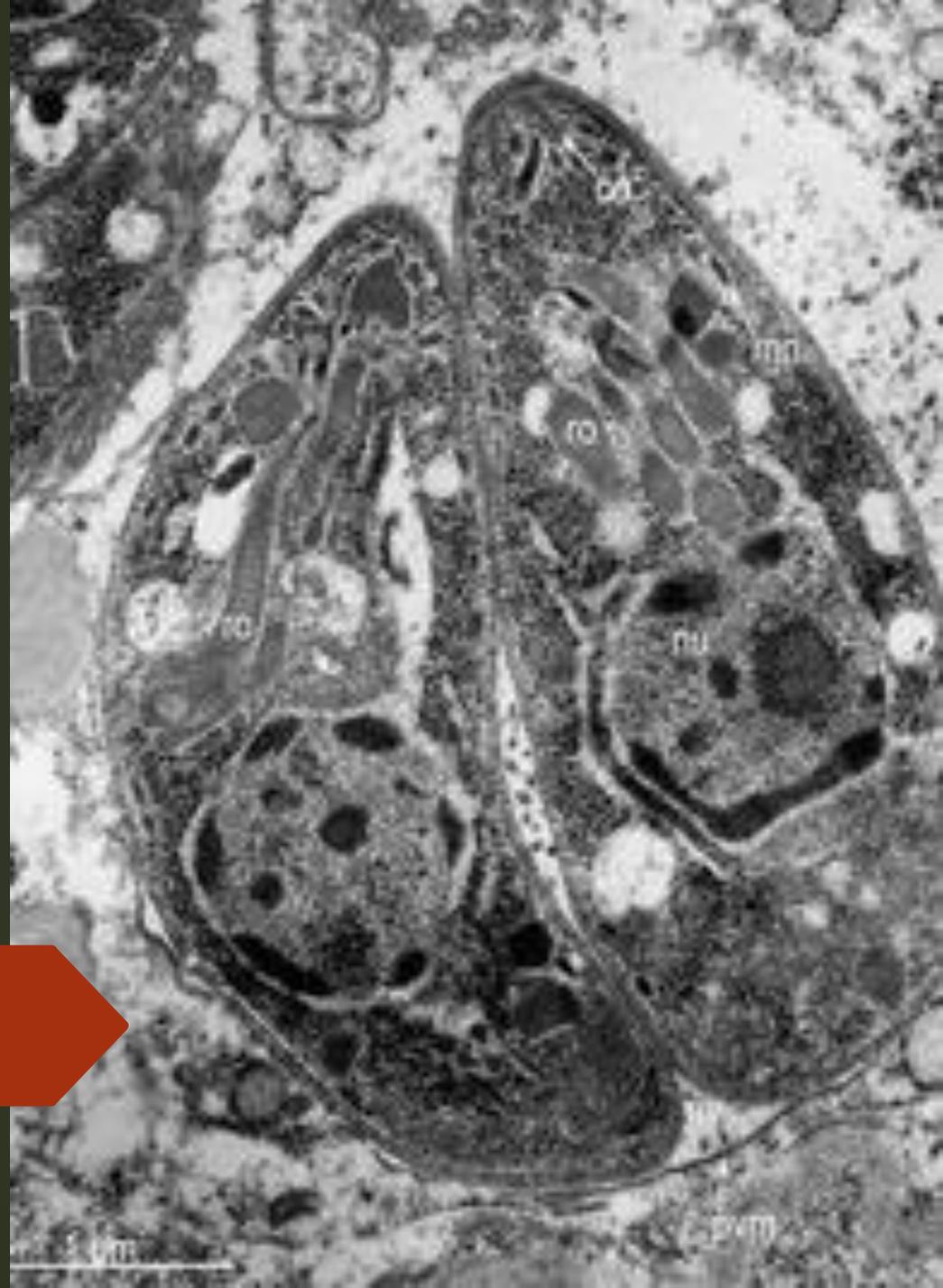


FILO APICOMPLEXA

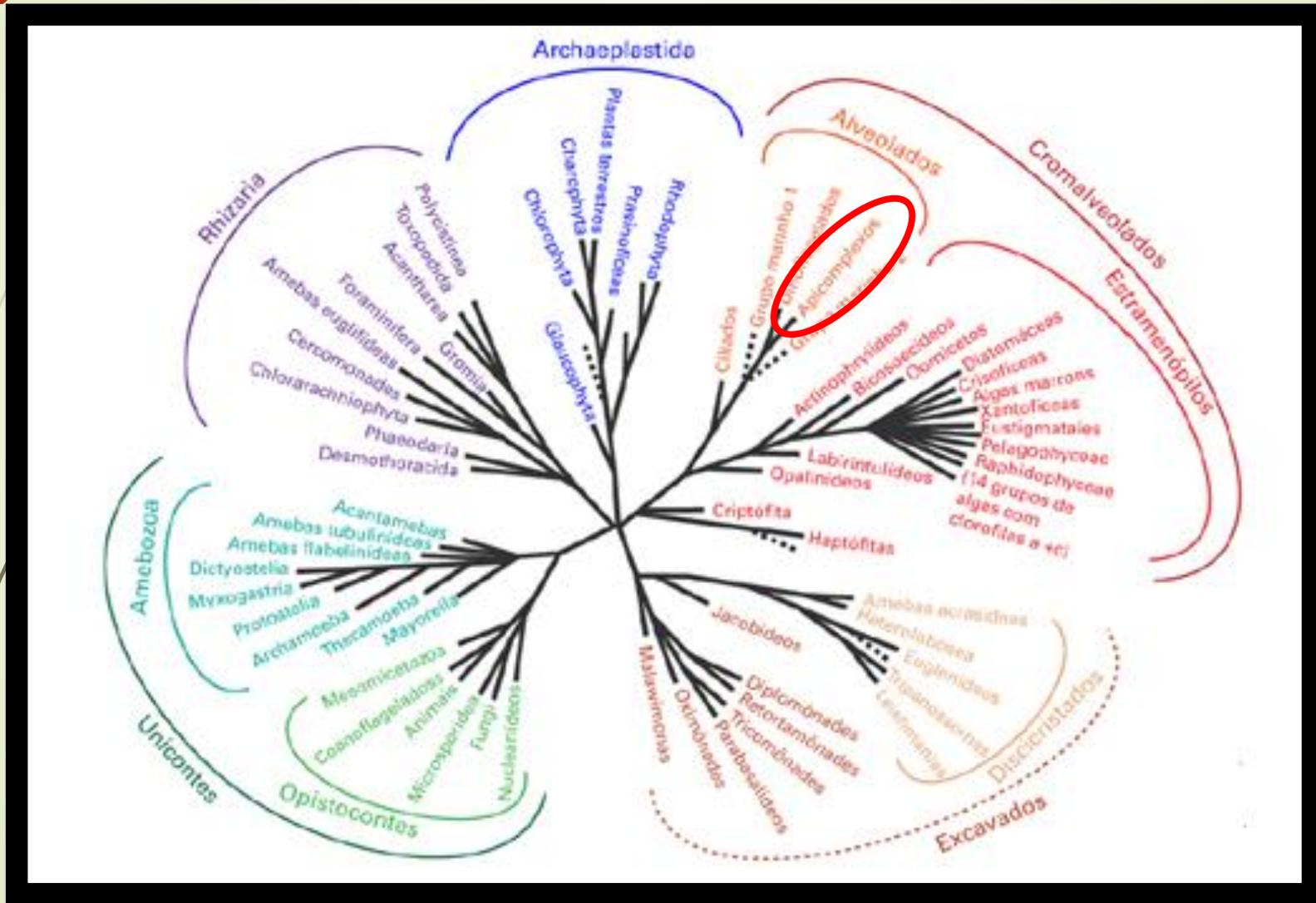
Dra. Carla Claser
carlaclaser@usp.br

BMP0103/5794– Biologia Celular e
Molecular de Parasitas
Agosto 2022

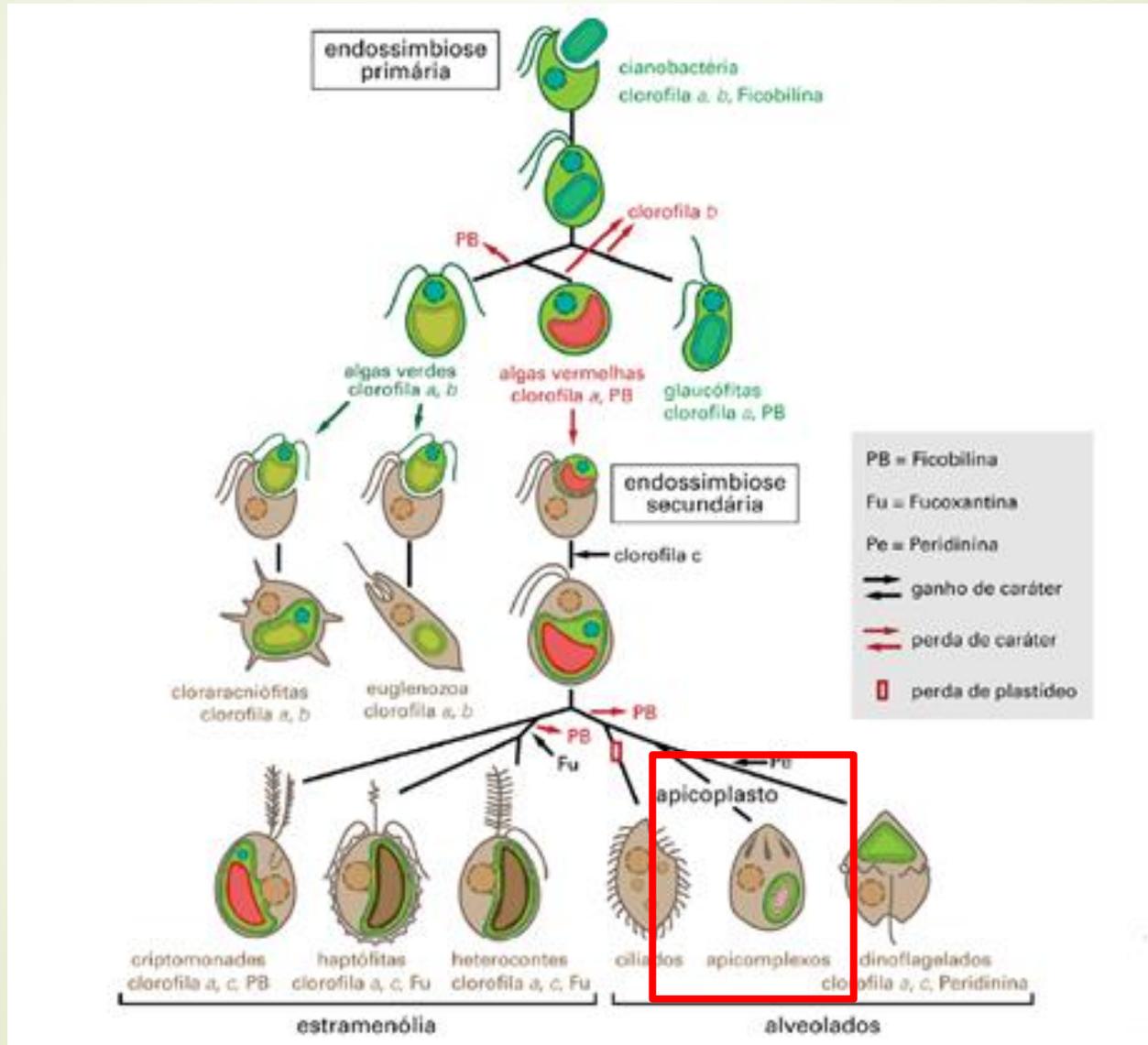


REINO: PROTISTA

SUB-REINO: PROTOZOA



Origem de alguns grupos eucariontes



FILO APICOMPLEXA

Latim: *Apex* = ponto ou topo *complex* = trançado



Protista
(Sub-reino: Protozoa)

Apicomplexa

Sporozoa

ORDEM
Eucoccidiida

FAMÍLIA
Eimeriidae
Cryptosporidiidae
Sarcocystidae

GÊNERO
Isospora
Cryptosporidium
Sarcosystis
Toxoplasma

Hemosporidiida

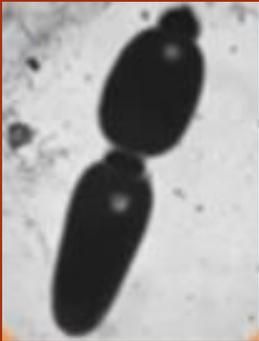
Plasmodiidae

Plasmodium

Apicomplexas e suas espécies

Mais de 6000 espécies, sendo todos parasitas (**intracelular obrigatório**)

Gregarínidos



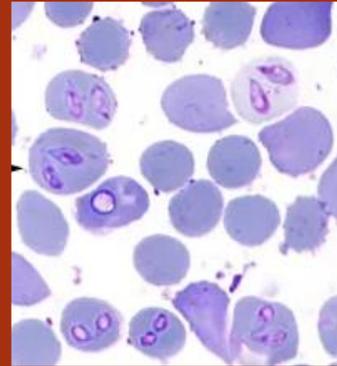
Trato digestivo de invertebrados (anelídeos, artrópodes, tunicados)

Coccídeos



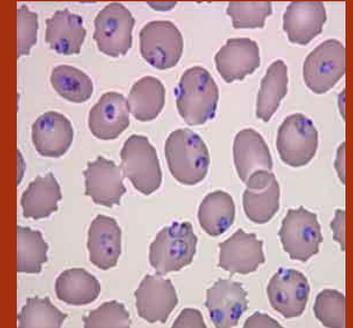
Vivem dentro de células epiteliais do tubo digestivo principalmente de vertebrados (*Toxoplasma*)

Piroplasma



Parasita células sanguíneas. Transmitido por carrapatos (*Babesia*)

Hemosporídeos



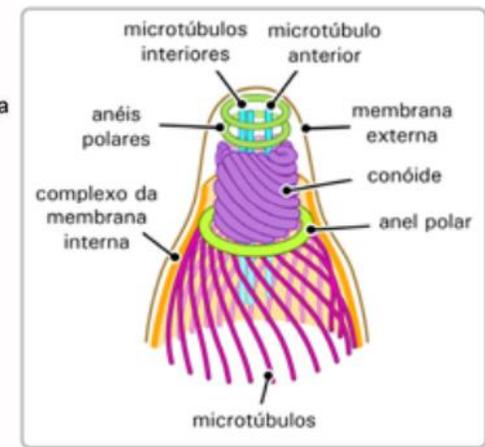
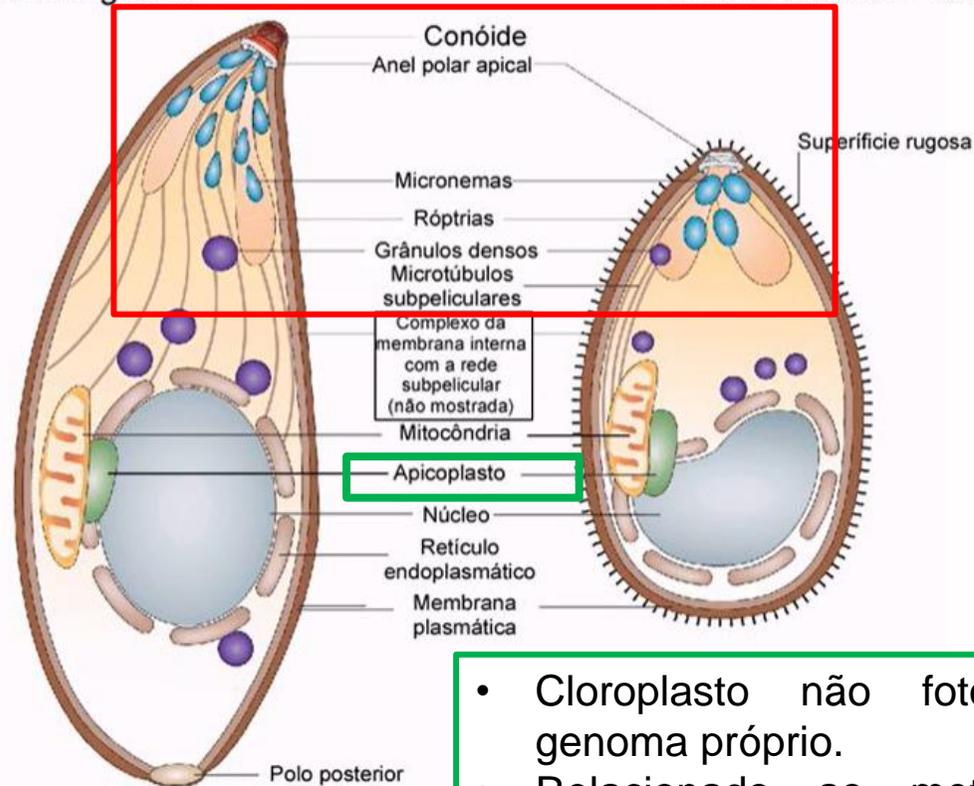
Parasita células sanguíneas. Vetor díptero hematófago (*Plasmodium*)

Característica dos apicomplexos

Complexo apical

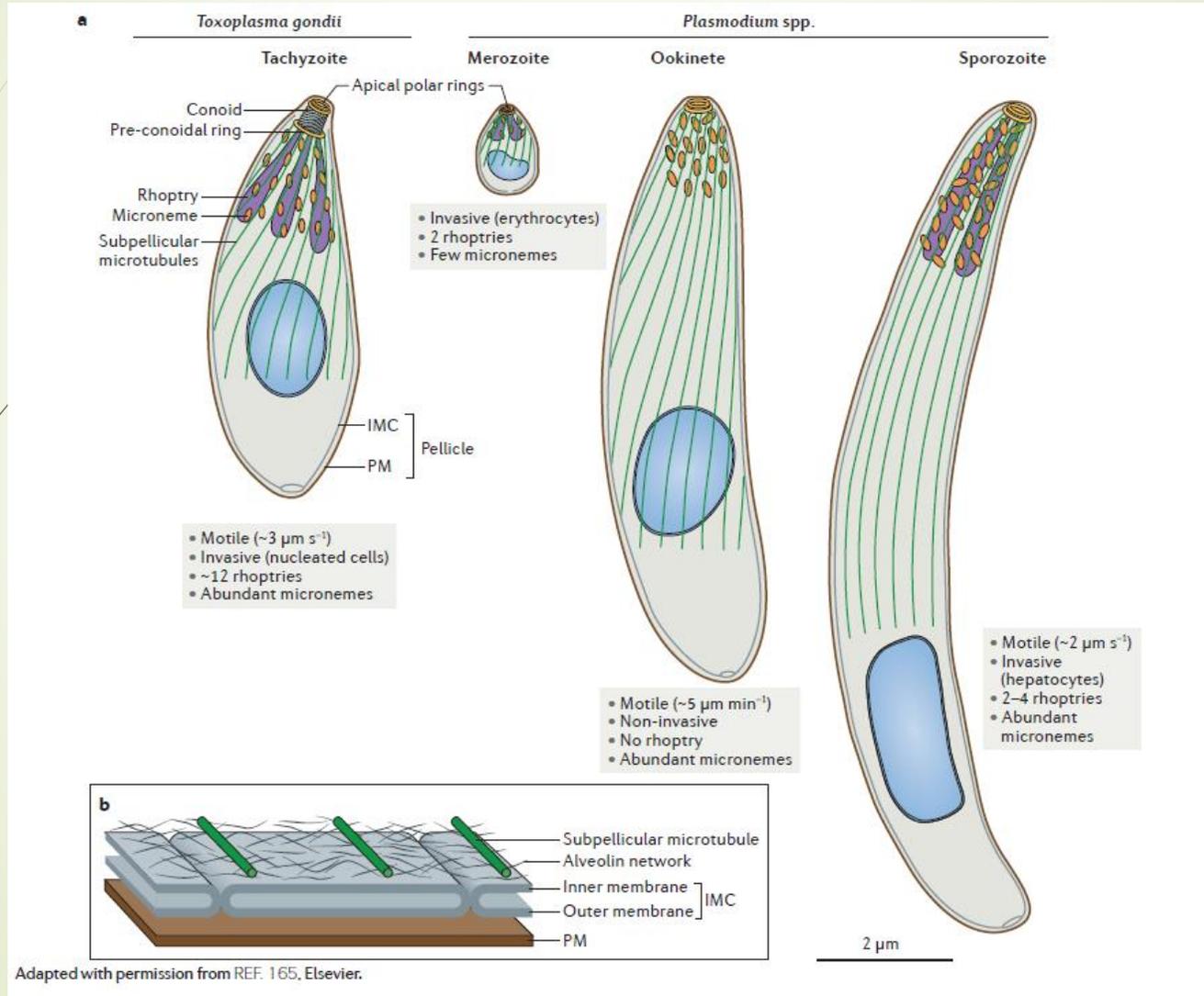
Taquizoíto
de *Toxoplasma gondii*

Merozoíto
de *Plasmodium falciparum*



- Cloroplasto não fotossintetizante e com genoma próprio.
- Relacionado ao metabolismo dos ácidos graxos. Essencial para a sobrevivência do parasita.

Característica dos apicomplexos



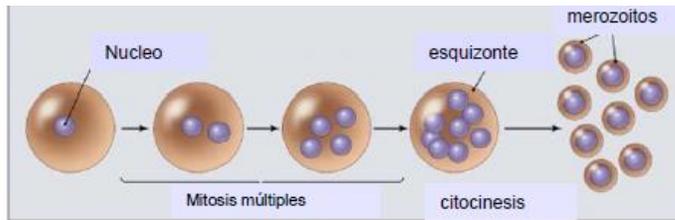
Característica dos apicomplexos - Reprodução

ASSEXUADA

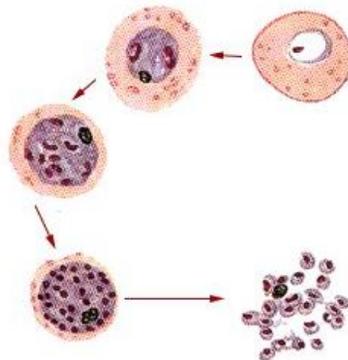
ESQUIZOGONIA

(merogonia de *Plasmodium sp.* e *T. gondii*)

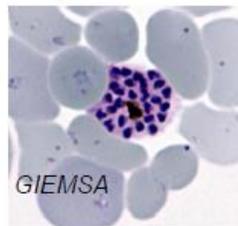
Várias divisões nucleares (mitoses) seguida de citocinese, resultando em múltiplas células-filhas (merozoítos).



Merogonia de *Plasmodium sp* durante a fase eritrocítica



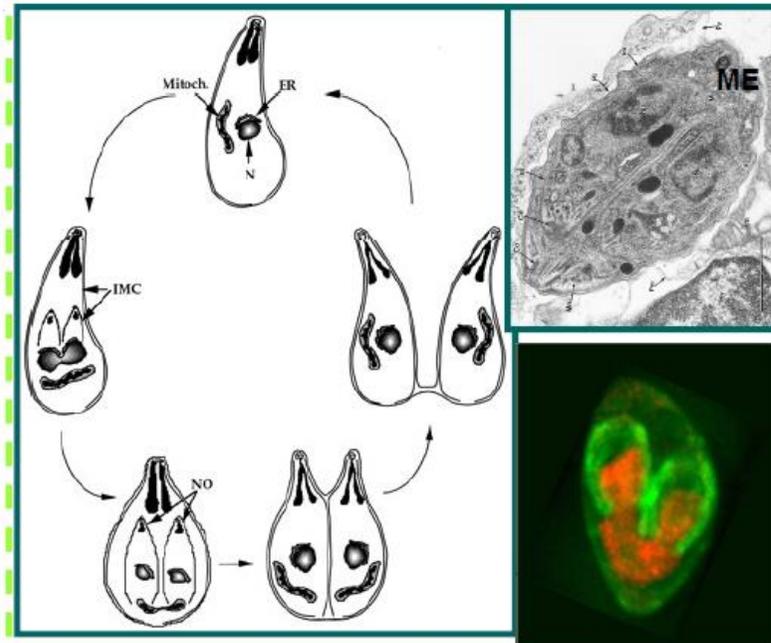
Meronte (Esquizonte) de *Plasmodium falciparum*



ENDODIOGENIA

(somente em *T. gondii* em ciclo tecidual do HD e HI.)

Formação das células-filhas no interior do citoplasma da célula mãe.



Fissão binária longitudinal

Striepen y col, 2008.

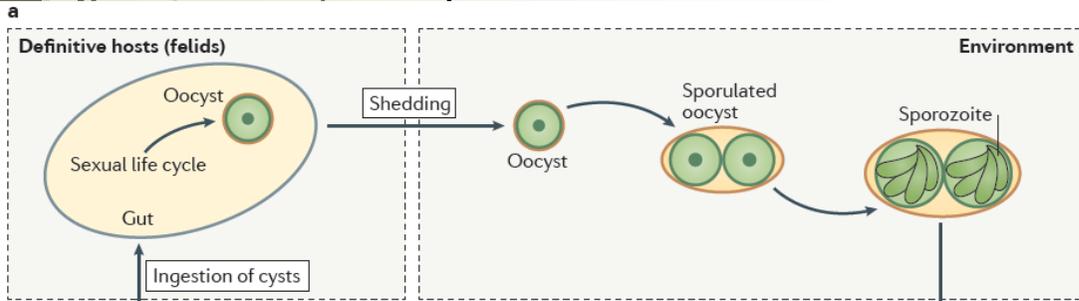
Característica dos apicomplexos - Reprodução

SEXUADA

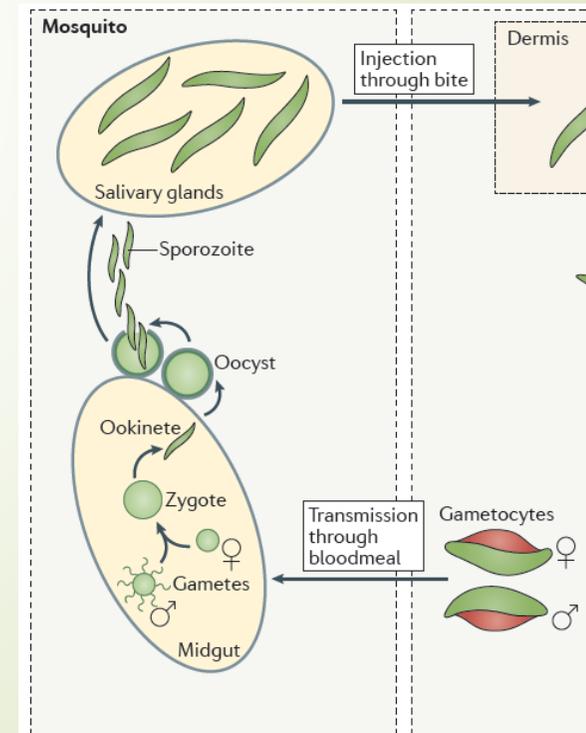
Gametogonia: origem dos gametas masculinos e feminino



Toxoplasmose



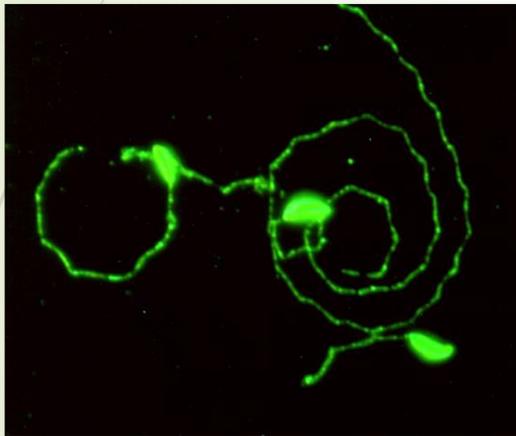
Malária



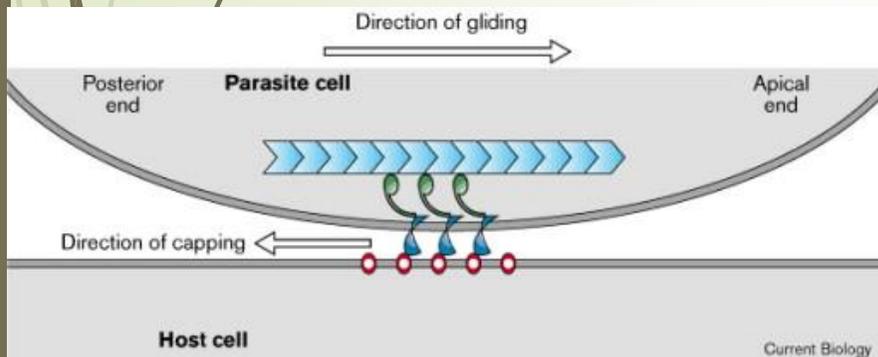
Característica dos apicomplexos – Locomoção/Invasão

Não possuem organelas de locomoção, cílios ou flagelos, e exibem pouca distorção morfológica quando se movem.

Gliding (motilidade deslizante)

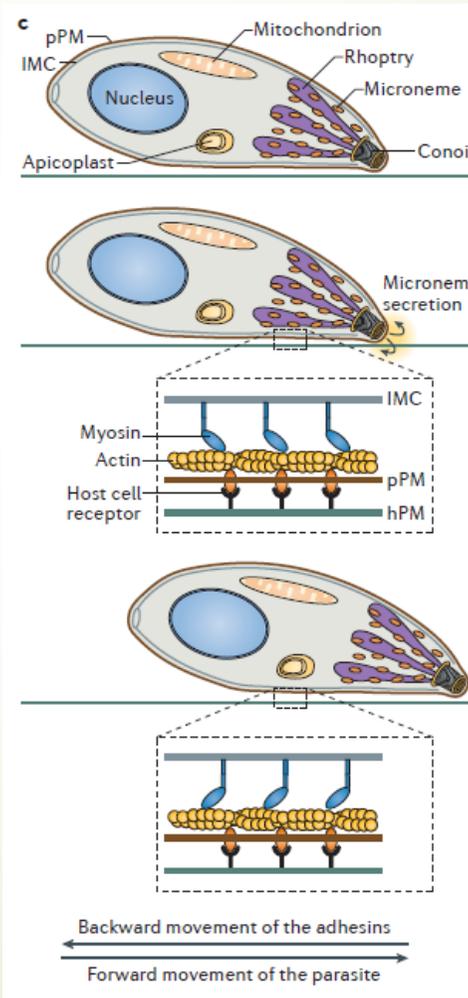


Schmitz et al. 2008



Actin filament Myosin TRAP-family adhesion Receptor

Sibley, L.D et al., *Current Biology*, 1998



Mecanismo dependente de substrato, baseado no complexo motor actina-miosina, chamado de **glideosoma**.

Proteínas como **TRAP** (*Plasmodium*) e **TgMIC2** (*Toxoplasma*) presente nos micronemas, são liberadas para a superfície do parasita.



Malária e Plasmódio



Tópicos da aula

- 1) História**
- 2) Epidemiologia**
- 3) Transmissão**
- 4) Aspectos Clínicos**
- 5) Diagnóstico**
- 6) Tratamento**
- 7) Prevenção & Controle**

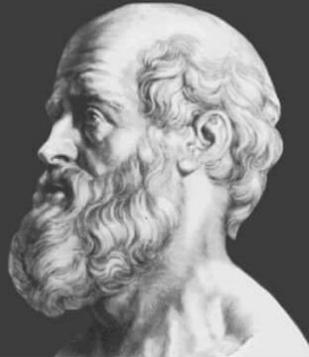
O que é malária?

Paludismo, maleita, impaludismo, febre palustre, sezão (popularmente)

ANCIENT HISTORY (2700 BCE-340 CE)



In China, symptoms of malaria were described in Chinese medical literature *Nei Ching*, The Canon of Medicine, edited by Emperor Huang Ti in 2700 BC.



In Greece, principal symptoms noted by father of modern medicine, Hippocrates by the 4th Century BCE, emphasising the decline of many city-state populations.



**Mal'aria = ar ruim
(Itália medieval)**

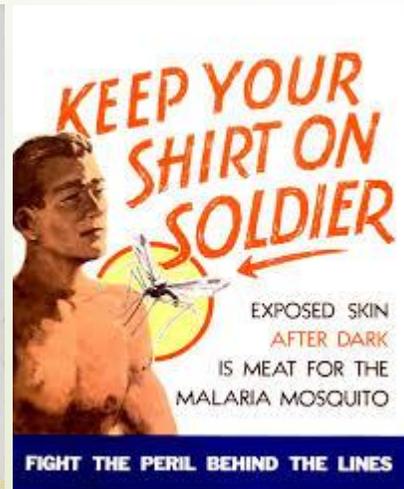
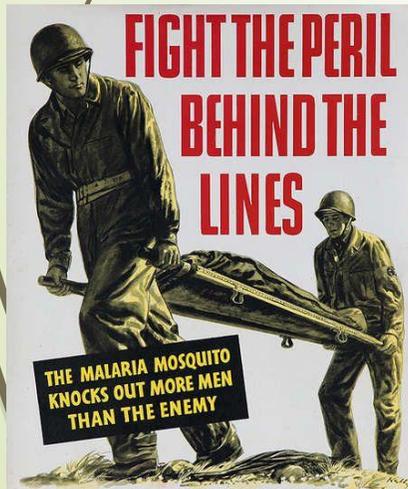
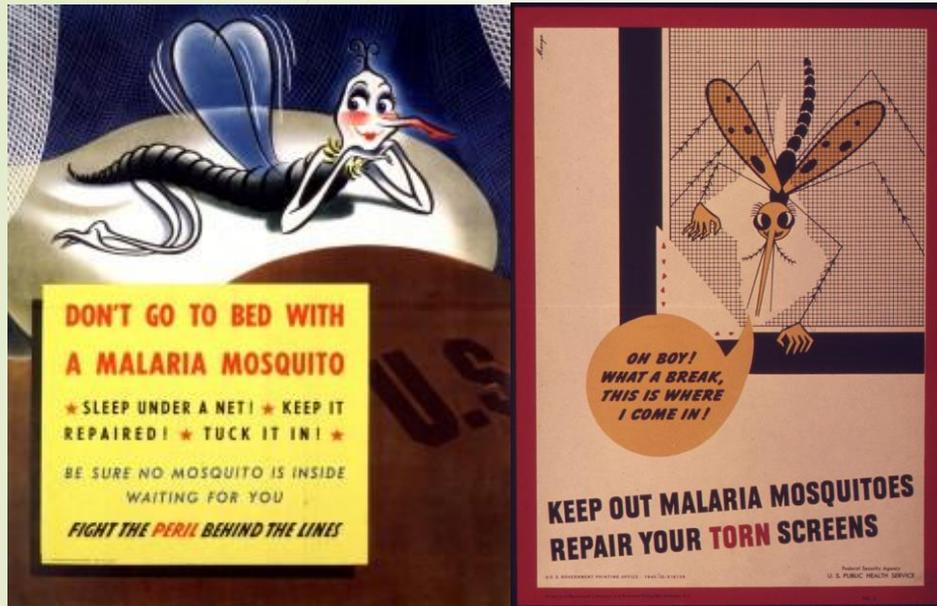


“febre do pântano”



Poster da Segunda guerra mundial

Selos mostrando a erradicação da malária

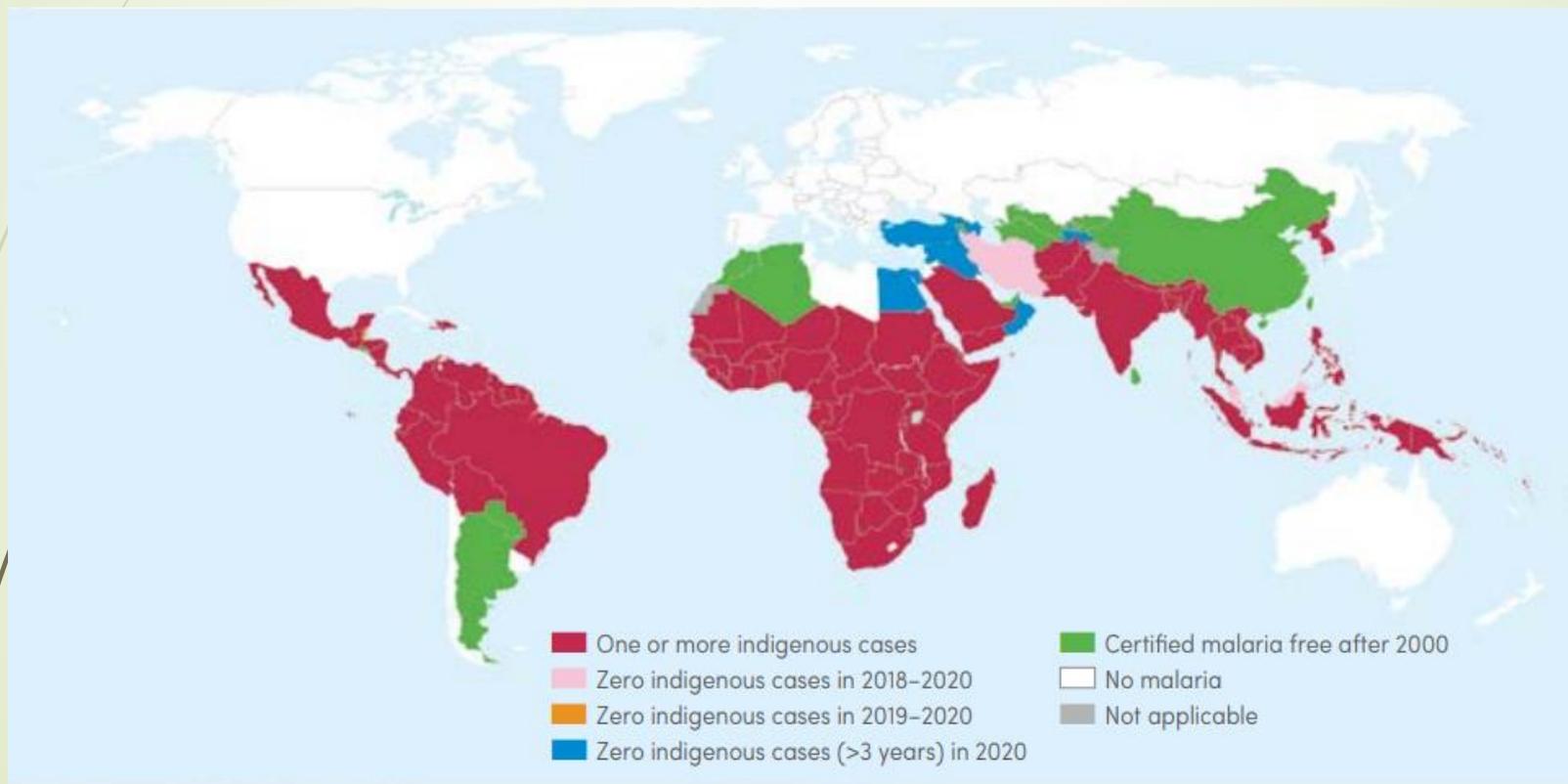


Malária na história (Brasil)

- Nos escritos médicos do Brasil é possível identificá-la já no século XVI e, daí por diante, em toda a história médica brasileira, embora não existam, até o século XIX, registros quantitativos sobre sua prevalência.
- No Brasil, no final do século XIX, a malária estava em todo território nacional. Grande epidemia na Amazônia (exército da borracha).
- Após a segunda guerra, houve uma campanha de combate à malária financiada por Getúlio e pela Fundação Rockefeller (DDT).
- A malária sumiu das cidades porém não da Amazônia (floresta grande reservatório do mosquito assim como nativos assintomáticos).

Por que a malária é um problema mundial?

- Doença tropical de maior impacto mundial
- Afeta **3 bilhões de pessoas** mundo todo



85 Países endêmicos

241 milhões de casos

627000 Mortes

**Over the last 2 decades,
malaria-affected countries have
achieved remarkable success,
but the fight is not over**

**7.6
MILLION**

**lives saved globally
since 2000**

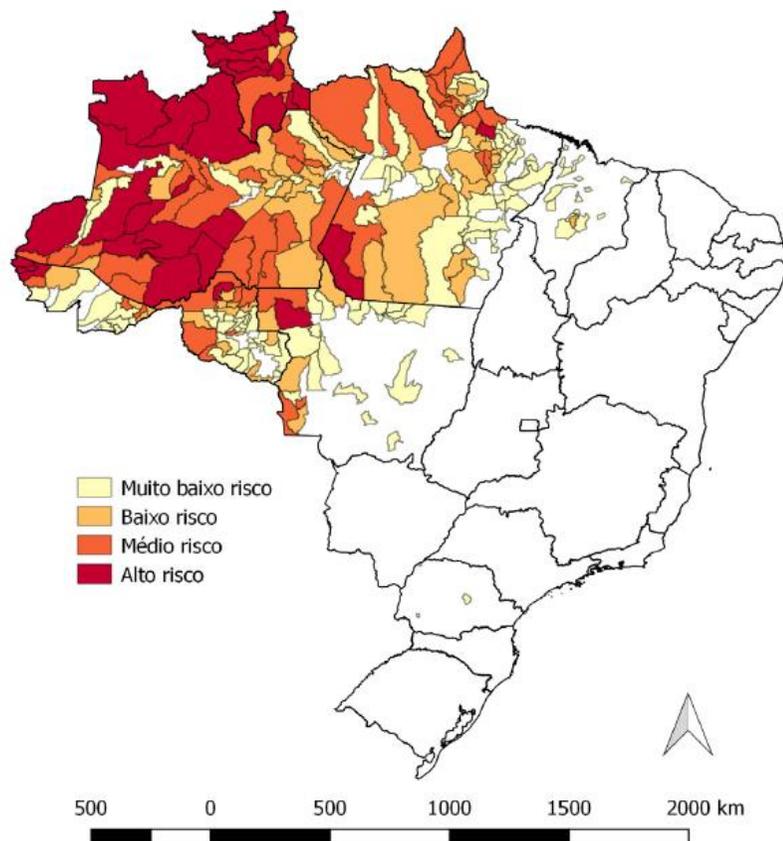
94% of them
in Africa



**World Health
Organization**

#EndMalaria

Incidência da malária no Brasil



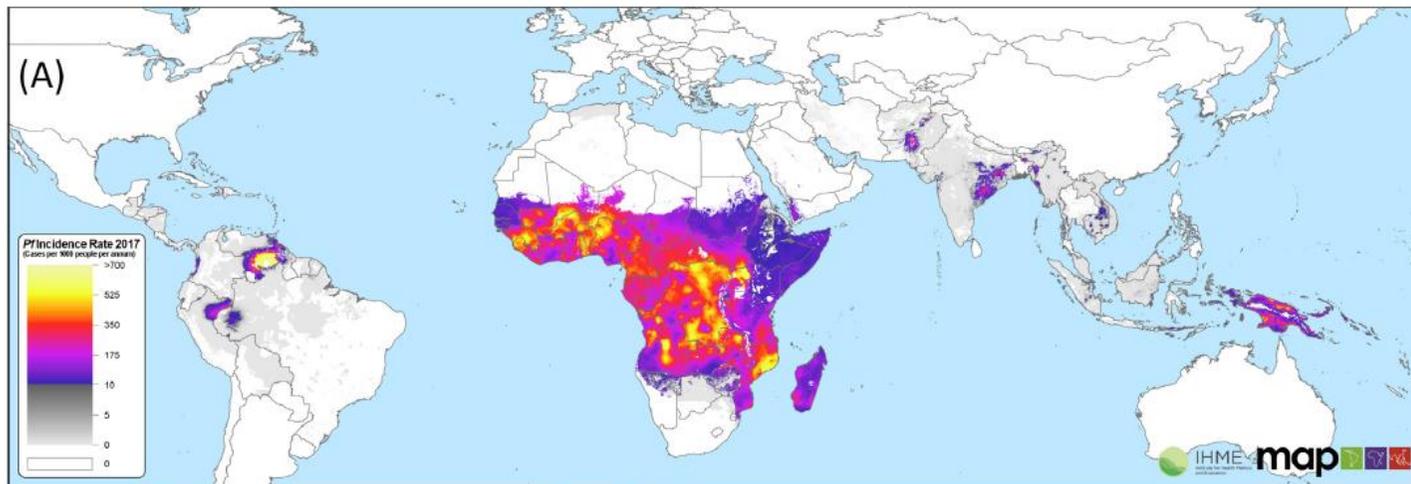
99,5% dos casos de malária no Brasil ocorrem na **Amazônia Legal** (Acre, Amapá, Amazonas, Pará, Rondônia, Roraima, Tocantins, Mato Grosso e Maranhão).

Fonte: Sivep-Malária e Sinan/SVS/MS. Data de atualização: Sivep-Malária em 30 de março de 2021 e Sinan em 26 de março de 2021. Excluídos resultados negativos, nulos e as LVC.
*Dados sujeitos à alteração.

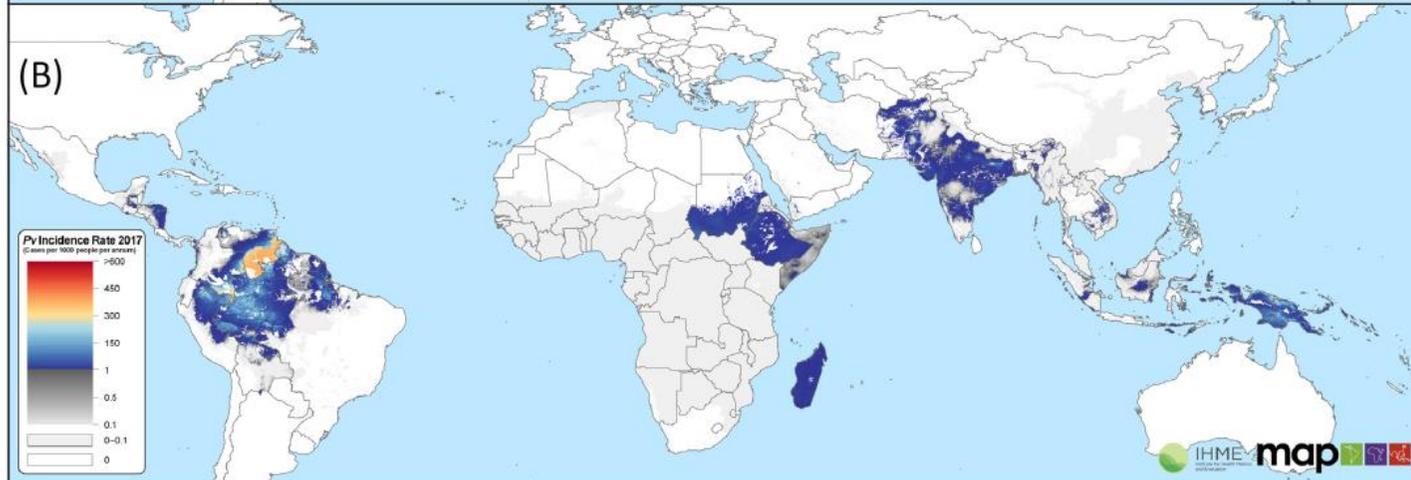
FIGURA 4 Mapa de risco de malária por município de infecção, Brasil, 2020*

Incidência da malária (*P. falciparum* e *P. vivax*) no mundo

P. falciparum



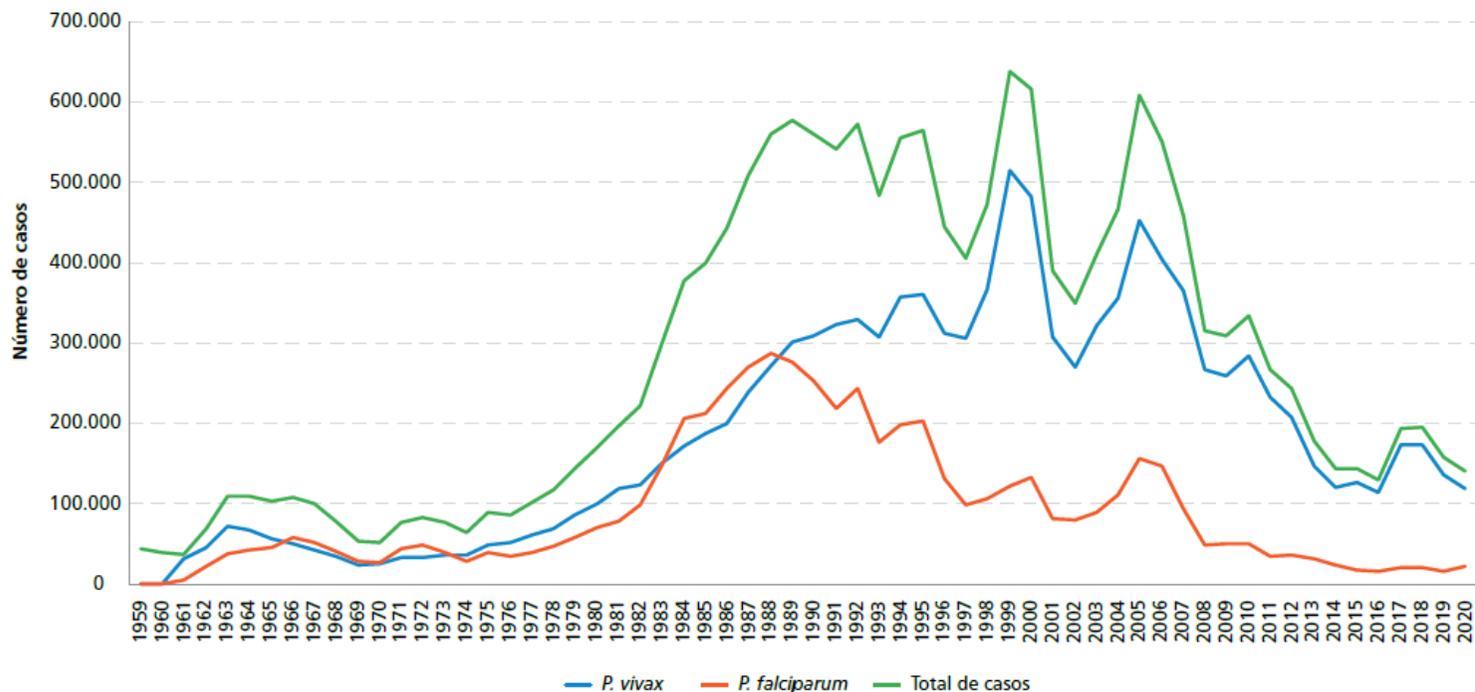
P. vivax



The Incidence of *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* Malaria in 2017.

Trends in Parasitology

Incidência da malária no Brasil



Fonte: SHM, Sismal, Sivep-Malária e Sinan/SVS/MS. Data de atualização: Sivep-Malária em 30 de março de 2021 e Sinan em 26 de março de 2021. Excluídos resultados negativos, nulos e as lâminas de verificação de cura (LVC).

*Dados sujeitos à alteração.

FIGURA 1 Casos de malária notificados no Brasil, 1959 -2020*

Casos e óbitos no Brasil

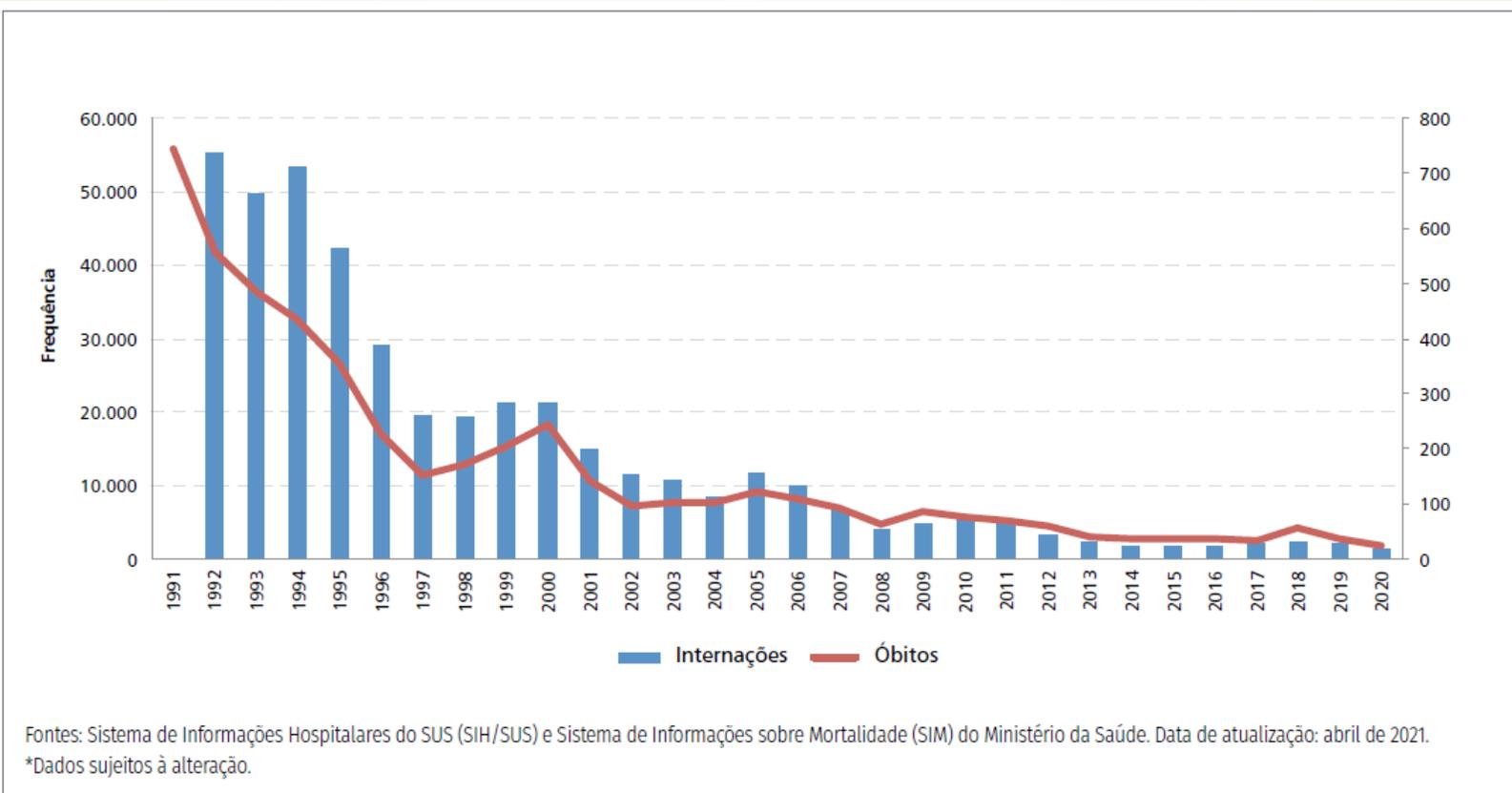


FIGURA 3 Internações e óbitos por malária, Brasil, 1991 a 2020*

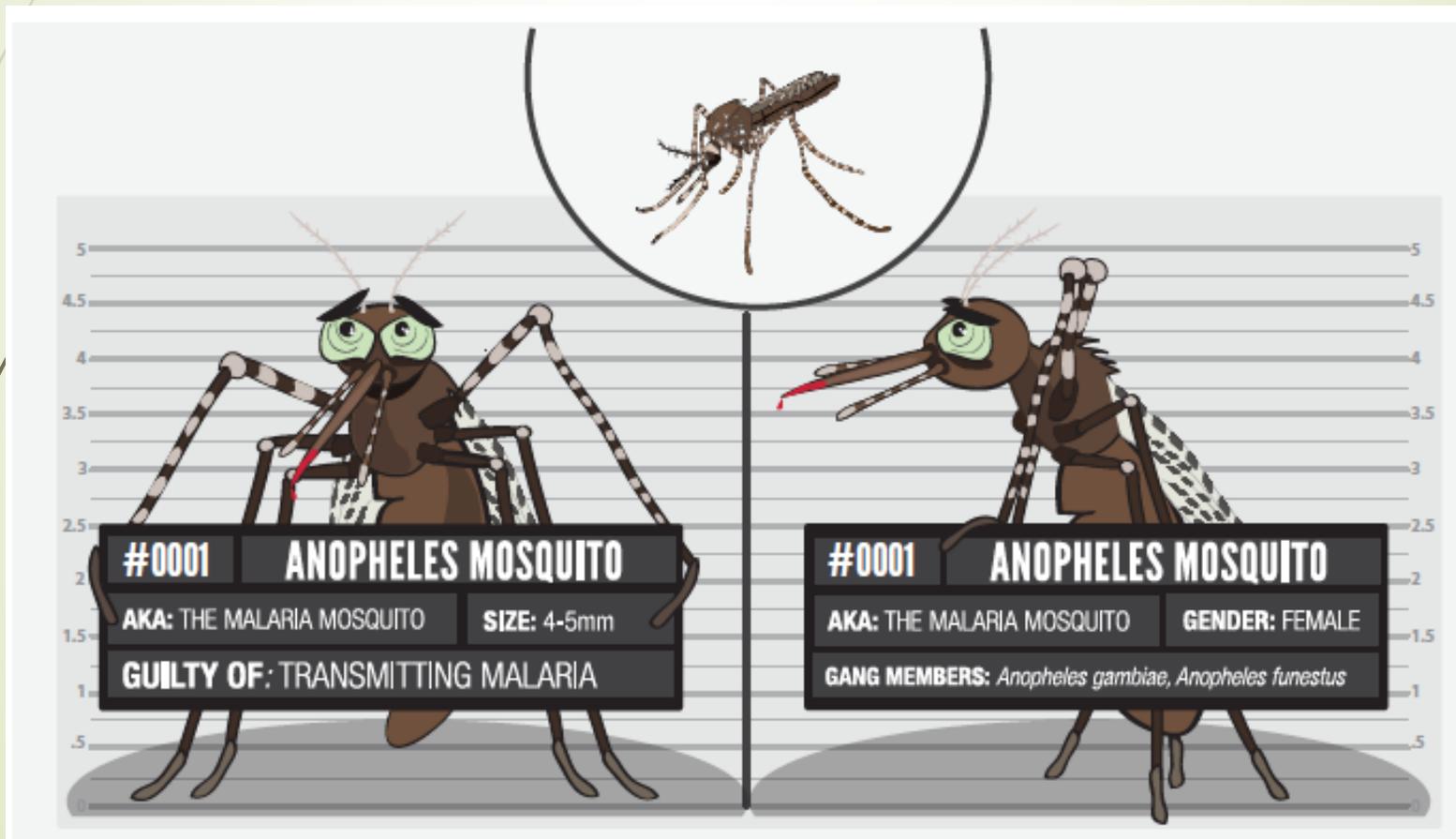
Vetor da malária: mosquito *Anopheles*

Ordem: Diptera

Família: Culicidae

Subfamília: Anophelinae

Gênero: *Anopheles*



Vetor da malária: mosquito *Anopheles*

- desenvolvimento em diferentes tipos de coleções de água - salobra, doce
- adulto: hábitos noturnos ou crepusculares
- Fêmea hematófaga
- ciclo esporogônico completo de *Plasmodium*
- Transmissão ocorre em temperaturas entre 20° a 30° C com alta umidade relativa do ar
- Temperaturas abaixo de 16° C e acima de 33° C, bem como altitude acima de 2000m impossibilitam o ciclo esporogônico no mosquito
- ± 350 espécies (± 30 a 50 são capazes de transmitir o plasmódio)
- vetores mais importantes da malária no Brasil:

An. darlingi*, *An. aquasalis* e *An. cruzi



Vetor da malária: mosquito *Anopheles*

Brasil

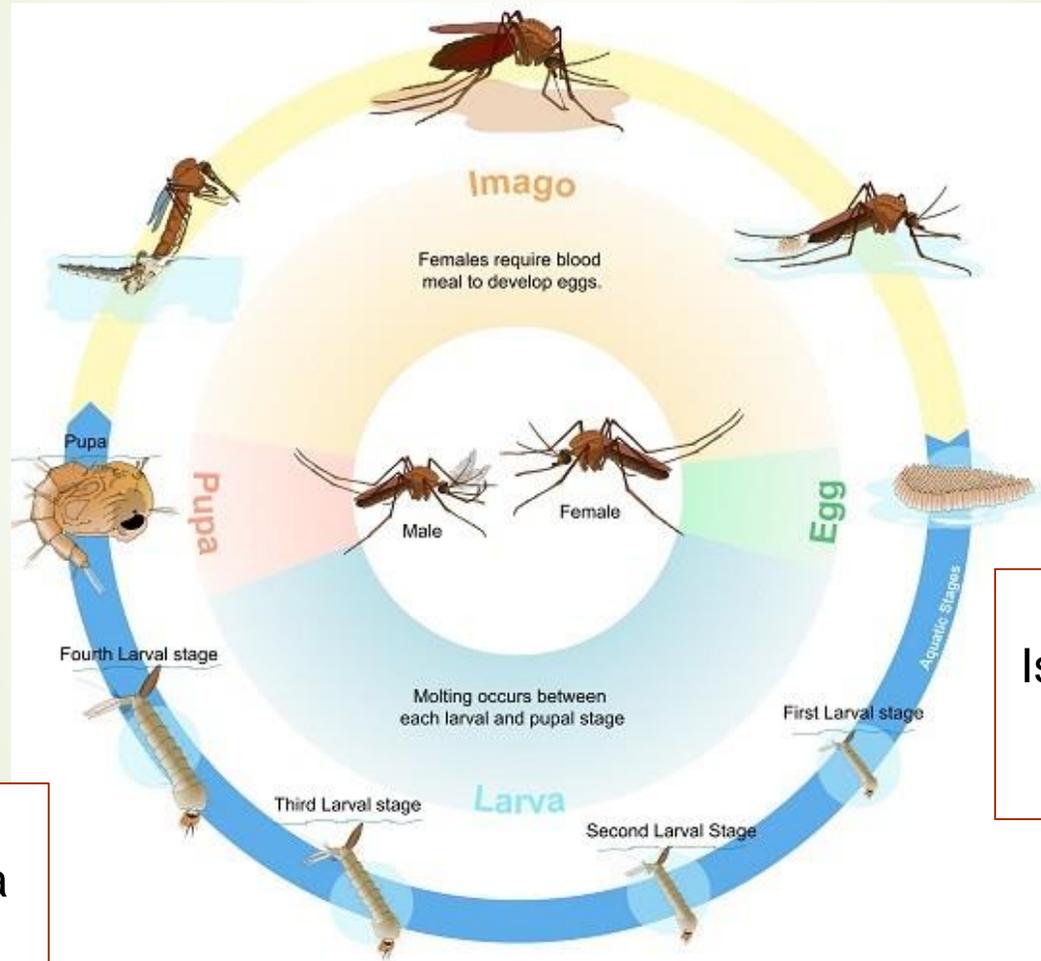


África



Vetor da malária: mosquito *Anopheles*

Holometábolos



3 dias

Paralelas a superfície da água (2 semanas)

70-90 ovos
Isolados na superfície da água (2-6 dias)

3-4 semanas (temperatura dependente)

Vetor da malária: mosquito *Anopheles*



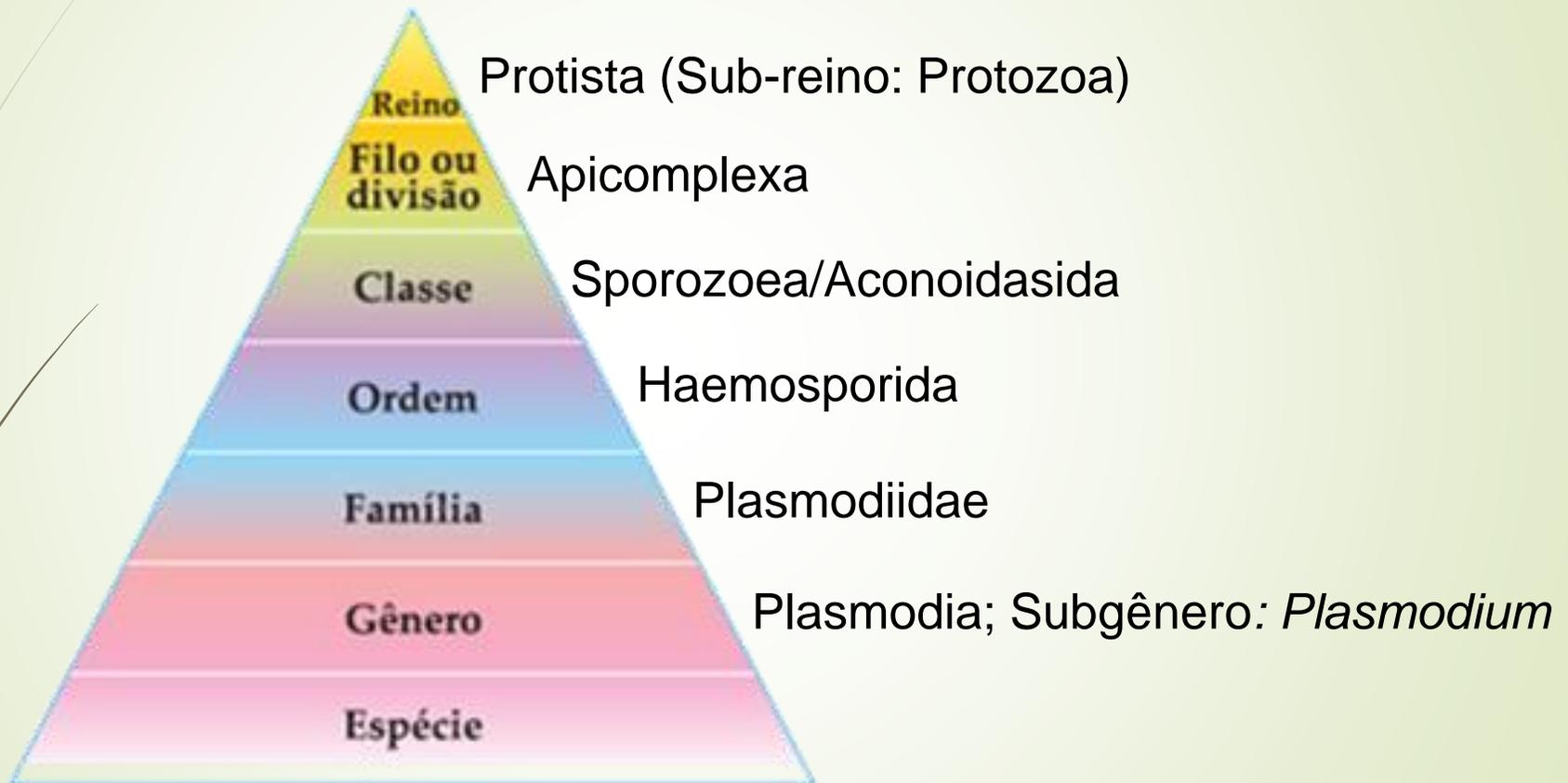
Anopheles

Aedes

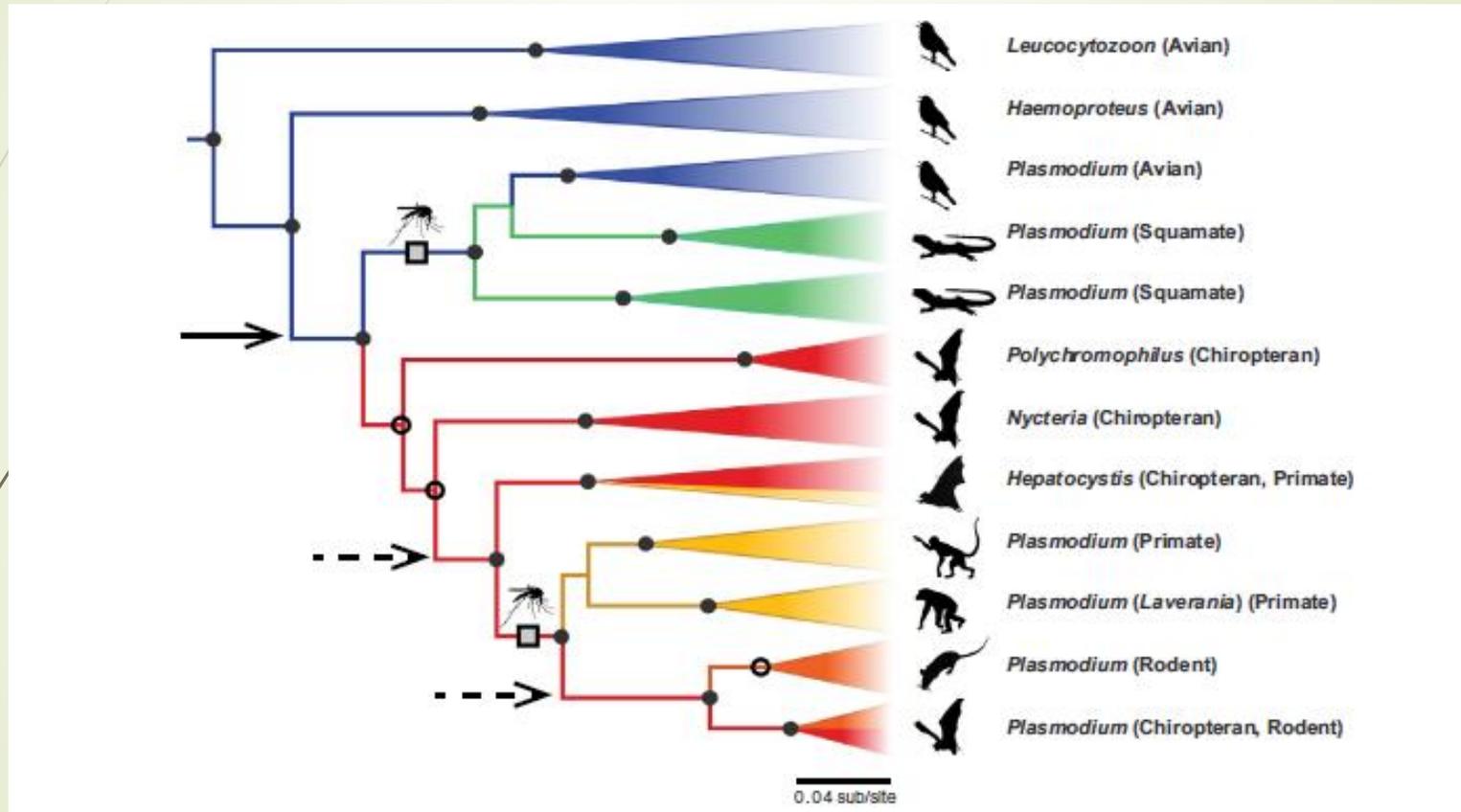
Culex



Agente etiológico e taxonomia: *Plasmodium*



Agente etiológico: *Plasmodium*



7 espécies : *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae*, *P. ovale*,
P. knowlesi, *P. cynomolgi*, *P. simium*

Agente etiológico: *Plasmodium*

DISCOVERY OF MALARIA PARASITES AND VECTORS

Parasites in blood of malaria patient discovered by **Charles Louis Alphonse Laveran**. He was awarded the 1907 Nobel Prize in Medicine.



1880



Naming of two malarial parasites, *Plasmodium vivax* and *P. malariae*, by **Giovanni Battista Grassi** and **Raimondo Filetti**.

1890

William H. Welch named a third parasite *P. falciparum*.

1897



**1897
20 AUG**

Ronald Ross demonstrated transmission of malaria parasites from infected patients to mosquitoes. Ross was awarded the 1902 Nobel Prize for his discovery.



John William Watson Stephens described the fourth human malaria parasite, *P. ovale*.

1922



1931

Robert Knowles and **Biraj Mohan Das Gupta** described *P. knowlesi* in a long-tailed macaque.

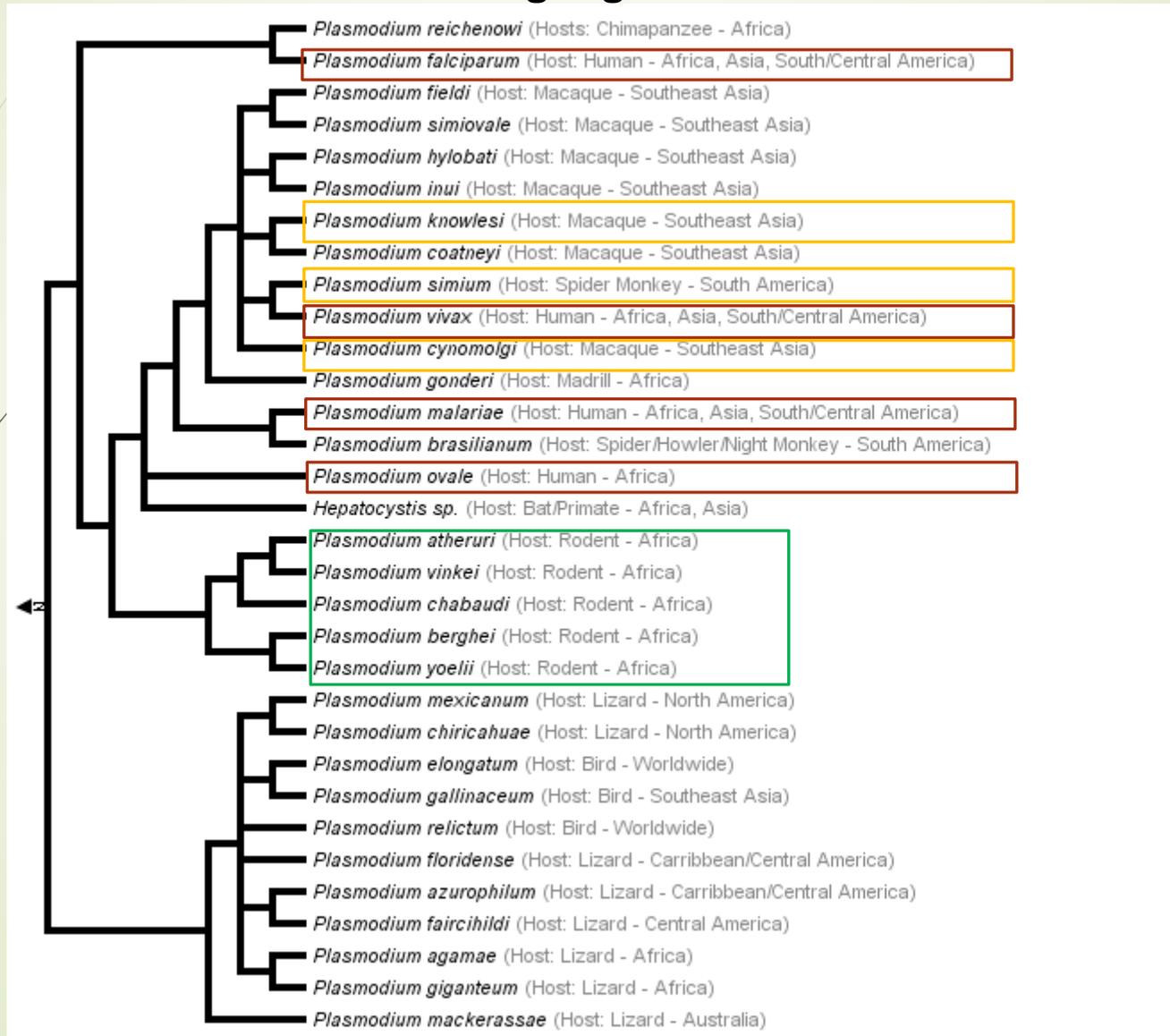


The first documented infection in humans.

1965



Diferentes espécies de *Plasmodium*, seus hospedeiros e localização geográfica



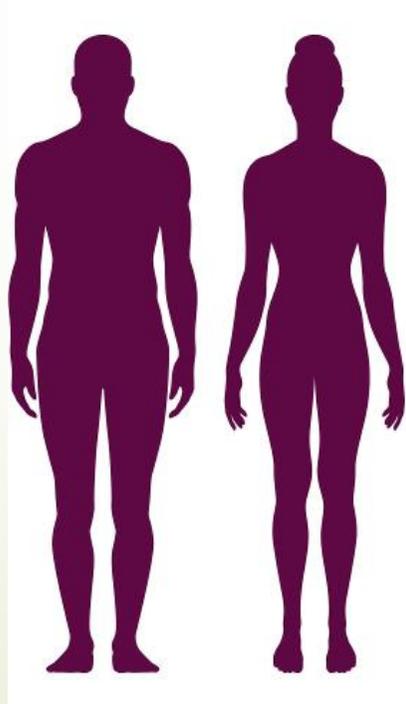
Ciclo da malária

Hospedeiro definitivo



Ciclo sexuado

Hospedeiro Intermediário



Ciclo Assexuado

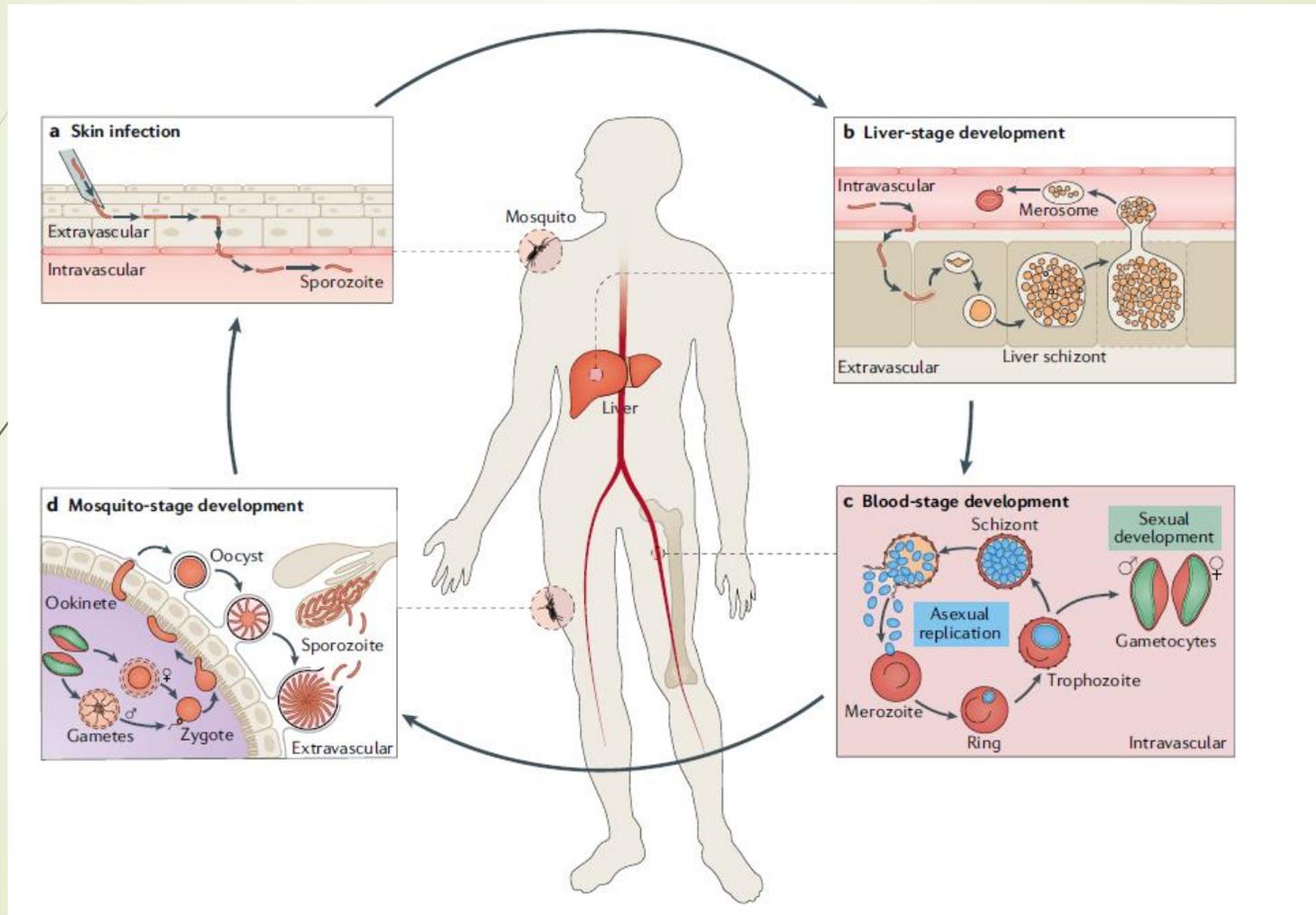


hepático



eritrocítico

Ciclo da malária



Ciclo da malária

Homem

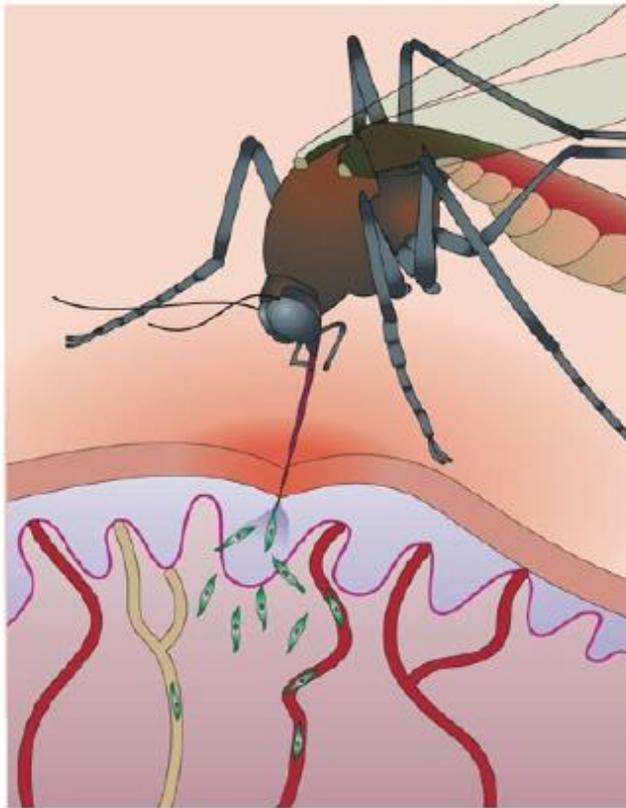


Ciclo da malária

Mosquito



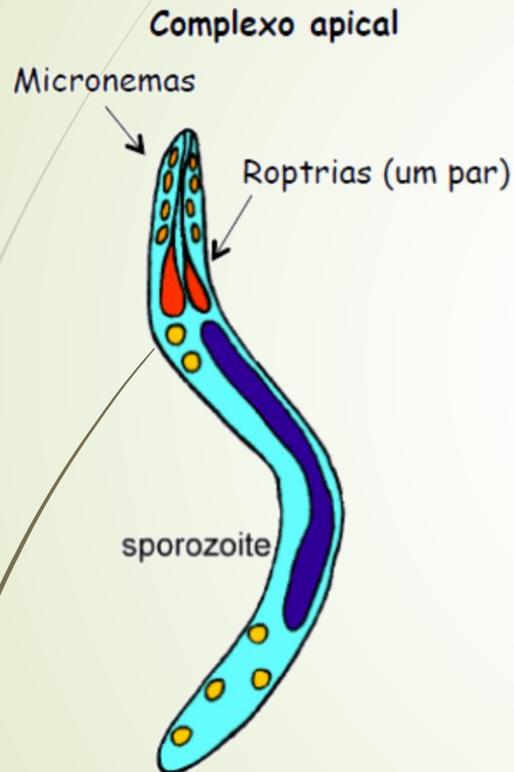
Formas biológicas: Fase pré-eritrocítica



Copyright © 2006 Nature Publishing Group
Nature Reviews | Microbiology

Nature Reviews Microbiology (2006): 4-849

Esporozoíta



- 10-15 μ m de comprimento por 1 μ m de diâmetro
- 2 membranas (externa e interna)
- Roptrias e micronemas: proteínas necessárias para penetração
- 2 proteínas de superfície que possuem propriedades adesivas ao hepatócito:
 - ✓ CSP (proteína circunsporozoíta) e
 - ✓ TRAP (proteína anônima relacionada à trombospondina)

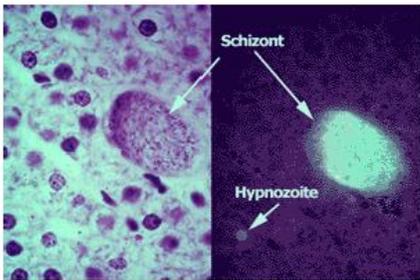


Esporozoíta

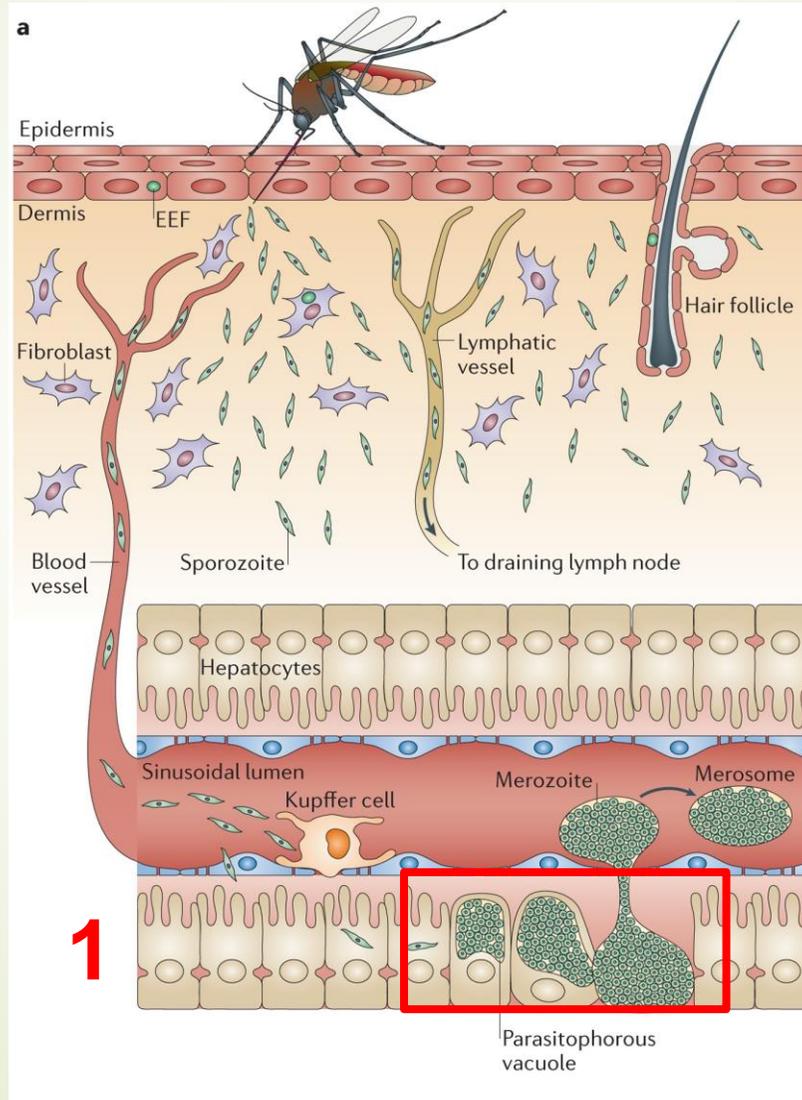
Movie S1
Sporozoite Gliding in the Skin

Movie S2
Blood Vessel Invasion

Esporozoíta e o esquizonte



Hipnozoítas de *P. vivax* e *P. ovale*.
Formas dormentes que são responsáveis por relapsos da doença meses ou anos depois.



Duração da esquizogonia

P. vivax: 8 dias

P. malarie: 12-16 dias

P. falciparum: 6 dias

P. ovale: 9 dias

Vacúolo parasitóforo

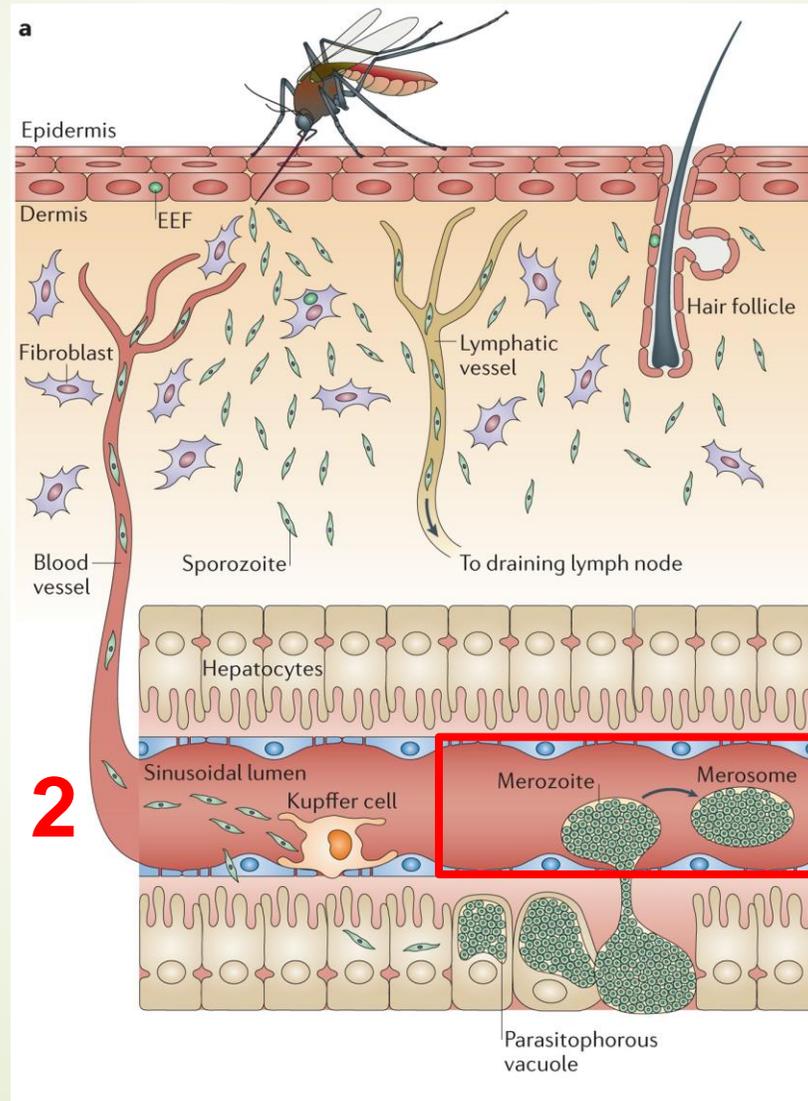


Esquizogonia



esquizonte

Esquizonte e os merozoítas



Nr de merozoítas por esquizonte

P. vivax: 10000

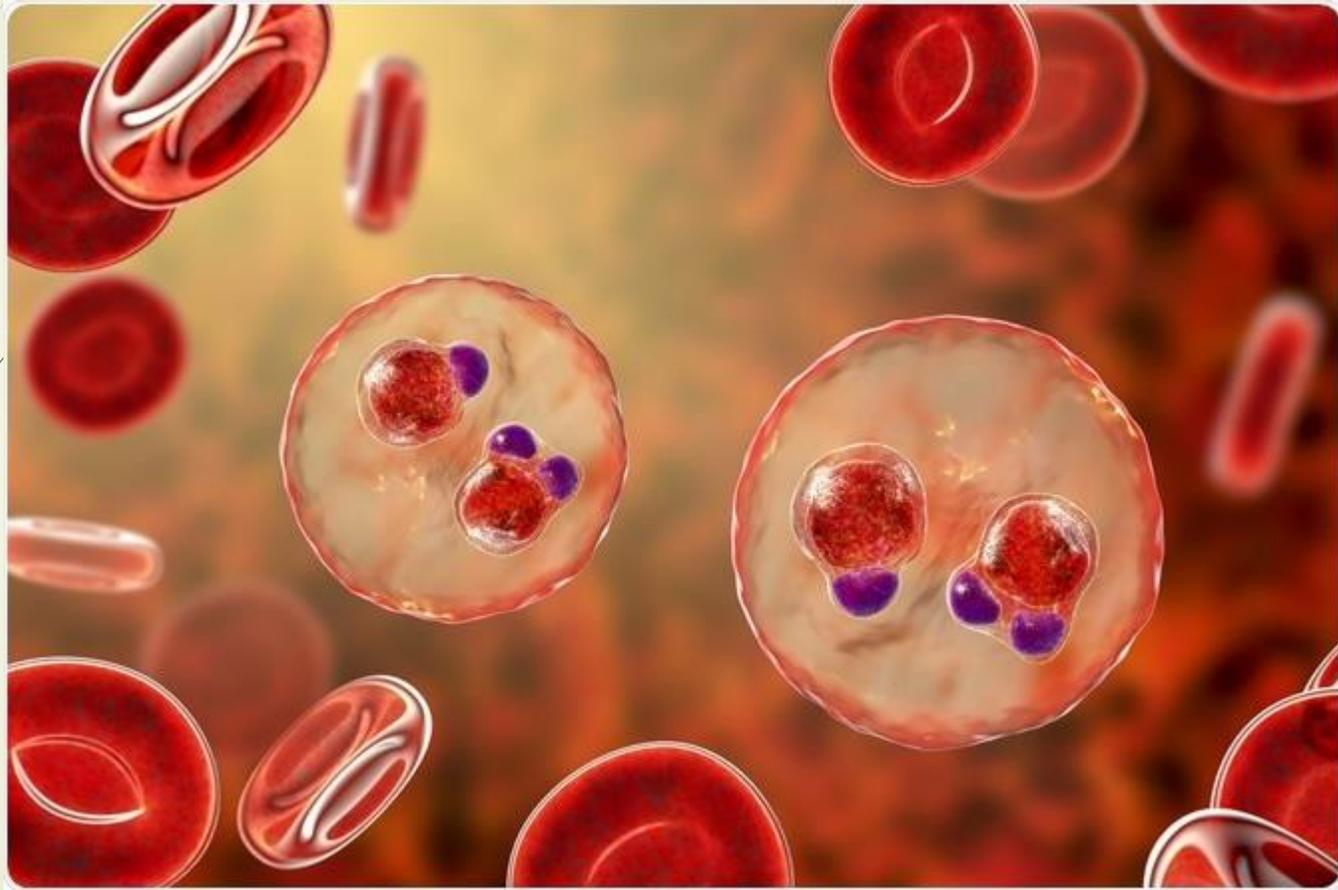
P. malarie: 2000

P. falciparum: 40000

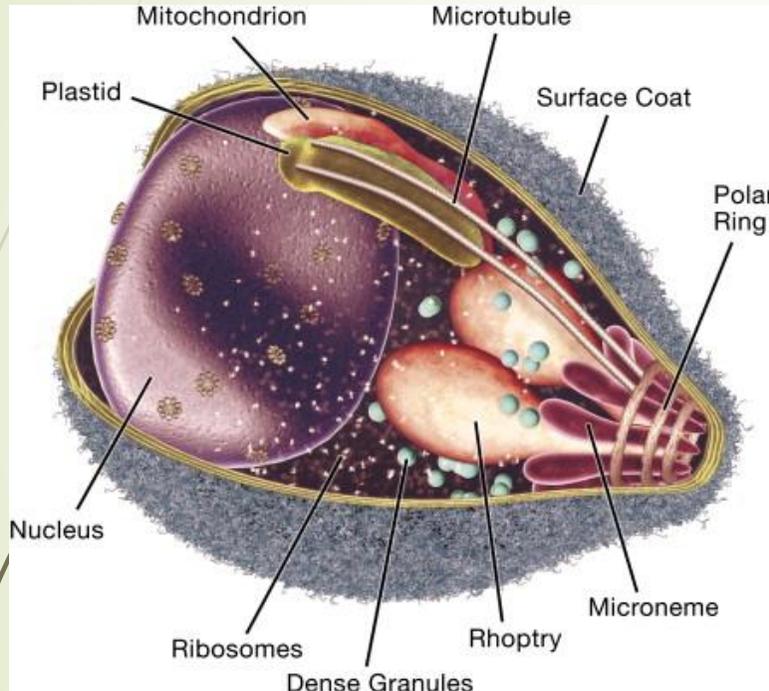
P. ovale: 15000

Liberação dos merossomos na corrente sanguínea

Formas biológicas: Fase eritrocítica

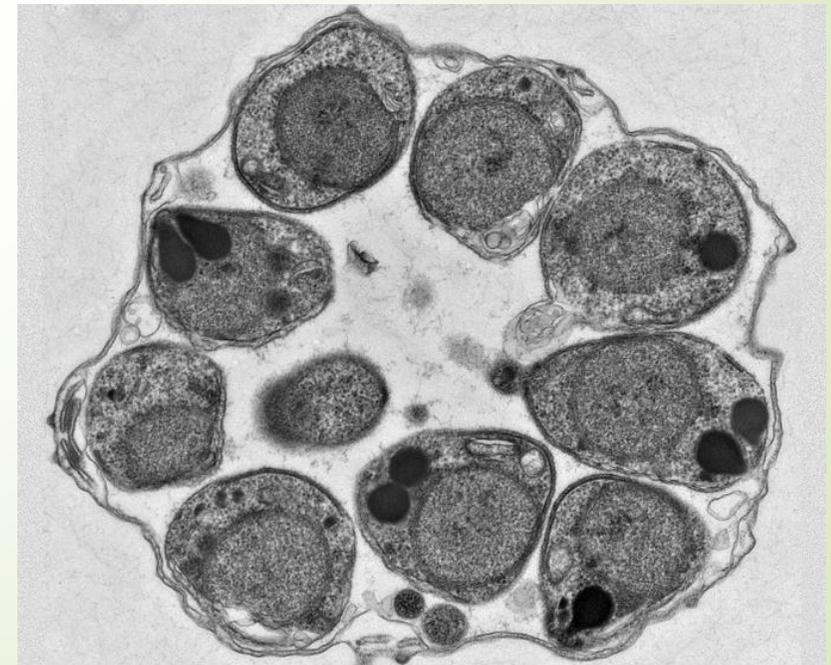


Merozoítas



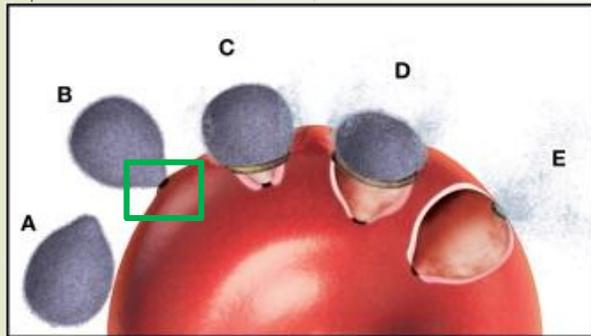
Cowman et al, Cell 2006

- Invadem as hemácias
- 1.5 μm
- Tem formato oval
- 2 membranas (externa e interna)
- Roptrias e micronemas: proteínas necessárias para penetração

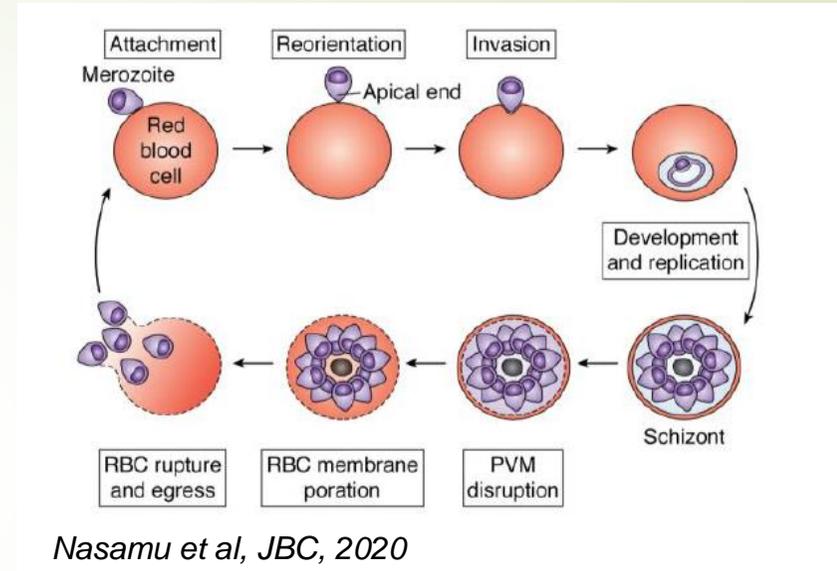
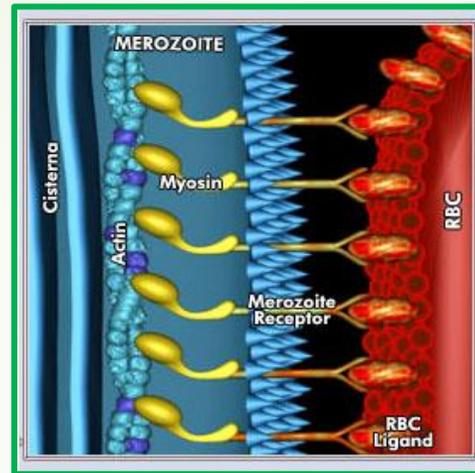


Armiyaw Nasamu and Wandy Beatty, Washington University

Merozoítas



Cowman et al, Cell 2006



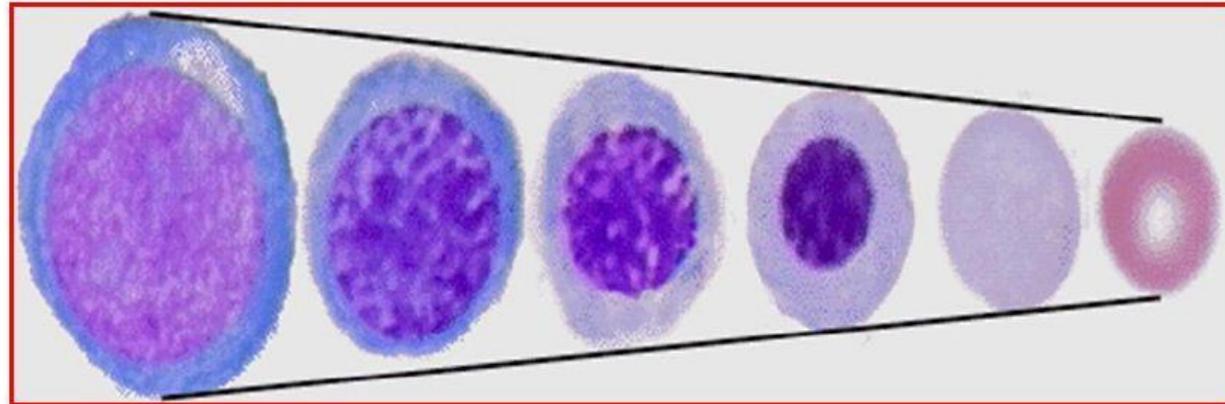
Nasamu et al, JBC, 2020

- Micronemas, roptrias e grânulos densos: aderência e invasão dos merozoítos
- A interação depende de proteínas da superfície do merozoíta e da hemácia:
 - P. vivax*: Duffy binding protein 1 e 2 (parasita) liga-se ao fator Duffy (RBC)
 - P. falciparum*: EBA-175 e EBA-140 (parasita) ligam-se as glicoforinas A e C (RBC), respectivamente.

Uma quantidade pequenas de merozoítas não se dividem e se diferenciam em gametócitos

Polimorfismo entre espécies observado durante o ciclo eritrocítico

Eritropoese: Sequência de maturação



PROERITROBLASTO



ERITROBLASTO
BASÓFILO



ERITROBLASTO
POLICROMÁTICO



ERITROBLASTO
ORTOCROMÁTICO



RETICULÓCITO

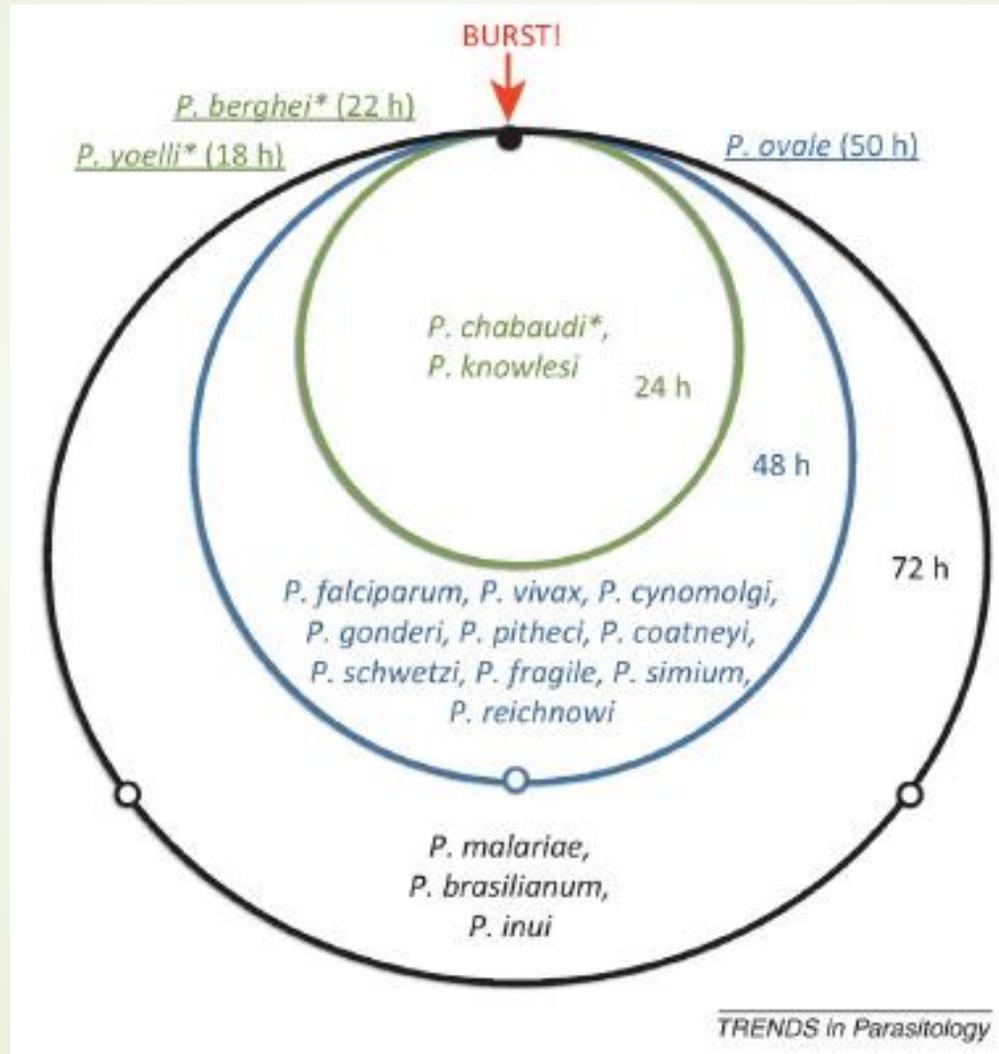


HEMÁCIA

Polimorfismo entre espécies observado durante o ciclo eritrocítico

Human malaria				
	Rings	Trophozoites	Schizonts	
<i>P falciparum</i>				<ul style="list-style-type: none"> Parasitised red cells (pRBCs) not enlarged RBCs containing mature trophozoites sequestered in deep vessels Total parasite biomass = circulating parasites + sequestered parasites <p>Todas as idades</p>
<i>P vivax</i>				<ul style="list-style-type: none"> Parasites prefer young red cells pRBCs enlarged Trophozoites are amoeboid in shape All stages present in peripheral blood <p>reticulócitos</p>
<i>P malariae</i>				<ul style="list-style-type: none"> Parasites prefer old red cells pRBCs not enlarged Trophozoites tend to have a band shape All stages present in peripheral blood <p>Eritrócitos maduros</p>
<i>P ovale</i>				<ul style="list-style-type: none"> pRBCs slightly enlarged and have an oval shape, with tufted ends All stages present in peripheral blood <p>reticulócitos</p>
<i>P knowlesi</i>				<ul style="list-style-type: none"> pRBCs not enlarged Trophozoites, pigment spreads inside cytoplasm; like <i>P malariae</i>, band forms may be seen Multiple invasion and high parasitaemia can be seen like <i>P falciparum</i> All stages present in peripheral blood

Diversidade no tempo do ciclo entre os plasmódios

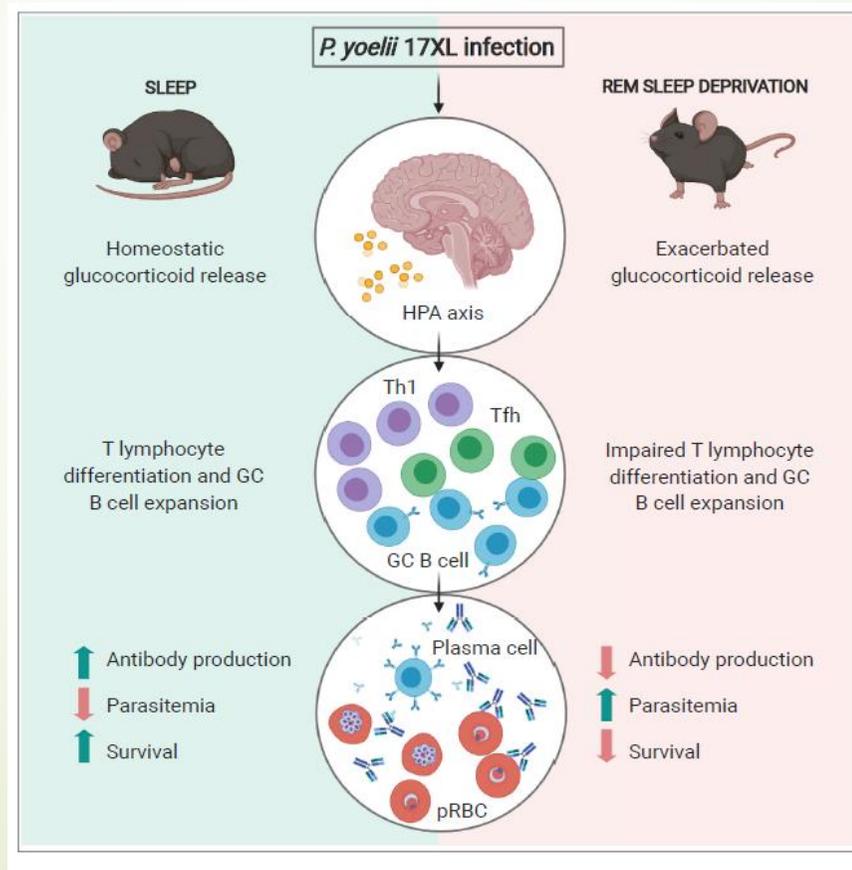


Article

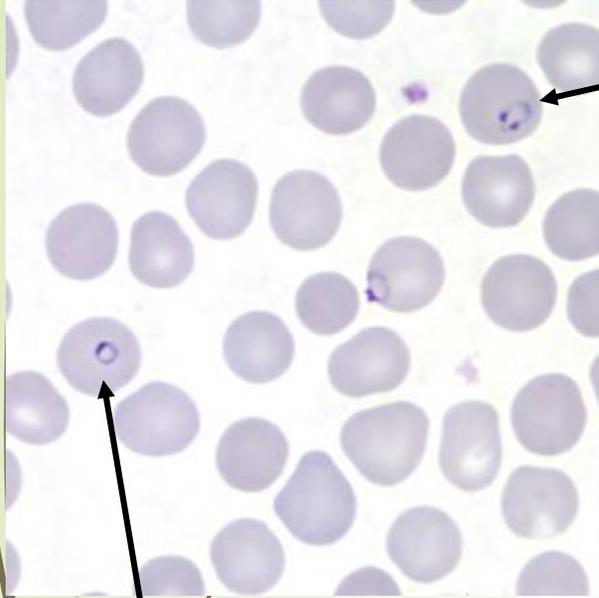
Sleep Disturbance during Infection
Compromises Tfh Differentiation
and Impacts Host Immunity

Edgar Ruz Fernandes,¹ Marcela Luize Barbosa,¹ Marcelo Pires Amaral,¹ Juliana de Souza Apostolico,^{1,4}
Fernando Bandeira Sulczewski,² Sergio Tufik,³ Monica Levy Andersen,³ Silvia Beatriz Boscardin,^{2,4}
Alexandre Castro Keller,^{1,*} and Daniela Santoro Rosa^{1,4,5,*}

iScience 23, 101599, October 23, 2020



Anél



Formato de anel "solitário"

Formato de fone de ouvido

- Possui 1 ou 2 cromatinas.
- Citoplasma escasso envolta de pequenos vacúolos.
- Múltiplas infecções são comuns.
- Não há alteração no tamanho da hemácia



Anel com 2 cromatinas

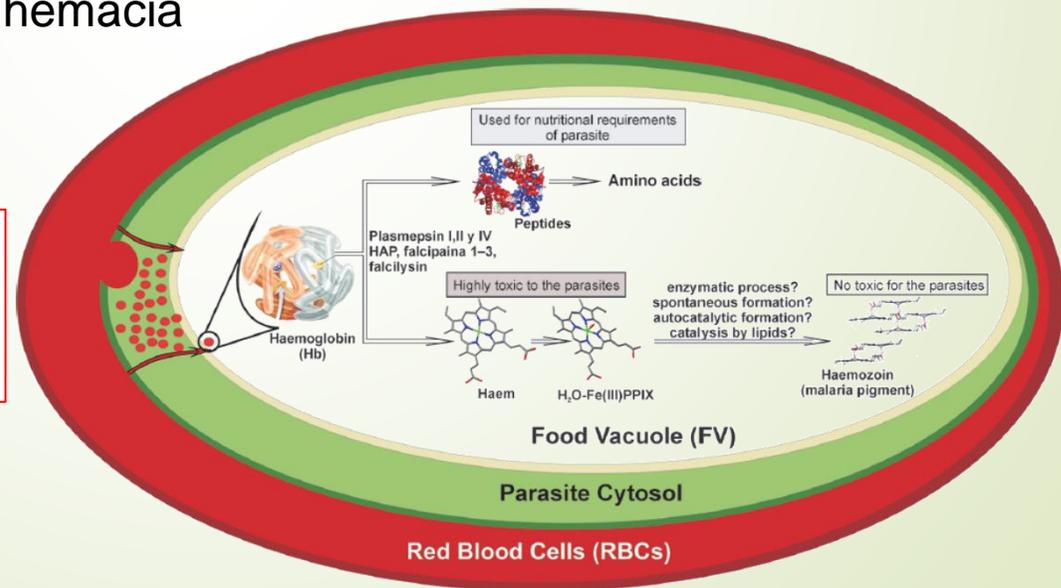
Dupla infecção

Trofozoítos



- Encontrado dentro do eritrócito após 10-18h de infecção.
- Trofozoíta jovem: formam um vacúolo que tem a forma de um anel, tornando-se menos evidente posteriormente.
- Trofozoíta maduro: citoplasma amebóide e pigmentos (hemozoina) podem estar presentes. Inicia a expressão de proteínas capazes de localizar-se na superfície da hemácia

Digere a hemoglobina da hemácia dentro do vacúolo alimentar



Esquizonte



EM mostrando um esquizonte de *P. yoelii*.
Ellis DS, Malaria", Topics in International Health,(1998) The WellcomeTrust, CABI Publishing, CAB International)

Nr de merozoítas por hemácia

P. vivax: 12-24

P. malarie: 6-12

P. falciparum: 8-24 (ou +)

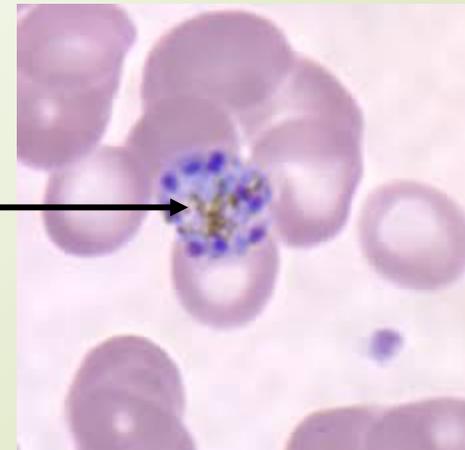
P. ovale: 4-16

Esquizogonia: forma de reprodução assexuada em que ocorrem múltiplas mitoses do núcleo celular e organelas, dando origem a uma célula multinucleada.

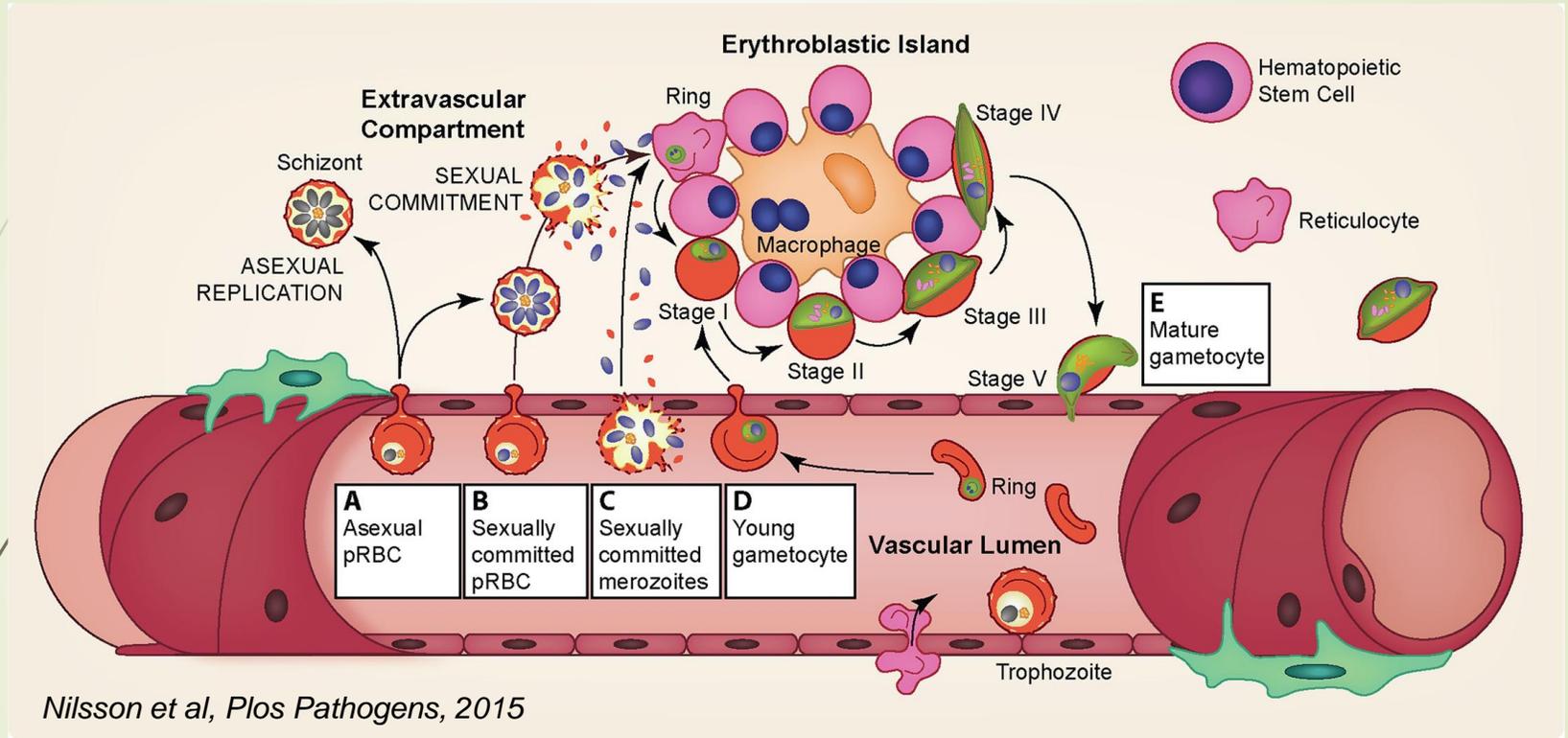


Citocinese: processo que subdivide o esquizonte polinuclear em várias células idênticas, chamadas de merozoítos

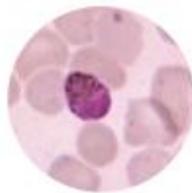
hemozoína



Gametócitos



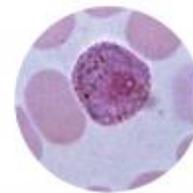
P. falciparum



P. malariae

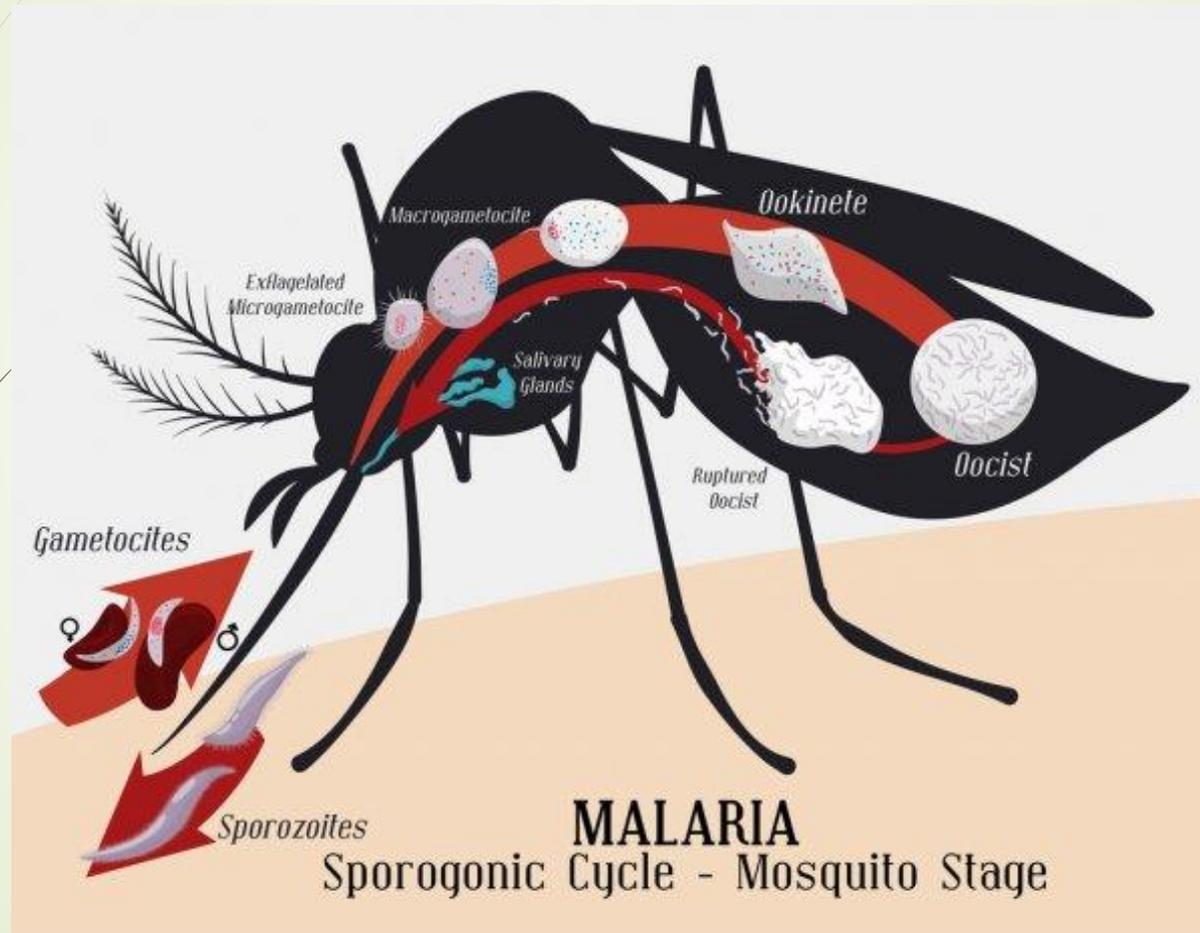


P. ovale

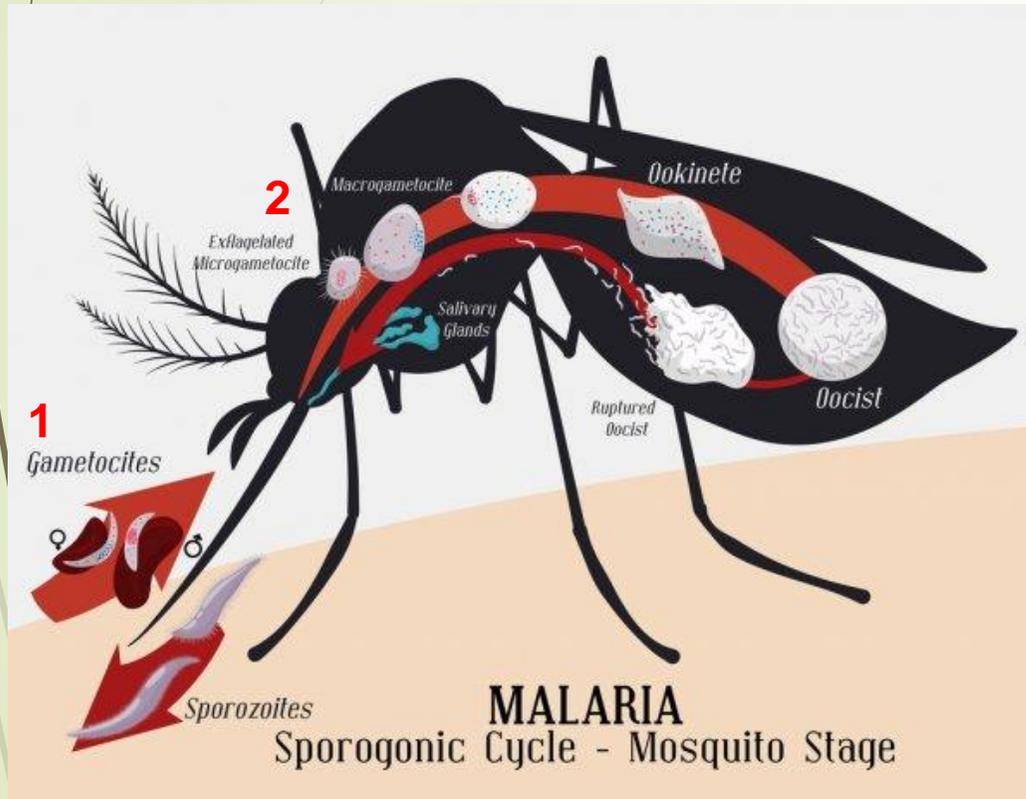


P. vivax

Formas biológicas: mosquito

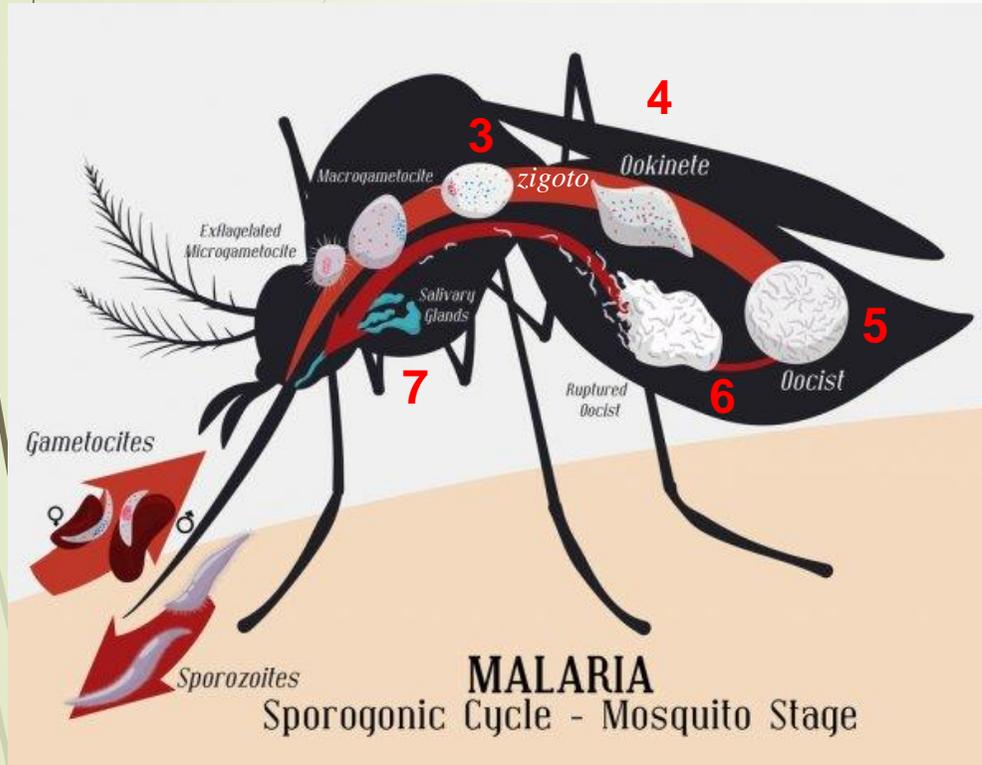


Gametócitos



- Depois da digestão do respasto sanguíneo, os gametócitos amadurecem.
- No estômago do mosquito, os gametas sofre 2 mitoses, formando os **macrogametas** (gameta feminino) e **microgametas** (gameta masculino).
- Ocorre a exflagelação e o macrogameta é liberado da hemácia.

Zigoto e oocineto



- A fertilização dos gametas ocorre no lúmen do intestino médio, formando um **zigoto** diplóide.
- Depois de 18-24h de amadurecimento, o zigoto alonga-se e adquire motilidade (**oocineto**).
- Oocineto transforma-se em **oocisto**:
P. falciparum: 10-12 dias
P. vivax: 8-10 dias
- Ocorre divisão haplóide e multiplicação de milhares de esporozoítas.
- Oocisto se rompe, liberando os esporozoítas que serão levados até os ductos salivares.

Oocisto e esporozoíta

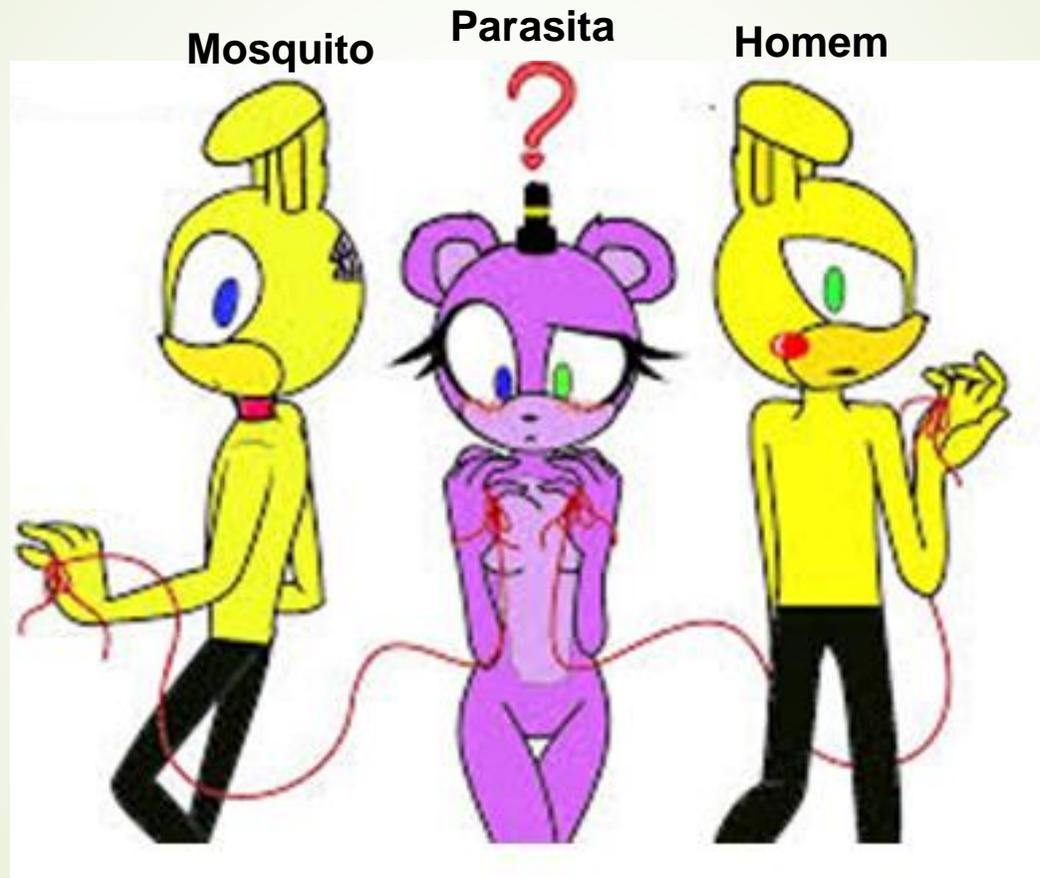


Anopheles gambiae e oocistos (em azul) de *Plasmodium* na parede externa do estômago do mosquito. (MOSQUITO ENGINEERING: Building a Disease-Fighting Mosquito. Martin Enserink/Science 2000 290: 440-441. (in News Focus))

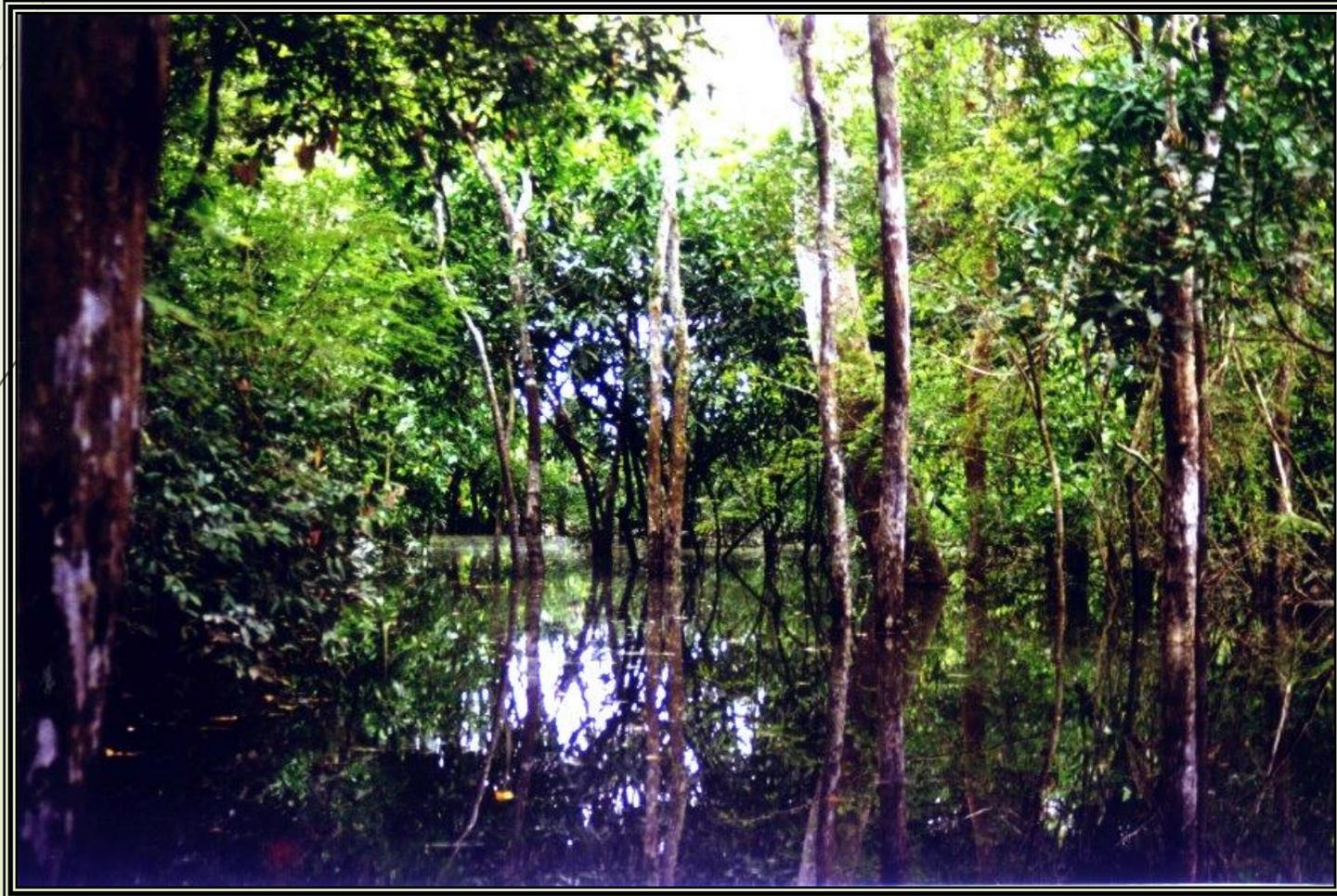


Imagem: Guggeheim R. "Malaria", Topics in International Health, (1998) The Wellcome Trust, CABI Publishing, CABI International)

“ A Ménage à trois” (Triângulo amoroso)



Eventualmente, o indivíduo infectado vai para um criadouro de Anofelinos...



Período de incubação



<i>P. vivax</i>	8-27 dias
<i>P. malariae</i>	15-30 dias
<i>P. falciparum</i>	8-25 dias
<i>P. ovale</i>	9-17 dias



Sintomas da malária em pessoas não imunes (aspectos clínicos)

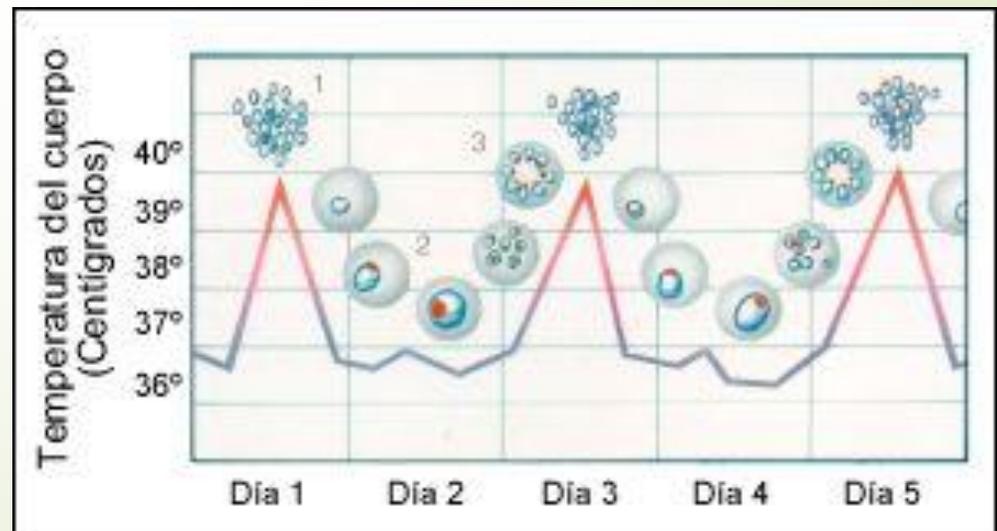
- Cansaço e dores musculares
- Paroxismo malárico (calafrio, calor e suor)
- Febre
- Mal estar
- Cefaléia
- Artralgia

Às vezes

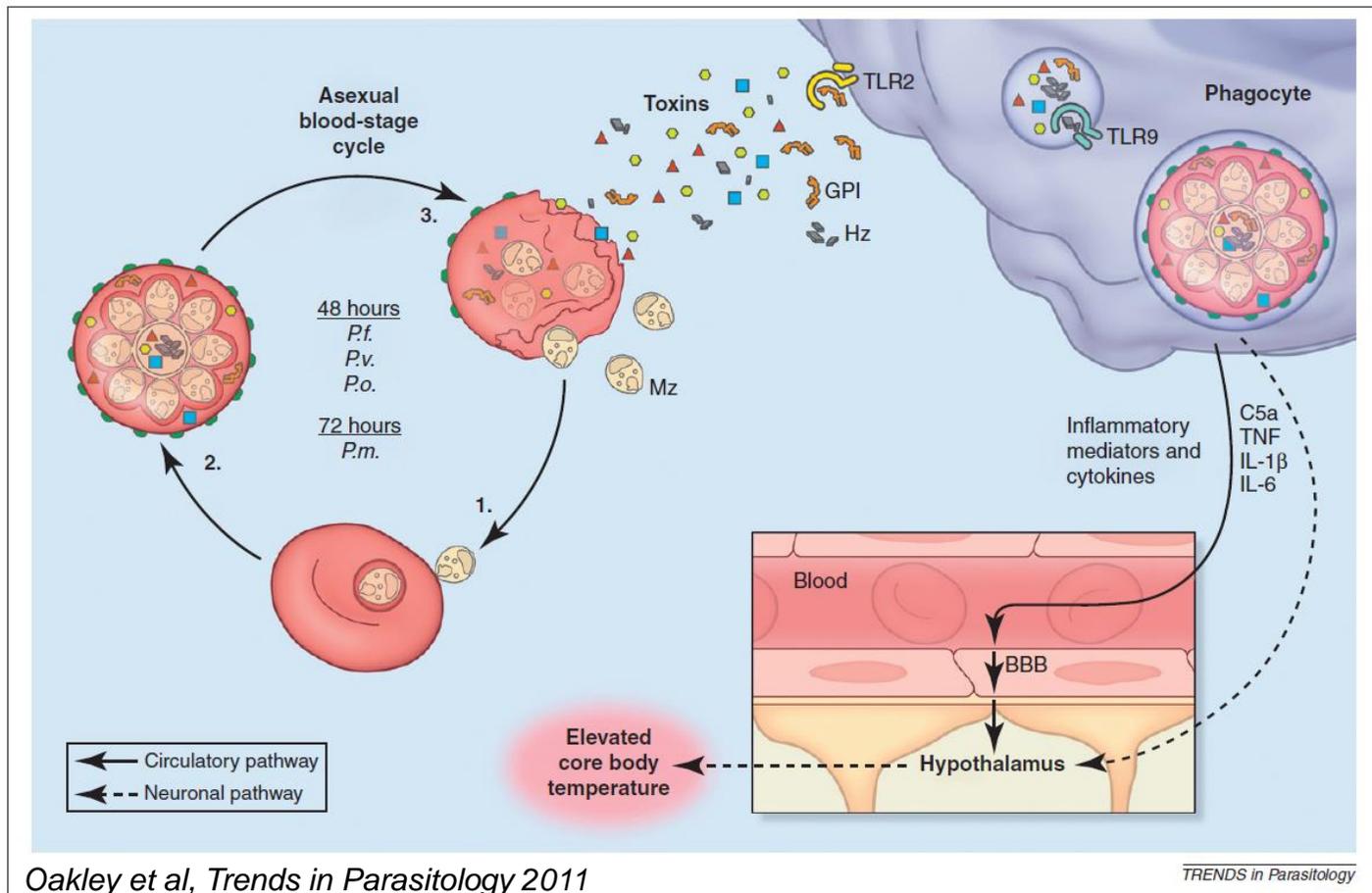
- Vômito
- Diarréia
- Anemia
- esplenomegalia



Febre intermitente



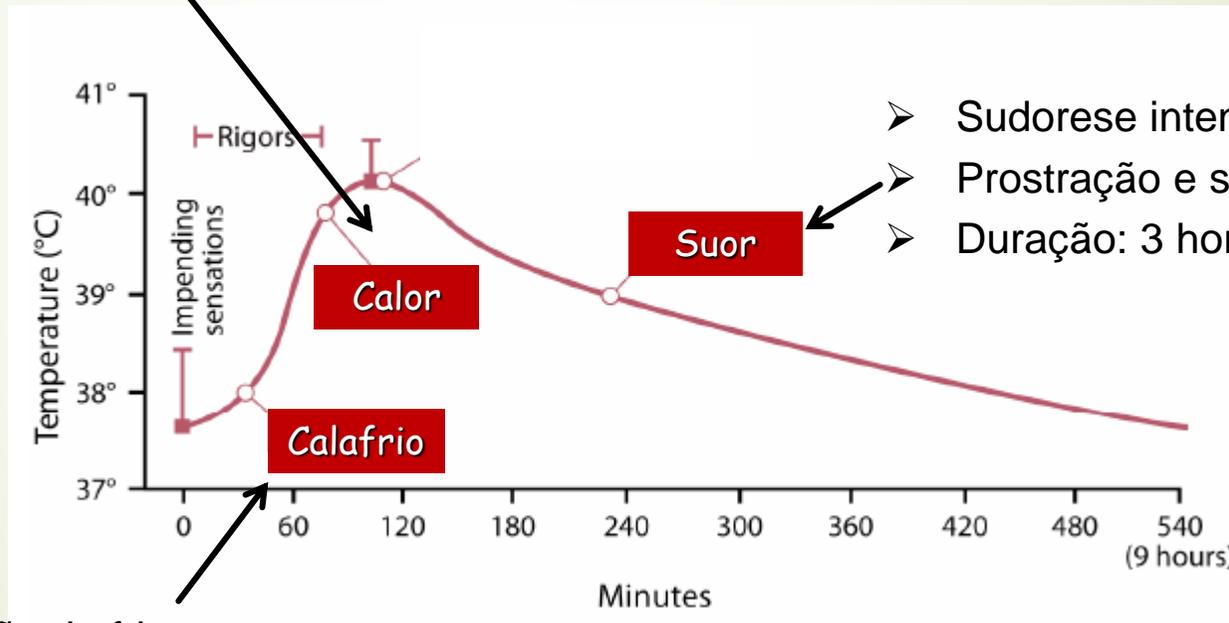
Mecanismo proposto da febre



<i>P. vivax</i>	<i>P. malariae</i>	<i>P. falciparum</i>	<i>P. ovale</i>
48h	72h	36-48h	48h
Terçã benigna	Quartã	Terçã maligna	Terçã leve

Paroxismo malárico

- Calor intenso
- Dor de cabeça
- Náusea e vômito
- Temperatura Alta (39-41° C)
- Duração: 2-8 horas



- Sudorese intensa
- Prostração e sono
- Duração: 3 horas

- Forte sensação de frio
- Tremores incontroláveis
- Náusea e vômito
- Duração: 1-2 horas

Aspectos clínicos

Anemia:

- a) decorrente da destruição das hemácias durante a esquizogonia sanguínea.
- b) Destruição das hemácias parasitadas no baço.
- c) Hemólise das hemácias normais por auto-anticorpos (também no baço).
- d) Disfunção da medula óssea, estimulada pela ação de citocinas, causando uma desitropoiese.

Esplenomegalia: causada pela resposta imunológica do paciente à infecção.



Malária grave: *Plasmodium falciparum*

Aspectos clínicos

- Hiperparasitemia
- Hiperpirexia
- Acidose
- Hypoglicemia
- Colapso cardiovascular
- Icterícia
- Anemia grave
- Sangramento espontâneo
- Edema pulmonar
- Falência renal
- Hemoglobinúria
- Malária cerebral (responsável por 80% dos casos letais)

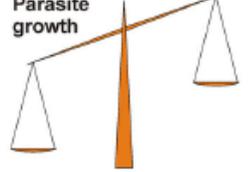
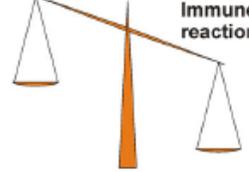
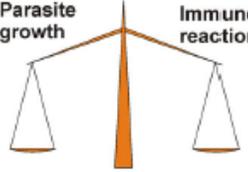


Malária grave: *Plasmodium falciparum*

Síndrome severa/fatal associado à malária

Síndrome	Características Clínicas
Malária cerebral	Perda de consciência, coma, sequelas neurológicas, morte
Anemia Severa	Letargia, níveis de hemoglobina inferiores a 4-6 g/ml
Malária Placentária	Insuficiência placentária, baixo peso à nascença, aborto espontâneo
Outras complicações	Acidose metabólica, stress respiratório, mudanças hemodinâmicas, coagulação intravascular disseminada

Parasita versus hospedeiro: malária

A. Immunological (im)balances			
Equilibrium	Insufficient immune response and/or excessive immune evasion	Exaggerated proinflammatory immune response	Exaggerated immune evasion and exaggerated inflammatory reaction
<p>Parasite growth Immune reaction</p>  <p>Parasite clearance or asymptomatic chronic infection</p>	<p>Parasite growth Immune reaction</p>  <p>High parasite burden Metabolic disturbances Death</p>	<p>Parasite growth Immune reaction</p>  <p>Low parasite burden Inflammation Death</p>	<p>Parasite growth Immune reaction</p>  <p>High parasite burden Inflammation Metabolic disturbances Death</p>
B. Patients			
Asymptomatic malaria Uncomplicated malaria	<i>P. falciparum</i> hyperparasitemia <i>P. falciparum</i> acidosis <i>P. falciparum</i> CM??	SMA MA-ARDS <i>P. vivax</i> CM?? <i>P. vivax</i> PAM??	<i>P. falciparum</i> PAM <i>P. falciparum</i> CM??
C. Murine models			
Uncomplicated malaria e.g. C57BL/6 mice infected with <i>P. chabaudi</i> AS, <i>P. yoelii</i> 17XNL, <i>P. berghei</i> XAT	Hyperparasitemia e.g. Balb/c mice infected with <i>P. yoelii</i> 17XL, <i>P. berghei</i> ANKA	MA-ALI/-ARDS e.g. C57BL/6 mice infected with <i>P. berghei</i> NK65 DBA/2 mice infected with <i>P. berghei</i> ANKA SMA in semi-immune mice	CM e.g. C57BL/6 mice infected with <i>P. berghei</i> ANKA PAM e.g. C57BL/6 or Balb/c mice infected with <i>P. berghei</i> strains C57BL/6 or A/J mice infected with <i>P. chabaudi</i>

Parasita *versus* hospedeiro: malária

Parasita



infectar

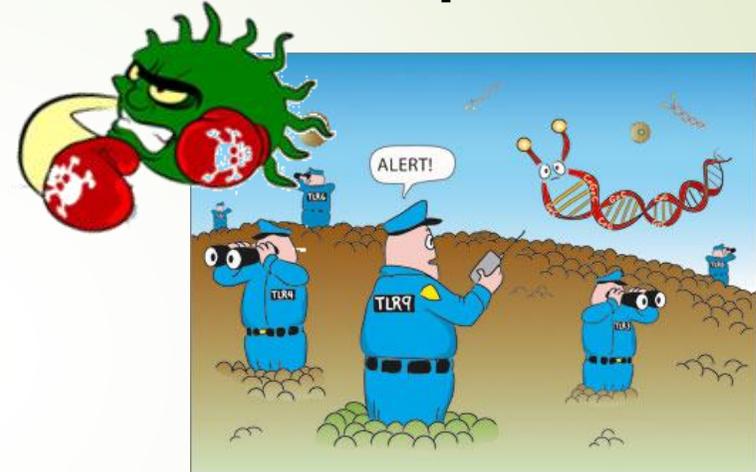
multiplicar

disseminar

Evitar o ataque do sistema imune

X

Hospedeiro



Evitar a entrada

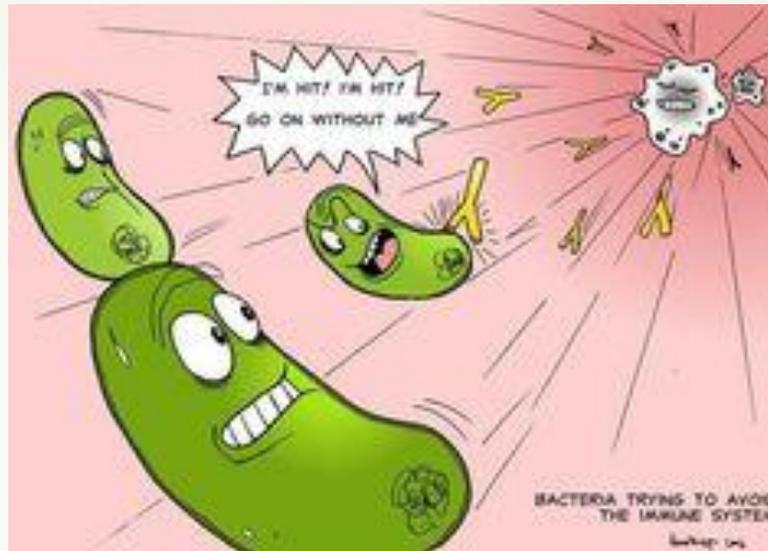
Confinar a infecção

Inibir a disseminação

Eliminar o patógeno

Mecanismos de evasão

FUGA, ESCAPE



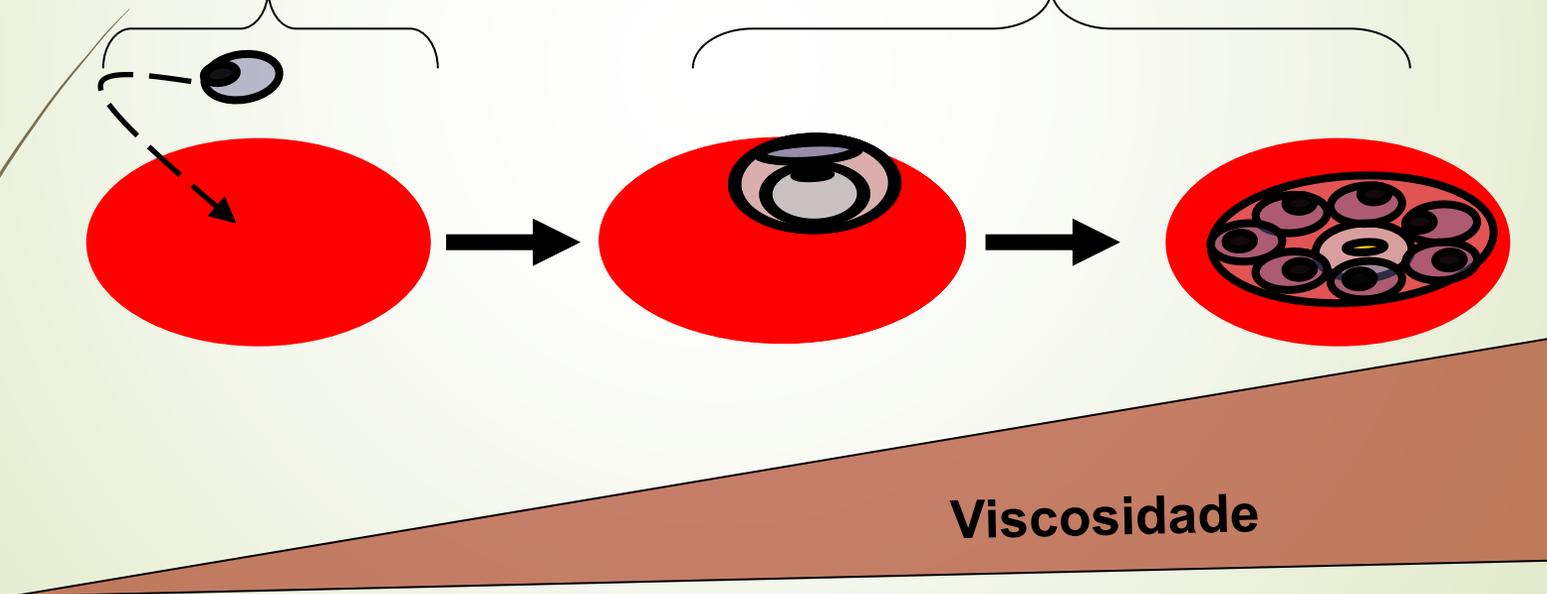
- “Esconder-se” do sistema imune
- Interferir com o funcionamento do sistema imune inato e adaptativo

Malária grave: *Plasmodium falciparum*

1. Redução da deformabilidade da hemácia

Hemácias não infectadas são flexíveis (capazes de deformar)

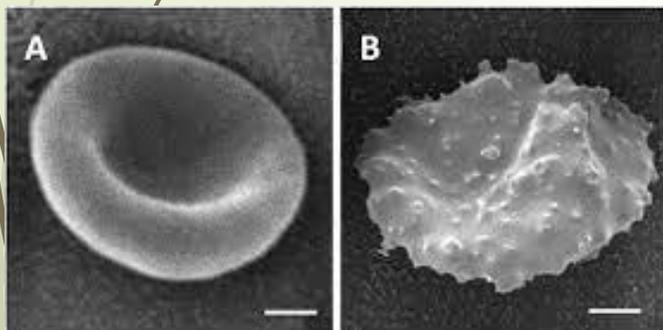
Hemácias infectadas aumentam a viscosidade



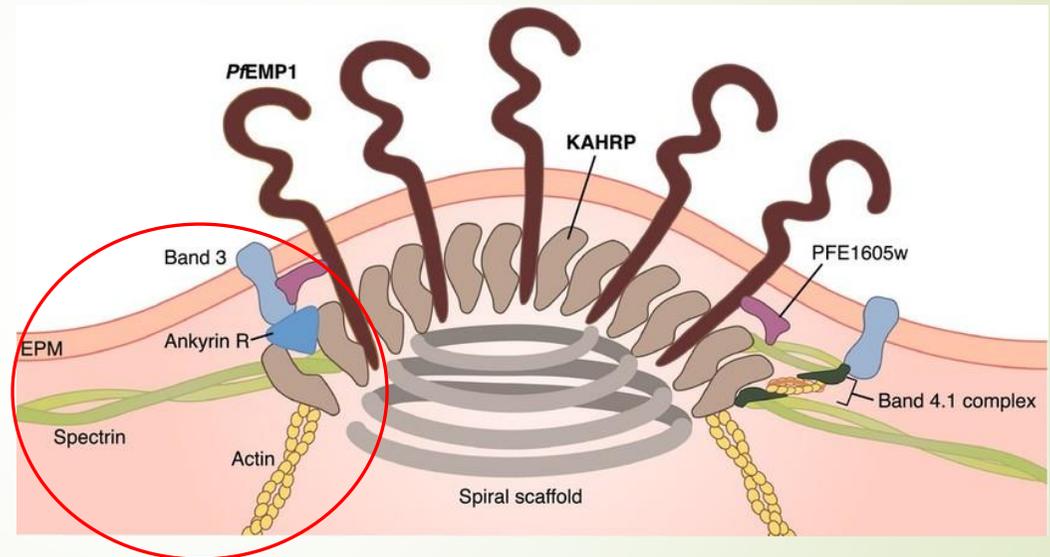
Malária grave: *Plasmodium falciparum*

2. Citoaderência e sequestramento

Hemácias infectadas aderem ao endotélio capilar e de vênulas pós-capilares através de uma protuberância eletro-densa presente na superfície da hemácia: **knobs**



Nas imagens por microscopia de escaneamento eletrônico (SEM), um eritrócito (A) não-infectado e um eritrócito (B) infectado pelo *P. falciparum*. Barra de escala = 1.0 µm. Mayakawa et al., 2021



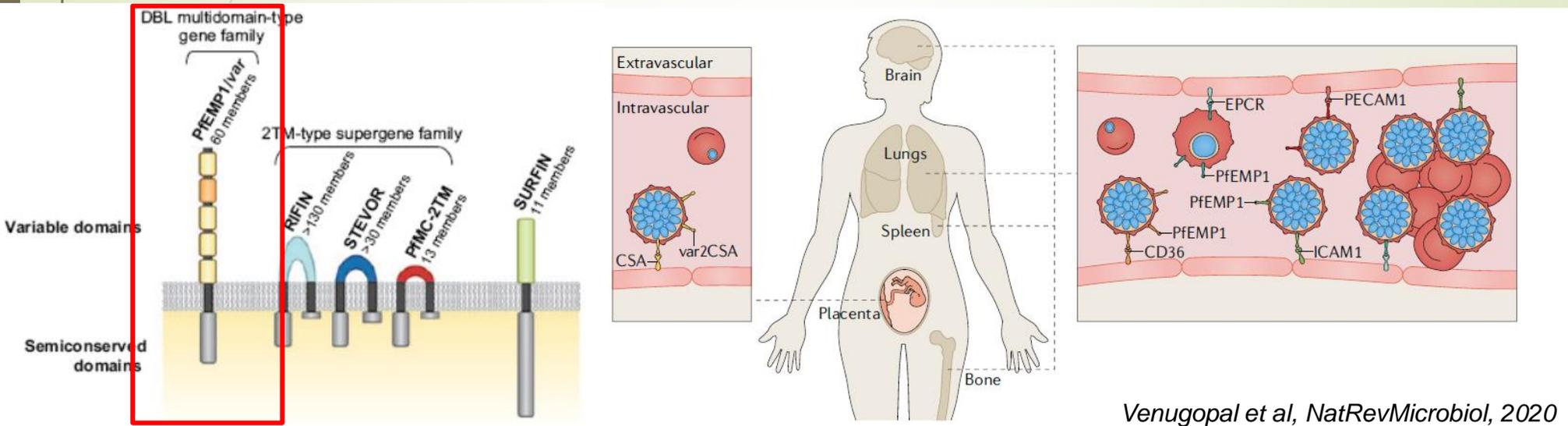
- Reduz deformabilidade da membrana
- Presença das proteínas pertencentes a família STEVOR, aumentam a rigidez da hemácia, restando a hemácia aderida ao endotélio.

Malária grave: *Plasmodium falciparum*

2. Citoaderência e sequestramento

Antígenos variantes de superfícies (VSAs)

5 famílias de genes que codificam para diversas proteínas



Venugopal et al, NatRevMicrobiol, 2020

- Ligantes : *PfEMP-1*, *var2CSA*, RIFINS, STEVOR
- Receptores : CD36, trombospondina, ICAM-1, V-CAM, CD31, sulfato de condroitina A, E-selectina, ácido hialurônico

citoaderência



sequestramento

Malária grave: *Plasmodium falciparum*

2. Citoaderência e sequestramento

P. vivax

- Não possui *PfEMP-1* ortólogos e nem knobs;
- Aumento da deformabilidade da hemácia (caveolina)
- Citoaderência em alguns tecidos como pulmão, placenta;
- Proteínas VIR, codificadas pelos *vir* genes, pertence a superfamília multigênica *pir* (homólogo em *Pf* é rif/stevor)
- **Receptores:** CSA, ácido hialurônico, ICAM-1

P. chabaudi

- Citoaderência no pulmão
- *Cir* genes (importante para a sobrevivência do parasita)

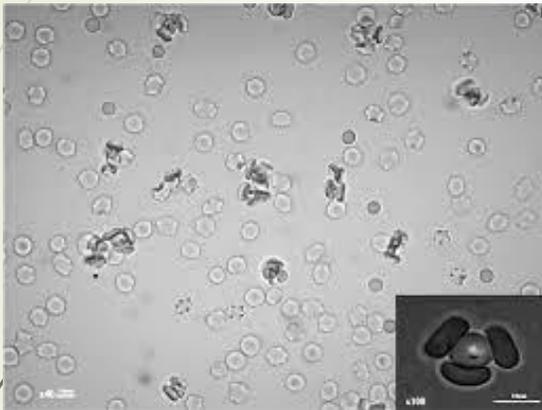
P. berghei ANKA

- Citoaderência no pulmão, tecido adiposo (via CD36-SMAC); placenta, cérebro (via VCAM-1)
- *bir* genes

Malária grave: *Plasmodium falciparum*

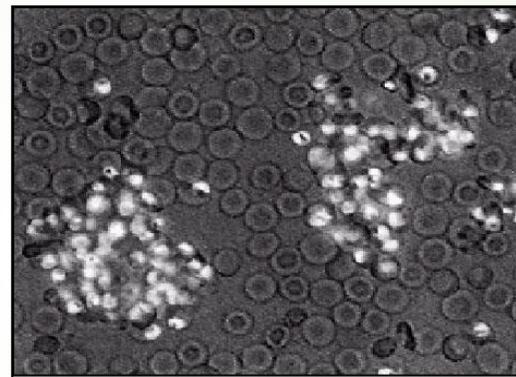
3. Rosetas, auto-aglutinação, aglomeração mediado por plaquetas

Rosetas



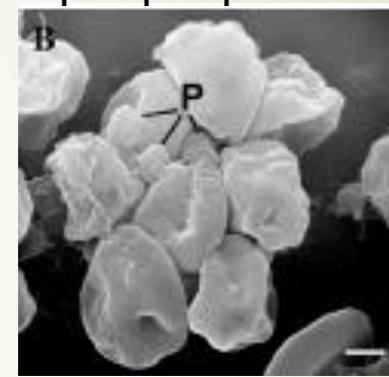
McQuaid and Rowe, *Parasitol*, 2020

Auto-aglutinação

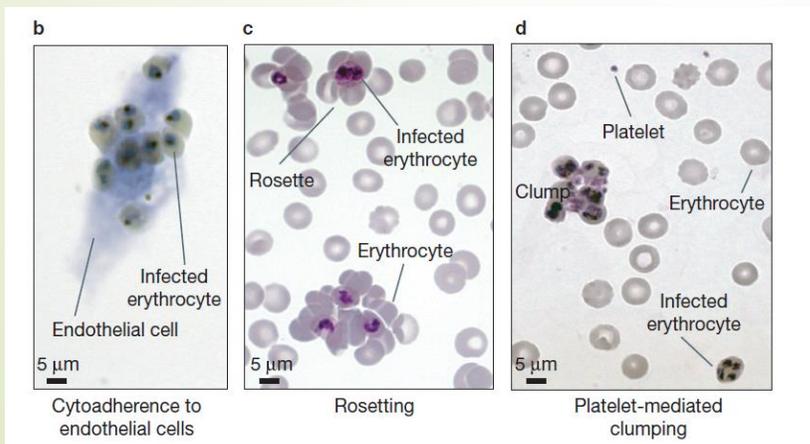


Roberts et al, *The Lancet*, 2000

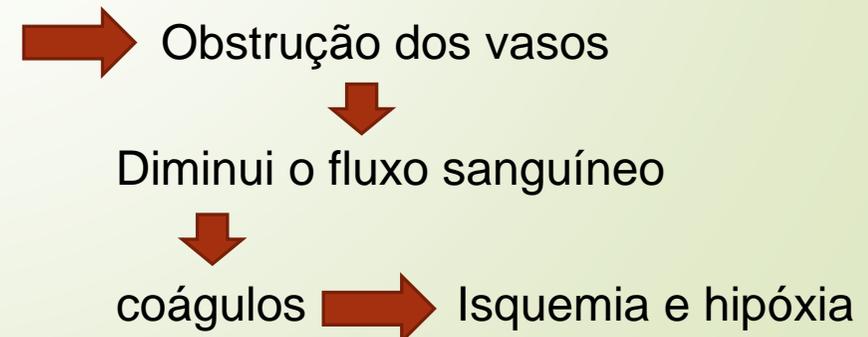
Aglomeração por plaquetas



Pain et al, *PNAS*, 2001

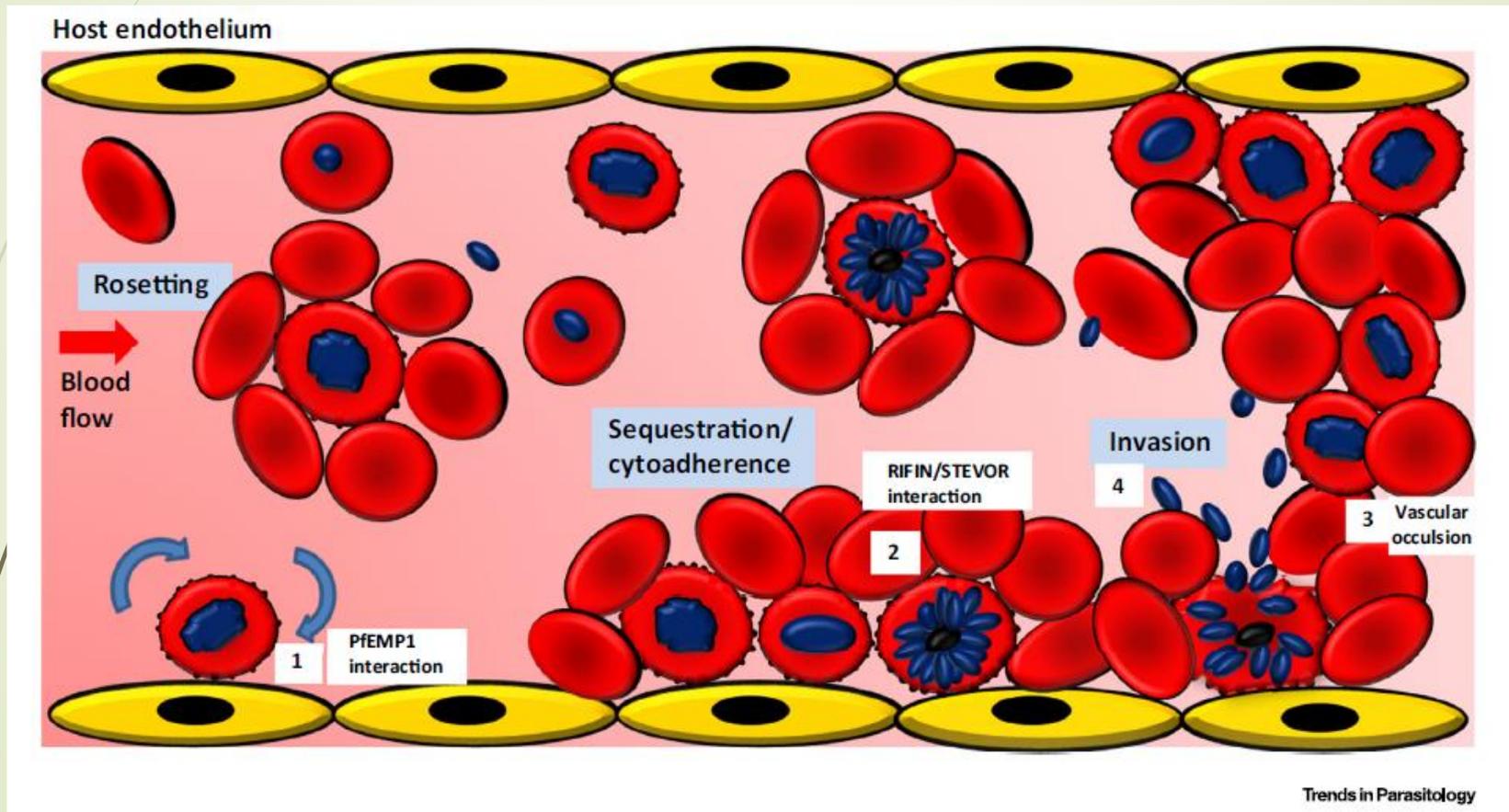


Rowe et al, *Experts Review*, 2009

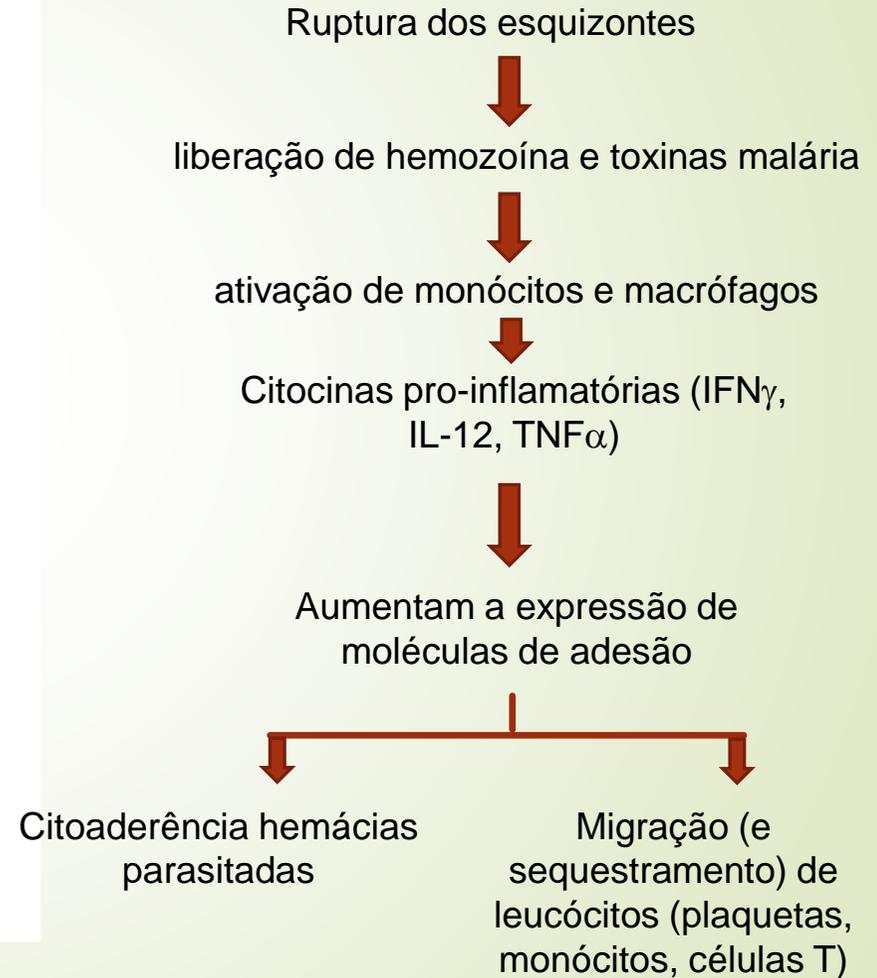
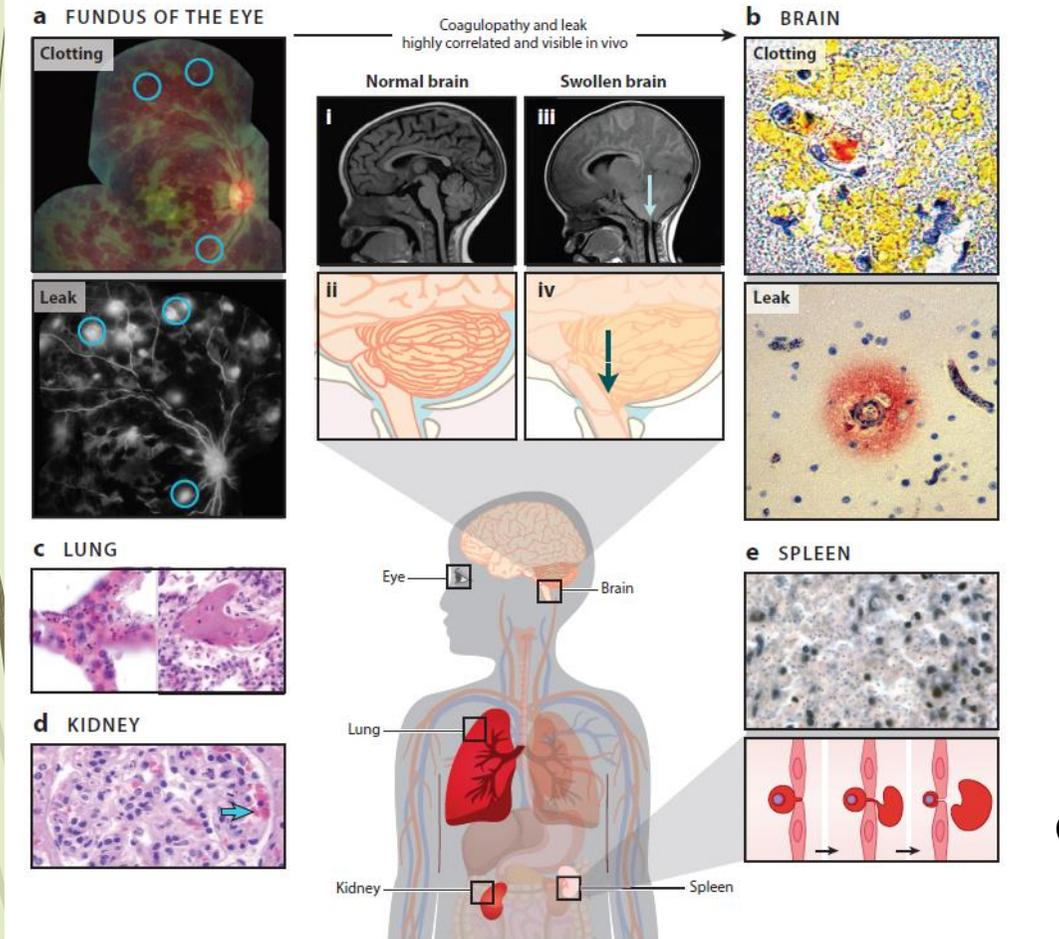


Malária grave: *Plasmodium falciparum*

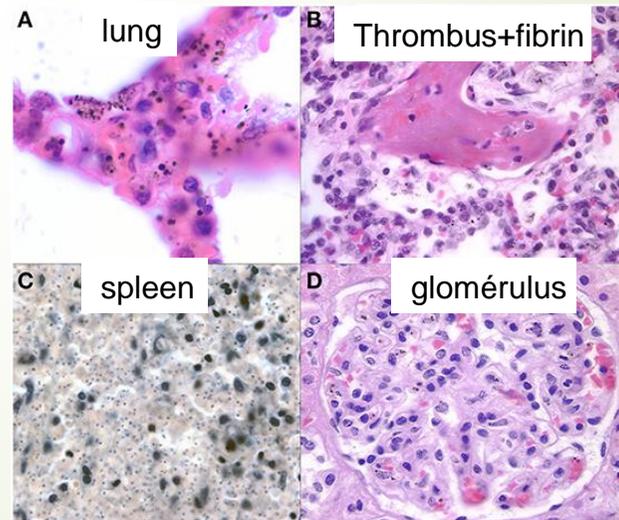
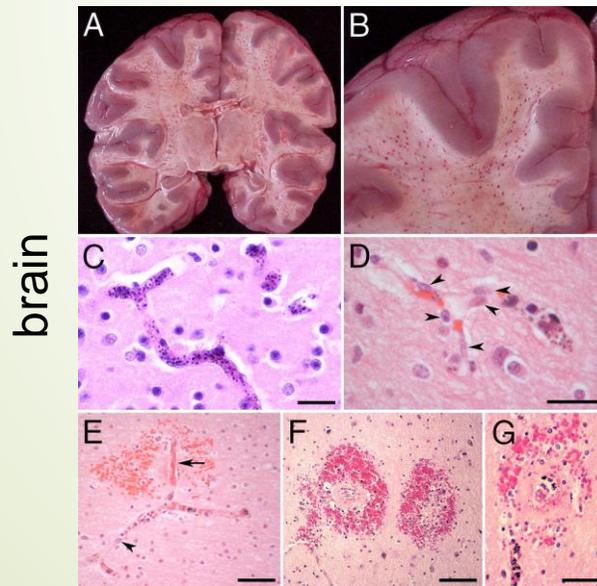
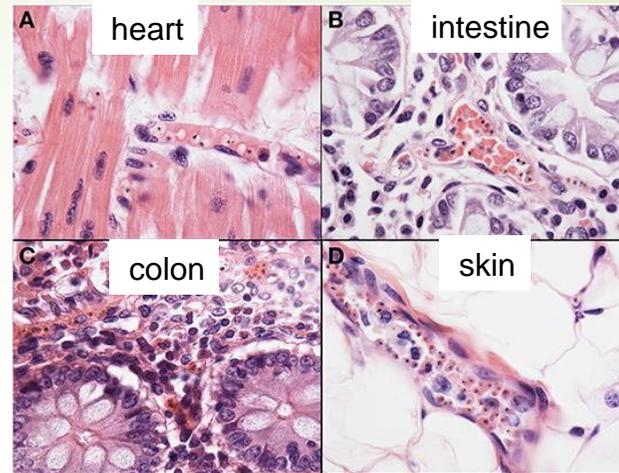
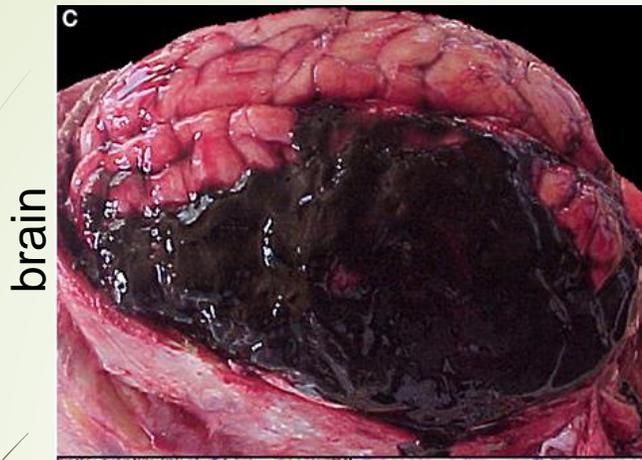
3. Rosetas, auto-aglutinação, aglomeração mediado por plaquetas



Malária grave: *Plasmodium falciparum*

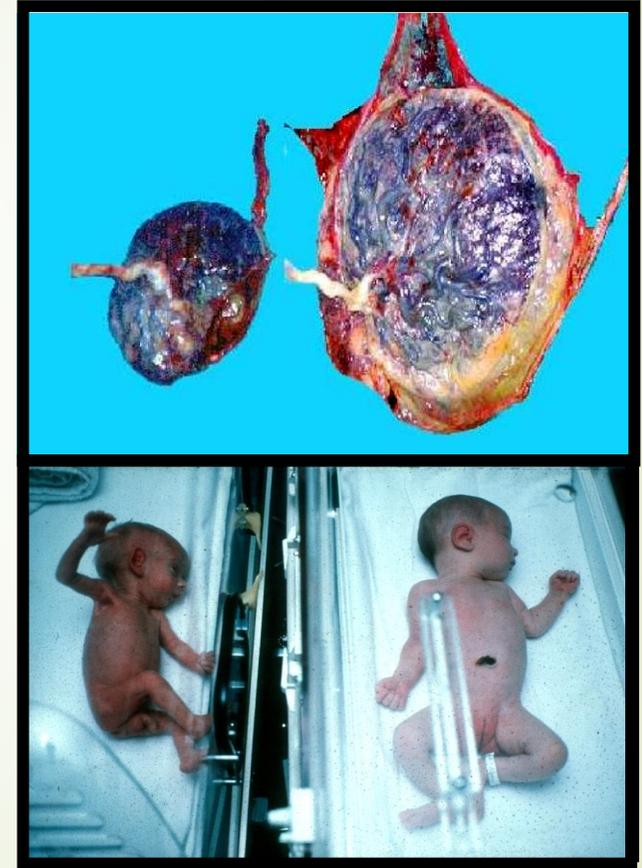
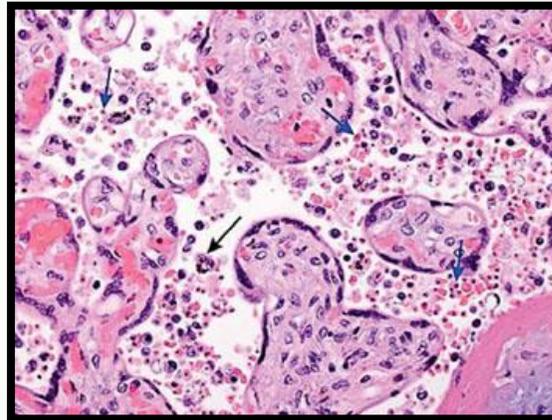
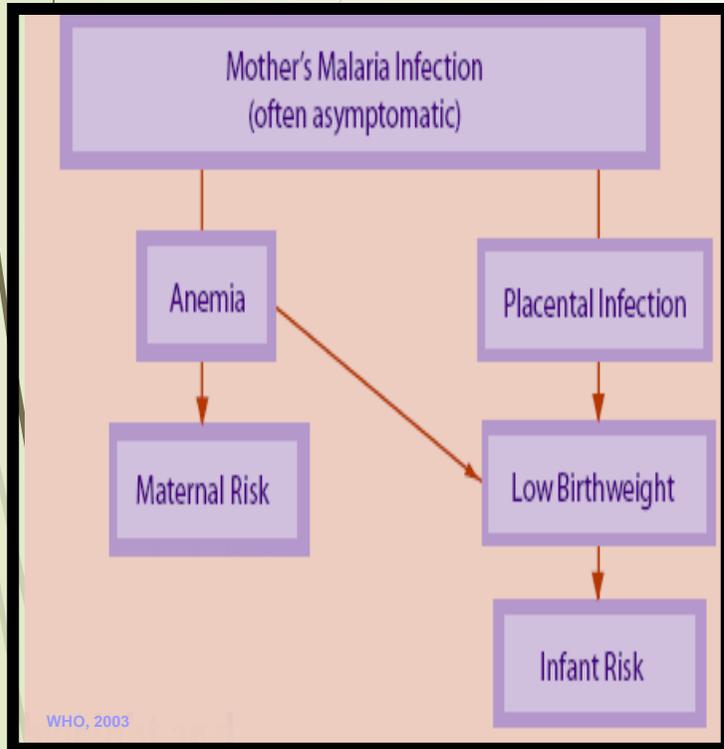


Malária grave: *Plasmodium falciparum*



Malária grave: *Plasmodium falciparum*

Malária associada a gravidez



Mecanismo proposto da patogênese da malária cerebral



Camundongos susceptíveis: C57BL/6, 129

Plasmodium berghei ANKA

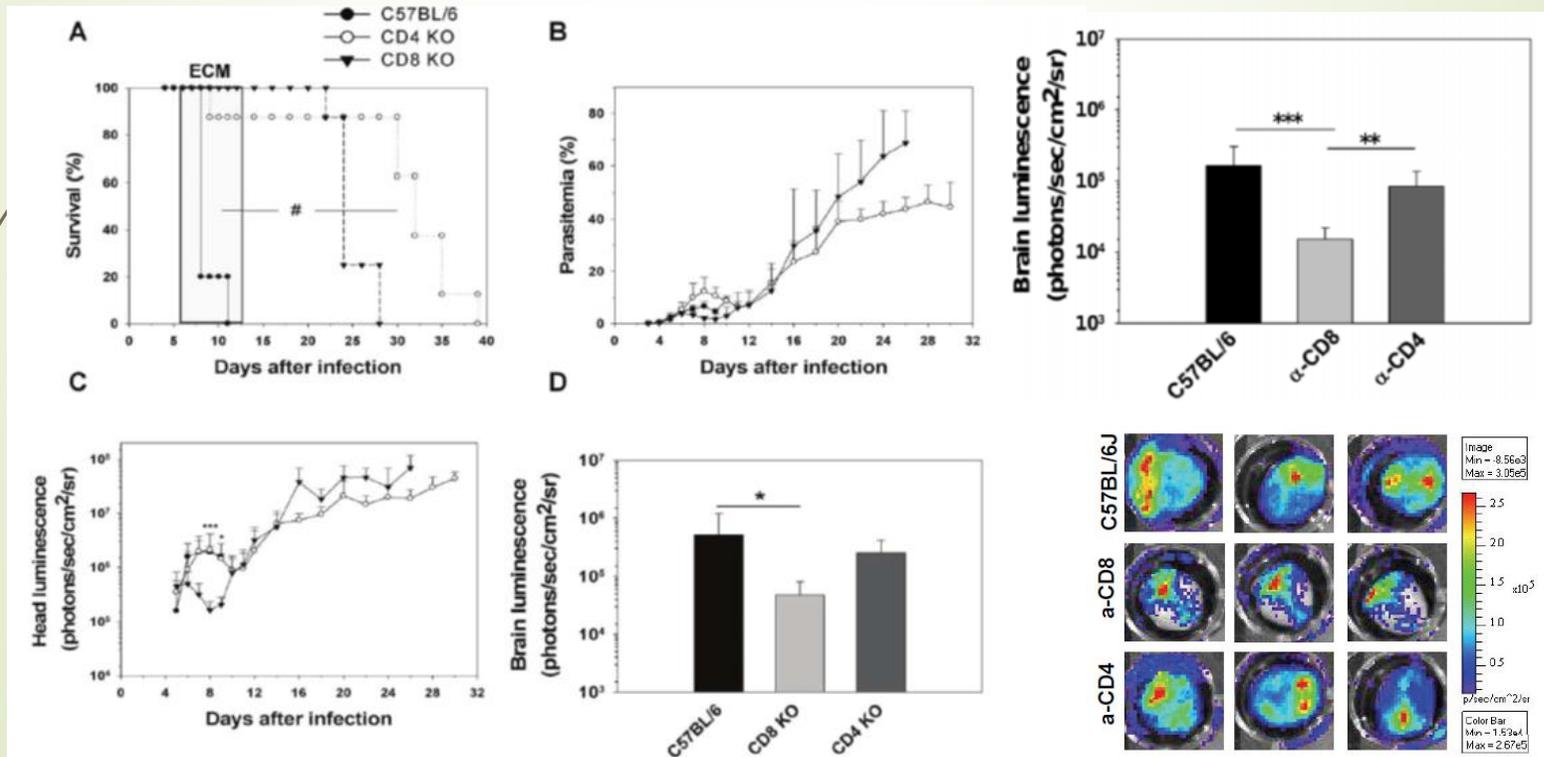
OPEN ACCESS Freely available online

PLoS one

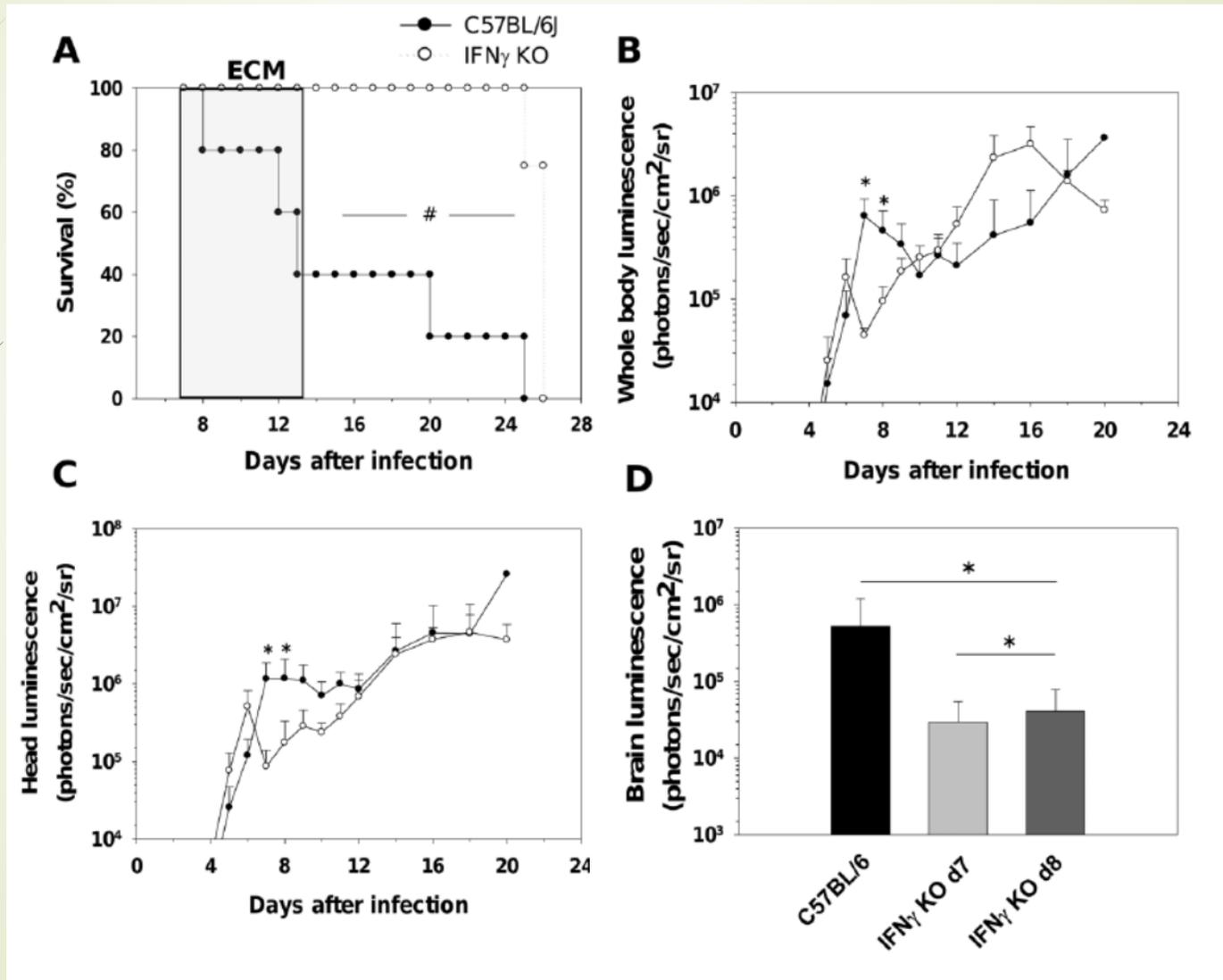
CD8⁺ T Cells and IFN- γ Mediate the Time-Dependent Accumulation of Infected Red Blood Cells in Deep Organs during Experimental Cerebral Malaria

Carla Claser, Benoît Malleret, Sin Yee Gun, Alicia Yoke Wei Wong, Zi Wei Chang, Pearline Teo, Peter Chi Ee See, Shanshan Wu Howland, Florent Ginhoux, Laurent Rénia*

Singapore Immunology Network (SigN), Agency for Science, Technology and Research (A*STAR), Biopolis, Singapore, Singapore



IFN- γ controla a densidade parasitária e o acúmulo de hemácias infectadas no cérebro durante malária cerebral



Brain microvessel cross-presentation is a hallmark of experimental cerebral malaria

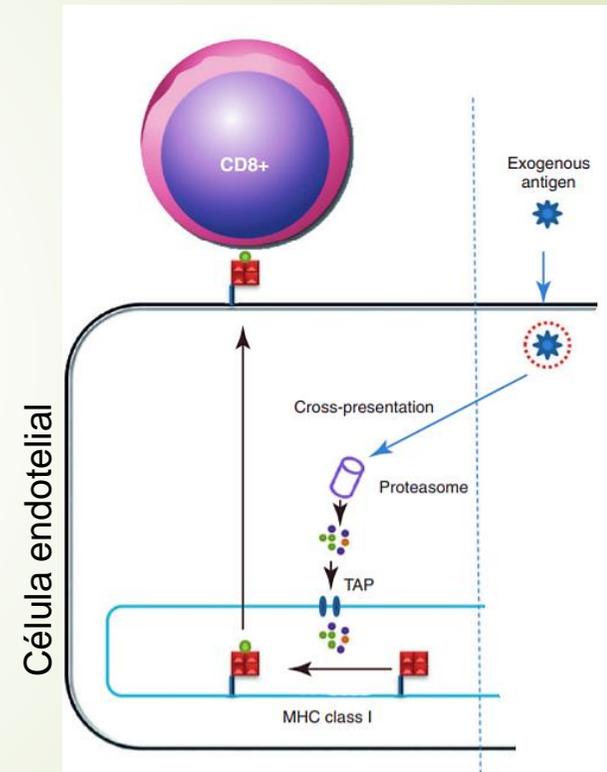
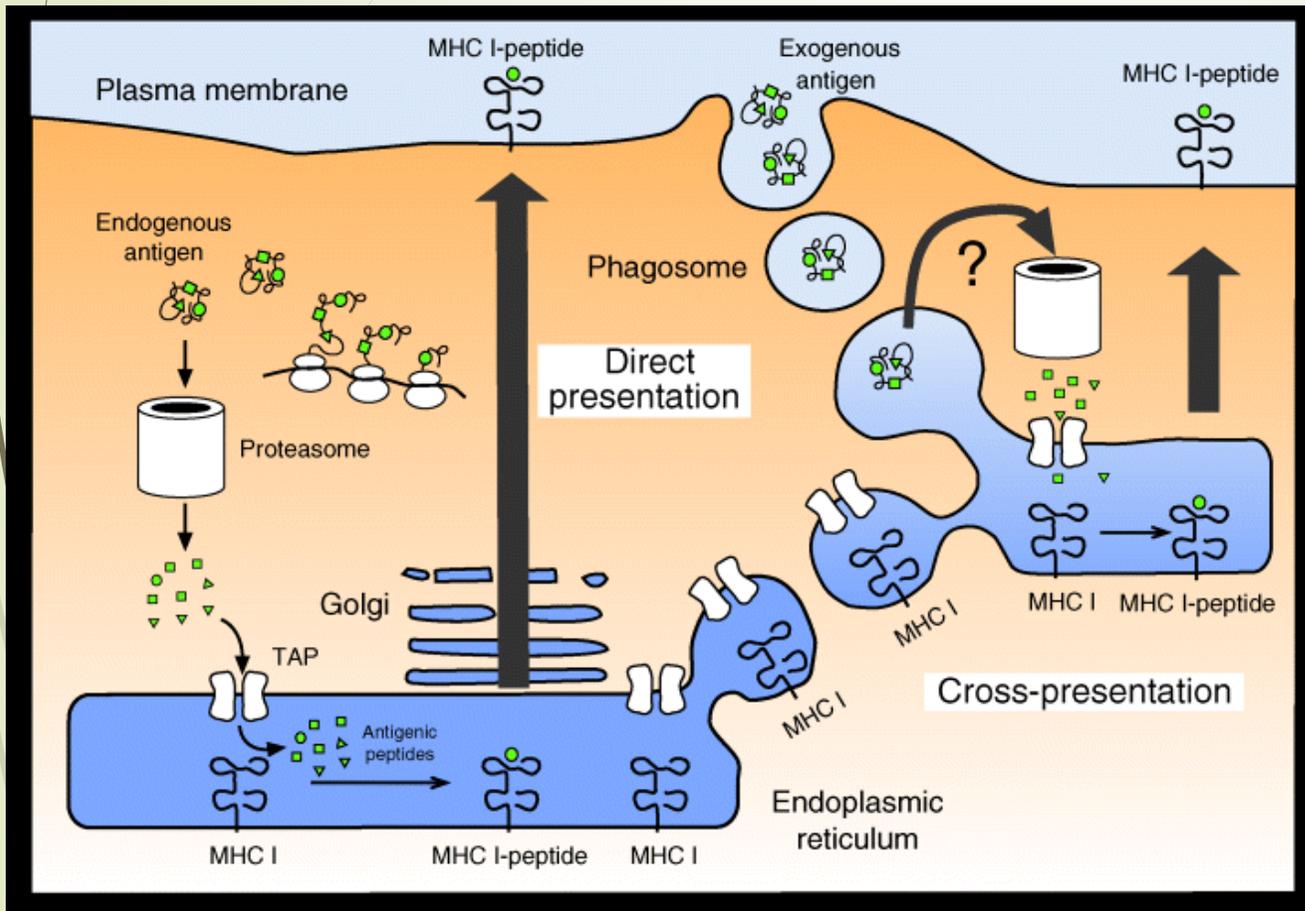
Shanshan W. Howland¹, Chek Meng Poh^{1,2}, Sin Yee Gun^{1,2}, Carla Claser¹, Benoit Malleret¹, Nilabh Shastri⁵, Florent Ginhoux¹, Gijbert M. Grotenbreg^{2,3,4}, Laurent Rénia^{1,2}*

EMBO Mol Med (2013) 5, 1–16

Descoberta de um epítipo altamente imunogênico: Pb1 (Gap50: proteína associada ao glideosoma de 50kDa)

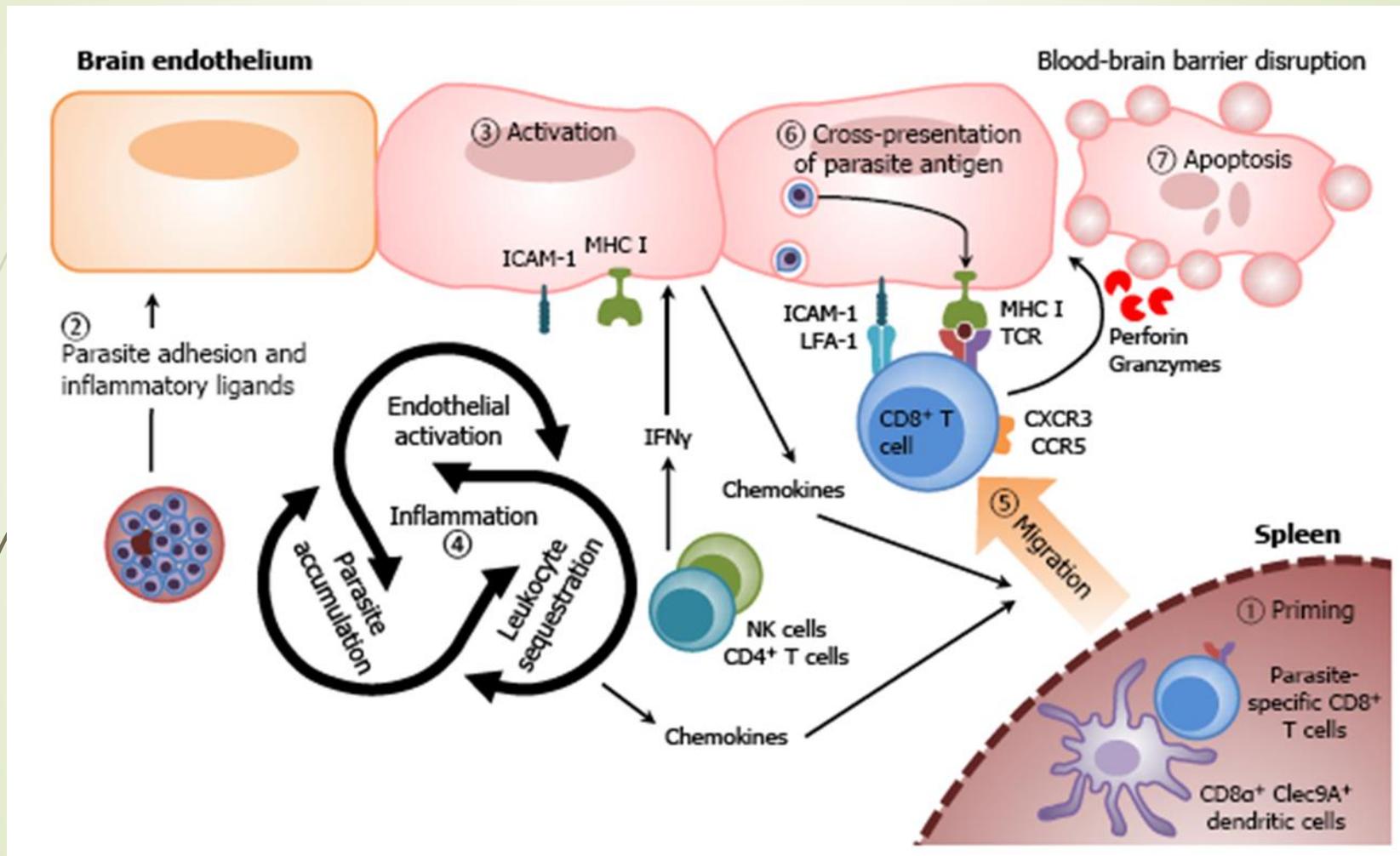
Malária cerebral (experimental):

- o número de células T CD8 específicas presente no cérebro não é um fator determinante.
- somente cepas que induzem a malária cerebral são capazes de induzir a apresentação cruzada pelos microvasos do cérebro



Heath et al. Immunological Review, 2004

Mecanismo proposto da patogênese da malária cerebral



Malária grave: *Plasmodium falciparum*

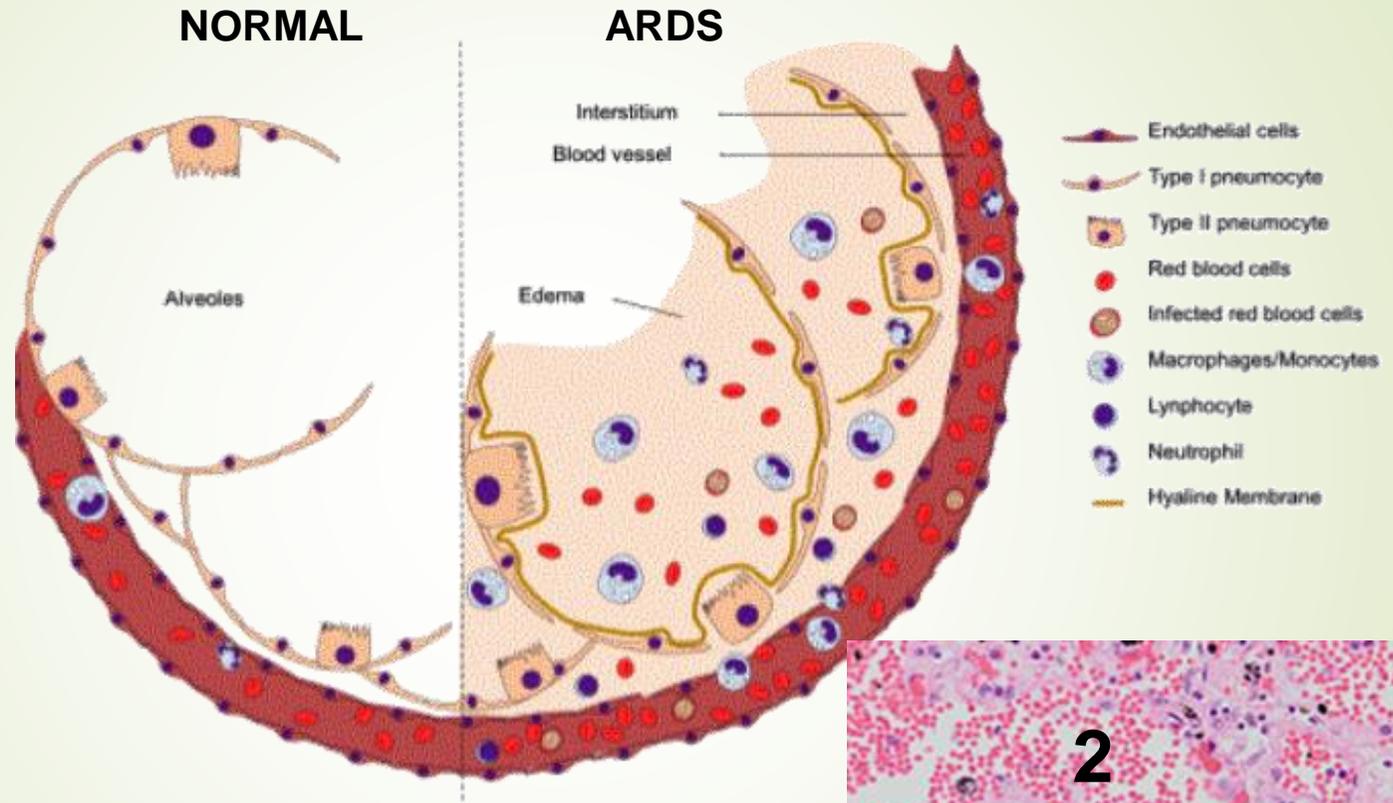
Complicações pulmonares



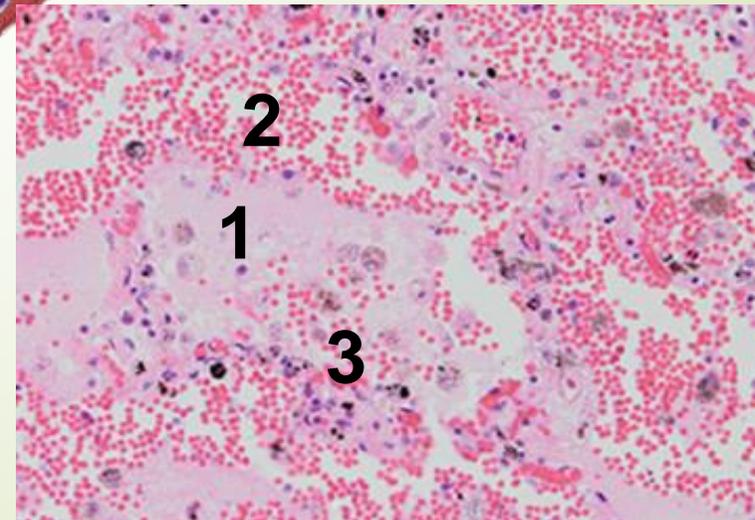
- Ocorre em 5-25% dos casos em indivíduos infectados
- Desenvolve principalmente em adultos não imunes e mulheres grávidas com malária placentária.
- Pode acontecer em qualquer momento durante a infecção por malária, mesmo após tratamento com anti-maláricos.
- Síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRS) é uma manifestação letal da infecção.
- O tratamento de pacientes com SDRS consiste de combinação de Drogas anti-maláricas com terapia (ventilação).

Patofisiologia da MA-ARDS

- P. falciparum*
- P. vivax*
- P. knowlesi*



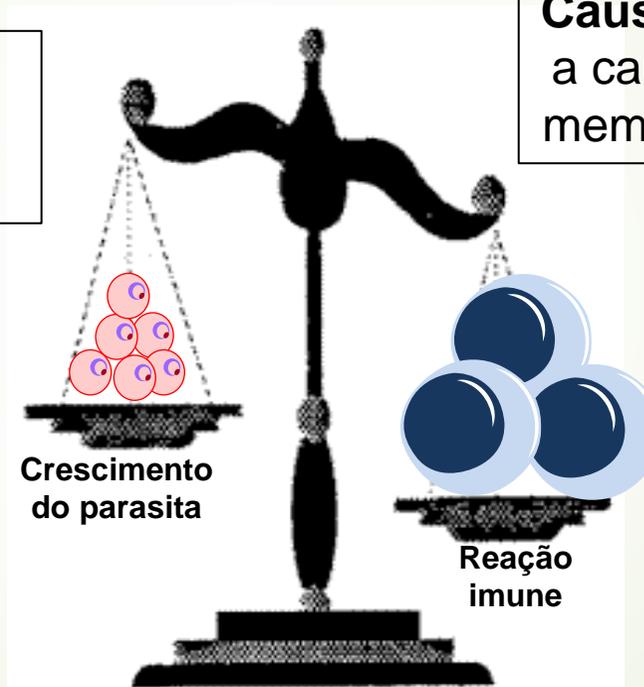
- Edema pulmonar
- Infiltrado inflamatório, hemorragias
- Membrana hialina



Malária grave: *Plasmodium falciparum*

Complicações pulmonares

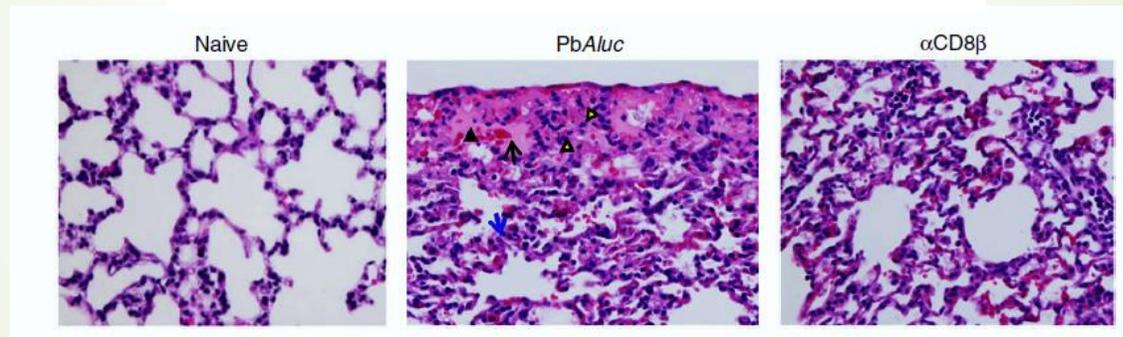
Multifatorial: parasite sequestrado + resposta immune do hospedeiro



Causa indireta: Inflamação é a causa principal do dano na membrana do capilar alveolar

Desequilíbrio da resposta immune (imunidade exarcebada)

Mecanismo proposto da patogênese da malária pulmonar

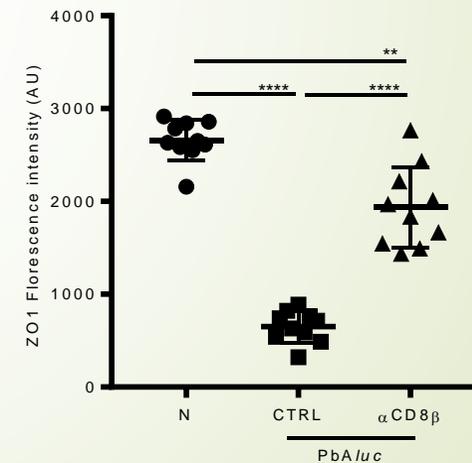
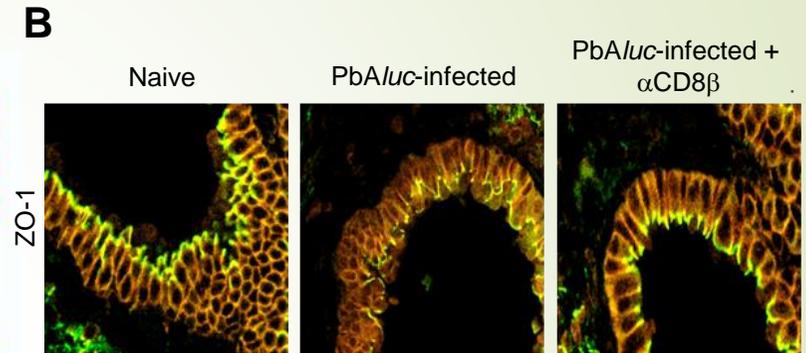
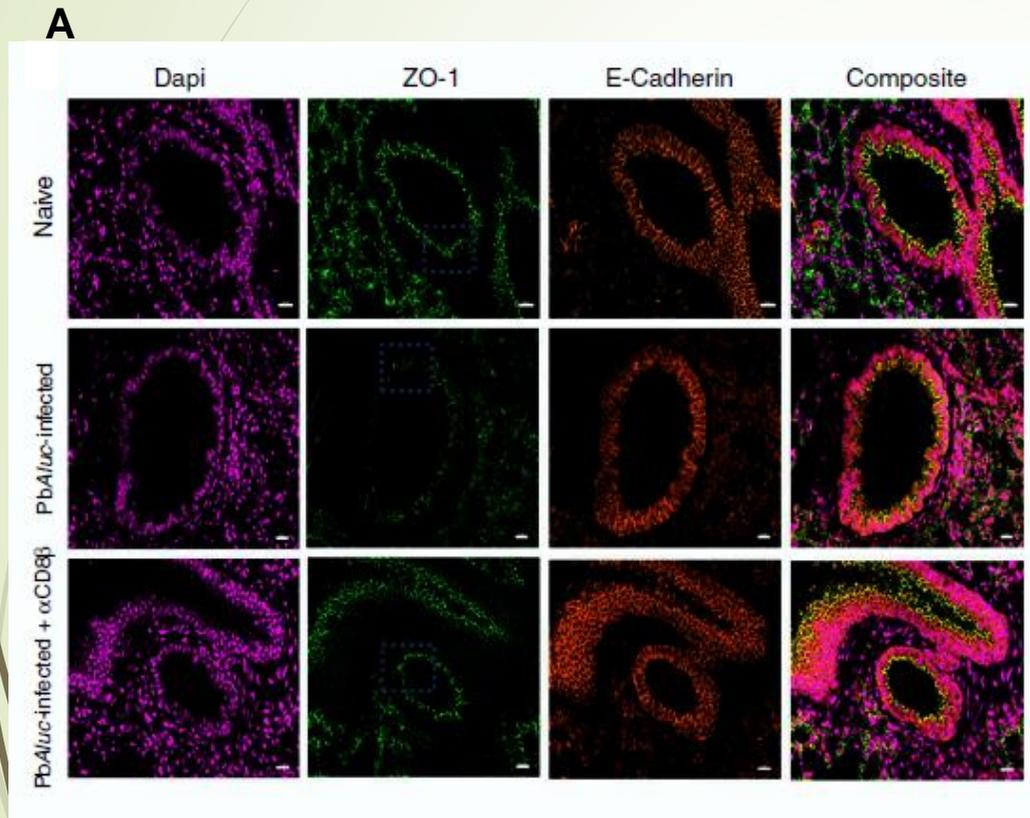


Parameters	αCD8β (compared to infected)
Overall lung pathology score	Reduced**
Total edema score	Reduced*
Intra-alveolar haemorrhage score	Reduced*
Lung vascular leakage (tracer)	Reduced****

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, **** $p < 0.001$

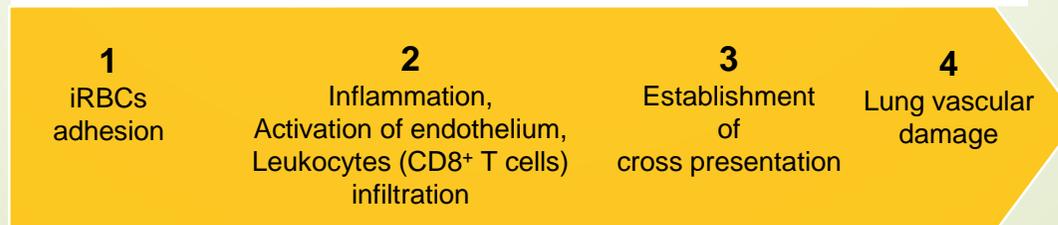
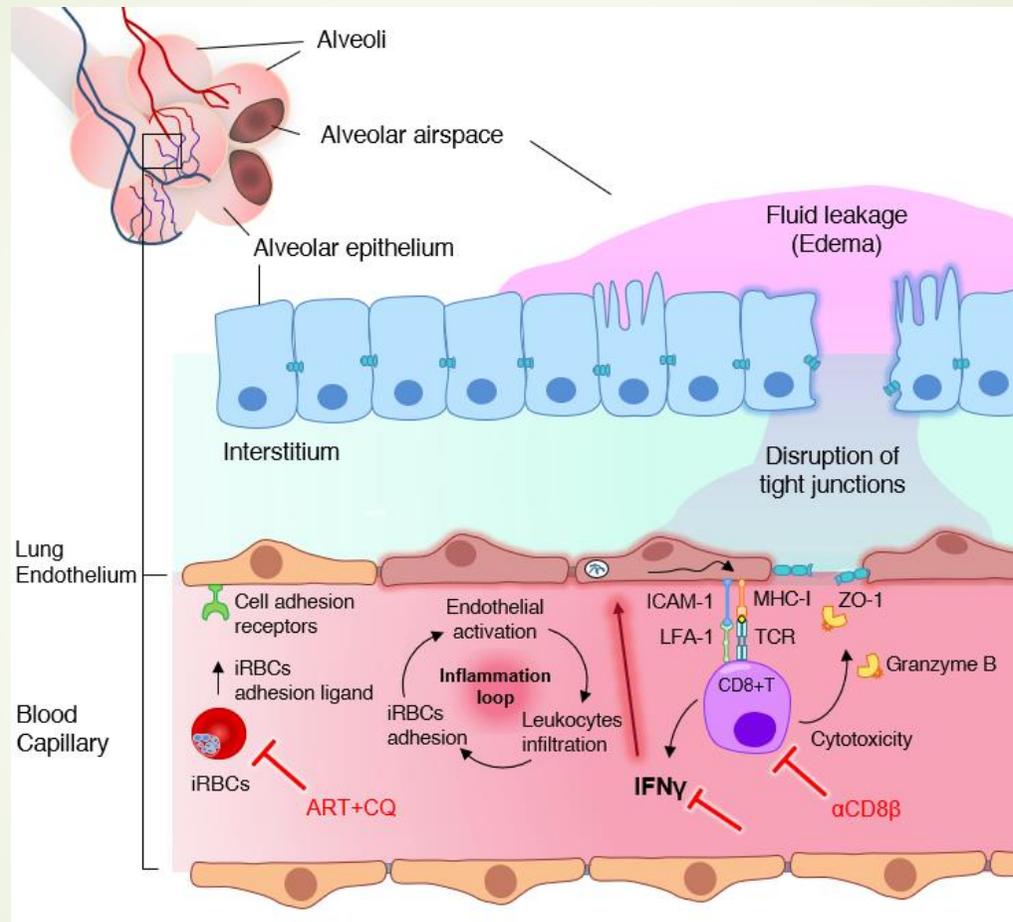
Células T CD8⁺ contribuem tanto para o dano do endotélio pulmonar quanto epitelial

IFA Formalin fixed paraffin embedded sections



p<0.01, **p<0.0001, One way ANOVA with Bonferroni's post-test.

Mecanismo proposto da patogênese da malária pulmonar



Plasmodium vivax

- Malária mais branda, raramente mortal. No entanto, é mais complicada de ser tratada.
- Por infectar somente reticulócitos, a capacidade de reprodução é limitada, raramente excedendo a 2% do total de hemácias

Sintomas:

Mal-estar, dores de cabeça, febre (aparecendo no terceiro dia), com presença de suor intenso e dores musculares



Plasmodium malariae

- Quadro clínico semelhante ao *P. vivax*, apresentando febre baixa que acontece a cada quadro dias.
- Possui recaídas a longo prazo, podendo ressurgir 30-40 anos mais tarde.



Recaída x recrudescência

Recaída

Ocorre nas infecções por *P. vivax* e *P. ovale*: formas hipnozoítas no fígado saem do seu estado de latência (período que variam de 1 mês a 1-2 anos).

Recrudescência

Parasitemia reaparece (acompanhada de sintomatologia), após um período de “cura aparente”. Geralmente acontece quando há uma resposta inadequada ao tratamento (sobrevivência de formas eritrocíticas em nível muito baixo).

Tipos de infecção

Reinfecção

- Ocorre normalmente em áreas onde a transmissão é intensa.
- Mais frequente com *P. falciparum*.

Infecções múltiplas

- Em áreas de intensa transmissão.
- Espécies diferentes do parasito.

Infecção persistente

Caso do *P. malariae*, com infecção abaixo do limite de detecção por 20-30 anos.

Quem corre o risco de contrair malária?



**Mulheres grávidas e
crianças menores de 5
anos**



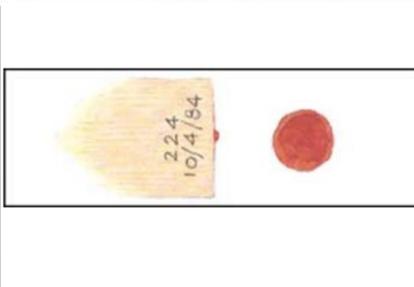
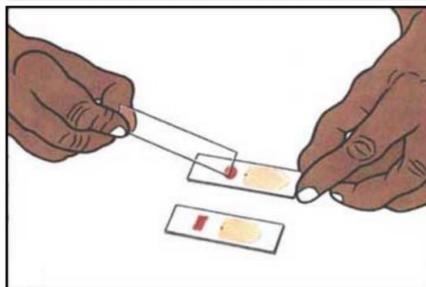
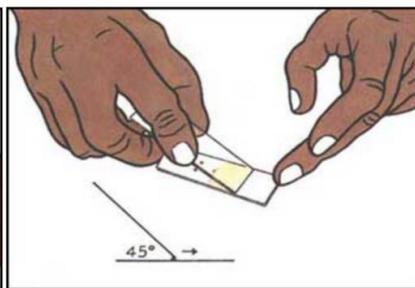
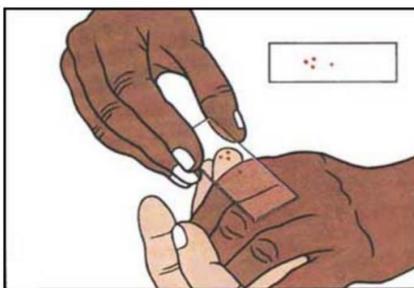
Adultos



Viajantes

Como a malária é diagnosticada?

1. Microscopia



Exame de 100 campos microscópicos

Método semi-quantitativo → “cruzes”

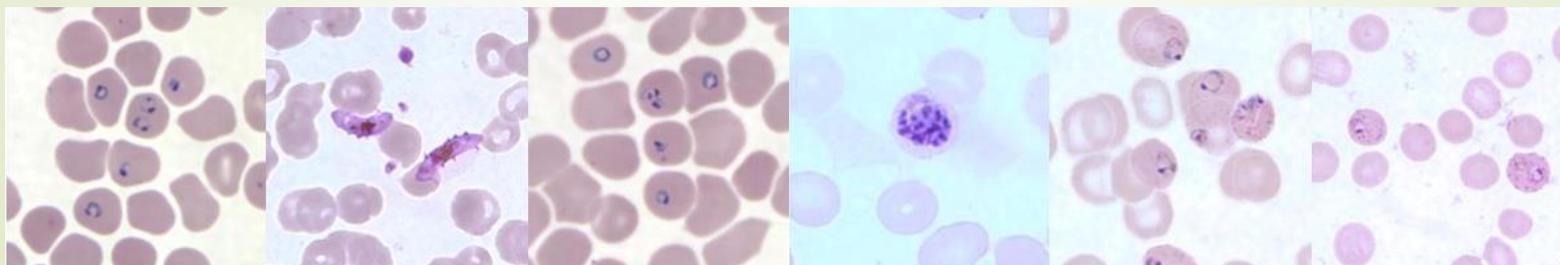
$\frac{1}{2} +$ = 40 a 60 parasitas por 100 campos
(200-300 p/ mm³)

$+$ = 1 parasita/campo (301-500 p/ mm³)

$++$ = 2-20 parasitas/campo (501-10.000 p/ mm³)

$+++$ = 21-200 parasitas/campo (10.001-100.000 p/ mm³)

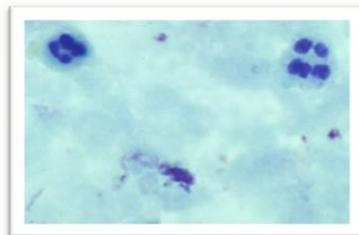
$++++$ = mais de 200 parasitas/campo
(>100.000 p/ mm³)



Como a malária é diagnosticada?

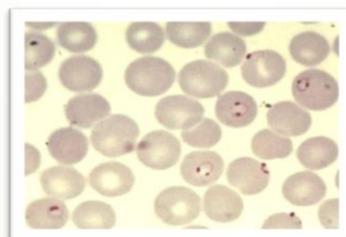
1. Microscopia

Gota espessa ('padrão ouro')



✓ **Alta sensibilidade**
(quando tem poucos parasitas, <0,1% parasitemia)

Esfregaço Fino



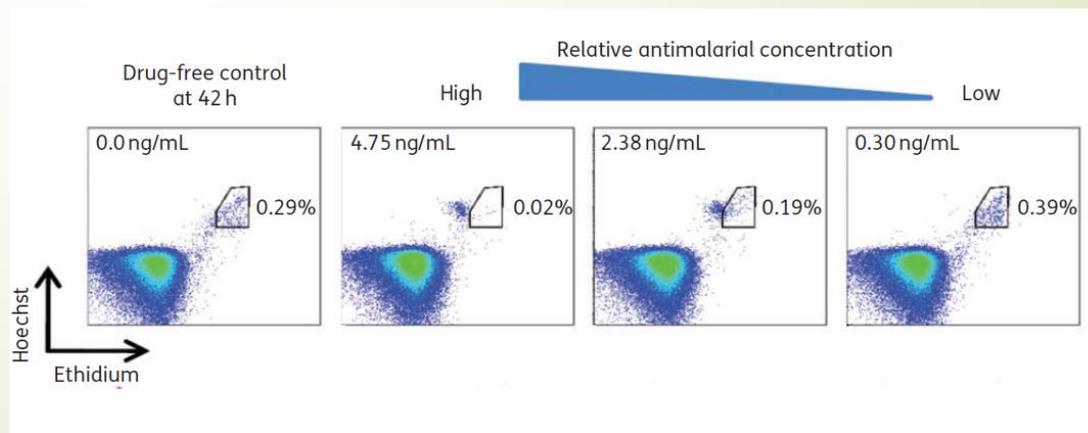
✓ **Alta especificidade**
(quando tem muitos parasitas: >0,1% parasitemia)

Parasitemia Média (mm³)

<i>P. falciparum</i>	50000 - 500000
<i>P. malariae</i>	20000
<i>P. vivax</i>	50000
<i>P. ovale</i>	9000

Como a malária é diagnosticada?

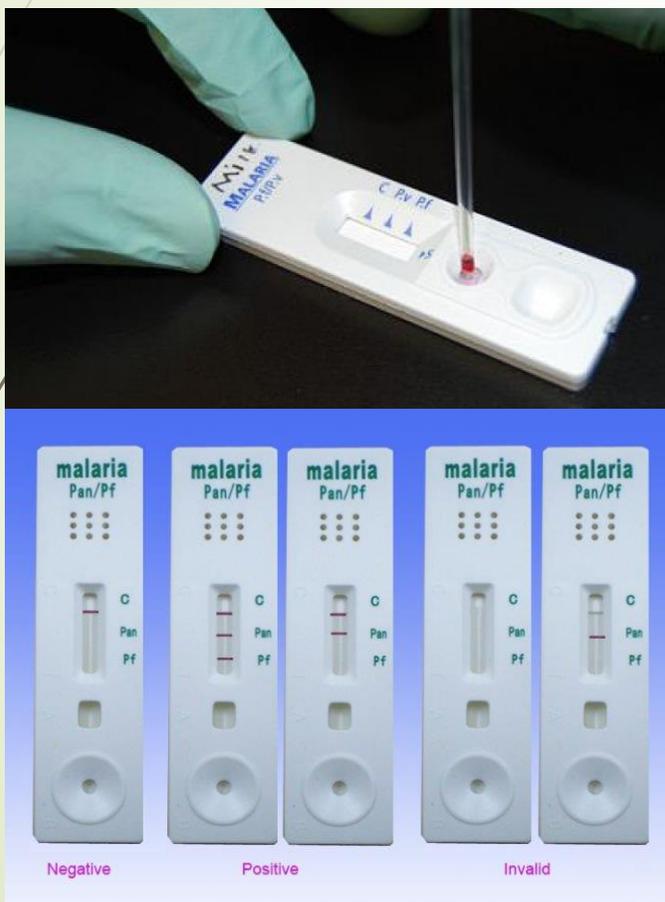
2. Citometria de fluxo (Accuri)



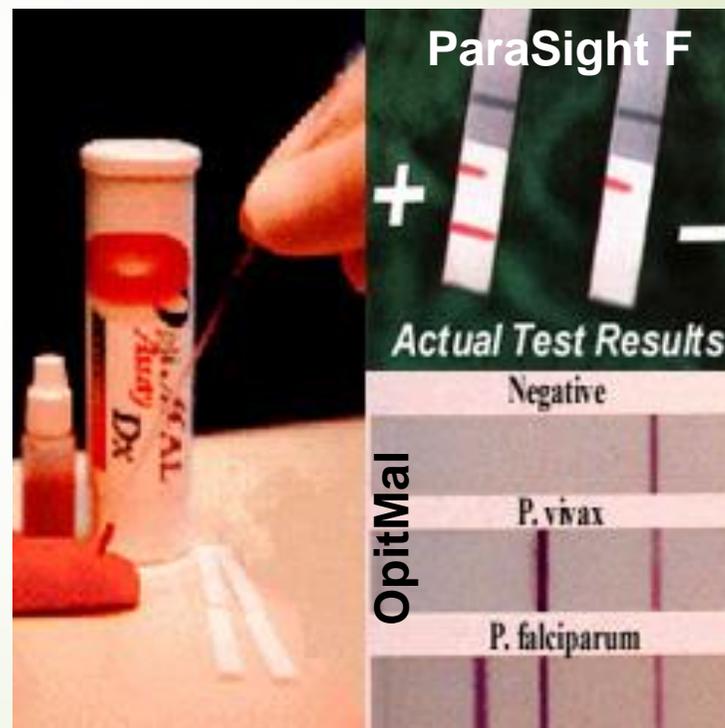
(Suwanarusk *et al*, 2015 J. Antimicrob Chemother)

Como a malária é diagnosticada?

3. **Teste rápido de diagnóstico:** tem como alvo a *Pf*HRP2 (proteína rica em histidina), aldolase e lactato desidrogenase.



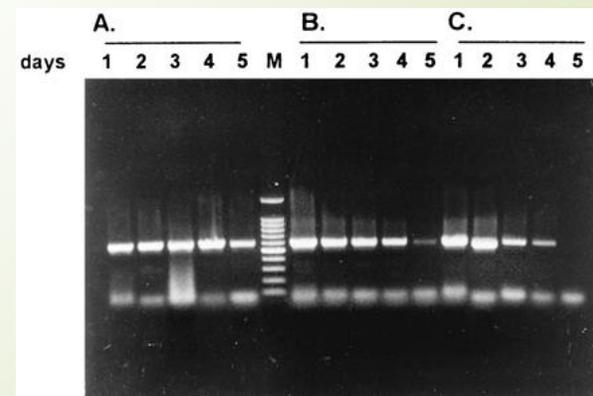
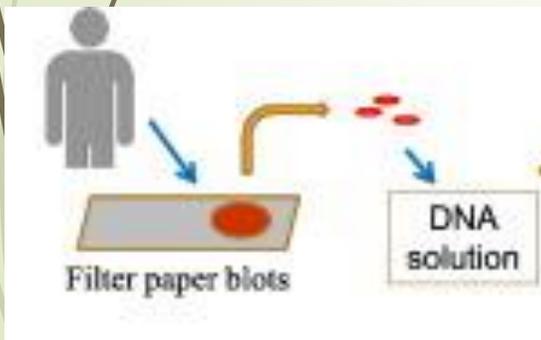
“Dipstick” test



OpitMal

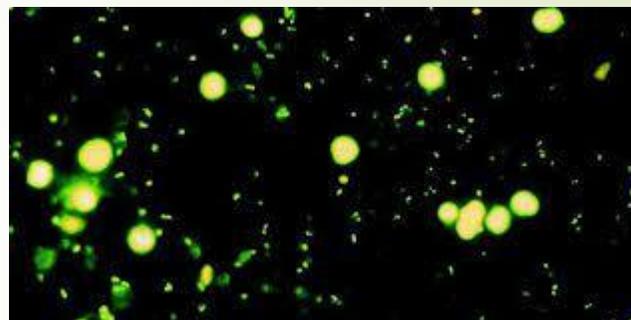
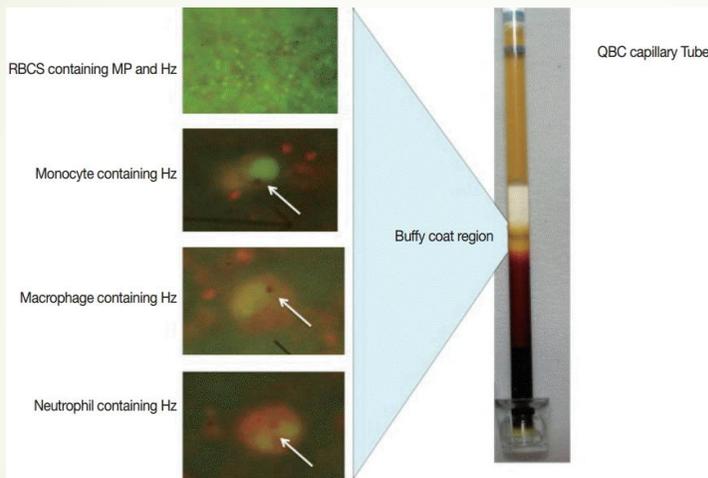
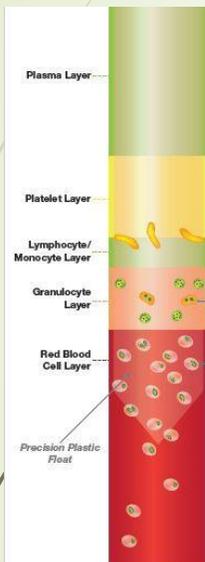
Como a malária é diagnosticada?

4. Diagnóstico molecular: PCR (polymerase chain reaction), RT-PCR



Como a malária é diagnosticada?

5. QBC (quantitative buffy coat)



6. Sorologia

Terapia da malária

- O diagnóstico da espécie infectante é essencial! O tratamento deve ser supervisionado SEMPRE por um médico.
- É necessário considerar quais estágios devem ser combatidos (Hipnozoítos, gametócitos, trofozoitos)

Trofozoitos: Quinina, Cloroquina, Mefloquina, Halofantrin, Pyrimetamina, Tetraciclina, Doxiciclina, Artemisinina e derivados

Estágios hepáticos: Primaquina, Proguanil, Tetraciclina

Gametócitos: Primaquina, Cloroquina, Amodiaquina

Terapia de *P. vivax*: Cloroquina + Primaquina

Terapia de *P. falciparum*:

Quinina + Tetraciclina

Artemisinina + Amodiaquina

Artemisinina + Mefloquina

Cloroquina não exerce mais nenhum efeito contra *P. falciparum*

Artemisina (Qinghaosu) – Erva chinesa



Artemisia annua, descoberta em 1972

- Primeira linha de tratamento para casos não graves de *P. falciparum*
- Efetiva contra todos os estágios sanguíneos de *P. falciparum*
- OMS recomenda o uso de terapia combinada com artemisinina para tratar *P. falciparum*

Tu Youyuo, Prêmio Nobel em Fisiologia e Medicina em 2015

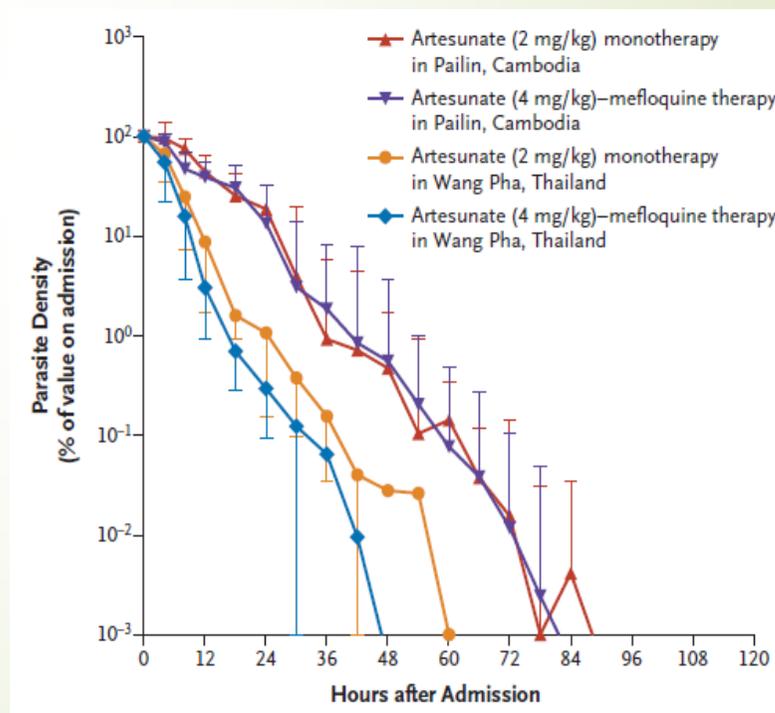
Resistência a artemisinina

- **Monoterapia, 7 dias:** recrudescência é observada por volta do dia 28 após o tratamento (Li *et al*, 1994 Trans R Soc Trop Med Hyg)
- **Resistência do parasita a artemisinina:** atraso no tempo de eliminação do parasita na região da Cambodia Ocidental (Noedl *et al*, 2008 NEJM)



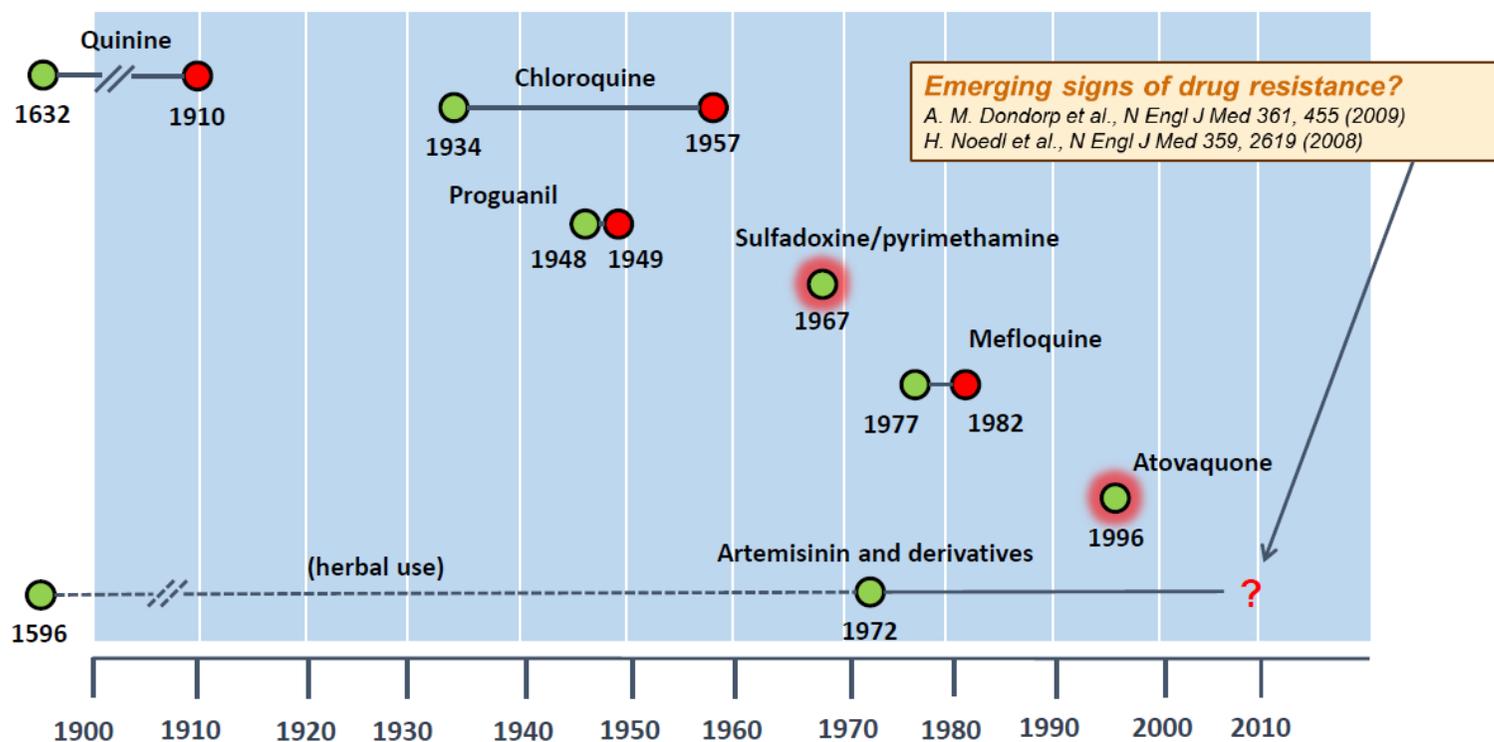
Figure 3 | **The study site in Pailin, western Cambodia.** Decreased artemisinin sensitivity was first detected in Pailin, western Cambodia, near the border with Thailand.

(Dondorp *et al*, 2010 Nat Rev Micro)



(Dondorp *et al*, 2009 NEJM)

Por que precisamos de novos antimaláricos?



Adapted from Talisuna et al. *Clin. Microbiol. Rev.* 2004, 17, 235

Como a malária pode ser prevenida (profilaxia)?

Redes tratadas com inseticidas



Repelentes de mosquito



Aplicação de inseticida em spray no interior das casas



Drogas anti-malárias



Como a malária pode ser prevenida (profilaxia)?

- Quimioprofilaxia é possível mas deve ser limitada a casos emergenciais (pessoas esplenectomizadas)
- Usar repelente quando possível, uso de mosquiteiros impregnados com piretroides
- Uso de luvas no tratamento cirúrgico de maláricos
- Teste de contaminação em bancos de sangue
- Tratar os assintomáticos
- Medidas ambientais
- Tratar igarapés com óleo (larvicidas), ou criar tilápias para combater procriação de anofelinos
- Desmatar o terreno ao redor de moradias



Mosquito resistentes a piretroides (WHO, 2018)



Disseminação de população de *Anopheles* resistentes a inseticidas em países endêmicos.

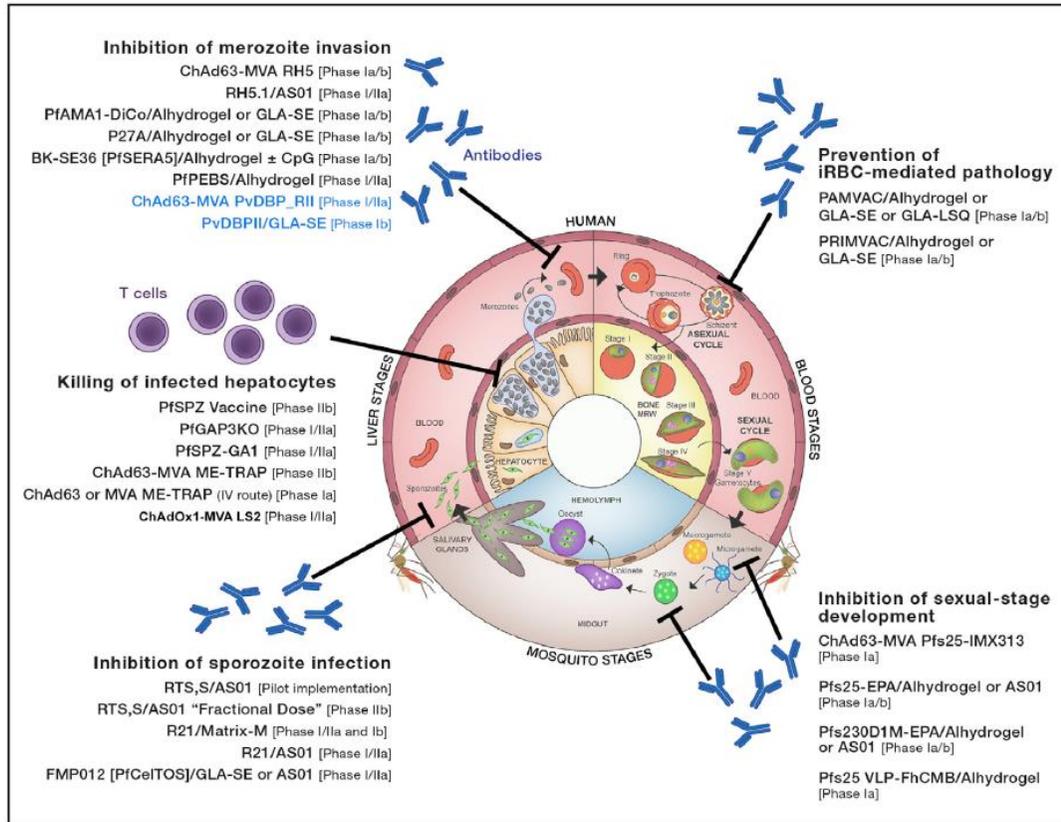


Mosquitos expostos a um anti-malárico atavaquone são resistentes a infecção.

Não há nenhum impacto na sobrevivência do mosquito, porém foi capaz de bloquear completamente o desenvolvimento do parasita no intestino médio.

(Paton *et al*, 2019, Nature)

Candidatos a vacina da malária



R: repeats CSP

T: região C-terminal contendo epitopos de cél T

S: fusionada com o antígeno de superfície da hepatite B

S: expresso em levedura

AS01: adjuvante

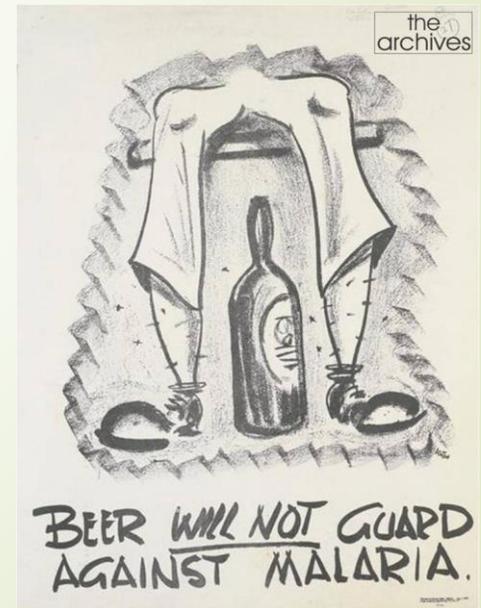
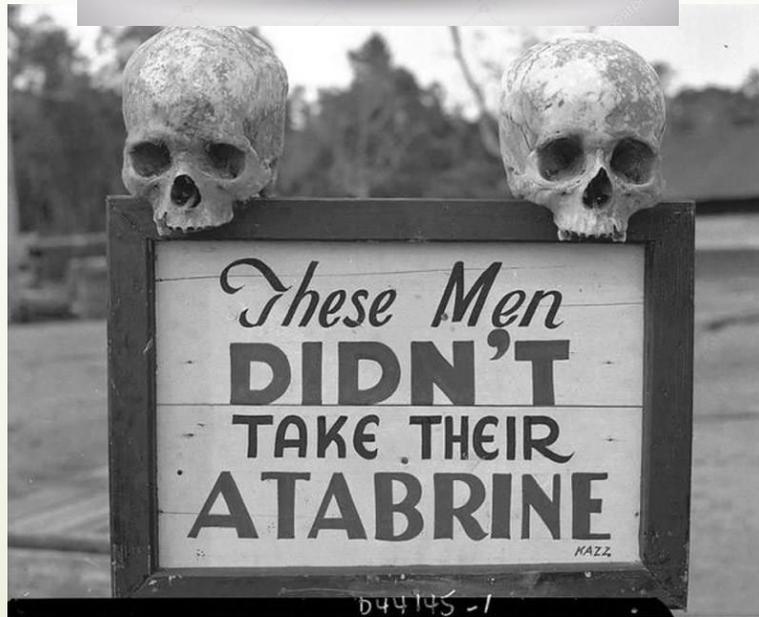
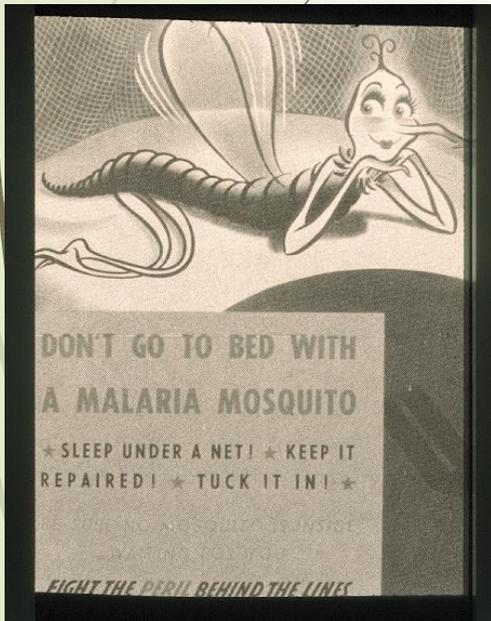
**RTS,S/AS01
(Mosquirix)**

- 6 de outubro de 2021, a OMS o uso da vacina em crianças residentes em Ghana, Kenya e Malawi.
- 4 doses em crianças a partir de 5 meses de idade. Uma quinta dose pode ser administrada em áreas com altos picos sazonais de malária.

(WHO, April 2022)

Figure 1. Malaria Vaccine Candidates in Clinical Development

Data sources for this figure included the WHO Malaria Vaccine Rainbow Table and [Clinicaltrials.gov](https://clinicaltrials.gov). Vaccines for *P. vivax* are colored blue. The life cycle figure was adapted from Nilsson et al. (2015).



Referências

1. Price, R.N., Commons, R.J., Battle, K.E., Thriemer, K. & Mendis, K. Plasmodium vivax in the Era of the Shrinking P. falciparum Map. *Trends Parasitol* **36**, 560-570 (2020).
2. Moxon, C.A., Gibbins, M.P., McGuinness, D., Milner, D.A., Jr. & Marti, M. New Insights into Malaria Pathogenesis. *Annu Rev Pathol* **15**, 315-343 (2020).
3. Lutz, H.L. *et al.* Diverse sampling of East African haemosporidians reveals chiropteran origin of malaria parasites in primates and rodents. *Mol Phylogenet Evol* **99**, 7-15 (2016).
4. Martinsen, E.S., Perkins, S.L. & Schall, J.J. A three-genome phylogeny of malaria parasites (Plasmodium and closely related genera): evolution of life-history traits and host switches. *Mol Phylogenet Evol* **47**, 261-273 (2008).
5. Venugopal, K., Hentzschel, F., Valkiunas, G. & Marti, M. Plasmodium asexual growth and sexual development in the haematopoietic niche of the host. *Nat Rev Microbiol* **18**, 177-189 (2020).
6. Menard, R. *et al.* Looking under the skin: the first steps in malarial infection and immunity. *Nat Rev Microbiol* **11**, 701-712 (2013).

- 
7. Ashley, E.A., Pyae Phyo, A. & Woodrow, C.J. Malaria. *Lancet* **391**, 1608-1621 (2018).
 8. Mideo, N., Reece, S.E., Smith, A.L. & Metcalf, C.J. The Cinderella syndrome: why do malaria-infected cells burst at midnight? *Trends Parasitol* **29**, 10-16 (2013).
 9. Nilsson, S.K., Childs, L.M., Buckee, C. & Marti, M. Targeting Human Transmission Biology for Malaria Elimination. *PLoS pathogens* **11**, e1004871 (2015).
 10. Rowe, J.A., Claessens, A., Corrigan, R.A. & Arman, M. Adhesion of Plasmodium falciparum-infected erythrocytes to human cells: molecular mechanisms and therapeutic implications. *Expert Rev Mol Med* **11**, e16 (2009).
 11. Cowman, A.F. & Crabb, B.S. Invasion of red blood cells by malaria parasites. *Cell* **124**, 755-766 (2006).
 12. Oakley, M.S., Gerald, N., McCutchan, T.F., Aravind, L. & Kumar, S. Clinical and molecular aspects of malaria fever. *Trends Parasitol* **27**, 442-449 (2011).

- 
13. Claser, C. *et al.* CD8+ T cells and IFN-gamma mediate the time-dependent accumulation of infected red blood cells in deep organs during experimental cerebral malaria. *PLoS One* **6**, e18720 (2011).
 14. Claser, C. *et al.* Lung endothelial cell antigen cross-presentation to CD8(+)T cells drives malaria-associated lung injury. *Nat Commun* **10**, 4241 (2019).
 15. Howland, S.W. *et al.* Brain microvessel cross-presentation is a hallmark of experimental cerebral malaria. *EMBO Mol Med* **5**, 984-999 (2013).
 16. Dondorp, A.M. *et al.* Artemisinin resistance: current status and scenarios for containment. *Nat Rev Microbiol* **8**, 272-280 (2010).
 17. Dondorp, A.M. *et al.* Artemisinin resistance in Plasmodium falciparum malaria. *N Engl J Med* **361**, 455-467 (2009).
 18. Draper, S.J. *et al.* Malaria Vaccines: Recent Advances and New Horizons. *Cell Host Microbe* **24**, 43-56 (2018).
 19. <https://www.malariasite.com/life-cycle/>
 20. https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/media/pdf/2021/abril/26/boletim_epidemiologico_svs_dia-mundial-da-malaria.pdf