

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**INFLUÊNCIA DA INFECÇÃO POR *Trypanosoma evansi* SOBRE AS
COLINESTERASES NO SANGUE, PLASMA E CÉREBRO DE GATOS**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Aleksandro Schafer da Silva

Santa Maria, RS, Brasil

2009

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**INFLUÊNCIA DA INFECÇÃO POR *Trypanosoma evansi* SOBRE AS
COLINESTERASES NO SANGUE, PLASMA E CÉREBRO DE GATOS**

por

Aleksandro Schafer da Silva

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de
Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Área de Concentração em
Medicina Veterinária Preventiva, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS),
como requisito parcial para obtenção de grau de
Mestre em Medicina Veterinária

Orientadora: Silvia Gonzalez Monteiro

Santa Maria, RS, Brasil

2009

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Rurais
Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado

**INFLUÊNCIA DA INFECÇÃO POR *Trypanosoma evansi* SOBRE AS
COLINESTERASES NO SANGUE, PLASMA E CÉREBRO DE GATOS**

elaborada por
Aleksandro Schafer da Silva

como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Medicina Veterinária

Comissão Examinadora:

Sílvia Gonzalez Monteiro, Dr^a.
(Presidente/Orientadora)

Daniela Bitencourt Rosa Leal, Dr^a. (UFSM)

Cinthia Melazzo Mazzanti, Dr^a. (UFSM)

Santa Maria, 07 de Agosto de 2009.

AGRADECIMENTOS

A todos que contribuíram para a realização deste trabalho, fica expresso aqui a minha gratidão. À Universidade Federal de Santa Maria e ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária desta instituição pela oportunidade de realização de mais uma etapa na minha formação.

Em especial agradeço aos meus orientadores: Silvia Gonzalez Monteiro, Sonia Terezinha dos Anjos Lopes e Janio Moraes Santurio pelos anos dedicados à orientação, amizade e apoio em todos os momentos necessários. À prof. Maria Rosa Chitolina Schetinger que permitiu que as amostras fossem processadas no Laboratório de Bioquímica Enzimologia Toxicológica onde é coordenadora.

À toda a equipe do Laboratório de Parasitologia Veterinária e Laboratório de Patologia Clínica desta universidade, em especial a Patrícia, Márcio, Camila, Mateus, Lucas, Luciana e Cláudia que participaram diretamente desta pesquisa. Agradecimento ao Régis por estar sempre disposto a ajudar e por ser este grande amigo.

A todos da minha família pela compreensão, ajuda, apoio e carinho, em especial, pai, mãe, vó Auria e minha namorada Rose Carla.

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária
Universidade Federal de Santa Maria

INFLUÊNCIA DA INFECÇÃO POR *Trypanosoma evansi* SOBRE AS COLINESTERASES NO SANGUE, PLASMA E CÉREBRO DE GATOS

AUTOR: ALEKSANDRO SCHAFFER DA SILVA

ORIENTADORA: SILVIA GONZALEZ MONTEIRO

Santa Maria, 07 de agosto de 2009

Este estudo objetivou avaliar a atividade das colinesterases no sangue, plasma e cérebro de gatos infectados com *Trypanosoma evansi*. Sete animais foram infectados com 10^8 formas tripomastigotas cada um e seis foram utilizados como controle. Os animais foram monitorados por 56 dias, examinando diariamente o esfregaço sanguíneo. A evolução da doença foi controlada por hematócrito realizado nos dias 0, 7, 21, 35 e 49. As amostras de sangue foram coletadas nos dias 28 e 56 pós-inoculação (PI) para determinar a atividade da acetilcolinesterase (AChE) no sangue e da atividade da butirilcolinesterase (BChE) no plasma. AChE também foi avaliada no cérebro. A redução do hematócrito foi observada a partir do sétimo dia PI nos gatos infectados com *T. evansi* ($P < 0,05$). A atividade da AChE no sangue e cérebro e da BChE no plasma estava reduzida significativamente nos gatos infectados. Desta forma, a infecção por *T. evansi* influencia nas atividades de enzimas do sistema colinérgico de felinos.

Palavras-chave: *Trypanosoma evansi*, gato, acetilcolinesterase, butirilcolinesterase.

ABSTRACT

Master's dissertation
Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária
Universidade Federal de Santa Maria

INFLUENCE OF *Trypanosoma evansi* INFECTION ON CHOLINESTERASE'S BLOOD, PLASMA AND BRAIN IN CATS

AUTHOR: ALEKSANDRO SCHAFFER DA SILVA

ADVISER: SILVIA GONZALEZ MONTEIRO

Santa Maria, August 07, 2009

Changes in blood, plasma and brain cholinesterase activities in *Trypanosoma evansi* infected cats were investigated. Seven animals were infected with 10^8 trypomastigote forms each and six were used as control. Animals were monitored for 56 days by examining daily blood smears. The evolution of the disease was monitored by performing hematocrit measurements the day 0, 7, 21, 35 and 49. Blood samples were collected at days 28 and 56 post-inoculation to determine the activity of acetylcholinesterase (AChE) in blood and the activity of butyrylcholinesterase (BChE) in plasma. AChE was also evaluated in brain. A decrease in hematocrit values was observed in the *T. evansi* infected cats after day 7 ($P < 0.05$). The activity of AChE in blood and brain, and the activity of BChE in plasma significantly reduced in the infected cats. Therefore, the infection by *T. evansi* influenced cholinesterases of felines indicating changes in the responses of the cholinergic system.

Keywords: *Trypanosoma evansi*, cat, acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase.

LISTA DE FIGURAS

Capítulo I

- Figura 1 - Formas tripomastigotas de *T. evansi* em esfregaço sanguíneo de gatos infectados experimentalmente..... 13
- Figura 2 - Sinapse colinérgica: Acetilcolina (ACh), acetilcolinesterase sináptica (AChE-S), receptor muscarínico do tipo 1 (M1), receptor muscarínico do tipo 2 (M2), transportador de ACh vesicular (vAChT).....21

Capítulo II

- Figura 1 - Parasitemia (A) and hematocrit levels (B) of *T. evansi* infected cats at day 56 post inoculation.40
- Figura 2 - Acetylcholinesterase activity in blood (A), brain (B) and butyrylcholinesterase activity in plasma (C) of *Trypanosoma evansi* infected cats.41

SUMÁRIO

1 – INTRODUÇÃO.....	09
2 – CAPÍTULO 1: REVISÃO DE LITERATURA	11
2.1 <i>Trypanosoma evansi</i>	11
2.2. Sistema colinérgico.....	17
3 – CAPÍTULO 2: MANUSCRITO.....	23
1. Introduction.....	25
2. Materials and methods.....	27
3. Results	30
4. Discussion	30
6. References	34
4 – CONCLUSÃO.....	42
5 – REFERÊNCIAS	43

1 – INTRODUÇÃO

O *Trypanosoma evansi* é um protozoário digenético da seção salivaria, agente etiológico da doença conhecida como Mal das Cadeiras ou Surra em equinos (SILVA et al., 2002; HERRERA et al., 2004). Apresenta ampla distribuição geográfica, podendo ocorrer na África, Ásia, América Central e do Sul. Comumente é observado parasitando diversas espécies de animais domésticos e silvestres (SILVA et al., 2002). Os humanos eram considerados refratários à infecção por *T. evansi* (KUBIAK; MOLFI, 1954), entretanto Joshi et al. (2005) relataram o primeiro caso de infecção pelo parasito em um fazendeiro na Índia e posteriormente uma investigação sorológica e parasitológica identificou 410 pessoas positivas para *T. evansi* em populações de vilarejos na Índia (SHEGOKAR et al., 2006).

Os tripomastigotas presentes nos vasos sanguíneos de vertebrados são adquiridos por insetos durante a ingestão de sangue contaminado, sendo a transmissão atribuída principalmente aos tabanídeos (*Tabanus* sp., *Chrysops* sp. e *Hematopota* sp.). Há também a possibilidade de transmissão por morcegos hematófagos (HOARE, 1972). A doença causada por este protozoário é caracterizada por rápida perda de peso, graus variáveis de anemia, febre intermitente, edema dos membros pélvicos e das partes baixas do corpo e fraqueza progressiva (HERRERA et al., 2004; RODRIGUES et al., 2005).

Existem poucos registros de infecção por *T. evansi* em felinos. Nesta espécie foram relatados sinais clínicos como anorexia, diarreia, vômito, perda de peso, mucosas

pálidas e hipertermia (CHOUDHURY; MISRA, 1972; DAKSHINKAR et al., 2002; TARELLO, 2005). Em 2009, um estudo experimental com gatos domésticos infectados experimentalmente com *T. evansi* relatou anemia normocítica normocrômica, regenerativa (DA SILVA et al., 2009a), aumento dos níveis circulantes de cobre e redução de ferro e zinco (DA SILVA et al., 2009b), redução do número de plaquetas associado ao aumento no número de megacariócitos em resposta primária aos distúrbios de coagulação (DA SILVA et al., 2009c) e terapia com aceturato de diminazeno apresentando sucesso de 85,7% de cura para o *T. evansi* (DA SILVA et al., 2009d).

A acetilcolinesterase (AChE; EC 3.1.1.7) e a butirilcolinesterase (BChE; EC 3.1.1.8) são enzimas que catalisam a hidrólise do neurotransmissor acetilcolina (ACh), um processo fundamental na regulação do sistema colinérgico (DARVESH et al., 2003). A AChE é uma colina esterase presente em altas concentrações no cérebro, nervos e células vermelhas do sangue. A BChE é uma colina esterase inespecífica encontrada em maior quantidade no soro sanguíneo e mais restritamente no pâncreas, fígado e sistema nervoso central (KAPLAY, 1976). Alterações na atividade da acetiltransferase e AChE (BRENNESSEL et al., 1985) e aumento da dopamina e norepinefrina (AMOLE et al., 1989) são descritos associados à tripanossomose por *Trypanosoma cruzi* e/ou *Trypanosoma brucei* em ratos.

Sinais clínicos de distúrbios neurológicos são relatados em equinos, bovinos e cervos parasitados por *T. evansi* (TUNTASUVAN et al., 1997; TUNTASUVAN et al., 2000; RODRIGUES et al., 2005). Considerando todas estas informações, o presente estudo teve como objetivo avaliar a atividade das colinesterases no sangue, plasma e cérebro de gatos infectados com *Trypanosoma evansi*.

2. CAPÍTULO I

REVISÃO DE LITERATURA

2.1 – *Trypanosoma evansi*

Os tripanossomas são micro-organismos pertencentes ao reino Protozoa, filo Euglenozoa, subfilo Sarcomastigophora, superclasse Mastigophora, classe Zoomastigophora, ordem Cinetoplastida, família Trypanosomatidae, gênero *Trypanosoma*. Os tripanossomas podem ser distribuídos em duas seções: Salivaria, aqueles transmitidos por picadas de vetores biológicos e Stercoraria, pela contaminação da pele ou das mucosas do hospedeiro com as fezes do vetor (HOARE, 1972; SILVA et al., 2002). Os gêneros de *Trypanosoma* da seção Salivaria são altamente patogênicos para pessoas e animais domésticos e estão distribuídos em quatro subgêneros: *Trypanozoon* (*T. brucei*, *T. evansi*, *T. equiperdum*), *Nannomonas* (*T. congolense*, *T. simiae*), *Duttonella* (*T. vivax*) e *Pycnomonas* (*T. suis*; CONNOR; VAN DEN BOSSCHE, 2004).

O *Trypanosoma evansi* (*T. evansi*) foi o primeiro tripanossoma patogênico descoberto em 1880 por Griffith Evans, que encontrou organismos móveis no sangue de cavalos e camelos doentes (MAUDLIN et al., 2004). É o agente etiológico da doença secularmente conhecida como “mal das cadeiras” ou “surra” em equinos com ocorrência na África, Índia, Malásia, Indonésia, China, Rússia, Filipinas, América Central e do Sul (LEVINE, 1973; SILVA et al., 2002). Este protozoário teve sua origem

no continente africano e foi introduzido nas Américas pelos primeiros colonizadores europeus. Desde então tem causado numerosos surtos em equinos, resultando em morte e elevados prejuízos aos pecuaristas (SILVA et al., 2002). Surtos ou casos isolados de tripanossomose têm sido relatados há vários anos em diversas regiões brasileiras (FRANKE et al., 1994; SILVA et al., 1995; HERRERA et al., 2004). Na região sul do país, onde até 2005 não havia registro de ocorrência desse flagelado, o número de casos tem aumentado gradativamente anos após ano (COLPO et al., 2005; CONRADO et al., 2005; RODRIGUES et al., 2005; FRANCISCATO et al., 2007; ZANETTE et al., 2008).

Este protozoário flagelado é geralmente monomórfico, tendo um pequeno cinetoplasto subterminal. Entretanto, existem formas acinetoplásticas em que o DNA cinetoplástico circular é ausente. Estes exemplares são encontradas em cepas silvestres como resultado de mutação ou após tratamento com tripanocidas (aceturato de diminazeno). Formas acinetoplásticas também são reportadas após longo tempo em cultura *in vitro* e criopreservação (ZWEYGARTH et al., 1990). As cepas brasileiras são comprovadamente acinetoplásticas (VENTURA et al., 2000). As formas encontradas na corrente sanguínea são basicamente lancetadas e o corpo é alongado e achatado. Um flagelo livre está sempre presente. Há uma membrana ondulante bem desenvolvida e a extremidade posterior pode ser arredondada ou afilada (Figura 1). Seu tamanho varia de 15 a 33 μm , com média de 24 μm (HOARE, 1972).

O *T. evansi* causa a tripanossomose em um grande número de animais domésticos e selvagens, entre eles cavalos, camelos, bovinos, gatos, caprinos, suínos, cães, búfalos, elefantes, capivaras, quatis, antas, tatus, marsupiais, zebuínos, veados e pequenos roedores silvestres (LEVINE, 1973; SILVA et al., 2002; ATARHOUCHE et al.,

2003; HERRERA et al., 2004). Em 2005, foi relatado o primeiro caso de infecção humana em um fazendeiro na Índia (JOSHI et al., 2005; SHEGAKAR et al., 2006).

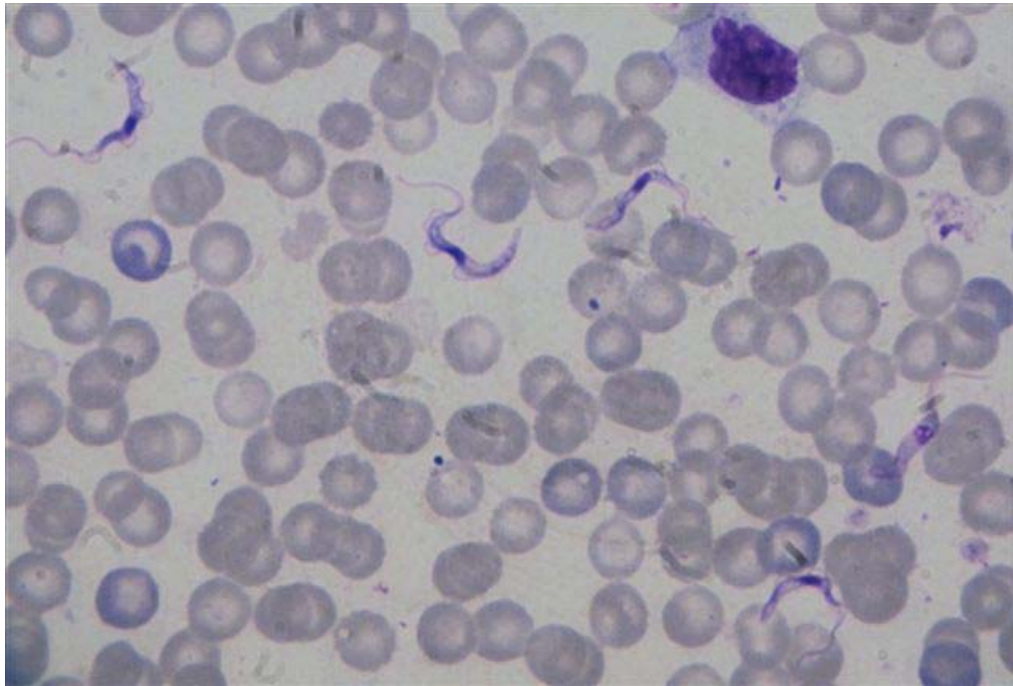


Figura 1: Formas tripomastigotas de *T. evansi* em esfregaço sanguíneo de gatos infectados experimentalmente.

Tripomastigota é a forma dos tripanossomas presentes nos vasos sanguíneos de vertebrados, que são disseminados por insetos hematófagos durante o repasto sanguíneo (SILVA et al., 2002). Como a transmissão é mecânica, não há o desenvolvimento do hematozoário em nenhum órgão do vetor, e quanto menor a diferença de tempo entre os repastos sanguíneos maiores são as possibilidades de passagem do parasita para um novo hospedeiro (HOARE, 1972). Os principais vetores pertencem aos gêneros *Tabanus* sp., porém insetos dos gêneros *Stomoxys* sp, *Haematopota* sp. e *Lyperosia* sp. podem transmitir o parasita (SILVA et al., 2002). Na América Central e do Sul o morcego hematófago *Desmodus rotundus* é considerado um

vetor importante, uma vez que os tripomastigotas multiplicam-se na corrente circulatória destes animais, os quais podem permanecer infectados por até um mês, atuando como vetor e também como hospedeiro do protozoário (HOARE, 1972). Ainda, existe a possibilidade de transmissão oral em carnívoros que se alimentam da carcaça de animais infectados (RAMIREZ et al., 1979). A via oral pode ser importante na dispersão de infecção de *T. evansi* em cachorros, quatis e capivaras, que podem ser infectados em consequência das brigas frequentes entre animais infectados e não infectados. Além disso, espécies gregárias como coatis e capivaras têm um comportamento agressivo facilitando a transmissão do protozoário entre eles por via oral, mantendo a infecção no grupo social, já que a forma crônica da doença causada por *T. evansi* foi identificada em capivaras (*Hydrochaeris hydrochaeris*) e quatis (*Nasua nasua*), possíveis reservatórios do agente. Os cães e ruminantes também podem atuar como reservatórios do *T. evansi* quando o curso da doença for crônico (HERRERA et al., 2004).

A patogenicidade dos tripanossomas no hospedeiro varia de acordo com a cepa do *Trypanosoma* sp., a espécie do hospedeiro, fatores não específicos afetando o animal (outras doenças, estresse, etc.), e condições epizootiológicas locais (HOARE, 1972). Os *T. evansi* se reproduzem por fissão binária longitudinal quando estão no sangue de seu hospedeiro (BRUN et al., 1998). Esta multiplicação inicia-se no local da picada na pele invadindo a corrente sanguínea e o sistema linfático do hospedeiro, levando a picos de febre e induzindo a uma resposta inflamatória (CONNOR; VAN DEN BOSSCHE, 2004). A parasitemia aumenta e é acompanhada por respostas febris. Porém, na infecção crônica os picos de parasitemia ocorrem devido a variações antigênicas na superfície do parasito. Conforme anticorpos são produzidos, há

eliminação do clone corrente, mas sucessivos novos padrões de antígenos de superfície são gerados para evadir a resposta do hospedeiro (LUCAS et al., 1992).

Em infecções naturais e experimentais foi observado que a tripanossomose por *T. evansi* pode apresentar-se com um quadro clínico agudo e crônico. Geralmente a fase aguda da infecção é caracterizada pelo surgimento de febre intermitente, edema subcutâneo, anemia progressiva, cegueira, letargia e alterações hemostáticas. Os animais afetados agudamente podem morrer dentro de semanas ou poucos meses. No entanto, as infecções crônicas podem durar anos (BRUN et al., 1998). Durante a fase crônica ocorre o agravamento dos sinais clínicos e consequentemente observa-se nos animais infectados caquexia, edema, incoordenação motora e paralisia de posterior (BRANDÃO et al., 2002; SILVA et al., 2002; RODRIGUES et al., 2005). Os sinais neurológicos têm sido descritos na fase terminal da doença, principalmente em equinos, bovinos, veados e búfalos infectados naturalmente (TUNTASUVAN et al., 1997; TUNTASUVAN; LUCKINS, 1998; TUNTASUVAN et al., 2003; RODRIGUES et al., 2005).

A principal alteração hematológica identificada em animais com tripanossomose é anemia acentuada (CONNOR; VAN DEN BOSSCHE, 2004). A doença é marcada pela diminuição no hematócrito, na concentração de hemoglobina e no número de eritrócitos totais. As alterações eritrocitárias podem incluir microesferócitos, acantócitos, dacriócitos, micrócitos, vacuolização eritrocitária, policromasia, poiquilocitose, adesão eritrocitária dos tripanossomas aos eritrócitos circulantes e eritrofagocitose (ANOSA; KANEKO, 1983; SILVA et al., 1995; CONRADO et al. 2005). Conforme a literatura, o principal mecanismo responsável pela anemia seria a liberação de hemolisinas e enzimas pelos tripanossomas, que irão induzir lesões diretamente na membrana dos

eritrócitos, aumentando a fragilidade dos mesmos devido à elevação da temperatura, lesões induzidas pelos antígenos do parasito que se aderem à superfície dos eritrócitos, adesão dos complexos antígeno-anticorpo às membranas eritrocitárias e dos componentes do complemento aos eritrócitos, que irão promover eritrofagocitose (CONNOR; VAN DEN BOSSCHE, 2004). Shehu et al. (2006) reportaram que a anemia ocorre em consequência da neuraminidase, a qual tornaria os glóbulos vermelhos mais propensos à fagocitose pelo sistema reticuloendotelial. Recentemente, a anemia foi atribuída a peroxidação lipídica, pois o aumento de radicais livres acarreta danos à membrana eritrocitária (WOLKMER et al., 2009).

Em felinos infectados experimentalmente e naturalmente foram relatados sinais clínicos como anorexia, diarreia, vômito, perda de peso, mucosas pálidas e hipertermia. (CHOUDHURY; MISRA, 1972; DAKSHINKAR et al., 2002; TARELLO, 2005). Em 2009, um estudo experimental com gatos domésticos infectados experimentalmente com *T. evansi* relatou a presença de anemia normocítica normocrômica regenerativa, aumento dos níveis circulantes de cobre e redução dos níveis de ferro e zinco. Em resposta primária aos distúrbios de coagulação, observou-se uma trombocitopenia associada ao aumento no número de megacariócitos (DA SILVA et al., 2009a,b,c).

O diagnóstico presuntivo desta doença em equinos pode ser feito a partir dos sinais clínicos, que são bastante característicos nesta espécie. Entretanto o diagnóstico definitivo somente poderá ser estabelecido através de exames laboratoriais, como a identificação dos tripomastigotas em esfregaço de sangue corado, podendo-se também visualizar as formas móveis em uma gota de sangue fresco entre lâmina e lamínula ao microscópio de luz e inoculação em animais susceptíveis (KUBIAK; MOLFI, 1954). Segundo TOURANTIER (1993), a técnica do micro-hematócrito é a mais adequada

para diagnóstico em termos de praticidade, custo e sensibilidade. A técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) é de grande sensibilidade (VENTURA et al., 2000).

O aceturato de diminazeno é o produto mais comumente usado no controle da tripanossomose dos animais domésticos, pois apresenta maior índice terapêutico que as outras drogas na maioria das espécies domésticas. Tem atividade contra tripanossomas que são resistentes a outros medicamentos e apresenta baixa incidência de resistência (PEREGRINE; MAMMAM, 1993). Em um estudo recente, a terapia com aceturato de diminazeno apresentou sucesso de 85,7% na cura de gatos infectados com *T. evansi* (DA SILVA et al., 2009d).

2. 2 – Sistema colinérgico

A acetilcolina (ACh) é o neurotransmissor das sinapses e junções neuroefetoras colinérgicas dos sistemas nervoso central e periférico. É sintetizada no citosol do neurônio a partir da acetil coenzima-A e da colina. A acetil coenzima-A tem origem mitocondrial, ao passo que a colina provém da fenda sináptica, extracelular. A colina atravessa a membrana do terminal axônico por um mecanismo de transporte ativo específico. A combinação da acetil-CoA à colina é catalisada pela colina acetiltransferase. Depois de sintetizada, a acetilcolina é armazenada nas vesículas sinápticas, onde permanece até que ocorra um estímulo que a libere (KUTTY, 1980; SILVA, 1998).

O impulso nervoso ao chegar ao botão sináptico onde estão as vesículas sinápticas proporciona uma despolarização da membrana pré-sináptica, aumentando a condutância do cálcio, o que favorece a entrada deste no axônio. A liberação da acetilcolina está diretamente relacionada à concentração de cálcio (PRADO et al.,

2002). Posteriormente ocorre o rompimento das vesículas e o extravasamento do neurotransmissor na fenda sináptica, ocorrendo a fusão com a membrana. A ACh liberada pode difundir-se no espaço extracelular, ser degradada a colina e ácido acético pela acetilcolinesterase ou ainda combinar-se com receptores colinérgicos pós e pré-sinápticos. Os receptores colinérgicos são classificados em nicotínicos e muscarínicos, os quais transmitem os sinais por mecanismos diferentes. Os receptores muscarínicos e nicotínicos cerebrais atuam em nível pré-sináptico. Porém os receptores nicotínicos estão distribuídos de modo mais esparsos e facilitam a liberação de outros neurotransmissores como a dopamina (RANG et al., 2004).

Na medula espinhal a ACh está tradicionalmente associada com a inibição recorrente de motoneurônios, com a função de neurônio pré-ganglionar autonômico e como modulador da dor. Geradores de padrão central são redes neurais espinhais, responsáveis pela produção de padrões rítmicos em movimentos coordenados, como caminhar, nadar e correr. Sugere-se o envolvimento colinérgico no processo de geração e modulação desses movimentos (KIEHN, 2006; ANGLISTER et al., 2008)

As colinesterases são enzimas presentes em tecidos colinérgicos e não colinérgicos assim como no sangue e outros fluídos corporais. São divididas em duas classes de acordo com suas propriedades catalíticas e especificidade aos substratos, sensibilidade a inibidores e distribuição tecidual (CHATONNET; LOCKRIDGE, 1989). A acetilcolinesterase (AChE; E.C 3.1.1.7) hidrolisa preferencialmente ésteres com grupamento acetil, e a butirilcolinesterase (BChE; E.C. 3.1.1.8) hidrolisa outros tipos de ésteres como a butirilcolina (TAYLOR; BROWN, 1999).

A AChE possui um papel regulatório na neurotransmissão colinérgica. Ela é responsável pela hidrólise rápida do neurotransmissor acetilcolina que é uma

glicoproteína globular encontrada nos neurônios colinérgicos, nas proximidades das sinapses colinérgicas e em concentrações elevadas na junção neuromuscular (MASSOULIÉ et al., 1993). A AChE está amplamente distribuída no sistema nervoso central e também é encontrada em eritrócitos, linfócitos e plaquetas de mamíferos (SILVA, 2008).

A AChE esta presente em duas classes gerais de formas moleculares, como oligômeros homoméricos simples de subunidades catalíticas e como associações heteroméricas. Esta enzima se apresenta nas formas heteroméricas associada com a lâmina basal externa na sinapse e é particularmente abundante na junção neuromuscular (TAYLOR; BROWN, 1999; JÔSÊ, 2007). A AChE existe nas formas moleculares: assimétrica (A4, A8 e A12) e globular (G1, G2 e G4). A forma globular está presente no cérebro em diferentes subunidades do monômero (MASSOULIÉ et al., 1993). Estas formas isoméricas diferem quanto à sua localização no neurônio e são solúveis em sal ou detergentes. A fração solúvel em sal consiste basicamente do isômero G1 (monômero) e a fração solúvel em detergente consiste, predominantemente, da forma G4 (tetrâmero). A forma G1 é citosólica e a G4 está ligada à membrana. Em eritrócitos, a forma predominante é a G2, que pode estar solúvel ou ligada à membrana (TAYLOR; BROWN, 1999; JÔSÊ, 2007). O centro ativo da AChE é constituído de dois subsítios principais, um sítio aniônico e um sítio esterásico, contendo os verdadeiros resíduos catalíticos da AChE (TAYLOR; BROWN, 1999). Existe ainda um segundo sítio aniônico, conhecido como sítio aniônico periférico (NUNES-TAVARES et al., 2002).

Como mencionado anteriormente, a AChE regula a neurotransmissão colinérgica (Figura 2), uma vez que hidrolisa a ACh (SOREQ; SEIDMAN, 2001). Esta enzima

também tem potentes efeitos sobre a adesão celular, neurogênese, sinaptogênese e hematopoese (SOREQ; SEIDMAN, 2001; SILMAN; SUSSMAN, 2005). No sangue a atividade da AChE tem sido estudada como um bom marcador periférico de alterações no SNC, pois a AChE presente nas células vermelhas apresenta propriedades funcionais semelhantes às das AChE sinápticas (THIERMANN et al., 2005). Neste contexto, um aumento ou inibição desta enzima pode resultar em consequências importantes no cérebro e outros órgãos (PREVE et al., 2006).

A importância da AChE tem sido investigada na Doença de Alzheimer e em outras doenças neurológicas, incluindo a esclerose múltipla. Esta caracteriza-se pela desmielinização crônica do SNC em pacientes que podem apresentar distúrbios em relação à aprendizagem e à memória, que podem indicar envolvimento do sistema colinérgico (WEINSTOCK, 1995; FRANKLIN, 2002).

A BChE é uma enzima sérica produzida no fígado. Sua variabilidade é conhecida desde a década de 50 (KALOW; STARON, 1957), devido a sua capacidade de hidrolisar diversos ésteres de colina. Pelo fato de alguns ésteres serem usados como relaxantes musculares em procedimentos cirúrgicos, essas variantes foram identificadas mediante a incapacidade desses ésteres, em alguns casos, de atuar corretamente.

A estrutura da enzima BChE é codificada pelo gene *BCHE* que está localizado no braço longo do cromossomo 3. Esta enzima no soro ou plasma, após eletroforese, pode aparecer sob cinco formas moleculares classificadas em ordem de peso molecular (HARRIS et al., 1963, ARPAGAUSS et al., 1990).

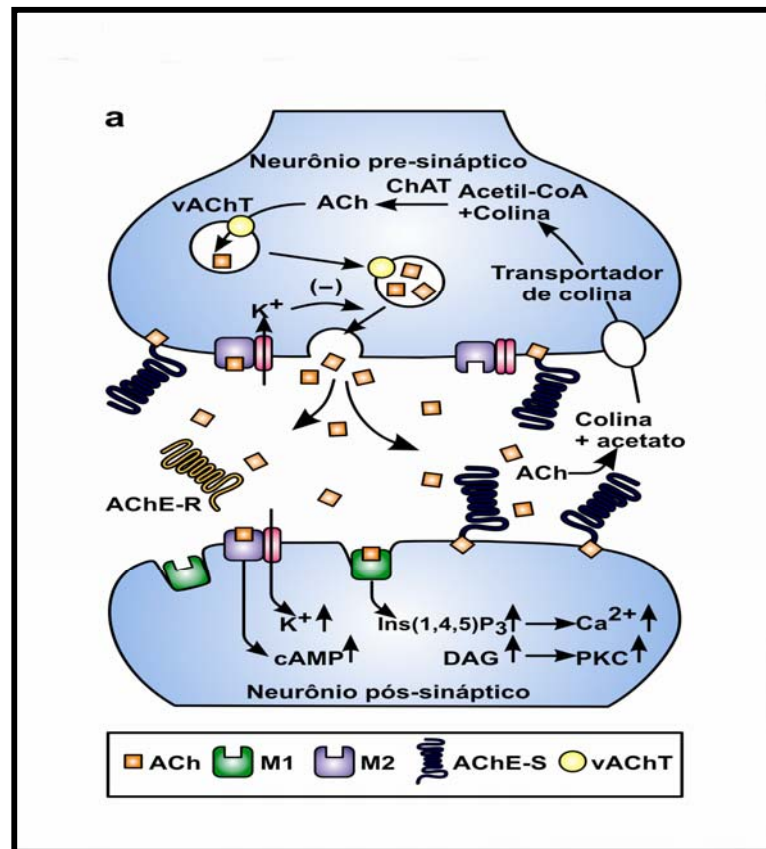


Figura 2: Sinapse colinérgica: Acetilcolina (ACh), acetilcolinesterase sináptica (AChE-S), receptor muscarínico do tipo 1 (M1), receptor muscarínico do tipo 2 (M2), transportador de ACh vesicular (vAChT). Adaptado de Soreq & Seidman, (2001).

A BChE é encontrada nos principais sistemas corpóreos dos mamíferos, como massa branca do cérebro, sistema vascular, respiratório, digestório, urogenital e também em certas glândulas endócrinas e exócrinas. Entretanto sua função biológica ainda não foi claramente estabelecida, havendo sugestões de que esteja relacionada com o metabolismo de lipídeos, condução nervosa lenta e regulação dos níveis de colina e acetilcolina do plasma (KUTTY, 1980; WHITTAKER, 1980).

Vários fatores foram associados às alterações na atividade da BChE. Entre os que se referem à redução da atividade encontram-se os estrógenos (SIDELL; KAMINSKIS, 1975) e entre os que se relacionam com o aumento da atividade, a

hiperlipoproteinemia, a obesidade (KUTTY, 1980), o diabetes (ANTOPOL et al., 1937) e o alelo *CHE2**C5+, que determina aproximadamente 25% de aumento na atividade da BChE (HARRIS, 1980).

Recentemente, foi identificada para a acetilcolinesterase e butirilcolinesterase uma nova propriedade: a atuação dessas enzimas como marcadores inflamatórios (DAS, 2007). A atividade das enzimas acetilcolinesterase e butirilcolinesterase no plasma e nos tecidos é elevada em pacientes com doença de Alzheimer, Diabetes melito, hipertensão arterial, resistência à insulina e hiperlipidemia. Como resultado deste aumento nas atividades das enzimas acetilcolinesterase e butirilcolinesterase, o nível de ACh no plasma e tecidos é reduzido. A via colinérgica anti-inflamatória é mediada pela acetilcolina que atua através da inibição da produção do fator de necrose tumoral, interleucina-1 e fator inibidor da migração de macrófagos. A acetilcolina regula os níveis e as atividades da serotonina, dopamina e de outros neuropeptídeos e, portanto, modula tanto a resposta imune como a neurotransmissão (DAS, 2007).

Estudos demonstram que ratos da espécie *Rattus norvegicus* da linhagem Wistar submetidos à infecção experimental por *T. evansi* não demonstram alterações significativas na atividade da AChE no cérebro e cerebelo, porém no sangue total ocorre aumento da atividade das colinesterases. Também foi observada redução da atividade da butirilcolinesterase plasmática nestes ratos em infecção aguda pelo protozoário (SCHMIDT et al., 2008; SILVA et al., 2008). Neste contexto, o presente estudo teve como objetivo avaliar a atividade das colinesterases no sangue, plá e cérebro de gatos infectados com *Trypanosoma evansi*.

4- CONCLUSÃO

Gatos são susceptíveis a infecção por *T. evansi*, apresentando diferentes sinais clínicos, anemia e morte. Associado a estas alterações, os felinos apresentam diminuição da atividade das colinesterases, entre elas acetilcolinesterase no sangue total e cérebro e butirilcolinesterase no plasma. Desta forma, a infecção por *T. evansi* influencia nas atividades de enzimas do sistema colinérgico central e periférico de felinos.

5- REFERÊNCIAS

AMOLE, B. et al. Neurochemical measurements in the brains of mice infected with *Trypanosoma brucei brucei* (TREU 667). **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, Londres, v. 83, n. 3, p. 225-232, jun. 1989.

ANGLISTER, L. et al. Cholinesterases in development and disease. **Chemico-Biological Interactions**, Japão, v. 175, n. 1-3, 92-100, set. 2008.

ANOSA, V. O.; KANEKO, J. J. Pathogenesis of *Trypanosoma brucei* infection in deer mice (*Peromyscus maniculatus*): light and electron microscopic studies on erythrocyte pathologic changes and phagocytosis. **American Journal of Veterinary Research**, Londres, v. 44, n. 4, p. 645-651, abr. 1983.

ANTOPOL, W. et al. Cholinesterase activity of human sera with special reference to hyperthyroidism. **Proceedings of Society of Experimental Biology and Medicine**, Nova York, v. 36, n. 2, p. 45-50, jun. 1937.

ARPAGAUS, M. et al. O. Structure of the gene for human butyrylcholinesterase. Evidence for a single copy. **Biochemistry**, Estados Unidos, v. 29, n. 1, p. 124-131, jan. 1990.

ATARHOUCHE, T. et al. Camel trypanosomosis in Morocco 1: results of a first epidemiological survey. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 111, n. 4, p. 277-286, abr. 2003.

BRANDÃO, J. P. et al. Natural infection by *Trypanosoma evansi* em dog – Case report. **Clínica Veterinária**, São Paulo, n. 36, p. 23-26, 2002.

BRENNESSEL, D. J. et al. Acetylcholinesterase levels in skeletal muscle of mice infected with *Trypanosoma cruzi*. **The American Society of Tropical Medicine and**

Hygiene, Nova York, v. 34, n.4, p. 460-464, abr. 1985.

BRUN, R. et al. *Trypanosoma evansi* and *T. equiperdum*: distribution, biology, treatment and phylogenetic relationship (a review). **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 79, n. 1, p. 95-107, jan. 1998.

CHATONNET, A.; LOCKRIDGE, O. Comparison of butyrylcholinesterase and acetylcholinesterase. **Biochemical Journal**, Londres, v. 260, n. 3, p. 625-634, mar. 1989.

CHOUDHURY, A.; MISRA, K.K. Experimental infection of *T. evansi* in the cat. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, Nova York, v. 66, n. 4, p.672–673, abr. 1972.

COLPO, C. B. et al. Infecção natural por *Trypanosoma evansi* em cães. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 3, p. 717-719, maio/jun. 2005.

CONRADO, A. C. et al. Infecção natural por *Trypanosoma evansi* em cavalos na região central do estado do Rio Grande do Sul. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 4, p. 928-931, jul./ago. 2005.

CONNOR, R. J.; VAN DEN BOOSCHE, P. African animal trypanosomoses. In: COETZER, J. A. W.; TUSTIN, R. C. (Eds.). **Infectious diseases of livestock**. 2nd ed. South Africa: Oxford University Press, 2004. v.1. cap.12, p.251-296.

DAKSHINKAR N. P. et al. Trypanosomiasis in a jungle cat. **Indian Veterinary Journal**, Madras, v. 79, n. 1, p. 66-67, jan. 2002.

DARVESH, S., et al. Neurobiology of butyrylcholinesterase. **Nature Reviews Neuroscience**, Londres, v. 17, n. 1, p. 131–138, jan. 2003.

DAS U. N. Acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase as possible markers of low-grade systemic inflammation. **Medical Science Monitor**, Polônia, v. 13, n. 12, p. 214-221, dez. 2007.

DA SILVA, A. S. et al. Clotting disturbances in *Trypanosoma evansi*-infected cats. **Comparative Clinical Pathology**, Londres, 2009c. In press.

DA SILVA, A. S. et al. *Trypanosoma evansi*: levels of copper, iron and zinc in the bloodstream of infected cats. **Experimental Parasitology**, San Diego, v.123, n.9, p.35-38, set. 2009b.

DA SILVA, A. S. et al. *Trypanosoma evansi*: hematologic changes in experimentally infected cats. **Experimental Parasitology**, San Diego, v.123, n.9, p.31-34, set. 2009a.

DA SILVA, A. S. et al. Diminazene aceturate in the control of *Trypanosoma evansi* infection in cats. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, 2009d. in press

FRANCISCATO, C. et al. Dog naturally infected by *Trypanosoma evansi* in Santa Maria, RS, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n. 1, p. 288-291, jan. 2007.

FRANKE, C. R. et al. Investigation on naturally occurring *T. evansi* infections in horses, cattle, dogs and capybaras (*Hydrochaeris hydrochaeris*) in Pantanal de Poconé (Mato Grosso, Brazil). **Acta Tropica**, Japão, v. 58, n. 2, p. 159-69, fev. 1994.

FRANKLIN, R. J. M. Why does remyelination fail in multiple sclerosis? **Nature**, Londres, v. 3, n. 9, p. 705-714, set. 2002.

HARRIS, H. et al. Genetical studies on a new variant of serum pseudocholinesterase detected by electrophoresis. **Annals of Human Genetics**, Singapore, v. 26, n. 6, p. 359-382, jun. 1963.

HARRIS, H. **The principles of human biochemical genetics**. Amsterdam: Elsevier/North-Holland Biomedical, 1980. 298p.

HERRERA, H. M. et al. Enzootiology of *Trypanosoma evansi* in Pantanal, Brazil. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 125, n. 3-4, p. 263-275, nov. 2004.

HOARE, C. A. **The Trypanosomes of mammals: a zoological monograph**. Oxford: Blackwell, 1972. 749p.

JÓSE, A.S. **Atividade da acetilcolinesterase e da Porfobilinogênio-sintase e alteração Comportamental de ratos expostos à nicotina**. 2007. 92 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica Toxicológica). Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.

JOSHI, P. P. et al. Human Trypanosomosis caused by *Trypanosoma evansi* in India: the first case report. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 73, n. 3, p. 491-495, mar. 2005.

KUBIAK, G. V. L.; MOLFI, A. **Tripanosomíase eqüina (Mal das Cadeiras)**. Curitiba: Instituto de Biologia e Pesquisas Tecnológicas do Estado do Paraná. Tip. João Haupt, 1954. 51 p. (Boletim n.33).

KAPLAY, S. S. Acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase of developing human brain. **Biology of the neonate**, Estados Unidos, v. 28, n. 1, p. 65-73, jan. 1976.

KALOW, W.; STARON, N. On distribution and inheritance of atypical forms of human serum cholinesterases, as indicated by dibucaine numbers. **Canadian Journal of Biochemistry**, Canada, v. 35, n. 4, p. 1305-1320, dez. 1957.

KIEHN, O. Locomotor circuits in the mammalian spinal cord. **The Annual Review of Neuroscience**, Londres, v. 29, n. 4, p. 279–306, Abr. 2006.

KUTTY, K. M. Review: Biological function of cholinesterase. **Annals of Clinical Biochemistry**, Londres, v. 13, n. 3, p. 239-243, Mar. 1980.

LEVINE, N. D. **Protozoan parasites of domestic animals and of man**. 2nd ed. Minneapolis: Burgess Publishing Company, 1973, 406p.

LUCAS, S. Pathology of tropical infections. In: MCGEE, J. O. D. et al. **Oxford textbook of pathology**. New York: Oxford University Press, 1992, v.2b, cap.29, p.2187-2265

MAUDLIN I. et al. The Trypanosomiasis. Wallingford: CABI Publishing. 2004. 640p.

MASSOULIÉ, J. et al. Molecular and cellular biology of cholinesterase. **Progress in neurobiology**, England, v. 41, n. 1, p. 31-91, jul. 1993.

NUNES-TAVARES, N. Inhibition of acetylcholinesterase from *Electrophorus electricus* (L.) by tricyclic antidepressants. **The International Journal of Biochemistry and Cell Biology**, New York, v. 34, n. 9, p. 1071-1079, set. 2002.

PEREGRINE, A.S. & MAMMAN, M. Pharmacology of Dimenazene: A Review. **Acta Tropical**, Japão, v. 54, n. 2, p. 185-203, fev. 1993.

PRADO, M. A. M. et al. Regulation of acetylcholine synthesis and storage. **Neurochemistry International**, London, v. 41, n. 4, p. 291-299, abr. 2002.

PREVE, A. S. et al. Lactational exposure to malathion inhibits brain acetylcholinesterase in mice. **Neurotoxicology**, Estados Unidos, v. 27, n. 6, p.1101-1105, dez. 2006.

RAMIREZ, L. E. et al. **La tripanosomiasis in los animales domesticos em Colombia**. Colombia: Centro Internacional de Agricultura Tropical, 1979. 89p.

RANG, H. P. et al. Dependência e abuso de fármacos. In: Rang, H.P. et al. (Ed.). **Farmacologia**. Elsevier, São Paulo: Brasil, 2004. p. 676-695.

RODRIGUES, A. et al. Outbreaks of trypanosomiasis in horses by *Trypanosoma evansi* in the state of Rio Grande do Sul, Brazil: epidemiological, clinical, hematological, and pathological aspects. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v.25, n. 4, p. 239-249, dez. 2005.

SCHMIDT, C. et al. **Atividade da butirilcolinesterase na infecção aguda por *Trypanosoma evansi* em ratos wistar**. 2008. Disponível em: <http://www.sovergs.com.br/conbravet2008/anais/cd/resumos/R0671-1.pdf>. Acesso 20 de jun 2009.

SHEGOKAR, V. R. et al. Short report: human trypanosomiasis caused by *Trypanosoma evansi* in a village in India: preliminary serologic survey of the local population. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Londres, v. 75, n. 5, p. 869–870, mai. 2006.

SIDELL, F. R.; KAMINSKIS, A. A temporal intrapersonal physiological variability of cholinesterase activity in human plasma and erythrocytes. **Annals of Clinical Biochemistry**, Londres, v. 21, n. 7, p. 1961-1963, jul. 1975.

SILMAN, I., SUSSMAN, J. Acetylcholinesterase: “classical” and “non-classical” functions and pharmacology. **Current Opinion in Pharmacology**, Estados Unidos, v. 5, n. 3, p.293–302, jun. 2005.

SILVA, R. A. M. S. et al. Trypanosomosis outbreaks due to *Trypanosoma evansi* in the Pantanal, Brazil: a preliminary approach on risk factors. **Revue D'Élevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux**, France, v. 4, n. 3, p. 315-319, set. 1995.

SILVA, P. **Farmacologia**. Rio de Janeiro: Guanabara & Koogan, 1998. 1314p.

SILVA, R. A. M. S. et al. *Trypanosoma evansi* e *Trypanosoma vivax*: biologia, diagnóstico e controle. Corumbá: Embrapa Pantanal. 2002. 141p.

SILVA, C. B. et al. **Atividade da acetilcolinesterase no cérebro e cerebelo de ratos wistar inoculados com *Trypanosoma evansi*.** 2008. Disponível em: <http://www.sovergs.com.br/conbravet2008/anais/cd/resumos/R0649-2.pdf>. Acesso 20 de jun 2009.

SHEHU, S. A. et al. Neuraminidase (Sialidase) activity and its role in development of anaemia in *Trypanosoma evansi* infection. **Journal of Applied Sciences**, Estados Unidos, v.6, n. 13, p. 2779-2783, dez. 2006.

SOREQ, H., SEIDMAN, S. Acetylcholinesterase-new roles for and old actor. **Nature Reviews Neuroscience**, Londres, v. 2, n. 4, p.294–302, apr. 2001.

TARELLO, W. *Trypanosoma evansi* infection in three cats. **Revue de Medicine Veterinaire**, France, v. 156, n. 3, p. 133-134, set. 2005.

TAYLOR, P., BROWN, J. H. Acetylcholine. In: SIEGEL, G.J., et al. (Ed.). **Basic Neurochemistry: Molecular, cellular and Medical Aspects**. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 1999. p. 214-242.

THIERMANN, H. et al. Correlation between red blood cell acetylcholinesterase activity and neuromuscular transmission in organophosphate poisoning. **Chemico-biological interactions**, Japan, v. 158, n.4, p. 345–347, apr. 2005.

TOURANTIER, L. First international seminar on nom Tsétse transmitted animal trypanosomes: conclusions and recommendations. **Review Science Technology Office International Epizootic**, Europe, v. 12, n. 1, p. 273-281, jan.1993.

TUNTASUVAN, D. et al. Cerebral trypanosomiasis in native cattle. **Veterinary**

Parasitology, Amsterdam n, v. 73, n. 4, p. 357-363, apr. 1997.

TUNTASUVAN D.; LUCKINS A. G. Status of Surra in Thailand. **The Journal of Tropical Medicine and Parasitology**, Londres, v. 21, n. 1, p. 1-8, jan. 1998.

TUNTASUVAN, D. et al. Detection of *Trypanosoma evansi* in brains of the naturally infected hog deer by immunohistochemistry. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v.87, n. 3, p.223-230, mar. 2000.

VENTURA, R. M. et al. Molecular and morphological studies of Brazilian *Trypanosoma evansi* stocks: the total absence of kDNA in trypanosomes from both laboratory stocks and naturally infected domestic and wild mammals. **Journal of Parasitology**, Estados Unidos, v. 86, n. 6, p. 1289-1298, jun. 2000.

WEINSTOCK, M. The pharmacotherapy of Alzheimer's disease based on the cholinergic hypothesis: an update. **Neurodegeneration**, England, v. 4, n. 4, p.349-356, dez.1995.

WHITTAKER, M. Plasma cholinesterase variants and the anaesthetist. **Anaesthesia**, England, v. 35, n. 2, p. 174-197, fev. 1980.

WOLKMER, P. et al. Resposta eritropoética de ratos em diferentes graus de parasitemia por *Trypanosoma evansi*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n. 6, p. 1682-1687, dez. 2007.

WOLKMER, P. et al. Lipid peroxidation associated with anemia in rats experimentally infected with *Trypanosoma evansi*. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, 2009. In press.

ZANETTE, R. A. et al. Ocorrência de *Trypanosoma evansi* em eqüinos no município de Cruz Alta, RS, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria v. 38, n. 5, p. 1468-1471, out. 2008.

ZWEYGARTH, E. et al. *Trypanosoma brucei*: Diskinetoplasia and loss infectivity after longterm in vitro cultivation. **Acta Tropica**, Japão, v. 48, n. 2, p. 95-99, fev. 1990.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)