pelo LPS – lipopolissacarídeo - ligante do receptor Toll-like 4 (TLR4). Além disso, a saliva foi capaz de inibir a expressão de CD40 e CD86 em CDs maduras, enquanto que, por si só, potencializou a expressão de PD-L1. A prostaglandina E2 foi detectada (~ 80 nM) como um dos constituintes da saliva e nós acreditamos que parte dos resultados obtidos neste trabalho são devido à presença desta molécula. Desta forma, estes resultados ajudam a compreender a interação carrapato-hospedeiro e exemplificar que os carrapatos da espécie *A. cajennense* parecem possuir mecanismos específicos para a modulação de células do sistema imunológico do hospedeiro, incluindo as CDs.

Palavras-chave: Carrapatos, *Amblyomma cajennense*, saliva, células dendríticas

ABSTRACT

Carvalho-Costa, T.M. **Immunosuppressive effects of *Amblyomma cajennense* tick saliva on murine bone marrow-derived dendritic cells.** 82 f. Master Degree - Graduate Course of Physiological Sciences, Federal University of Triângulo Mineiro, Uberaba, Minas Gerais, Brazil, 2014.

Dendritic cells (DCs) are professional antigen-presenting cells with essential roles in the activation of host immunity. Ticks are blood-sucking arthropods that secrete via saliva, bioactive compounds with immunomodulatory properties. It is known that some tick species modulate the biology of DCs with different intensities; however, studies with *Amblyomma cajennense*, the cayenne tick, have not yet been developed although this species is considered one of the most qualified for immunomodulation. In this work we demonstrated that the addition of *A. cajennense* tick saliva to bone marrow cells inhibits the differentiation to DCs. This inhibition was not accompanied by inhibition or induction of co- and stimulatory molecules MHC-II, CD40, CD80 and CD86. Immature or mature DCs pre-exposed to saliva showed reduced migration towards RANTES and MIP-3 β chemokines, respectively. This inhibition was mediated by saliva which significantly reduced the expression of CCR5 or CCR7 chemokine receptors. Tick saliva also inhibited, in a concentration-dependent manner, IL-12p40, IL-6 and TNF- α while potentiating IL-10 cytokine production by DCs stimulated by Toll-like receptor-4 ligand. Additionally, the saliva was able to inhibit the expression of CD40 and CD86 in mature DCs while, per se, potentiating the expression of PD-L1. Prostaglandin-E2 was detected (~ 80 nM) as one of the constituents of saliva and we believe that some of the results obtained are due to their presence. Thus, these results help to understand the tick-host interaction and exemplify that ticks of the species *A. cajennense* seems to have particular mechanisms for modulation of host immune cells, including DCs.

Key-words: Ticks, *Amblyomma cajennense*, saliva, dendritic cells

LISTA DE ABREVIATURAS

APCs	Células Apresentadoras de Antígenos
CD	Cluster of differentiation
CDs	Células Dendríticas
IL	Interleucina
TNF-α	Fator de necrose tumoral- α
LPS	Lipopolissacarídeo
MHC	Complexo principal de histocompatibilidade
FMB	Febre Maculosa Brasileira
RMSF	Rocky Mountain Spotted Fever
PBS	Solução de fosfato tamponada
PGE₂	Prostaglandina E ₂
ADO	Adenosina
TLR	Receptores do tipo Toll
NK	Células Natural Killer
Th	Linfócito T Helper
THRF	Tick Histamine release fator
MAC	Complexo de ataque a membrana
SAT	Transmissão favorecida pela saliva
SALP	Ixodes scapularis salivary protein
INF-γ	Interferon gama
5'AMP	Monofosfato de adenosina

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
2.1	CARRAPATOS – CONSIDERAÇÕES GERAIS	14
2.2	O CARRAPATO <i>AMBLIOMMA CAJENNENSE</i>	18
2.2.1	Importância vetorial	20
2.2.2	Controle	21
2.3	RELAÇÃO PARASITO-HOSPEDEIRO	21
2.3.1	Hematofagia	21
2.3.2	Mecanismos de defesa do hospedeiro – resistência aos carrapatos	23
2.3.3	Mecanismos de defesa mediados pelos carrapatos – importância da saliva	25
2.3.4	Saliva na transmissão de patógenos	29
2.4	CÉLULAS DENDRÍTICAS (CDs)	30
2.4.1	Imunomodulação de CDs por saliva de artrópodes	32
	REFERÊNCIAS	37
	ARTIGO CIENTÍFICO	47
	COMPROVANTE DE SUBMISSÃO DO ARTIGO	82

1 INTRODUÇÃO

A secreção de substâncias biologicamente ativas através da saliva constitui uma das mais importantes características evolutivas dos carrapatos, já que permite a efetiva interação do carrapato com o hospedeiro, possibilitando a sua alimentação e propagação, favorecendo a transmissão de patógenos (SOCOLOVSKI et al., 2009; WIKEL, S., 2013). Dentre as substâncias da saliva, aquelas com atividade sobre a hemostasia, inflamação e imunidade do hospedeiro são consideradas as mais importantes nessa interação carrapato-hospedeiro (RIBEIRO; FRANCISCHETTI, 2003; FRANCISCHETTI et al., 2009; WIKEL, S., 2013). As substâncias liberadas continuamente pelos carrapatos durante o repasto sanguíneo podem ser diferentes dependendo da espécie e do estágio em que o carrapato se encontra (RIBEIRO et al., 2006; FRANCISCHETTI et al., 2009) e essa característica tem se mostrado fundamental para o entendimento dos hospedeiros preferenciais, do tempo de alimentação, da capacidade de modulação das barreiras hemostáticas e imunes e da diversidade de patógenos transmitidos por cada um deles.

O carrapato *Amblyomma cajennense*, é o principal vetor da babesiose equina e Febre Maculosa no Brasil, e é considerado uma das espécies com maior capacidade de subverter as defesas dos seus hospedeiros uma vez que, apesar de ter os eqüídeos como seus principais hospedeiros, podem, em especial nos estágios de larva e ninfa, se manter em áreas livres destes animais, parasitando aves e qualquer mamífero doméstico ou silvestre, inclusive o homem (ARAGÃO, 1936; LOPES et al., 1998; MASSARD, 2004). Ou seja, como a resposta imune dos diferentes hospedeiros desse carrapato, incluindo os humanos, varia consideravelmente, é razoável pressupor que este também possua uma complexidade de moléculas na sua saliva suficientemente capaz de modular a resposta imune de cada um deles.

Sabendo disso, estudos relacionados a moléculas presentes na saliva do *A. cajennense* vem despertando o interesse de diversos cientistas, e os estudos envolvendo resposta imune e este carrapato já vem sendo desenvolvidos nos últimos anos (SZABO; PINTER; LABRUNA, 2013). Cachorros, ovelhas e cavalos infestados com *A. cajennense*, somente adquirem resistência parcial e mesmo depois de infestações repetidas apenas alguns parâmetros biológicos desses carrapatos são negativamente afetados (MUKAI et al., 2002; CASTAGNOLLI et al., 2003; DE FREITAS et al., 2009; PROSDOCIMI et al., 2010). Do mesmo modo, resultados experimentais mostraram que camundongos BALB/c não

desenvolvem resistência a ninfas desta espécie de carrapato e a proliferação de linfócitos nestes hospedeiros é inibida pela saliva do carrapato, extrato de ninfas ou por infestações (CASTAGNOLLI et al., 2008). Linfócitos de camundongos sob o efeito da saliva de *A. cajennense*, extrato de ninfas ou infestação por este carrapato, exibem um predomínio de produção de citocinas de perfil Th2 (CASTAGNOLLI et al., 2008).

A resistência, ou a tentativa, a carrapatos é um fenômeno adquirido (TRAGER, 1939; RANDOLPH, S. E., 1979; SZABO; MORELLI; BECHARA, 1995) e as células dendríticas, em especial as da pele também chamadas de células de Langerhans, tem papel crucial nesse processo (NITHIUTHAI; ALLEN, 1984b; VESELY et al., 2009). Os primeiros trabalhos, publicados a mais de 30 anos, sugeriram que há migração de células de Langerhans da pele para os linfonodos após a infestação com carrapatos *Dermacentor andersoni*, e que a presença destas células nos linfonodos é um evento fundamental para que o hospedeiro desenvolva uma resposta imune específica a carrapatos (ALLEN; KHALIL; GRAHAM, 1979; NITHIUTHAI; ALLEN, 1984a; b; 1985). Mais recentemente foi demonstrado *in vivo* que carrapatos da espécie *Ixodes scapularis* suprime a resposta imune de camundongos e este efeito é dependente da presença de células de Langerhans (VESELY et al., 2009).

Na tentativa de compreender como os carrapatos modulam essas células, e conseqüentemente a resposta imune inata e adquirida, vários estudos *in vivo* e *in vitro* demonstraram que a saliva de carrapatos afeta negativamente a biologia de Células Dendríticas (CDs), desde a sua diferenciação, migração e maturação até a sua capacidade de apresentação de antígenos com conseqüente ativação de linfócitos T (SÁ-NUNES, 2010; MASON et al., 2014). Apesar destes achados, a maioria deles usou saliva de carrapatos com hábitos alimentares muito específicos para determinados hospedeiros. Assim, nesse estudo buscamos avaliar o efeito da saliva de carrapatos *A. cajennense* sobre a diferenciação, migração e maturação de CDs murinas, com vista da compreensão de como a saliva desta espécie modula essas células, além de identificar possíveis moléculas da saliva responsáveis por esses efeitos.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 CARRAPATOS - CONSIDERAÇÕES GERAIS

Os carrapatos são artrópodes hematófagos, que necessitam de sangue em todas as fases parasitárias de seu ciclo. Pertencem à Classe: Arachnida, Ordem: Acari e Subordem: Ixodida, e são distribuídos em mais de 907 espécies cosmopolitamente. Possuem enorme potencial parasitário, onde diversos tipos de vertebrados podem ser incluídos como hospedeiros. São considerados importantes protagonistas vetoriais, além de incriminados de causar grandes prejuízos econômicos relacionados à pecuária (SOCOLOVSKI et al., 2009).

Os carrapatos foram primeiramente evidenciados em uma ilustração em uma tumba egípcia, datada de 1500 A. C., que mostrava um animal com três protuberâncias no pavilhão auricular interno. Sua primeira denominação, foi feita por Homero em 800 A. C., que chamou os carrapatos de Cynorhaesta. Mais tarde, no ano de 355 A.C., Aristóteles acreditava que sua origem fosse o capim. Recebeu várias denominações em diferentes regiões, por exemplo, na Grécia, o carrapato foi denominado Cróton e em Roma, Ricinus, por se assemelhar a mamonas. No ano de 77, o carrapato já foi identificado como espécie hematófaga por Plínio em seus estudos (ARTHUR, 1965). Recentemente, estudos envolvendo o genoma de uma múmia de 5300 anos, revelou a presença de material genético pertencente à *Borrelia burgdorferi*, bactéria responsável por causar a doença de Lyme, transmitida pela picada de carrapatos, evidenciando a presença destes artrópodes e sua capacidade vetorial desde a antiguidade (KELLER et al., 2012).

Atualmente, os carrapatos estão distribuídos em três famílias de acordo com suas características morfológicas e fisiológicas. Os “carrapatos moles” (os que não possuem escudo dorsal), são os que se encontram distribuídos na família Argasidae, se caracterizam por apresentarem ciclo parasitário curto, ou seja, se alimentam rapidamente, por horas ou poucos dias. No Brasil, a espécie de importância econômica representativa desta família é *Argas miniatus*, principal vetor da *Borrelia anserina* para as aves (EVANS; MARTINS; GUGLIELMONE, 2000). Já os “carrapatos duros” (os que possuem escudo dorsal), são pertencentes à família Ixodidae e diferente dos argasídeos, se fixam no hospedeiro por períodos que podem durar vários dias. (BOWMAN A, 2008; SÁ-NUNES, 2010; KAZIMIROVA; STIBRANIOVA, 2013; STIBRANIOVA; LAHOVA; BARTIKOVA, 2013). Carrapatos desta família se alimentam uma única vez durante cada fase do seu ciclo,

permanecendo fixados ao hospedeiro até ficarem engurgitados, podendo ou não descer ao solo após o repasto (SOCOLOVSKI et al., 2009). No Brasil, esta família é a que mais se destaca, e os representantes dos Ixodidae de grande importância econômica e vetorial são: *Boophilus microplus*, *Amblyomma cajennense*, *Anocentor nitens* e *Rhipicephalus sanguineus* (EVANS; MARTINS; GUGLIELMONE, 2000). E por fim, a família Nuttalliellidae, que possui apenas uma espécie e esta não é encontrada no Brasil (HORAK; CAMICAS; KEIRANS, 2002).

No geral, estes artrópodes são morfologicamente achatados dorsoventralmente, com cabeça, tórax e abdômen fundidos, com tamanhos variados e formatos elípticos ou ovais. Possuem capacidade de aumento das dimensões corpóreas durante o repasto sanguíneo, mesmo sendo revestidos por um forte tegumento coriáceo. São amplamente distribuídos, sendo encontrados em vários habitats no mundo todo, podem inclusive serem encontrados parasitando peixes (BOWMAN A, 2008).

O ciclo do carrapato é composto pelas fases de ovo, larva, ninfa e adulto. Sendo que, carrapatos argasídeos apresentam de dois a oito estágios ninfais, enquanto que, as espécies pertencentes à família Ixodidae apresentam apenas um estágio ninfal. Com exceção dos ovos, todos os estágios precisam se alimentar em um hospedeiro para dar continuidade ao ciclo. Existem variações no comportamento alimentar dos carrapatos dependendo da espécie, onde a alimentação pode variar com relação ao tempo de permanência do parasito no hospedeiro e também com relação à quantidade e especificidade do hospedeiro vertebrado escolhido. Baseado nisto, os carrapatos podem ser monoxenos, que realizam todo o seu ciclo em um único hospedeiro e trioxenos, que necessitam de três hospedeiros para completar o seu ciclo, descendo ao solo após o repasto, para então realizar a ecdise. Os carrapatos podem ser específicos de uma espécie de hospedeiro, sendo incapazes de se fixarem em outras espécies, ou serem promíscuos, capazes de se alimentar em uma variedade grande de espécies de hospedeiros (RAJPUT et al., 2006; BOWMAN A, 2008).

Os carrapatos ocupam uma posição importante quando o assunto é danos econômicos. No mundo, os prejuízos causados por este parasito afetam a pecuária de maneira significativa. Tais prejuízos provêm de danos diretos causados aos animais no momento da hematofagia, quando o parasito causa lesões mecânicas na pele do hospedeiro com a introdução do aparelho bucal altamente especializado, envolvendo a dilaceração dos tecidos e provocando irritabilidade, perda de sangue, anemia, estresse e caquexia, além de lesões locais que podem favorecer o desenvolvimento de infecções secundárias. Outro problema que pode ser causado

é relacionado às toxinas presentes na saliva destes parasitos e que são injetadas durante a alimentação, alguns animais são muito sensíveis a estas toxinas e podem sofrer, além de dor, paralisia. Todos estes fatores podem estar acompanhados de doenças, que podem ser transmitidas aos animais e levam a danos de produção, como por exemplo, a redução na produção de leite, carne e lã (JONGEJAN; UILENBERG, 2004; RAJPUT et al., 2006).

Além do ponto de vista econômico, os carrapatos são vistos também sob a ótica médica e veterinária. Estes artrópodes possuem grande importância vetorial em doenças infecciosas, o que os classifica no segundo grupo de artrópodes vetores mais importante do mundo, ficando atrás apenas dos mosquitos (família Culicidae). Isto pode ser atribuído a fatores relevantes como: longo período em contato com o hospedeiro e grande variedade de vertebrados que podem ser parasitados em diversas partes do mundo (JONGEJAN; UILENBERG, 2004; SOCOLOVSCHI et al., 2009).

Os carrapatos são importantes vetores de protozoários, bactérias e vírus, tanto para animais quanto para o homem. Dentre as principais doenças transmitidas por estes artrópodes destacamos a Babesiose, causada pela *Babesia sp.*; Anaplasmosse, causada pelo *Anaplasma phagocytophilum*; Erliquiose, causada por *Ehrlichia sp.*; Doença de Lyme (Doença de Lyme-simille ou Síndrome Baggio-Yoshinari – no Brasil), causada pela espiroqueta *Borrelia burgdorferi* e a Febre Maculosa, causada pela *Rickettsia rickettsii* (JONGEJAN; UILENBERG, 2004; HUNFELD; HILDEBRANDT; GRAY, 2008; YOSHINARI et al., 2010; SEVERO et al., 2012; HILDEBRANDT; GRAY; HUNFELD, 2013; SAITO et al., 2014). Estas duas últimas, de grande importância médica, consideradas emergentes e de notificação compulsória no Brasil (MASSARD, 2004).

A doença de Lyme, transmitida por carrapatos Ixodídeos, é bastante comum na América do norte, teve seus primeiros casos identificados por Afzelius em 1910, na Suécia, e por Lipschutz, na Áustria, em 1914, nestes locais chamada de eritema crônico migratório (SANTOS et al., 2010). Já nos EUA, começou com um surto envolvendo crianças, na década de 1970 na cidade de Lyme, elas apresentavam quadros de dores e inchaços nas articulações, sendo na época falsamente diagnosticadas como portadoras de artrite reumatóide juvenil. No entanto, alguns pesquisadores suspeitaram que se tratava de uma doença transmitida por algum agente infeccioso. Os sintomas incluíam erupções cutâneas, febre, dor nas articulações e músculos, afetava também o coração e causava problemas neurológicos. O pesquisador Willy Burgdorfer identificou o agente etiológico, em 1982, uma bactéria espiroqueta,

chamada *Borrelia burgdorferi*. Ela foi posteriormente isolada no intestino de carrapatos em florestas de Nova York, onde esta doença se tornou endêmica (STEERE et al., 1977; LEVY, 2013; GERSTENBLITH; STERN, 2014). No Brasil, os primeiros casos, com acometimento eritematoso, foram relatados em Manaus em 1987, já os casos articulares em 1992 (YOSHINARI et al., 1993; SANTOS et al., 2010). Como no Brasil esta doença apresenta aspectos diferentes, assim como os vetores, aqui ela é conhecida como Síndrome Baggio-Yoshinari ou Doença Semelhante à Lyme, para diferenciar da Doença Clássica que ocorre na América do Norte (MANTOVANI et al., 2007; YOSHINARI et al., 2010). No Brasil, acredita-se que esta doença possa ser transmitida por carrapatos do gênero *Amblyomma*, sendo a principal espécie o *Amblyomma cajennense*. Carrapatos do gênero *Rhipicephalus* ou carrapatos *Dermacentor nitens* também tem sido relacionado como possível vetor (YOSHINARI et al., 2010; GONCALVES et al., 2013).

Já a Febre Maculosa, teve seu primeiro relato clínico no ano de 1899 em Idaho, EUA, chamada então de Febre Maculosa das Montanhas Rochosas (sigla americana Rocky Mountain Spotted Fever, RMSF). Esta doença foi descrita como sendo uma doença febril grave com períodos de febre alta e aparecimento de erupções purpúreas na pele (DANTAS-TORRES, 2007; SZABO; PINTER; LABRUNA, 2013). A *Rickettsia rickettsii*, seu agente etiológico, só foi isolada em 1906, pelo patologista americano Howard Taylor Ricketts, que também foi responsável por descrever os aspectos clínicos e epidemiológicos da doença, juntamente com outros pesquisadores (CHEN; SEXTON, 2008). A partir da década de 1920, a doença passou a ser identificada em diversos países de todo o continente americano (DANTAS-TORRES, 2007; LABRUNA; TERASSINI; CAMARGO, 2009). Em 1929, o primeiro caso da doença foi descrito no Brasil, por José Toledo Piza no Estado de São Paulo, que a denominou de “Tifo Exantemático de São Paulo”. Foi identificada também nos estados de Minas Gerais, Bahia e Rio de Janeiro. A doença ficou conhecida no Brasil como Febre Maculosa Brasileira (FMB) (GRECA H., 2008). Desde o final dos anos 80 até os dias de hoje, a FMB é considerada uma doença reemergente e em expansão, tanto que foi incluída na Lista Nacional de Doenças de Notificação Compulsória do Ministério da Saúde pela Portaria GM/MS nº 1.943 de 18 de outubro de 2001. As maiores taxas de ocorrência de Febre Maculosa estão concentradas na região sudeste. Em 2012, no estado de São Paulo, 68 casos foram confirmados, com 37 mortes (dados oficiais da Secretaria de Saúde do Estado de São Paulo - <http://www.cve.saude.sp.gov.br> citado por Szabó et al., 2013). Os vetores

Dermacentor variabilis e *Dermacentor andersoni* são os principais na América do Norte. No Brasil, os vetores principais são *Amblyomma aureolatum* e *Amblyomma cajennense*, fazendo com que as manifestações sejam diferentes dependendo do vetor (DANTAS-TORRES, 2007; DANTAS-TORRES; CHOMEL; OTRANTO, 2012).

2.2 O CARRAPATO *AMBLYOMMA CAJENNENSE*

O *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787), pertence à família Ixodidae, subfamília Amblyomminae e gênero *Amblyomma* (OLIVER, 1989), foi primeiramente encontrado em Cayenna (Guiana Francesa) e descrito por Fabricius em 1787. No Brasil, o primeiro estudo sobre este carrapato foi feito por Rohr em 1909, em uma tese ao Instituto Oswaldo Cruz (OLIVEIRA, P. R., 2004). O gênero *Amblyomma* possui 102 espécies descritas, sendo que, 33 delas ocorrem no Brasil e dentre estas, o *A. cajennense* é considerada a mais importante. Popularmente conhecido como “rodoleiro”, “micuim”, “carrapatinho” e “carrapato estrela”, o carrapato *A. cajennense* é comumente encontrado em todo o Brasil, principalmente na região sudeste, o que pode ser relacionado à maior prevalência da febre maculosa nesta região (ARAGÃO, 1936; SZABO; PINTER; LABRUNA, 2013).

O *A. cajennense* está amplamente distribuído na América, podendo ser encontrado desde a América do Sul até ao sul dos Estados Unidos, no Texas. Em condições naturais, este carrapato é associado ao bioma de Cerrado, no Brasil, geralmente está ausente em região de Mata Atlântica, apesar de que o desmatamento favorece sua distribuição; ausente também em regiões com grande umidade como em florestas tropicais (SZABO; OLEGARIO; SANTOS, 2007; VERONEZ et al., 2010; BEATI et al., 2013). É um dos carrapatos mais comumente encontrados no Brasil. Em 2010, Veronez *et al.*, encontrou 2694 carrapatos de vida livre, sendo que, deste total, 73% era da espécie *A. cajennense*. Este carrapato aprecia locais de vegetação rasteira e sombreada, onde possam se agarrar facilmente aos animais que por ali passam, um exemplo, é a presença destes carrapatos em matas ciliares, onde são encontradas capivaras, incriminadas como grandes responsáveis pelas infestações ambientais e por serem um reservatório natural da *Rickettsia rickettsii*. Eles são encontrados também com facilidade em pastos chamados de “sujos”, ou seja, que possuem plantas arbustivas no meio do pasto, isto facilita o parasitismo nos animais que ali pastam (SZABO; PINTER; LABRUNA, 2013; KRAWCZAK et al., 2014). O *A. cajennense* tem preferência por equídeos, mas por sua baixa

especificidade parasitária, principalmente nas fases imaturas, pode se alimentar em várias espécies, incluindo aves, reptéis e até humanos (OLIVEIRA, P. R., 2004; SZABO; PINTER; LABRUNA, 2013).

De maneira geral, o *A. cajennense*, possui tamanho médio com aproximadamente 3-5 mm de comprimento, seu aparelho bucal se destaca com relação a de outros ixodídeos, sendo mais comprido. Possui um escudo ornamentado e irradiante, o que faz com que muitos o apelidem de carrapato estrela. Os machos são um pouco menores que as fêmeas, e o dimorfismo sexual é apenas notado na fase adulta. As ninfas e larvas são semelhantes aos adultos visualmente e também se alimentam de sangue, é neste período do ciclo evolutivo que são mais comumente encontradas parasitando o homem, pois são ágeis e menores e tem o aparelho bucal muito pequeno quando comparado com o estágio adulto, se tornando difíceis de encontrar (ARAGÃO, 1936; BORGES et al., 2006).

Os carrapatos da espécie *A. cajennense* possuem um ciclo trioxeno, ou seja, precisam de três hospedeiros diferentes para completar seu ciclo. O comportamento partenogenético, já foi relatado, no entanto os ovos não conseguem eclodir, fazendo com que a reprodução seja essencialmente bissexual, além de acontecer exclusivamente no hospedeiro (DE FREITAS et al., 2009).

Na natureza, fatores como temperatura, umidade, disponibilidade de alimento e precipitação pluviométrica podem alterar a duração do seu ciclo. Estudos realizados no sudeste do Brasil mostram que, o ciclo deste ixodídeo é anual, ou seja, apenas uma geração por ano. As variações populacionais acontecem com picos definidos para cada estágio ao longo do ano. As larvas e ninfas são encontradas em maior número entre os meses de outono e inverno, seja parasitando animais ou o homem, seja nas pastagens. Isto coincide com os meses de menor precipitação pluviométrica e ar mais seco. De acordo com alguns estudos, larvas são mais encontradas no mês de maio e ninfas no mês de julho. Já os adultos aparecem entre os meses de setembro a março, com picos durante o verão nos meses de janeiro e fevereiro, mas podem ser encontrados parasitando animais durante todo o ano, porém em baixa densidade (OLIVEIRA, P. R. et al., 2003; OLIVEIRA, P. R., 2004). Este ciclo anual pode estar relacionado com a diapausa das larvas durante o verão, estudos dizem ser importante este período para preparar o carrapato para fases onde haverá mais disponibilidade de alimento (LABRUNA et al., 2003; OLIVEIRA, P. R. et al., 2003). Outro fator interessante para a epidemiologia é o encontro de machos não alimentados em grandes quantidades nos

hospedeiros, antes de se encontrar as fêmeas. Este fato se dá pela necessidade dos machos de se alimentarem para produzirem feromônios atrativos para as fêmeas. Assim no final do período, o número de fêmeas supera o de machos, tendendo ao equilíbrio, pois os animais parasitados com machos se tornam mais atrativos para fêmeas que ainda não se alimentaram (GLADNEY, 1971; PINTER; LABRUNA; FACCINI, 2002; OLIVEIRA, P. R. et al., 2003; SZABO; PINTER; LABRUNA, 2013).

2.2.1 Importância vetorial

A capacidade de variar de hospedeiro garantiu a sobrevivência deste carrapato até os dias atuais e firma um elo entre animais silvestres, domésticos e o homem, fazendo com que seja considerado um importante vetor. No Brasil, é o vetor principal da febre maculosa, principalmente por parasitar capivaras, e estas são consideradas reservatórios naturais da *Rickettsia rickettsii*, o agente etiológico da febre maculosa. Estudos revelam que as capivaras são capazes de manter a bactéria na corrente sanguínea por aproximadamente 10 dias, sem manifestar a doença, possibilitando a transmissão garantida aos carrapatos (SOUZA et al., 2009). Outros estudos mostram que a bactéria pode ser encontrada em todos os tecidos do carrapato e em todas as fases do seu ciclo, fazendo com que seja transmitido inclusive, transovarianamente à progênie e de um estágio a outro, ou seja também possuem transmissão transestadial (DE LEMOS et al., 1997a; DE LEMOS et al., 1997b; GRECA H., 2008; LABRUNA; TERASSINI; CAMARGO, 2009; SOCOLOVSKI et al., 2009).

Estudos mais recentes mostram, porém, que o *A. cajennense*, não é um bom hospedeiro, pois apresenta dificuldade em manter a bactéria através de sucessivas gerações. A quantidade de carrapatos infectados também não é grande, o que se mostra intrigante, uma vez que este carrapato é considerado o melhor vetor da *Rickettsia rickettsii*. (GUEDES et al., 2005; SOCOLOVSKI et al., 2009). Isto pode estar relacionado à baixa taxa de reprodução de carrapatos infectados, mostrando que a bactéria pode ser patogênica para seu vetor (LABRUNA et al., 2008). Este fato mostra que muitos fatores ainda desconhecidos estão envolvidos no processo de transmissão desta doença.

O *Amblyomma cajennense* também é relacionado à transmissão de outras doenças tais como: Encefalite Equina Venezuelana, causada por um vírus e Erliquiose bovina, causada por

Erllichia bovis, além da doença de Lyme como referido anteriormente (MASSARD, 2004; OLIVEIRA, P. R., 2004; YOSHINARI et al., 2010).

2.2.2 Controle

O controle consiste basicamente no uso de acaricidas, como é feito para outros carrapatos e muitas vezes é realizado de maneira incorreta, como acontece, por exemplo, quando há a aplicação de subdoses. Isto faz com que algumas espécies desenvolvam resistência aos princípios ativos utilizados, favorecendo a disseminação do carrapato e de doenças transmitidas por ele. Os custos com o controle químico, juntamente com a permanência de resíduos em produtos derivados dos animais tratados e do efeito destas substâncias químicas no meio ambiente, são problemas enfrentados comumente pelos pecuaristas e são fatores que comprometem a saúde pública (RAJPUT et al., 2006).

Assim, a procura de novas substâncias que possam ser utilizadas no controle destes parasitos e a busca pela compreensão das interações parasito-hospedeiro, se tornam essenciais. Por isso, cada vez mais os assuntos neste campo tem sido evidenciados por pesquisadores no mundo todo e tem se tornado motivo de várias pesquisas.

2.3 RELAÇÃO PARASITO-HOSPEDEIRO

2.3.1 Hematofagia

A interação do carrapato com o hospedeiro se inicia no momento da picada, quando o carrapato introduz seu aparelho bucal na pele. O carrapato se alimenta através de uma piscina de sangue que se forma quando o aparelho bucal é introduzido no hospedeiro, perturbando capilares e tecidos durante o processo de sondagem por sangue. A instalação desta extensa poça hemorrágica permite a alimentação do carrapato (KAZIMIROVA; STIBRANIOVA, 2013). Durante este processo, o carrapato alterna períodos de ingestão de sangue com períodos de injeção de saliva, isto permite com que o fluxo de sangue permaneça contínuo durante todo o período de repasto, que no caso de carrapatos duros, como é o caso do *A. cajennense*, pode durar dias (ARTHUR, 1973; RIBEIRO et al., 1985; KAZIMIROVA; STIBRANIOVA, 2013).

Para que o repasto seja realizado com sucesso e o carrapato consiga se alimentar suficientemente, ele precisa vencer obstáculos impostos por seus hospedeiros. Dentre estes obstáculos destacam-se as barreiras homeostáticas, que inclui a ativação plaquetária, a cascata da coagulação e a vasoconstrição, e as barreiras imunes. Estas barreiras são desafiadas assim que se inicia a alimentação, com a inserção do aparelho bucal no epitélio intacto, e continua com o preparo do local para o repasto. Este preparo se dá principalmente, com a injeção de substâncias imunomoduladoras e anti-hemostáticas que estão presentes na saliva. A secreção de tais substâncias biologicamente ativas constitui uma importante característica evolutiva do carrapato, que permite a interação com o hospedeiro, possibilitando a alimentação e favorecendo a transmissão de patógenos (ARTHUR, 1973; RIBEIRO; FRANCISCHETTI, 2003; SOCOLOVSCHI et al., 2009; SÁ-NUNES, 2010; KAZIMIROVA; STIBRANIOVA, 2013; WIKEL, S., 2013).

O sucesso da alimentação depende do balanço entre a capacidade do carrapato de modular, evadir e restringir a resposta do hospedeiro e da capacidade do hospedeiro em limitar a ação do parasito. Assim, o hospedeiro reage à picada do carrapato, que muitas vezes pode ser dolorosa, como é o caso da picada de *A. cajennense* (OLIVEIRA, P. R., 2004), gerando uma resposta inflamatória local, podendo ser acompanhada de febre, por exemplo. Esta resposta ocorre tanto no homem quanto no animal, e é uma tentativa de se livrar do parasito. Componente importante é a resposta imune, que pode ser dividida em resposta imune inata ou natural e resposta imune adquirida ou adaptativa, e atua em conjunto com a barreira homeostática.

A resposta imune inata é composta por vários mecanismos que reconhecem e respondem aos agentes patogênicos que por ventura tentam entrar no organismo. Fazem parte desta resposta diversos tipos celulares, tais como neutrófilos, células dendríticas, macrófagos, mastócitos, células Natural Killer (NK) e eosinófilos; e também diversos componentes solúveis, tais como: proteínas de fase aguda, proteínas do sistema complemento, citocinas e quimiocinas. Além destes componentes já citados, outros como, barreiras físicas, microbiota e ácidos graxos também podem ser considerados essenciais (JANEWAY; MEDZHITOV, 2002). A pele, por exemplo, a barreira física que primeiro entra em contato com o carrapato, é rica em componentes da resposta inata e representa um importante integrante da defesa do organismo. Assim que o epitélio é rompido, os demais componentes entram em ação, logo as células presentes no local se ativam e começam a atrair outras células através da produção de

citocinas e quimiocinas, o sistema complemento é ativado e atua favorecendo a fagocitose e promovendo a lise de patógenos. Todos os componentes trabalham em harmonia e buscam controlar os patógenos que entram em contato com o organismo (JANEWAY, 2001; JANEWAY; MEDZHITOV, 2002; CRUVINEL WDE et al., 2010).

Já a resposta imune adaptativa atua contra os agentes patogênicos que conseguiram atravessar a barreira da resposta imune inata. Atua de forma secundária, de maneira mais específica, promovendo inclusive a memória imunológica, que protege o hospedeiro em casos posteriores de ataques pelo mesmo agente agressor. Os principais componentes desta resposta são os linfócitos B, responsáveis pela produção de anticorpos, que atuam otimizando a resposta imunológica através da identificação dos compostos patogênicos e os linfócitos T, que se subdividem em linfócitos T CD4 e linfócitos T CD8 (MESQUITA JUNIOR et al., 2010). A resposta imune inata e a adaptativa atuam em conjunto, e quando são eficientes, eliminam o patógeno e conferem ao hospedeiro a proteção através da memória imunológica.

2.3.2 Mecanismos de defesa do hospedeiro – resistência aos carrapatos

Durante este primeiro momento, as células residentes na derme se encarregam da defesa contra o carrapato. São principalmente as células dendríticas, os macrófagos, os eosinófilos, os queratinócitos e os mastócitos, que são ativadas por fatores como a presença do aparelho bucal do carrapato, a perturbação da homeostasia provocada pela ruptura dos tecidos e presença das moléculas salivares. Através do contato prolongado com o parasito, estas células se ativam, produzindo mediadores inflamatórios capazes de atrair novas células para o local, além de ativarem a resposta imune secundária, mediada pelos linfócitos B e T, podendo levar à perturbação da alimentação do carrapato e aquisição de resistência por parte do hospedeiro. Há também a tentativa de reestabelecer a homeostase com ações como a ativação de tampão hemostático, tampão plaquetário, vasoconstrição e tentativa de reconstrução tecidual (KAZIMIROVA; STIBRANIOVA, 2013).

Nos carrapatos esta ativação da resposta imunológica pode gerar vários tipos de reações no seu ciclo biológico, tais como: diminuição de ingurgitamento, queda na postura de ovos pelas fêmeas ingurgitadas, maior tempo de alimentação, redução no volume de sangue ingerido, redução de viabilidade dos ovos, aumento da incompetência de realizar ecdise,

aumento da mortalidade de carrapatos que se fixam ou pode resultar na incompetência de se alimentar (WIKEL, S. K., 1999).

Os estudos que caracterizam o fenômeno de resistência a carrapatos vêm aumentando exponencialmente nos últimos anos. Incluindo estudos que investigam a resistência inata a algumas espécies. Fatores como idade, espessura do couro, variações hormonais, distribuição de pêlos, fatores genéticos e hábitos de algumas espécies, como, por exemplo, o costume de auto higienização, podem estar envolvidos com a capacidade que algumas espécies tem de resistirem ao parasitismo (BENNETT, 1969; ABATEPAULO et al., 2008; MARYAM et al., 2012).

Apesar da grande importância já discutida da imunidade inata a resistência a carrapatos é uma característica relacionada à imunidade adquirida. Algumas espécies adquirem resistência ao carrapato após repetidas infestações, e algumas espécies nas mesmas condições não conseguem o mesmo feito (BORGES et al., 2002; MUKAI et al., 2002; CASTAGNOLLI et al., 2003; PROSDOCIMI et al., 2010). O mecanismo pelo qual o sistema imune de animais que desenvolvem resistência, atua negativamente sobre o carrapato, ainda é motivo de muitos estudos.

A resposta do hospedeiro aos carrapatos tem alguns aspectos interessantes, como por exemplo, as células que compõem o infiltrado inflamatório no local da picada tendem a ser diferentes na primeira infestação ou na segunda. Durante a primeira vez que o carrapato infesta o animal as células que são mais comumente encontradas são: neutrófilos, aumentando gradativamente a presença de eosinófilos e basófilos. Já a partir da segunda infestação, ao desenvolver resistência, o infiltrado inflamatório é outro, composto por mononucleares, eosinófilos e basófilos (SZABO; BECHARA, 1999; FERREIRA et al., 2003; PROSDOCIMI et al., 2010).

O processo de resposta aos carrapatos envolvem também outras células como as células dendríticas (CDs) - as células apresentadoras de antígenos profissionais (APC), e linfócitos T e B, que desempenham papel fundamental no processo de regulação das funções efetoras do sistema imune, além de produção de anticorpos (NITHIUTHAI; ALLEN, 1984a; WIKEL, S. K., 1996a). Alguns estudos evidenciam a importância destas células para a defesa do hospedeiro durante o processo de infestação, tais como o de NITHIUTHAI *et al.*, em 1984b, que enfatizaram o papel das células dendríticas na formação da resistência, quando

utilizaram cobaias deficientes destas células em seus experimentos, mostrando que estes animais apresentavam dificuldades em desenvolver resistência ao carrapato.

O sistema complemento é mais uma arma do arsenal do hospedeiro que é utilizada na tentativa de vencer o carrapato. Estudos mostram que a ingestão de C3, componente deste sistema, dificulta a digestão da hemoglobina ingerida pelos carrapatos. Outros estudos mostram que a diminuição da presença de C3 pode dificultar a aquisição de resistência em infestações repetidas, evidenciando ainda mais a importância deste componente para o sucesso do hospedeiro (WIKEL, S. K.; ALLEN, 1977; PAPTHEODOROU; BROSSARD, 1987).

Outro ponto que também pode direcionar a resposta imune e determinar o sucesso ou fracasso do carrapato é o perfil de citocinas que está envolvido durante a infestação. As citocinas IL-12 e TNF- α , por exemplo, são citocinas responsáveis por polarizar as células em um perfil Th1, que já está bem estabelecido ser desfavorável ao carrapato, e está relacionado à dificuldade do carrapato em se manter no hospedeiro. Já o direcionamento para um perfil Th2 é favorável à manutenção do carrapato no hospedeiro, uma vez que a resposta produzida não é direcionada a este ectoparasito (FERREIRA; SILVA, 1999; MEJRI et al., 2001; SKALLOVA et al., 2008).

2.3.3 Mecanismos de defesa mediados pelos carrapatos – importância da saliva

Com tantos mecanismos desenvolvidos pelo hospedeiro na tentativa de impedir a fixação do carrapato e proteger o organismo, os parasitos se viram em uma posição desvantajosa evolutivamente, e deveriam então criar formas de evadir destes sistemas altamente eficientes. Assim, os carrapatos desenvolveram estratégias durante o processo evolutivo que os permitem driblar as defesas impostas pelo hospedeiro e realizar com sucesso sua alimentação. Grande parte desta vitória é atribuída a presença de várias moléculas na saliva, que é injetada no hospedeiro durante todo o período de repasto, que pode durar dias no caso do *Amblyomma cajennense* (ARTHUR, 1973; RIBEIRO; FRANCISCHETTI, 2003; SOCOLOVSKI et al., 2009; SÁ-NUNES, 2010; KAZIMIROVA; STIBRANIOVA, 2013; WIKEL, S., 2013).

Incitados pelo interesse em desvendar os mecanismos desconhecidos envolvidos no processo de alimentação do carrapato, vários pesquisadores se dedicaram nos últimos anos à

tarefa de identificar as moléculas que compõem a saliva destes artrópodes (OLIVEIRA, C. J. et al., 2011). E dentre os compostos já descritos que podem modular a hemostasia encontram-se moléculas capazes de bloquear a dor e coceira, respostas que poderiam alertar o indivíduo para a presença do carrapato; moléculas que modulam a angiogênese e remodelamento da matriz extracelular relacionada à cicatrização de feridas; e, moléculas que agem como imunomoduladoras da imunidade inata e adaptativa (WIKEL, S. K., 1996b; OLIVEIRA, C. J. et al., 2011; STIBRANIOVA; LAHOVA; BARTIKOVA, 2013; WIKEL, S., 2013).

Existe uma grande variação na composição deste pool de moléculas, podendo variar entre as famílias, Argasídeos e Ixodídeos, gêneros e espécies. Isto se deve ao fato de que, cada espécie tem suas particularidades, tanto com relação ao período de alimentação, quanto com relação às espécies que selecionam como hospedeiro. Sendo assim, algumas moléculas foram conservadas evolutivamente e outras foram aperfeiçoadas e se tornaram exclusivas de algumas espécies. E todas têm como objetivo principal proporcionar o sucesso da alimentação do carrapato.

A vasoconstrição é um dos primeiros processos desencadeados pela ruptura dos tecidos da derme, e é combatida pelos artrópodes hematófagos através da secreção de substâncias vasodilatadoras ou de substâncias que podem neutralizar as substâncias vasoconstrictoras produzidas pelo hospedeiro na tentativa de reestabelecer a homeostase. Algumas moléculas já foram identificadas relacionadas a estas funções. É o caso, por exemplo, de nitroforinas, que são carregadoras de óxido nítrico. As nitroforinas estão presentes na saliva de *Rhodnius prolixus*, e conferem à saliva a coloração avermelhada devido a sua abundância. O óxido nítrico liberado por elas durante o repasto faz com que haja vasodilatação e então o favorecimento do artrópode pelo aumento do fluxo sanguíneo (CHAMPAGNE; NUSSENZVEIG; RIBEIRO, 1995; MONTFORT; WEICHSEL; ANDERSEN, 2000; MOREIRA et al., 2003; WIKEL, S., 2013). Outros exemplos incluem a THRF (histamine release fator), isolada na saliva de *Ixodes scapularis*, que se liga a basófilos e estimula liberação de histamina; prostaglandinas, isoladas a partir da saliva de alguns carrapatos; e IRS-2 isolada a partir da saliva de *Ixodes ricinus* (DAI et al., 2010; CHMELAR et al., 2012).

A agregação plaquetária é utilizada pelo hospedeiro para conter a perda sanguínea causada pelo parasita e também é bloqueada pela ação de algumas moléculas que possuem atividade anti-agregação plaquetária como por exemplo, a apirase, enzima que hidrolisa a

adenosina-difosfato (ADP), um dos agentes agregantes liberados durante o dano celular e ativação plaquetária (FRANCISCHETTI, 2010). Esta enzima foi isolada da saliva de vários carrapatos como *Ixodes scapularis* e *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Também relacionadas com a atividade antiplaquetária temos a molécula Moubatin, isolada do carrapato *Ornithodoros moubata*; Ixina, isolada da saliva do carrapato *Ixodes ricinus*; Longicornin, isolada do carrapato *Haemaphysalis longicornis* (KARCZEWSKI et al., 1995; CHENG; WU; LI, 1999; CHMELAR et al., 2012; STIBRANIOVA; LAHOVA; BARTIKOVA, 2013; WIKEL, S., 2013). Algumas moléculas foram isoladas também em outros artrópodes como nos triatomíneos, exemplos são as moléculas RPAI-1, Triplatin e Triabina (NOESKE-JUNGBLUT et al., 1995; FRANCISCHETTI et al., 2000; MORITA et al., 2006).

Inibidores ou retardadores da coagulação também podem ser encontrados, tais como a Ixodina que foi isolada da saliva do carrapato *Ixodes ricinus*; SALP14, derivada do *Ixodes scapularis*; BmAP e microfilina, isoladas a partir da saliva de *Boophilus microplus* e Enolase, da saliva de *Ornithodoros moubata*. Em outros artrópodes como no *Anopheles stephensi*, encontram-se as moléculas Hamadarin e Anophensin; em triatomíneos as moléculas com esta atividade são Triapsina e Triafestinas (GORDON; ALLEN, 1991; MARKWARDT, 1994; AMINO; TANAKA; SCHENKMAN, 2001; ISAWA et al., 2002; NAZARETH et al., 2006; ISAWA et al., 2007; CHMELAR et al., 2012; DIAZ-MARTIN et al., 2013; STIBRANIOVA; LAHOVA; BARTIKOVA, 2013; WIKEL, S., 2013).

Durante o processo espoliativo, moléculas imunomoduladoras também são liberadas. Estas moléculas agem regulando a atividade do sistema imunológico do hospedeiro, atuam no sistema complemento, na produção de citocinas, na ativação, migração, maturação e na atividade celular (macrófagos, neutrófilos, células dendríticas, linfócitos)(SÁ-NUNES; OLIVEIRA, 2010).

O Sistema Complemento é formado por uma cascata proteolítica com o objetivo final de destruir organismos através da montagem de um complexo lítico em sua superfície (FRANCISCHETTI et al., 2009). Pode ser ativado basicamente por 4 vias, sendo elas; via clássica, alternativa, via da trombina e via da lectina, e todas culminam na formação de um complexo lítico de ataque a membrana (MAC). A via alternativa é a mais modulada por carrapato, mas estudos mostram que eles podem interferir também nas outras vias. A primeira molécula isolada da saliva de carrapato com atividade sobre o sistema complemento foi denominada de ISAC (*Ixodes scapularis* anticomplement molecule) e isolada da saliva de

Ixodes scapularis (VALENZUELA et al., 2000). Extratos de glândulas salivares de *Ixodes ricinus*, *Ixodes hexagonus*, *Ixodes dammini* e *Ixodes uriae* apresentaram atividade anti-complemento. Extrato de glândulas salivares do carrapato *Ornithodoros moubata*, inibe a produção de C5a a partir da clivagem de C5 pela C5 convertase nas vias clássica e alternativa, inibindo a montagem molecular das etapas tardias da activação do complemento. A SALP 20, isolada a partir da saliva de *Ixodes scapularis*, também tem atividade anti-complemento (RIBEIRO, 1987; LAWRIE; RANDOLPH; NUTTALL, 1999; NUNN et al., 2005; TYSON, K. et al., 2007; TYSON, K. R.; ELKINS; DE SILVA; KAZIMIROVA; STIBRANIOVA, 2013; STIBRANIOVA; LAHOVA; BARTIKOVA, 2013; WIKEL, S., 2013).

As citocinas estão envolvidas em quase todos os aspectos da regulação imune e função efetora, e representam uma ponte de comunicação natural entre a imunidade inata e adaptativa. A produção de citocinas se mostra alterada na presença do carrapato, favorecendo a sua permanência no hospedeiro. Estudos mostram que moléculas presentes na saliva de carrapatos da espécie *Rhipicephalus sanguineus*, são capazes de induzir a produção de citocinas anti-inflamatórias, como IL-10, e diminuir a produção de citocinas pró-inflamatórias, como IL-12 e TNF- α . Estudos caracterizaram estas moléculas como sendo Prostaglandina E₂(PGE₂) e Adenosina (CAVASSANI et al., 2005; OLIVEIRA, C. J. et al., 2011). *Rhipicephalus appendiculatus*, também possui moléculas que alteram o perfil de citocinas produzidas, reduzindo a secreção das citocinas INF- α , INF- γ , IL-1, IL-6, IL-12 e TNF- α , e, assim, diminuindo a resposta Th1 e Th17 polarizando as células para um perfil Th2. A Sialostatina L, isolada a partir de saliva de *Ixodes scapularis* também atua de forma semelhante (SA-NUNES et al., 2009; PRESTON et al., 2013).

As quimiocinas são proteínas quimioatrativas com receptores que são diferencialmente expressos em uma variedade de tipos celulares. Assim, a modulação das quimiocinas, moléculas de adesão e citocinas pró-inflamatórias constitui uma abordagem multifacetada eficaz para a regulação negativa das respostas imune inata e adaptativa, que poderiam impactar negativamente no sucesso do carrapato. Atividades inibitórias de quimiocinas estão associadas com a saliva de numerosas espécies de carrapatos (KAZIMIROVA; STIBRANIOVA, 2013). CCL3, CXCL8, CCL2, CCL4, CCL5, CCL11, CCL18 que atraem neutrófilos, monócitos, células NK, basófilos, eosinófilos, linfócitos T e células dendríticas foram inibidos, assim como seus respectivos receptores, por moléculas

presentes na saliva de vários carrapatos (VANCOVA et al., 2007; DERUAZ et al., 2008; OLIVEIRA, C. J. et al., 2008; PETERKOVA et al., 2008).

A saliva do carrapato contém ainda, moléculas capazes de interferir diretamente na resposta imune adaptativa, através da alteração de linfócitos B e T e das células apresentadoras de antígenos, as células dendríticas, que são responsáveis por ativar essa resposta imune adaptativa. A saliva de *Dermacentor andersoni* inibiu a proliferação de linfócitos T. Da mesma forma, moléculas presentes na saliva de *Ixodes ricinus* também produziram o mesmo efeito sobre estas células, além de induzir um perfil Th2. *Ixodes scapularis* possui em sua saliva moléculas capazes de inibir o perfil inflamatório Th17 (BERGMAN et al., 2000; LEBoulLE et al., 2002; HEINZE et al., 2012). A SALP15 presente na saliva de *Ixodes scapularis*, prejudica funções das células dendríticas; a Sialostatina L, também presente na saliva deste carrapato, possui capacidade moduladora de linfócitos T, além de alterar a biologia de células dendríticas (SA-NUNES et al., 2009). Proteínas inibidoras de células B (BIP e BIF) foram identificados em *Ixodes ricinus* e *Hyalomma asiaticum asiaticum*, e favorecem os carrapatos ao inibirem a produção de anticorpos durante o processo de repasto, o que poderia causar a rejeição do carrapato pelo hospedeiro (HANNIER et al., 2004; YU et al., 2006). Importantes componentes da saliva de *Phlebotomus papatasi*, a adenosina (ADO) e monofosfato de adenosina (5'AMP), afetam a função de CDs e atenuam a artrite experimental (CARREGARO et al., 2011). Moléculas como PGE₂, adenosina e japonina, identificadas na saliva de carrapatos, também são capazes de interferir na biologia de células dendríticas, e conseqüentemente modificar a resposta secundária (CAVASSANI et al., 2005; OLIVEIRA, C. J. et al., 2011; PRESTON et al., 2013).

2.3.4 Saliva na transmissão de patógenos

Com relação à transmissão de patógenos, vários estudos comprovam como a saliva auxilia nesta difusão. Os patógenos usam a saliva de formas diferentes, pode ser de maneira indireta, quando a saliva injetada no local da picada inibe o sistema defensivo do hospedeiro, favorecendo o patógeno, ou através do uso das moléculas presentes na sua saliva de maneira direta, como potencializadores de infectividade. Este fato ganhou o nome de transmissão favorecida pela saliva – SAT, é tema de diversas pesquisas atuais e é uma implicação extra que o ambiente imunomodulado fornece ao hospedeiro (Nuttall, 2004). Apesar de ser

comprovado que ocorre esta potencialização de infecção, as moléculas responsáveis ainda não foram totalmente identificadas.

O primeiro relato relacionando a saliva à transmissão de patógenos, foi feito para o vírus Thogoto em associação com o carrapato *Rhipicephalus appendiculatus* (JONES, L. D.; HODGSON; NUTTALL, 1989), neste caso há um aumento na transmissão do vírus na presença da saliva. Outros relatos foram feitos, mostrando este favorecimento com relação aos patógenos: *Borrelia afzelii*; *Borrelia burgdorferi*; *Theileria parva* (SHAW; TILNEY; MCKEEVER, 1993; ZEIDNER et al., 2002; SLAMOVA et al., 2011; DE TAEYE et al., 2013).

Com relação ao uso das moléculas pelos patógenos em seu próprio benefício, também já existem estudos, por exemplo, o agente etiológico da doença de Lyme, *Borrelia sp.*, que utiliza a SALP15, presente na saliva de carrapatos vetores como escudo protetor contra os anticorpos do hospedeiro, facilitando assim sua propagação (RAMAMOORTHI et al., 2005; FRANCISCHETTI et al., 2009; HEINZE et al., 2012; KAZIMIROVA; STIBRANIOVA, 2013).

2.4 CÉLULAS DENDRÍTICAS (CDs)

As CDs foram descritas pela primeira vez em estudos realizados por Steinman e Cohn, em 1973, quando observavam órgãos linfoides secundários de camundongos. São células que capturam, processam, e apresentam antígenos, sendo consideradas as principais células apresentadoras de antígenos no organismo (APCs). Por este motivo, são as responsáveis pela ligação entre resposta inata e adquirida, participando principalmente no processo de ativação dos linfócitos (STEINMAN; COHN, 1973). Originam-se da medula óssea e migram constantemente, se distribuindo pelo corpo todo, em um estado imaturo, podendo ser encontradas em tecidos periféricos não linfoides, tais como pele, trato gastrointestinal, urogenital e respiratório, e em órgãos sólidos tais como fígado e coração (BANCHEREAU; STEINMAN, 1998; BOLTJES; VAN WIJK, 2014; MILDNER; JUNG, 2014). Devido ao processo migratório, estas células vivem em constante alerta aos possíveis agentes agressores, sejam biológicos, químicos ou físicos, e isto otimiza o seu trabalho de apresentação de antígenos, que se intensifica em casos de processo inflamatório.

As CDs são equipadas com receptores que reconhecem os antígenos que se aventuram pelo organismo vigiado por elas. Estes receptores recebem o nome de 'receptores de

reconhecimento de padrões'- PRRs, e reconhecem moléculas conservadas em grupos de organismos, que são chamadas de PAMPs – padrões moleculares associados a patógenos (MEDZHITOV, 2001). Ao ocorrer a ligação do receptor com o antígeno, estas células passam por um processo de maturação celular, para isto sofrem transformações funcionais e fenotípicas. A produção de citocinas é um dos primeiros sinais de que está ocorrendo o processo de maturação, citocinas como o TNF- α , IL-6 e IL-12 dão início ao processo inflamatório. Outro sinal importante é o aumento da expressão de moléculas estimuladoras e co-estimuladoras que estão presentes na sua superfície, exemplos são o MHC-II, CD40, CD80 e CD86(KAPSENBERG, 2003).

Durante esta transição funcional, as células sofrem um processo migratório para os órgãos linfóides secundários, onde vão encontrar os linfócitos T *naive* e apresentar o antígeno processado a eles, permitindo a montagem de uma resposta imunológica direcionada e eficiente. Esta migração envolve vários fatores que permitem a interação destas células com o endotélio, permitindo a migração através dos tecidos e órgãos, para isto há produção de quimiocinas, expressão de receptores específicos para as quimiocinas atrativas e envolvimento de moléculas de adesão (BANCHEREAU; STEINMAN, 1998; RANDOLPH, G. J.; ANGELI; SWARTZ, 2005; MILDNER; JUNG, 2014).

As células dendríticas quando imaturas apresentam uma série de receptores para quimiocinas em sua membrana, que os permitem migrar para os locais onde está havendo o dano, tais como CCR1, CCR2, CCR5 e CXCR1. Durante o processo de ativação destas células, elas deixam de apresentar alguns receptores e aumentam a expressão de outros, como é o caso de CCR7, que as auxiliam na migração para os linfonodos, onde a concentração de CCL-19 e CCL-21, seus ligantes, está aumentada (SOZZANI et al., 1997; SALLUSTO et al., 1998; SOZZANI, 2005). Neste processo de maturação, a célula sofre outras mudanças, como por exemplo, reorganização do citoesqueleto, capacidade de locomoção e perda de estruturas adesivas. Quando nos tecidos linfóides, estas células ativadas interagem com os linfócitos T ali presentes, e elas podem ativar um padrão específico de resposta, sendo eles representados pelas formas Th1, Th2, Th17, Th9, Th22 e Treg (KUSHWAH; HU, 2011; VAN DEN HAM; ANDEWEG; DE BOER, 2013; WIKEL, S., 2013). Por exemplo, as citocinas IL-12 e o INF- γ , quando presentes no microambiente, podem induzir um padrão de resposta Th1, já a citocina IL-4 parece ser a principal indutora de padrão Th2 e assim cada padrão tem um perfil

de citocinas diferentes. O interessante é que um padrão inibe a produção de citocinas do outro padrão. (MURAILLE; LEO, 1998).

O sucesso da ativação das CDs se dá quando ela consegue apresentar o antígeno e ativar as células T presentes no linfonodo, cumprindo sua função. Este passo de apresentação de antígeno envolve a realização da sinapse imunológica, que consiste basicamente de três passos: primeiro o sinal 1, que é a interação do complexo MHC-peptídeo com o TCR (receptor de célula T); o sinal 2, que é aquele dado pela ligação de moléculas co-estimulatórias como CD80, CD86, CD40 e seus ligantes correspondentes nos linfócitos; e o sinal 3, que é produzido pelo efeito de citocinas liberadas entre as células (DIEBOLD, 2008).

As células dendríticas formam uma população heterogênea e são distribuídas em alguns subtipos de acordo com características que apresentam, o local de origem, distribuição tecidual, fenótipo de suas moléculas de superfície e funções especializadas (SHORTMAN et al., 1997; LIU, Y. J., 2001; IWASAKI, 2007). Desta forma, temos as células dendríticas convencionais, ou mielóides quando se faz referência à origem hematopoética destas células; e as plasmacitótides, que teriam origem a partir da linhagem linfoide (SHORTMAN; LIU, 2002). E dependendo da localização podem receber diferentes denominações, por exemplo, na pele são denominadas de células de Langerhans.

Conhecendo então sua importância na montagem da resposta imunológica e no seu poder de manipulação do perfil linfocitário, vários estudos buscam estudar a importância desta célula em diversas situações envolvendo ativação da resposta imune .

2.4.1 Imunomodulação de CDs por saliva de artrópodes

Devido à sua localização estratégica na pele do hospedeiro, as células dendríticas rapidamente, entram em contato com as moléculas presentes na saliva. Estas células possuem mecanismos altamente especializados em capturar, processar e apresentar antígenos, o que as torna um importante elo entre a resposta imune inata e a adaptativa, como falado anteriormente (BANCHEREAU; STEINMAN, 1998; BOLTJES; VAN WIJK, 2014; BRISENO; MURPHY; MURPHY, 2014). Assim, a modulação destas células se torna extremamente relevante durante o processo de hematofagia (FRANCISCHETTI et al., 2009).

Os primeiros trabalhos realizados sugeriram que há migração de células de Langerhans da pele para os linfonodos após a infestação com carrapatos *D. andersoni*, e este

fato é fundamental para que o hospedeiro desenvolva uma resposta imune específica (ALLEN; KHALIL; GRAHAM, 1979; NITHIUTHAI; ALLEN, 1984a 1984, NITHIUTHAI, 1985).

Alguns trabalhos foram realizados desde então, com o objetivo de avaliar se existe algum tipo de envolvimento destas células com o sucesso do parasito, e estes estudos envolvem todo o processo biológico da célula e a relação dela com diversos organismos.

O processo de diferenciação das CDs pode ser inibido por alguns parasitos, com o objetivo de serem menos percebidos pelo organismo e gerar uma resposta diminuída a ponto de não afetar sua alimentação. A diferenciação de CDs se mostrou inibida em estudos realizados com saliva de carrapatos, como pode ser visto no trabalho de Cavassani, 2005 (CAVASSANI et al., 2005), onde foi visto diminuição da diferenciação de CDs pela ação da saliva de *Rhipicephalus sanguineus*, assim como no trabalho de Oliveira et al, 2011, (OLIVEIRA, C. J. et al., 2011) onde foi demonstrado que a PGE₂ era responsável por este efeito. A saliva do carrapato *Rhipicephalus appendiculatus* apresenta resultados de inibição na diferenciação de CDs a partir de monócitos (PRESTON et al., 2013). No entanto a saliva de artrópodes nem sempre inibe a diferenciação de CDs, como foi mostrado por Bizzarro, 2013 em um trabalho onde foi avaliada a ação da saliva de *Aedes aegypti* nestas células (BIZZARRO et al., 2013).

A maturação pode ser observada na expressão de moléculas como CD40, CD80, CD86 e MHC II, assim como por produção de citocinas e pode ser estimulada com LPS (um ligante de TLR-4). CDs imaturas apresentam baixa expressão das moléculas citadas, assim como baixa produção de citocinas. As células apresentando este perfil são altamente eficientes na captura de antígenos e assim que começa o processamento do antígeno, estas células passam por um processo de maturação aumentando a expressão de moléculas que auxiliam no sucesso de sua função. CDs com fenótipo CD11c⁺ CD80 e CD86 expressos em baixos níveis, tem um fenótipo protetor, anti- inflamatório, que induz apoptose ou anergia das células T, por exemplo (SKALLOVA et al., 2008; OLIVEIRA, C. J. et al., 2010; CHISTIYAKOV et al., 2014). Com relação à expressão das moléculas estimuladoras e co-estimuladoras, existem trabalhos como o de Cavassani *et al.*, 2005, Oliveira *et al.*, 2010 e Oliveira *et al.*, 2011, onde CDs estimuladas com LPS apresentaram redução de expressão de CD40, CD80 e CD86 quando na presença de saliva de *Rhipicephalus sanguineus*. A saliva de *Rhipicephalus appendiculatus* possui uma molécula de 17,7 kDa, a Japanina, que apresenta resultados de

inibição de CD86 e CD83, diminuindo também o processo de maturação; a saliva de *Ixodes scapularis* apresenta inibição de CD40 e Sialostatina L isolada da saliva de *Ixodes scapularis* inibe a expressão de CD80 e CD86; a saliva de *Rhipicephalus microplus* também altera a expressão de CD80, CD86 e CD69 em macrófagos (CAVASSANI et al., 2005; SA-NUNES et al., 2007; SA-NUNES et al., 2009; OLIVEIRA, C. J. et al., 2010; OLIVEIRA, C. J. et al., 2011; PRESTON et al., 2013).

A produção de citocinas, também é um fator representativo do processo de maturação e também pode ser alterada na presença da saliva. As citocinas pró-inflamatórias IL-12p40, IL-6 e TNF- α apresentam-se com sua produção reduzida se comparada ao controle, e a citocina anti-inflamatória IL-10 teve sua produção significativamente aumentada em vários trabalhos relacionados à saliva de artrópodes (CAVASSANI et al., 2005; SA-NUNES et al., 2007; CASTAGNOLLI et al., 2008; SKALLOVA et al., 2008; SA-NUNES et al., 2009; OLIVEIRA, C. J. et al., 2010; OLIVEIRA, C. J. et al.; PRESTON et al., 2013).

O aumento da citocina IL-10 produzida por CDs pode também direcionar à ativação de linfócitos T reguladores (KUSHWAH; HU, 2011), e estes podem regular a ativação de linfócitos *naive* ao inibirem a expressão de CD80/86 por CDs (ONISHI et al., 2008; CHISTIYAKOV et al., 2014). A presença de IL-10 aumentada contribui para manutenção de um ambiente anti-inflamatório, diminuindo a ativação de Linfócitos T e conseqüentemente seu recrutamento, fato observado com ensaios utilizando saliva de *Aedes aegypti* (SCHNEIDER et al., 2010). A saliva de *Ixodes ricinus* também aumentou a produção de IL-10 em esplenócitos estimulados com LPS, e inibiu a produção de INF- γ (KOPECKY; KUTHEJLOVA; PECHOVA, 1999).

A citocina IL-6 é considerada uma importante citocina pró-inflamatória com ativa produção em fase aguda, dirige a inflamação durante a transição da resposta imune inata para adaptativa (JONES, S. A., 2005; JONES, S. A.; SCHELLER; ROSE-JOHN, 2011), porém pode ter atividade anti-inflamatória com tentativa de estabelecer a homeostase (SCHELLER et al., 2011). As vias de ativação desta citocina são duas, e muito importantes no direcionamento da resposta, se acontecer a ativação pela via chamada clássica, a resposta tende a ser anti-inflamatória, enquanto que se acontecer pela via de trans-sinalização, tende a ser pró-inflamatória (HEINRICH et al., 2003; JONES, S. A., 2005; JONES, S. A.; SCHELLER; ROSE-JOHN, 2011; SCHELLER et al., 2011; ROSE-JOHN, 2012). As citocinas IL-12 e TNF- α são citocinas responsáveis por polarizar as células em um perfil Th1,

que seria desfavorável ao carrapato. Uma diminuição na produção destas citocinas contribui para o desenvolvimento de um perfil Th2, favorável ao carrapato (FERREIRA; SILVA, 1999; MEJRI et al., 2001; SKALLOVA et al., 2008).

Alguns patógenos possuem a capacidade de alterar a expressão de receptores envolvidos na migração das CDs, visando evadir da resposta imune do hospedeiro (LIU, Y.; SHI, 2014). A *Leishmania major* possui a capacidade de inibir a expressão dos receptores de quimiocinas CCR2 e CCR5 (STEIGERWALD; MOLL, 2005; VARANI et al., 2005). Estudos realizados com a saliva de carrapato mostram a downregulação CCR5 (OLIVEIRA, C. J. et al., 2008). A inibição da migração também foi observada *in vivo* por saliva de carrapatos, onde a quantidade de CDs no local da picada foi encontrada diminuída (OLIVEIRA, C. J. et al., 2008; HORKA et al., 2009). Além de uma diminuição da expressão do receptor que auxilia com que as CDs permaneçam no tecido no estado imaturo, há uma inibição da diferenciação destas células em CDs, como já relatado. Estes fatos podem ajudar a explicar porque se encontra uma redução destas células no local da picada.

Apesar dos estudos envolvendo a caracterização estrutural e funcional das moléculas presentes na saliva de carrapatos estarem em crescimento exponencial, ainda existem inúmeros mecanismos não descobertos, assim como moléculas ainda não identificadas (OLIVEIRA, C. J. et al., 2011). A importância de trabalhos assim, não somente contribuem para esclarecimento sobre a interação parasito-hospedeiro, mas também visam descobrir novas moléculas que podem ser aplicadas como importante alternativa terapêutica ou em práticas de controle do parasito (RIBEIRO et al., 2006).

Neste contexto, o *A. cajennense* é potencialmente interessante, é um carrapato que precisa de um sistema de modulação altamente eficiente, pois, além de necessitar controlar o sistema de defesa de diversas espécies de animais, precisa fazer isto por um longo período de tempo. Outros fatores chamam a atenção para esta espécie, como o aparelho bucal longo, capaz de causar um processo lesivo grande, que na falta de modulação seria rapidamente percebido pelo hospedeiro; a falta de especificidade de hospedeiro, a capacidade de infestações repetidas e sua importante capacidade vetorial. Todos estes fatores nos levam a crer que este carrapato possui uma complexidade de moléculas específicas e diferenciadas, capazes de proporcionar a sobrevivência deste carrapato. No entanto, estudos relacionados a moléculas presentes na saliva desta espécie ainda são incipientes. Desta forma, este trabalho busca estudar a relação da saliva de *A. cajennense* e a biologia das CDs, avaliando a

capacidade da saliva de interferir nos processos de diferenciação, maturação e migração destas células, e buscando identificar algum componente responsável pelos efeitos encontrados.

REFERÊNCIAS

- ABATEPAULO, A. R. et al. Detection of SNPs in bovine immune-response genes that may mediate resistance to the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Anim Genet**, v. 39, n. 3, p. 328-329, Jun 2008.
- ALLEN, J. R.; KHALIL, H. M.; GRAHAM, J. E. The location of tick salivary antigens, complement and immunoglobulin in the skin of guinea-pigs infested with *Dermacentor andersoni* larvae. **Immunology**, v. 38, n. 3, p. 467-472, Nov 1979.
- AMINO, R.; TANAKA, A. S.; SCHENKMAN, S. Tripsin, an unusual activatable serine protease from the saliva of the hematophagous vector of Chagas' disease *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae). **Insect Biochem Mol Biol**, v. 31, n. 4-5, p. 465-472, Mar 15 2001.
- ARAGÃO, H. B. Ixodidas brasileiros e de alguns países limitrofes. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 31, p. 759-843, 1936.
- ARTHUR, D. R. Ticks in Egypt in 1500 B.C.? **Nature**, v. 206, n. 988, p. 1060-1061, Jun 5 1965.
- ARTHUR, D. R. Host and tick relationships: a review. **J Wildl Dis**, v. 9, n. 1, p. 74-84, Jan 1973.
- BANCHEREAU, J.; STEINMAN, R. M. Dendritic cells and the control of immunity. **Nature**, v. 392, n. 6673, p. 245-252, Mar 19 1998.
- BEATI, L. et al. *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae), the Cayenne tick: phylogeography and evidence for allopatric speciation. **BMC Evol Biol**, v. 13, p. 267, 2013.
- BENNETT, G. F. *Boophilus microplus* (acarina: ixodidae): experimental infestations on cattle restrained from grooming. **Exp Parasitol**, v. 26, n. 3, p. 323-328, Dec 1969.
- BERGMAN, D. K. et al. Isolation and molecular cloning of a secreted immunosuppressant protein from *Dermacentor andersoni* salivary gland. **J Parasitol**, v. 86, n. 3, p. 516-525, Jun 2000.
- BIZZARRO, B. et al. Effects of *Aedes aegypti* salivary components on dendritic cell and lymphocyte biology. **Parasit Vectors**, v. 6, p. 329, 2013.
- BOLTJES, A.; VAN WIJK, F. Human dendritic cell functional specialization in steady-state and inflammation. **Front Immunol**, v. 5, p. 131, 2014.
- BORGES, L. M. et al. Horse resistance to natural infestations of *Anocentor nitens* and *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae). **Vet Parasitol**, v. 104, n. 3, p. 265-273, Mar 20 2002.
- BORGES, L. M. et al. [Study of foveae dorsales of nymphs and adults of four species of ticks (Acari: Ixodidae) by scanning electron microscopy]. **Rev Bras Parasitol Vet**, v. 15, n. 3, p. 89-96, Jul-Sep 2006.
- BOWMAN A, N. P. **Ticks: Biology, Disease and Control**. Cambridge University Press, 2008.
- BRISENO, C. G.; MURPHY, T. L.; MURPHY, K. M. Complementary diversification of dendritic cells and innate lymphoid cells. **Curr Opin Immunol**, v. 29C, p. 69-78, Aug 2014.
- CARREGARO, V. et al. Nucleosides from *Phlebotomus papatasi* salivary gland ameliorate murine collagen-induced arthritis by impairing dendritic cell functions. **J Immunol**, v. 187, n. 8, p. 4347-4359, Oct 15 2011.
- CASTAGNOLLI, K. C. et al. Acquired resistance of horses to *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) ticks. **Vet Parasitol**, v. 117, n. 4, p. 271-283, Nov 28 2003.

- CASTAGNOLLI, K. C. et al. Effect of *Amblyomma cajennense* ticks on the immune response of BALB/c mice and horses. **Ann N Y Acad Sci**, v. 1149, p. 230-234, Dec 2008.
- CAVASSANI, K. A. et al. Tick saliva inhibits differentiation, maturation and function of murine bone-marrow-derived dendritic cells. **Immunology**, v. 114, n. 2, p. 235-245, Feb 2005.
- CHAMPAGNE, D. E.; NUSSENZVEIG, R. H.; RIBEIRO, J. M. Purification, partial characterization, and cloning of nitric oxide-carrying heme proteins (nitrophorins) from salivary glands of the blood-sucking insect *Rhodnius prolixus*. **J Biol Chem**, v. 270, n. 15, p. 8691-8695, Apr 14 1995.
- CHEN, L. F.; SEXTON, D. J. What's new in Rocky Mountain spotted fever? **Infect Dis Clin North Am**, v. 22, n. 3, p. 415-432, vii-viii, Sep 2008.
- CHENG, Y.; WU, H.; LI, D. An inhibitor selective for collagen-stimulated platelet aggregation from the salivary glands of hard tick *Haemaphysalis longicornis* and its mechanism of action. **Sci China C Life Sci**, v. 42, n. 5, p. 457-464, Oct 1999.
- CHISTIAKOV, D. A. et al. Dendritic cells in atherosclerotic inflammation: the complexity of functions and the peculiarities of pathophysiological effects. **Front Physiol**, v. 5, p. 196, 2014.
- CHMELAR, J. et al. Tick salivary secretion as a source of antihemostatics. **J Proteomics**, v. 75, n. 13, p. 3842-3854, Jul 16 2012.
- CRUVINEL WDE, M. et al. Immune system - part I. Fundamentals of innate immunity with emphasis on molecular and cellular mechanisms of inflammatory response. **Rev Bras Reumatol**, v. 50, n. 4, p. 434-461, Jul-Aug 2010.
- DAI, J. et al. Tick histamine release factor is critical for *Ixodes scapularis* engorgement and transmission of the Lyme disease agent. **PLoS Pathog**, v. 6, n. 11, p. e1001205, 2010.
- DANTAS-TORRES, F. Rocky Mountain spotted fever. **Lancet Infect Dis**, v. 7, n. 11, p. 724-732, Nov 2007.
- DANTAS-TORRES, F.; CHOMEL, B. B.; OTRANTO, D. Ticks and tick-borne diseases: a One Health perspective. **Trends Parasitol**, v. 28, n. 10, p. 437-446, Oct 2012.
- DE FREITAS, C. M. et al. Possible acquired resistance of dogs successively infested by *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae) nymphs. **Rev Bras Parasitol Vet**, v. 18 Suppl 1, p. 40-42, Dec 2009.
- DE LEMOS, E. R. et al. Epidemiological aspects of the Brazilian spotted fever: seasonal activity of ticks collected in an endemic area in Sao Paulo, Brazil. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 30, n. 3, p. 181-185, May-Jun 1997a.
- DE LEMOS, E. R. et al. Rickettsiae-infected ticks in an endemic area of spotted fever in the State of Minas Gerais, Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 92, n. 4, p. 477-481, Jul-Aug 1997b.
- DE TAEYE, S. W. et al. Complement evasion by *Borrelia burgdorferi*: it takes three to tango. **Trends Parasitol**, v. 29, n. 3, p. 119-128, Mar 2013.
- DERUAZ, M. et al. Ticks produce highly selective chemokine binding proteins with antiinflammatory activity. **J Exp Med**, v. 205, n. 9, p. 2019-2031, Sep 1 2008.
- DIAZ-MARTIN, V. et al. Cloning and characterization of a plasminogen-binding enolase from the saliva of the argasid tick *Ornithodoros moubata*. **Vet Parasitol**, v. 191, n. 3-4, p. 301-314, Jan 31 2013.

- DIEBOLD, S. S. Determination of T-cell fate by dendritic cells. **Immunol Cell Biol**, v. 86, n. 5, p. 389-397, Jul 2008.
- EVANS, D. E.; MARTINS, J. R.; GUGLIELMONE, A. A. A review of the ticks (Acari, ixodida) of Brazil, their hosts and geographic distribution - 1. The state of Rio Grande do Sul, southern Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 95, n. 4, p. 453-470, Jul-Aug 2000.
- FERREIRA, B. R.; SILVA, J. S. Successive tick infestations selectively promote a T-helper 2 cytokine profile in mice. **Immunology**, v. 96, n. 3, p. 434-439, Mar 1999.
- FERREIRA, B. R. et al. Antigens from Rhipicephalus sanguineus ticks elicit potent cell-mediated immune responses in resistant but not in susceptible animals. **Vet Parasitol**, v. 115, n. 1, p. 35-48, Jul 10 2003.
- FRANCISCETTI, I. M. Platelet aggregation inhibitors from hematophagous animals. **Toxicon**, v. 56, n. 7, p. 1130-1144, Dec 15 2010.
- FRANCISCETTI, I. M. et al. Purification, cloning, expression, and mechanism of action of a novel platelet aggregation inhibitor from the salivary gland of the blood-sucking bug, Rhodnius prolixus. **J Biol Chem**, v. 275, n. 17, p. 12639-12650, Apr 28 2000.
- FRANCISCETTI, I. M. et al. The role of saliva in tick feeding. **Front Biosci (Landmark Ed)**, v. 14, p. 2051-2088, 2009.
- GERSTENBLITH, T. A.; STERN, T. A. Lyme Disease: A Review of Its Epidemiology, Evaluation, and Treatment. **Psychosomatics**, Apr 19 2014.
- GLADNEY, W. J. Mate-seeking by female Amblyomma maculatum (acarina: ixodidae) on a bovine. **Nature**, v. 232, n. 5310, p. 401-402, Aug 6 1971.
- GONCALVES, D. D. et al. First record of Borrelia burgdorferi B31 strain in Dermacentor nitens ticks in the northern region of Parana (Brazil). **Braz J Microbiol**, v. 44, n. 3, p. 883-887, 2013.
- GORDON, J. R.; ALLEN, J. R. Factors V and VII anticoagulant activities in the salivary glands of feeding Dermacentor andersoni ticks. **J Parasitol**, v. 77, n. 1, p. 167-170, Feb 1991.
- GRECA H., L. H., SOUZA L.C. . BRAZILIAN SPOTTED FEVER: A REEMERGENT ZOONOSIS. **J. Venom. Anim. Toxins incl. Trop. Dis.**, v. V.14, p. p.3-18, 2008.
- GUEDES, E. et al. Detection of Rickettsia rickettsii in the tick Amblyomma cajennense in a new Brazilian spotted fever-endemic area in the state of Minas Gerais. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 100, n. 8, p. 841-845, Dec 2005.
- HANNIER, S. et al. Characterization of the B-cell inhibitory protein factor in Ixodes ricinus tick saliva: a potential role in enhanced Borrelia burgdorferi transmission. **Immunology**, v. 113, n. 3, p. 401-408, Nov 2004.
- HEINRICH, P. C. et al. Principles of interleukin (IL)-6-type cytokine signalling and its regulation. **Biochem J**, v. 374, n. Pt 1, p. 1-20, Aug 15 2003.
- HEINZE, D. M. et al. Transcriptional profiling of the murine cutaneous response during initial and subsequent infestations with Ixodes scapularis nymphs. **Parasit Vectors**, v. 5, p. 26, 2012.
- HILDEBRANDT, A.; GRAY, J. S.; HUNFELD, K. P. Human babesiosis in Europe: what clinicians need to know. **Infection**, v. 41, n. 6, p. 1057-1072, Dec 2013.

- HORAK, I. G.; CAMICAS, J. L.; KEIRANS, J. E. The Argasidae, Ixodidae and Nuttalliellidae (Acari: Ixodida): a world list of valid tick names. **Exp Appl Acarol**, v. 28, n. 1-4, p. 27-54, 2002.
- HORKA, H. et al. Tick saliva affects both proliferation and distribution of *Borrelia burgdorferi* spirochetes in mouse organs and increases transmission of spirochetes to ticks. **Int J Med Microbiol**, v. 299, n. 5, p. 373-380, Jun 2009.
- HUNFELD, K. P.; HILDEBRANDT, A.; GRAY, J. S. Babesiosis: recent insights into an ancient disease. **Int J Parasitol**, v. 38, n. 11, p. 1219-1237, Sep 2008.
- ISAWA, H. et al. Identification and characterization of plasma kallikrein-kinin system inhibitors from salivary glands of the blood-sucking insect *Triatoma infestans*. **FEBS J**, v. 274, n. 16, p. 4271-4286, Aug 2007.
- ISAWA, H. et al. A mosquito salivary protein inhibits activation of the plasma contact system by binding to factor XII and high molecular weight kininogen. **J Biol Chem**, v. 277, n. 31, p. 27651-27658, Aug 2 2002.
- IWASAKI, A. Division of labor by dendritic cells. **Cell**, v. 128, n. 3, p. 435-436, Feb 9 2007.
- JANEWAY, C. A., JR. How the immune system protects the host from infection. **Microbes Infect**, v. 3, n. 13, p. 1167-1171, Nov 2001.
- JANEWAY, C. A., JR.; MEDZHITOV, R. Innate immune recognition. **Annu Rev Immunol**, v. 20, p. 197-216, 2002.
- JONES, L. D.; HODGSON, E.; NUTTALL, P. A. Enhancement of virus transmission by tick salivary glands. **J Gen Virol**, v. 70 (Pt 7), p. 1895-1898, Jul 1989.
- JONES, S. A. Directing transition from innate to acquired immunity: defining a role for IL-6. **J Immunol**, v. 175, n. 6, p. 3463-3468, Sep 15 2005.
- JONES, S. A.; SCHELLER, J.; ROSE-JOHN, S. Therapeutic strategies for the clinical blockade of IL-6/gp130 signaling. **J Clin Invest**, v. 121, n. 9, p. 3375-3383, Sep 2011.
- JONGEJAN, F.; UILENBERG, G. The global importance of ticks. **Parasitology**, v. 129 Suppl, p. S3-14, 2004.
- KAPSENBERG, M. L. Dendritic-cell control of pathogen-driven T-cell polarization. **Nat Rev Immunol**, v. 3, n. 12, p. 984-993, Dec 2003.
- KARCZEWSKI, J. et al. An inhibitor from the argasid tick *Ornithodoros moubata* of cell adhesion to collagen. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 208, n. 2, p. 532-541, Mar 17 1995.
- KAZIMIROVA, M.; STIBRANIOVA, I. Tick salivary compounds: their role in modulation of host defences and pathogen transmission. **Front Cell Infect Microbiol**, v. 3, p. 43, 2013.
- KELLER, A. et al. New insights into the Tyrolean Iceman's origin and phenotype as inferred by whole-genome sequencing. **Nat Commun**, v. 3, p. 698, 2012.
- KOPECKY, J.; KUTHEJLOVA, M.; PECHOVA, J. Salivary gland extract from *Ixodes ricinus* ticks inhibits production of interferon-gamma by the upregulation of interleukin-10. **Parasite Immunol**, v. 21, n. 7, p. 351-356, Jul 1999.
- KRAWCZAK, F. S. et al. Rickettsial infection in *Amblyomma cajennense* ticks and capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) in a Brazilian spotted fever-endemic area. **Parasit Vectors**, v. 7, p. 7, 2014.

- KUSHWAH, R.; HU, J. Role of dendritic cells in the induction of regulatory T cells. **Cell Biosci**, v. 1, n. 1, p. 20, 2011.
- LABRUNA, M. B. et al. Larval behavioral diapause regulates life cycle of *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae) in Southeast Brazil. **J Med Entomol**, v. 40, n. 2, p. 170-178, Mar 2003.
- LABRUNA, M. B. et al. Comparative susceptibility of larval stages of *Amblyomma aureolatum*, *Amblyomma cajennense*, and *Rhipicephalus sanguineus* to infection by *Rickettsia rickettsii*. **J Med Entomol**, v. 45, n. 6, p. 1156-1159, Nov 2008.
- LABRUNA, M. B.; TERASSINI, F. A.; CAMARGO, L. M. Notes on population dynamics of *Amblyomma* ticks (Acari: Ixodidae) in Brazil. **J Parasitol**, v. 95, n. 4, p. 1016-1018, Aug 2009.
- LAWRIE, C. H.; RANDOLPH, S. E.; NUTTALL, P. A. Ixodes ticks: serum species sensitivity of anticomplement activity. **Exp Parasitol**, v. 93, n. 4, p. 207-214, Dec 1999.
- LEBOULLE, G. et al. Characterization of a novel salivary immunosuppressive protein from *Ixodes ricinus* ticks. **J Biol Chem**, v. 277, n. 12, p. 10083-10089, Mar 22 2002.
- LEVY, S. The Lyme disease debate: host biodiversity and human disease risk. **Environ Health Perspect**, v. 121, n. 4, p. A120-125, Apr 2013.
- LIU, Y.; SHI, G. Role of G protein-coupled receptors in control of dendritic cell migration. **Biomed Res Int**, v. 2014, p. 738253, 2014.
- LIU, Y. J. Dendritic cell subsets and lineages, and their functions in innate and adaptive immunity. **Cell**, v. 106, n. 3, p. 259-262, Aug 10 2001.
- LOPES, C. M. et al. Host specificity of *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae) with comments on the drop-off rhythm. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 93, n. 3, p. 347-351, May-Jun 1998.
- MANTOVANI, E. et al. Description of Lyme disease-like syndrome in Brazil. Is it a new tick borne disease or Lyme disease variation? **Braz J Med Biol Res**, v. 40, n. 4, p. 443-456, Apr 2007.
- MARKWARDT, F. Coagulation inhibitors from blood-sucking animals. A new line of developing antithrombotic drugs. **Pharmazie**, v. 49, n. 5, p. 313-316, May 1994.
- MARYAM, J. et al. Genetic variants in interferon gamma (IFN-gamma) gene are associated with resistance against ticks in *Bos taurus* and *Bos indicus*. **Mol Biol Rep**, v. 39, n. 4, p. 4565-4570, Apr 2012.
- MASON, L. M. et al. Menage a trois: *Borrelia*, dendritic cells, and tick saliva interactions. **Trends Parasitol**, v. 30, n. 2, p. 95-103, Feb 2014.
- MASSARD, C. L. F., A. H. **Carrapatos e doenças transmitidas comuns ao homem e aos animais. A Hora Veterinária**. 135: 15-23 p. 2004.
- MEDZHITOV, R. Toll-like receptors and innate immunity. **Nat Rev Immunol**, v. 1, n. 2, p. 135-145, Nov 2001.
- MEJRI, N. et al. Th2 polarization of the immune response of BALB/c mice to *Ixodes ricinus* instars, importance of several antigens in activation of specific Th2 subpopulations. **Parasite Immunol**, v. 23, n. 2, p. 61-69, Feb 2001.
- MESQUITA JUNIOR, D. et al. Immune system - part II: basis of the immunological response mediated by T and B lymphocytes. **Rev Bras Reumatol**, v. 50, n. 5, p. 552-580, Sep-Oct 2010.

MILDNER, A.; JUNG, S. Development and function of dendritic cell subsets. **Immunity**, v. 40, n. 5, p. 642-656, May 15 2014.

MONTFORT, W. R.; WEICHSEL, A.; ANDERSEN, J. F. Nitrophorins and related antihemostatic lipocalins from *Rhodnius prolixus* and other blood-sucking arthropods. **Biochim Biophys Acta**, v. 1482, n. 1-2, p. 110-118, Oct 18 2000.

MOREIRA, M. F. et al. Changes in salivary nitrophorin profile during the life cycle of the blood-sucking bug *Rhodnius prolixus*. **Insect Biochem Mol Biol**, v. 33, n. 1, p. 23-28, Jan 2003.

MORITA, A. et al. Identification and characterization of a collagen-induced platelet aggregation inhibitor, triplatin, from salivary glands of the assassin bug, *Triatoma infestans*. **FEBS J**, v. 273, n. 13, p. 2955-2962, Jul 2006.

MUKAI, L. S. et al. Development of resistance to nymphs of *Amblyomma cajennense* ticks (Acari:Ixodidae) in dogs. **Ann N Y Acad Sci**, v. 969, p. 180-183, Oct 2002.

MURAILLE, E.; LEO, O. Revisiting the Th1/Th2 paradigm. **Scand J Immunol**, v. 47, n. 1, p. 1-9, Jan 1998.

NAZARETH, R. A. et al. Antithrombotic properties of Ixolaris, a potent inhibitor of the extrinsic pathway of the coagulation cascade. **Thromb Haemost**, v. 96, n. 1, p. 7-13, Jul 2006.

NITHIUTHAI, S.; ALLEN, J. R. Effects of ultraviolet irradiation on the acquisition and expression of tick resistance in guinea-pigs. **Immunology**, v. 51, n. 1, p. 153-159, Jan 1984a.

NITHIUTHAI, S.; ALLEN, J. R. Significant changes in epidermal Langerhans cells of guinea-pigs infested with ticks (*Dermacentor andersoni*). **Immunology**, v. 51, n. 1, p. 133-141, Jan 1984b.

NITHIUTHAI, S.; ALLEN, J. R. Langerhans cells present tick antigens to lymph node cells from tick-sensitized guinea-pigs. **Immunology**, v. 55, n. 1, p. 157-163, May 1985.

NOESKE-JUNGBLUT, C. et al. Triabin, a highly potent exosite inhibitor of thrombin. **J Biol Chem**, v. 270, n. 48, p. 28629-28634, Dec 1 1995.

NUNN, M. A. et al. Complement inhibitor of C5 activation from the soft tick *Ornithodoros moubata*. **J Immunol**, v. 174, n. 4, p. 2084-2091, Feb 15 2005.

OLIVEIRA, C. J. et al. Tick saliva induces regulatory dendritic cells: MAP-kinases and Toll-like receptor-2 expression as potential targets. **Vet Parasitol**, v. 167, n. 2-4, p. 288-297, Feb 10 2010.

OLIVEIRA, C. J. et al. Tick saliva inhibits the chemotactic function of MIP-1alpha and selectively impairs chemotaxis of immature dendritic cells by down-regulating cell-surface CCR5. **Int J Parasitol**, v. 38, n. 6, p. 705-716, May 2008.

OLIVEIRA, C. J. et al. Deconstructing tick saliva: non-protein molecules with potent immunomodulatory properties. **J Biol Chem**, v. 286, n. 13, p. 10960-10969, Apr 1 2011.

OLIVEIRA, P. R. BIOLOGIA E CONTROLE DE *Amblyomma cajennense*. **Rev. Bras. Parasitol.Vet.**, v. V.13, p. 118-122, 2004.

OLIVEIRA, P. R. et al. Seasonal dynamics of the Cayenne tick, *Amblyomma cajennense* on horses in Brazil. **Med Vet Entomol**, v. 17, n. 4, p. 412-416, Dec 2003.

OLIVER, J. H., JR. Lyme disease: tick vectors, distribution, and reservoir hosts. **J Med Assoc Ga**, v. 78, n. 10, p. 675-678, Oct 1989.

- ONISHI, Y. et al. Foxp3+ natural regulatory T cells preferentially form aggregates on dendritic cells in vitro and actively inhibit their maturation. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 105, n. 29, p. 10113-10118, Jul 22 2008.
- PAPATHEODOROU, V.; BROSSARD, M. C3 levels in the sera of rabbits infested and reinfested with *Ixodes ricinus* L. and in midguts of fed ticks. **Exp Appl Acarol**, v. 3, n. 1, p. 53-59, Mar 1987.
- PETERKOVA, K. et al. Immunomodulatory arsenal of nymphal ticks. **Med Vet Entomol**, v. 22, n. 2, p. 167-171, Jun 2008.
- PINTER, A.; LABRUNA, M. B.; FACCINI, J. L. The sex ratio of *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae) with notes on the male feeding period in the laboratory. **Vet Parasitol**, v. 105, n. 1, p. 79-88, Apr 19 2002.
- PRESTON, S. G. et al. Novel immunomodulators from hard ticks selectively reprogramme human dendritic cell responses. **PLoS Pathog**, v. 9, n. 6, p. e1003450, 2013.
- PROSDOCIMI, C. C. et al. Innate immunity in woolless lamb to larvae of *Amblyomma cajennense* tick (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae). **Transbound Emerg Dis**, v. 57, n. 1-2, p. 75-76, Apr 2010.
- RAJPUT, Z. I. et al. Importance of ticks and their chemical and immunological control in livestock. **J Zhejiang Univ Sci B**, v. 7, n. 11, p. 912-921, Nov 2006.
- RAMAMOORTHI, N. et al. The Lyme disease agent exploits a tick protein to infect the mammalian host. **Nature**, v. 436, n. 7050, p. 573-577, Jul 28 2005.
- RANDOLPH, G. J.; ANGELI, V.; SWARTZ, M. A. Dendritic-cell trafficking to lymph nodes through lymphatic vessels. **Nat Rev Immunol**, v. 5, n. 8, p. 617-628, Aug 2005.
- RANDOLPH, S. E. Population regulation in ticks: the role of acquired resistance in natural and unnatural hosts. **Parasitology**, v. 79, n. 1, p. 141-156, Aug 1979.
- RIBEIRO, J. M. *Ixodes dammini*: salivary anti-complement activity. **Exp Parasitol**, v. 64, n. 3, p. 347-353, Dec 1987.
- RIBEIRO, J. M. et al. An annotated catalog of salivary gland transcripts from *Ixodes scapularis* ticks. **Insect Biochem Mol Biol**, v. 36, n. 2, p. 111-129, Feb 2006.
- RIBEIRO, J. M.; FRANCISCETTI, I. M. Role of arthropod saliva in blood feeding: sialome and post-sialome perspectives. **Annu Rev Entomol**, v. 48, p. 73-88, 2003.
- RIBEIRO, J. M. et al. Antihemostatic, antiinflammatory, and immunosuppressive properties of the saliva of a tick, *Ixodes dammini*. **J Exp Med**, v. 161, n. 2, p. 332-344, Feb 1 1985.
- ROSE-JOHN, S. IL-6 trans-signaling via the soluble IL-6 receptor: importance for the pro-inflammatory activities of IL-6. **Int J Biol Sci**, v. 8, n. 9, p. 1237-1247, 2012.
- SA-NUNES, A. et al. The immunomodulatory action of sialostatin L on dendritic cells reveals its potential to interfere with autoimmunity. **J Immunol**, v. 182, n. 12, p. 7422-7429, Jun 15 2009.
- SA-NUNES, A. et al. Prostaglandin E2 is a major inhibitor of dendritic cell maturation and function in *Ixodes scapularis* saliva. **J Immunol**, v. 179, n. 3, p. 1497-1505, Aug 1 2007.
- SÁ-NUNES, A. O., C.J. . Sialogenins and immunomodulators derived from blood feeding parasites. In: KINI, R. M., CLEMETSON, K.J., MARKLAND, F.S., MCLANE, M.A., MORITA, T. (Ed.). **Toxins and Hemostasis: From Bench to Bedside**. New York: Springer, 2010. p.131-152.

- SAITO, T. B. et al. An Animal Model of a Newly Emerging Human Ehrlichiosis. **J Infect Dis**, Jul 2 2014.
- SALLUSTO, F. et al. Rapid and coordinated switch in chemokine receptor expression during dendritic cell maturation. **Eur J Immunol**, v. 28, n. 9, p. 2760-2769, Sep 1998.
- SANTOS, M. et al. Lyme borreliosis. **An Bras Dermatol**, v. 85, n. 6, p. 930-938, Nov-Dec 2010.
- SHELLER, J. et al. The pro- and anti-inflammatory properties of the cytokine interleukin-6. **Biochim Biophys Acta**, v. 1813, n. 5, p. 878-888, May 2011.
- SCHNEIDER, B. S. et al. Aedes aegypti saliva alters leukocyte recruitment and cytokine signaling by antigen-presenting cells during West Nile virus infection. **PLoS One**, v. 5, n. 7, p. e11704, 2010.
- SEVERO, M. S. et al. Anaplasma phagocytophilum: deceptively simple or simply deceptive? **Future Microbiol**, v. 7, n. 6, p. 719-731, Jun 2012.
- SHAW, M. K.; TILNEY, L. G.; MCKEEVER, D. J. Tick salivary gland extract and interleukin-2 stimulation enhance susceptibility of lymphocytes to infection by Theileria parva sporozoites. **Infect Immun**, v. 61, n. 4, p. 1486-1495, Apr 1993.
- SHORTMAN, K.; LIU, Y. J. Mouse and human dendritic cell subtypes. **Nat Rev Immunol**, v. 2, n. 3, p. 151-161, Mar 2002.
- SHORTMAN, K. et al. Dendritic cells and T lymphocytes: developmental and functional interactions. **Ciba Found Symp**, v. 204, p. 130-138; discussion 138-141, 1997.
- SKALLOVA, A. et al. Tick saliva inhibits dendritic cell migration, maturation, and function while promoting development of Th2 responses. **J Immunol**, v. 180, n. 9, p. 6186-6192, May 1 2008.
- SLAMOVA, M. et al. Effect of tick saliva on immune interactions between Borrelia afzelii and murine dendritic cells. **Parasite Immunol**, v. 33, n. 12, p. 654-660, Dec 2011.
- SOCOLOVSKI, C. et al. The relationship between spotted fever group Rickettsiae and ixodid ticks. **Vet Res**, v. 40, n. 2, p. 34, Mar-Apr 2009.
- SOUZA, C. E. et al. Experimental infection of capybaras Hydrochoerus hydrochaeris by Rickettsia rickettsii and evaluation of the transmission of the infection to ticks Amblyomma cajennense. **Vet Parasitol**, v. 161, n. 1-2, p. 116-121, Apr 6 2009.
- SOZZANI, S. Dendritic cell trafficking: more than just chemokines. **Cytokine Growth Factor Rev**, v. 16, n. 6, p. 581-592, Dec 2005.
- SOZZANI, S. et al. Receptor expression and responsiveness of human dendritic cells to a defined set of CC and CXC chemokines. **J Immunol**, v. 159, n. 4, p. 1993-2000, Aug 15 1997.
- STEERE, A. C. et al. Erythema chronicum migrans and Lyme arthritis. The enlarging clinical spectrum. **Ann Intern Med**, v. 86, n. 6, p. 685-698, Jun 1977.
- STEIGERWALD, M.; MOLL, H. Leishmania major modulates chemokine and chemokine receptor expression by dendritic cells and affects their migratory capacity. **Infect Immun**, v. 73, n. 4, p. 2564-2567, Apr 2005.
- STEINMAN, R. M.; COHN, Z. A. Identification of a novel cell type in peripheral lymphoid organs of mice. I. Morphology, quantitation, tissue distribution. **J Exp Med**, v. 137, n. 5, p. 1142-1162, May 1 1973.

- STIBRANIOVA, I.; LAHOVA, M.; BARTIKOVA, P. Immunomodulators in tick saliva and their benefits. **Acta Virol**, v. 57, n. 2, p. 200-216, 2013.
- SZABO, M. P.; BECHARA, G. H. Sequential histopathology at the Rhipicephalus sanguineus tick feeding site on dogs and guinea pigs. **Exp Appl Acarol**, v. 23, n. 11, p. 915-928, Nov 1999.
- SZABO, M. P.; MORELLI, J., JR.; BECHARA, G. H. Cutaneous hypersensitivity induced in dogs and guinea-pigs by extracts of the tick Rhipicephalus sanguineus (Acari: Ixodidae). **Exp Appl Acarol**, v. 19, n. 12, p. 723-730, Dec 1995.
- SZABO, M. P.; OLEGARIO, M. M.; SANTOS, A. L. Tick fauna from two locations in the Brazilian savannah. **Exp Appl Acarol**, v. 43, n. 1, p. 73-84, 2007.
- SZABO, M. P.; PINTER, A.; LABRUNA, M. B. Ecology, biology and distribution of spotted-fever tick vectors in Brazil. **Front Cell Infect Microbiol**, v. 3, p. 27, 2013.
- TRAGER, W. Acquired resistance to ticks. **J Parasitol**, v. 25, p. 57-81, 1939.
- TYSON, K. et al. Biochemical and functional characterization of Salp20, an Ixodes scapularis tick salivary protein that inhibits the complement pathway. **Insect Mol Biol**, v. 16, n. 4, p. 469-479, Aug 2007.
- TYSON, K. R.; ELKINS, C.; DE SILVA, A. M. A novel mechanism of complement inhibition unmasked by a tick salivary protein that binds to properdin. **J Immunol**, v. 180, n. 6, p. 3964-3968, Mar 15 2008.
- VALENZUELA, J. G. et al. Purification, cloning, and expression of a novel salivary anticomplement protein from the tick, Ixodes scapularis. **J Biol Chem**, v. 275, n. 25, p. 18717-18723, Jun 23 2000.
- VAN DEN HAM, H. J.; ANDEWEG, A. C.; DE BOER, R. J. Induction of appropriate Th cell phenotypes: Cellular decision-making in heterogeneous environments. **Parasite Immunol**, Jul 15 2013.
- VANCOVA, I. et al. Differential anti-chemokine activity of Amblyomma variegatum adult ticks during blood-feeding. **Parasite Immunol**, v. 29, n. 4, p. 169-177, Apr 2007.
- VARANI, S. et al. Human cytomegalovirus inhibits the migration of immature dendritic cells by down-regulating cell-surface CCR1 and CCR5. **J Leukoc Biol**, v. 77, n. 2, p. 219-228, Feb 2005.
- VERONEZ, V. A. et al. Ticks (Acari: Ixodidae) within various phytogeographies of a Cerrado reserve in Uberlandia, Minas Gerais, Brazil. **Exp Appl Acarol**, v. 50, n. 2, p. 169-179, Feb 2010.
- VESELY, D. L. et al. Langerhans cell deficiency impairs Ixodes scapularis suppression of Th1 responses in mice. **Infect Immun**, v. 77, n. 5, p. 1881-1887, May 2009.
- WIKEL, S. Ticks and tick-borne pathogens at the cutaneous interface: host defenses, tick countermeasures, and a suitable environment for pathogen establishment. **Front Microbiol**, v. 4, p. 337, 2013.
- WIKEL, S. K. Host immunity to ticks. **Annu Rev Entomol**, v. 41, p. 1-22, 1996a.
- WIKEL, S. K. Tick modulation of host cytokines. **Exp Parasitol**, v. 84, n. 2, p. 304-309, Nov 1996b.
- WIKEL, S. K. Tick modulation of host immunity: an important factor in pathogen transmission. **Int J Parasitol**, v. 29, n. 6, p. 851-859, Jun 1999.
- WIKEL, S. K.; ALLEN, J. R. Acquired resistance to ticks. iii. Cobra venom factor and the resistance response. **Immunology**, v. 32, n. 4, p. 457-465, Apr 1977.

YOSHINARI, N. H. et al. [Brazilian lyme-like disease or Baggio-Yoshinari syndrome: exotic and emerging Brazilian tick-borne zoonosis]. **Rev Assoc Med Bras**, v. 56, n. 3, p. 363-369, May-Jun 2010.

YOSHINARI, N. H. et al. [Lyme disease. Report of a case observed in Brazil]. **Rev Hosp Clin Fac Med Sao Paulo**, v. 48, n. 4, p. 170-174, Jul-Aug 1993.

YU, D. et al. A tick B-cell inhibitory protein from salivary glands of the hard tick, *Hyalomma asiaticum* asiaticum. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 343, n. 2, p. 585-590, May 5 2006.

ZEIDNER, N. S. et al. Coinoculation of *Borrelia* spp. with tick salivary gland lysate enhances spirochete load in mice and is tick species-specific. **J Parasitol**, v. 88, n. 6, p. 1276-1278, Dec 2002.