

**CENTRO UNIVERSITÁRIO SÃO CAMILO**

**Curso de Biomedicina**

**Karla dos Santos Simplicio**

**AVALIAÇÃO DO POLIMORFISMO GENÉTICO DAS MOLÉCULAS DE  
SUPERFÍCIE DOS ERITRÓCITOS NA CAPACIDADE DE INFECÇÃO PELO  
*Plasmodium vivax***

**São Paulo**

**2022**

**Karla dos Santos Simplicio**

**AVALIAÇÃO DO POLIMORFISMO GENÉTICO DAS MOLÉCULAS DE  
SUPERFÍCIE DOS ERITRÓCITOS NA CAPACIDADE DE INFECÇÃO PELO  
*Plasmodium vivax***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Biomedicina do Centro Universitário São Camilo, orientado pela Profa. Marjorie Mendes Marini e Souza como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.

**São Paulo**

**2022**

**Ficha catalográfica elaborada pelas Bibliotecas São Camilo**

Simplicio, Karla dos Santos

Avaliação do polimorfismo genético das moléculas de superfície dos eritrócitos na capacidade de infecção pelo PLASMODIUM VIVAX / Karla dos Santos Simplicio. -- São Paulo: Centro Universitário São Camilo, 2022.

41 p.

Orientação de Marjorie Mendes Marini e Souza.

Trabalho de Conclusão de Curso de Biomedicina (Graduação), Centro Universitário São Camilo, 2022.

1. Antígenos de grupos sanguíneos 2. Malária 3. Plasmodium vivax 4. Reticulócitos 5. Sistema do grupo sanguíneo Duffy I. Souza, Marjorie Mendes Marini e II. Centro Universitário São Camilo III. Título

CDD: 614.532

**Karla dos Santos Simplicio**

**AVALIAÇÃO DO POLIMORFISMO GENÉTICO DAS MOLÉCULAS DE  
SUPERFÍCIE DOS ERITRÓCITOS NA CAPACIDADE DE INFECÇÃO PELO  
*Plasmodium vivax***

---

**Professora orientadora Marjorie Mendes Marini e Souza**

---

**Professora Examinadora Juliana Vieira dos Santos Bianchi**

---

**Professora Examinadora Thafne Plastina Astro**

## **AGRADECIMENTOS**

*A Deus que me dá diariamente fé e coragem para persistir e nunca desistir dos meus sonhos.*

*Aos meus Pais, por todo amor, paciência, carinho e por sempre me apoiarem em todas as fases e conquistas da minha vida.*

*A minha irmã, minha fonte de inspiração desde sempre.*

*Ao meu noivo, que sempre me acolheu, entendeu as minhas angústias e me animou nos momentos mais difíceis da faculdade.*

*Aos meus amigos que sempre estiveram presentes me ajudando e me alegrando durante a faculdade.*

*A professora Marjorie Mendes Marini e Souza, por ter aceitado ser minha orientadora, pela sua paciência, ensinamentos e carinho durante não só o processo da realização do TCC, mas de todo o período da faculdade.*

*E a todos que de alguma forma contribuíram na minha formação pessoal e acadêmica.*

## RESUMO

A malária é uma doença tropical parasitária transmitida por um vetor encontrada em 91 países em todo o mundo. As diferenças genéticas nas proteínas da superfície dos eritrócitos influenciam a capacidade de infecção dependendo da espécie do *Plasmodium*. A dificuldade do *P. vivax* em infectar os reticulócitos foi demonstrada por meio de uma série de observações e experimentos que constataram que a ausência do grupo sanguíneo do antígeno Duffy, também conhecido como antígeno Duffy receptor de quimiocinas (DARC), evitou que os merozoítos de *P. vivax* invadissem os reticulócitos e eritrócitos. Essa proteção acabou por não ser absoluta e relatos de malária por *P. vivax* em indivíduos Duffy-negativos indicam que ligantes alternativos podem mediar a invasão. Desta forma, a proposta deste trabalho foi investigar a influência do polimorfismo das moléculas de superfície dos eritrócitos na infecção pelo *P. vivax*. O levantamento bibliográfico foi realizado nas bases de dados Scielo, Pubmed e Google Acadêmico, assim como em livros do acervo de bibliotecas científicas, de modo a analisar as informações mais recentes sobre a influência do polimorfismo genético dos eritrócitos na capacidade de invasão pelo *P. vivax*. Nenhuma restrição de ano de publicação foi imposta e apenas artigos publicados em português e inglês, foram utilizados. Nesse estudo constatou-se que a espécie *P. vivax* é a mais difundida pelo mundo, exceto na África subsaariana, onde era anteriormente considerada rara ou ausente em populações africanas negativas para o antígeno Duffy em seus eritrócitos. Porém, essa proteção acabou por não ser absoluta e relatos de malária por *P. vivax* em indivíduos Duffy-negativos indicam que ligantes alternativos podem mediar a invasão. É possível que um novo polimorfismo da proteína de ligação Duffy do *P. vivax* permita que a mesma interaja com receptores alternativos nos eritrócitos, entretanto estudos futuros devem esclarecer a expressão e o papel de várias proteínas ligantes de *P. vivax* e seus respectivos receptores na invasão de eritrócitos Duffy-negativos.

Palavras-chave: Antígenos eritrocitários; Antígeno Duffy; Malária; *Plasmodium vivax*; *Plasmodium falciparum*; Reticulócitos e Sistema de Grupos Sanguíneos.

## ABSTRACT

Malaria is a vector-borne parasitic tropical disease found in 91 countries worldwide. Genetic differences in erythrocyte surface proteins influence the infectivity depending on the *Plasmodium* species. The difficulty of *P. vivax* in infecting reticulocytes was demonstrated through a series of observations and experiments that found that the absence of the Duffy antigen blood group, also known as Duffy antigen chemokine receptor (DARC), prevented the merozoites of *P. vivax* invade reticulocytes and erythrocytes. This protection turned out not to be absolute and reports of *P. vivax* malaria in Duffy-negative individuals indicate that alternative ligands may mediate invasion. Thus, the purpose of this work was to investigate the influence of polymorphism of erythrocyte surface molecules on *P. vivax* infection. The bibliographic survey was carried out in the Scielo, Pubmed and Google Scholar databases, as well as in books from the library collection. scientific studies, in order to analyze the most recent information on the influence of genetic polymorphism of erythrocytes on the invasiveness of *P. vivax*. No year of publication restrictions were imposed and only articles published in Portuguese and English were used. In this study, it was found that the *P. vivax* species is the most widespread in the world, except in sub-Saharan Africa, where it was previously considered rare or absent in African populations negative for the Duffy antigen in their erythrocytes. However, this protection turned out not to be absolute and reports of *P. vivax* malaria in Duffy-negative individuals indicate that alternative ligands may mediate invasion. It is possible that a new polymorphism of the *P. vivax* Duffy binding protein allows it to interact with alternative receptors on erythrocytes, however future studies should clarify the expression and role of several *P. vivax* binding proteins and their respective receptors in the invasion. of Duffy-negative erythrocytes.

Keywords: Erythrocyte antigens; Duffy antigen; Malaria; *Plasmodium vivax*; *Plasmodium falciparum*; Reticulocytes and Blood Group System.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>9</b>
<b>2 OBJETIVO.....</b>	<b>10</b>
<b>3 METODOLOGIA.....</b>	<b>11</b>
<b>4 DESENVOLVIMENTO.....</b>	<b>12</b>
4.1 SANGUE.....	12
<b>4.1.1 Eritrócitos.....</b>	<b>14</b>
4.1.1.1 Componentes da Membrana Eritrocitária.....	16
4.2 SISTEMAS DE GRUPOS SANGUÍNEOS.....	17
<b>4.2.1 Sistema de Grupo Sanguíneo ABO.....</b>	<b>19</b>
4.2.1.1 Produção de Antígenos ABO.....	21
<b>4.2.2 Sistema de Grupo Sanguíneo Rh.....</b>	<b>22</b>
<b>4.2.3 Sistema de Grupo Sanguíneo Duffy.....</b>	<b>24</b>
4.3 MALÁRIA.....	27
<b>4.3.1 Epidemiologia.....</b>	<b>28</b>
<b>4.3.2 A Transmissão da Malária e o Ciclo de vida.....</b>	<b>29</b>
<b>4.3.3 Sintomas.....</b>	<b>31</b>
<b>4.3.4 Tratamento.....</b>	<b>32</b>
4.4 A RELAÇÃO DO <i>P.vivax</i> COM O SISTEMA DE GRUPO SANGUÍNEO DUFFY.....	34
<b>4.4.2. A Via alternativa utilizada pelo <i>P. vivax</i> para invadir os eritrócitos independentes do antígeno Duffy.....</b>	<b>35</b>
<b>6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>38</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>39</b>



## 1 INTRODUÇÃO

A malária é uma doença tropical parasitária transmitida por um vetor encontrada em 91 países em todo o mundo (ASHLEY et al., 2018).

Das cinco espécies que causam malária em humanos, *Plasmodium falciparum*, *P. malariae* e *P. ovale* são as únicas espécies de *Plasmodium* que foram consideradas endêmicas para a África Subsaariana. Indivíduos de ascendência africana ocidental, central e oriental há muito são considerados refratários à infecção por *P. vivax* (BRAZEAU et al., 2018).

A grande maioria da malária causada por *P. falciparum* ocorre na África Subsaariana (aproximadamente 190 milhões de casos), onde a transmissão permanece intensa em muitos locais, embora haja uma variação considerável na incidência dentro e entre os países. A malária causada por *P. vivax* é menos comum nesta região porque a população afro-descendente é, em grande parte, negativa para o antígeno Duffy. Na Ásia e na Oceania, os números de casos de malária são geralmente menores e as proporções causadas por *P. vivax* e *P. falciparum* são semelhantes, enquanto nas Américas, os casos de malária vivax excedem malária falciparum em mais de duas vezes (ASHLEY et al., 2018).

As diferenças genéticas nas proteínas da superfície dos eritrócitos influenciam a capacidade de infecção dependendo da espécie do *Plasmodium* (ASHLEY et al., 2018). A dificuldade do *P. vivax* em infectar os reticulócitos foi demonstrada por meio de uma série de observações e experimentos que constataram que a ausência do grupo sanguíneo do antígeno Duffy, também conhecido como antígeno Duffy receptor de quimiocinas (DARC), evitou que os merozoítos de *P. vivax* invadissem os reticulócitos e eritrócitos (BRAZEAU et al., 2018). Essa proteção acabou por não ser absoluta e relatos de malária por *P. vivax* em indivíduos Duffy-negativos indicam que ligantes alternativos podem mediar a invasão (ASHLEY et al., 2018).

Desta forma, a proposta deste trabalho é investigar a influência do polimorfismo das moléculas de superfície dos eritrócitos na infecção pelo *P. vivax*.

## 2 OBJETIVO

Analisar, sintetizar e discutir de que modo o polimorfismo genético das moléculas de superfície dos eritrócitos influenciam na capacidade de invasão pelo *P. vivax*.

### 3 METODOLOGIA

Realizado levantamento bibliográfico nas bases de dados Scielo, Pubmed e Google Acadêmico, assim como em livros do acervo de bibliotecas científicas, de modo a analisar as informações mais recentes sobre a influência do polimorfismo genético dos eritrócitos na capacidade de invasão pelo *P. vivax*. Nenhuma restrição de ano de publicação foi imposta, mas apenas artigos publicados em português e inglês, foram utilizados.

Os descritores utilizados são: Antígenos eritrocitários; Antígeno Duffy; Malária; *Plasmodium vivax*; *Plasmodium falciparum*; Reticulócitos e Sistema de Grupos Sanguíneos.

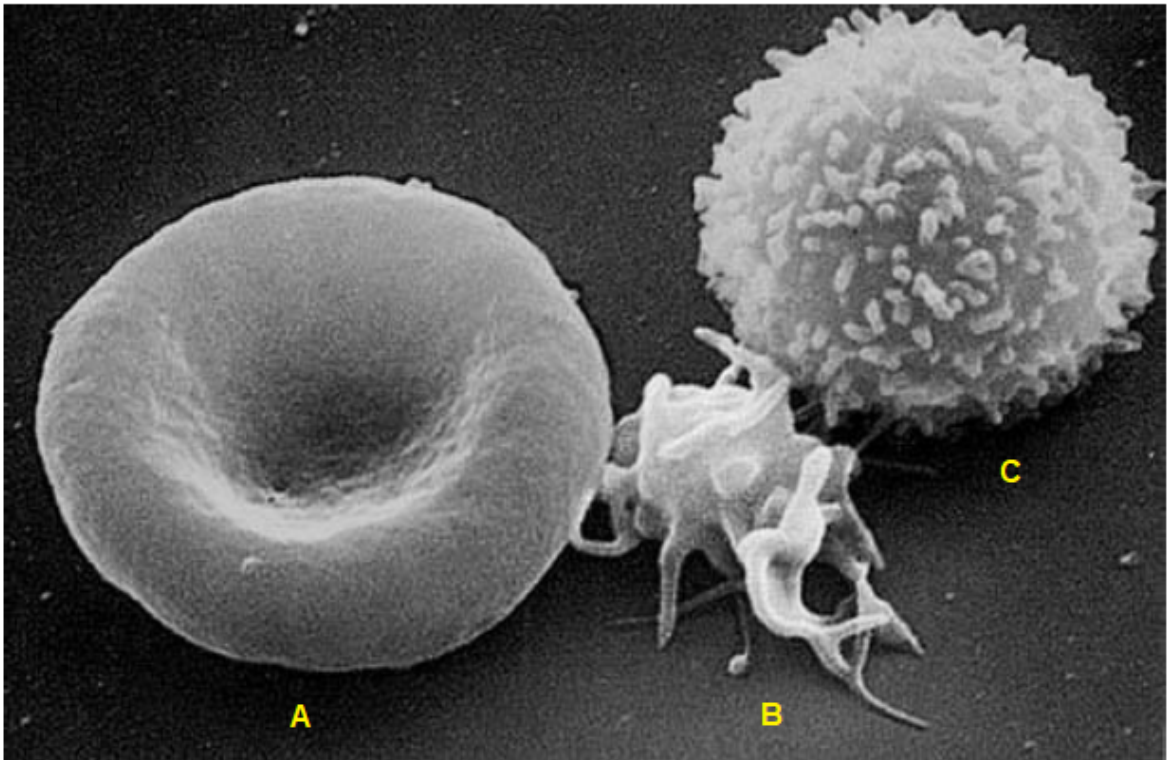
## 4 DESENVOLVIMENTO

### 4.1 SANGUE

O sangue pode ser definido como um tecido fluido, formado por uma massa heterogênea de células (AZEVEDO, 2019). É um dos fluidos biológicos mais bem investigados devido a sua acessibilidade no nosso organismo (CORRONS et.al., 2021). Está contido em um compartimento fechado, o aparelho circulatório, que o mantém em movimento regular e unidirecional, devido essencialmente às contrações rítmicas do coração (JUNQUEIRA, 2017). Fornece oxigênio e várias substâncias metabólicas para as células dos órgãos e sistemas do corpo humano, enquanto coleta produtos do metabolismo celular, principalmente o dióxido de carbono (CORRONS et.al., 2021).

É formado pelos glóbulos sanguíneos e pelo plasma, parte líquida, na qual os primeiros estão suspensos. Os glóbulos sanguíneos são os eritrócitos ou hemácias, as plaquetas ou trombócitos (fragmentos do citoplasma dos megacariócitos da medula óssea) e diversos tipos de leucócitos ou glóbulos brancos (Fig. 1) (JUNQUEIRA, 2017). São produzidas na medula óssea e lançadas diariamente na circulação. São células especializadas e apresentam uma vida média que pode variar de poucas horas (granulócitos e monócitos), meses (eritrócitos) ou até anos (linfócitos). A porção celular representa aproximadamente 45% de um volume determinado de sangue, e a porção líquida, o plasma, representa 55% do restante (Fig. 2) (AZEVEDO, 2019). O volume total de sangue em uma pessoa saudável é de aproximadamente 7% do peso corporal, cerca de 5 l em um indivíduo com 70 kg de peso (JUNQUEIRA, 2017).

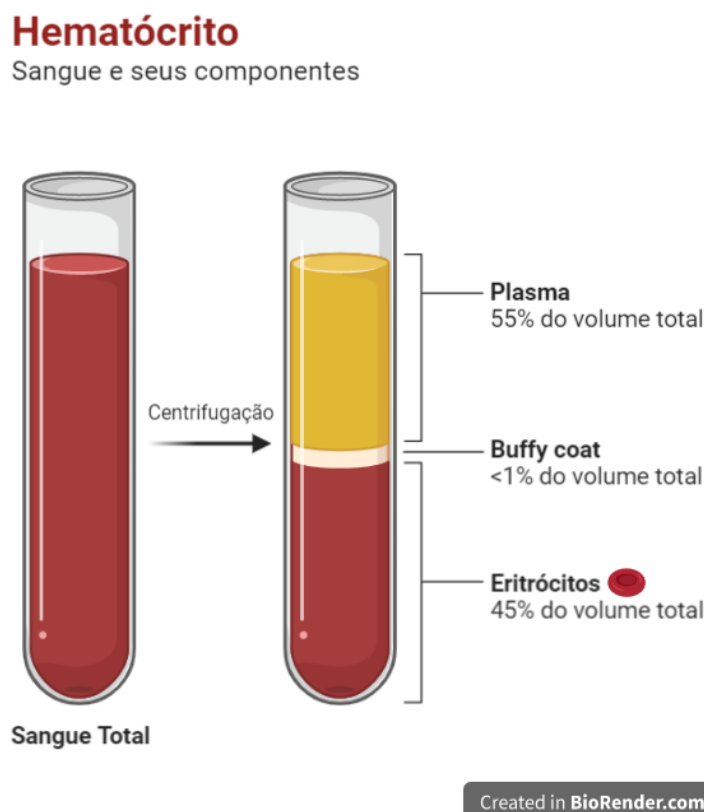
Figura 1 - Microscopia Eletrônica de varredura dos glóbulos sanguíneos



Fonte: Adaptado de Corrons et.al., 2021

Microscopia eletrônica de varredura dos glóbulos sanguíneos, onde em (A) é possível observar um eritrócito com sua forma bicôncava, em (B) uma plaqueta e em (C) um leucócito.

Figura 2 - Hematócrito



Fonte: Adaptado de BioRender, 2022

Composição do sangue em porcentagem após o tubo de sangue total ser centrifugado. Em função das diferentes densidades e tamanhos das células sanguíneas, o processo de centrifugação possibilita a separação do sangue total em camadas, sendo que os eritrócitos ficam depositados no fundo do tubo. Acima dos eritrócitos forma-se o buffy coat (camada leucoplaquetária), ou seja, uma camada de leucócitos e plaquetas. Acima do buffy coat fica a camada de plasma que contém plaquetas, água, proteínas (albumina, globulinas, fatores de coagulação e outras), carboidratos e lipídios (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2015).

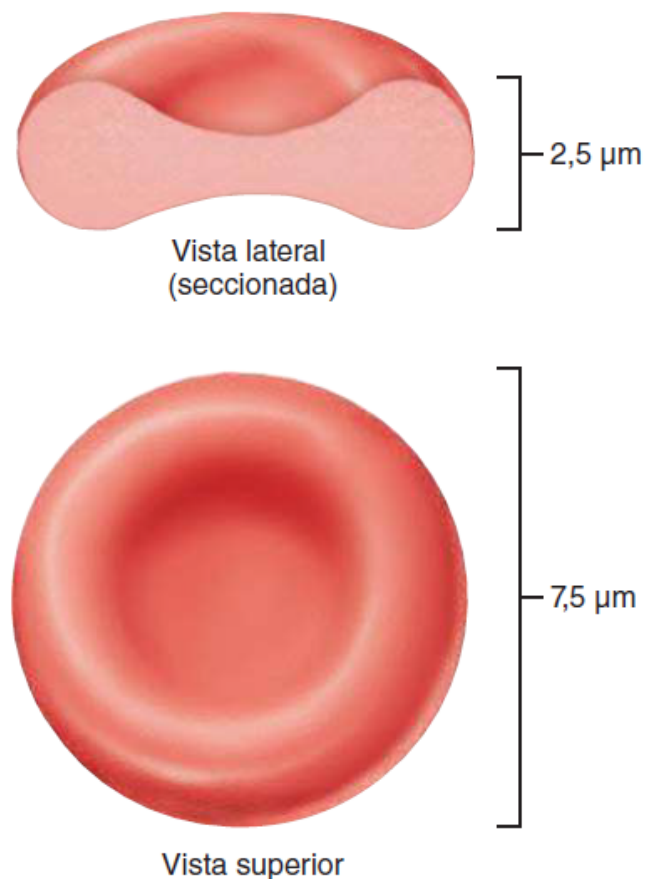
#### 4.1.1 Eritrócitos

Os eritrócitos são células únicas e executam funções vitais no organismo (RODRIGUES et al., 2019). É a célula humana mais simples, pois não possui organelas internas, que são perdidas durante o processo de eritropoiese (BUA et al., 2021). Sua morfologia é caracterizada pela sua forma discóide bicôncava única, onde cada discócito tem um diâmetro de 7,5 $\mu$ m e uma espessura máxima de 2,0–2,5 $\mu$ m (Fig. 3) (CORRONS et al., 2021).

O objetivo primário dessas células é o transporte de hemoglobina (Hb), visto que essa proteína é responsável pelo transporte de oxigênio ( $O_2$ ). Essas funções estão fortemente relacionadas com a manutenção da morfologia celular e o transporte ativo de moléculas para dentro e fora da célula, requerendo energia constante dos eritrócitos (RODRIGUES et al., 2019).

O ciclo de vida médio de um eritrócito é de aproximadamente 120 dias. Geralmente, neste ponto, a célula está desgastada e danificada (CORRONS et al., 2021). As mesmas passam pelo baço e pelo fígado, onde são encontradas células imunes especializadas chamadas macrófagos. Macrófagos reconhecem quando um eritrócito é gasto e passam por um processo chamado fagocitose, onde digerem a célula. Nesse processo, o ferro na hemoglobina é reciclado para uso em novas células sanguíneas e a molécula heme é degradada, conjugada a bilirrubina e eliminada do corpo (CORRONS et al., 2021).

Figura 3 - Formato bicôncavo de um eritrócito



Fonte: Adaptado de Marieb et al., 2014

Representação do formato bicôncavo único com diâmetro de cerca de 7,5  $\mu\text{m}$  e espessura máxima de 2,0–2,5 $\mu\text{m}$ .

#### 4.1.1.1 Componentes da Membrana Eritrocitária

A membrana eritrocitária é considerada como modelo primário para estudos de membrana plasmática celular animal pelo fato de serem células desprovidas de núcleo e organelas. Ela representa uma barreira biológica seletiva, que assegura a composição interna constante da célula. Porém, para a manutenção da forma e da estrutura do eritrócito, é necessário que a mesma esteja íntegra (RODRIGUES et al., 2019). Possui cerca de 20 proteínas principais e pelo menos 850 proteínas secundárias. Algumas das mais importantes estão descritas no Quadro 1. As proteínas integrais de membrana são organizadas em complexos macromoleculares centrados na banda 3, o canal de troca aniônica. A maioria das proteínas periféricas da membrana forma o esqueleto da membrana, uma rede proteica de 40 a 90 nm de espessura que lâmina a superfície interna da membrana. O esqueleto é composto principalmente por espectrina, actina e suas proteínas associadas (tropomiosina, tropomodulina, aducina e dematina), proteína 4.1R e anquirina como mostrados na Figura 4. (LUX, 2016).

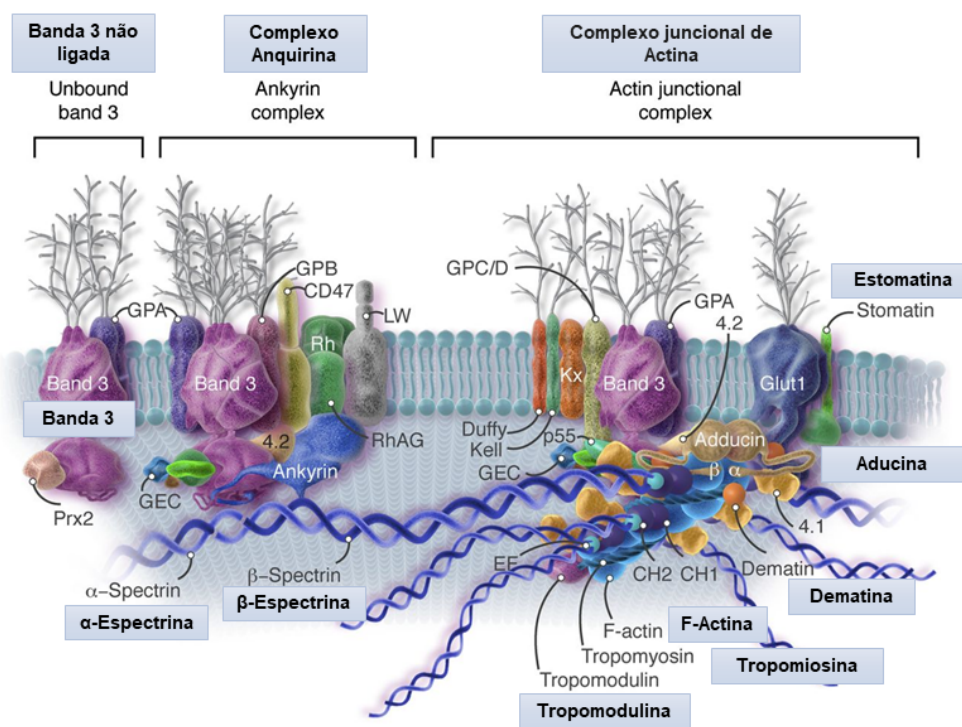
Quadro 1: Principais proteínas da Membrana Eritrocitária

PRINCIPAIS PROTEÍNAS DA MEMBRANA ERITROCITÁRIA			
$\beta$ -Actina	$\alpha$ -Aducina	$\beta$ -aducina	Aldolase A
Ankyrin-1	Banda 3 (SLC4A1)	CAII	CAIV
CD44	CD47	DARC/Duffy	Dematina
G3PD	Glut1	GPA	GPB
GPC	GPD	Kell	Kx
Lu/BCAM	Glicoproteína LW/ICAM4	p55	Peroxirredoxina 2
PFK (fígado)	PFK (músculo)	Proteína 4.1R	Proteína 4.2
RhAG	RhCE	RhD	$\alpha$ -Espectrina
$\beta$ -Espectrina	Estomatina	Tropomodulina 1	Tropomiosina 1 ( $\alpha$ -TM)
Tropomiosina 3 ( $\gamma$ -TM)			

Fonte: Adaptado de Lux, 2016



Figura 4 - Representação da membrana eritrocitária



Copyright © 2022 American Society of Hematology



American Society of Hematology  
Helping hematologists conquer blood diseases worldwide

Fonte: Adaptado de Lux, 2016

Modelo atual da membrana eritrocitária e suas principais proteínas.

#### 4.2 SISTEMAS DE GRUPOS SANGUÍNEOS

Os antígenos eritrocitários são estruturas presentes na membrana eritrocitária capazes de produzir anticorpos específicos, quando apresentados ao sistema imunológico de indivíduos que não apresentam o mesmo antígeno. O anticorpo produzido é capaz de se ligar ao antígeno ao ser detectado por testes imunológicos (GIRELLO et al., 2016).

Além disso, são estruturas membranares, herdadas geneticamente e definidas por sequências de aminoácidos específicos (antígenos proteicos) ou por carboidratos ligados a essas proteínas ou lipídios (GIRELLO et al., 2016). Os antígenos proteicos são produtos diretos dos genes que os codificaram, como os antígenos do sistema Rh. E os antígenos carboidratos são produtos secundários de

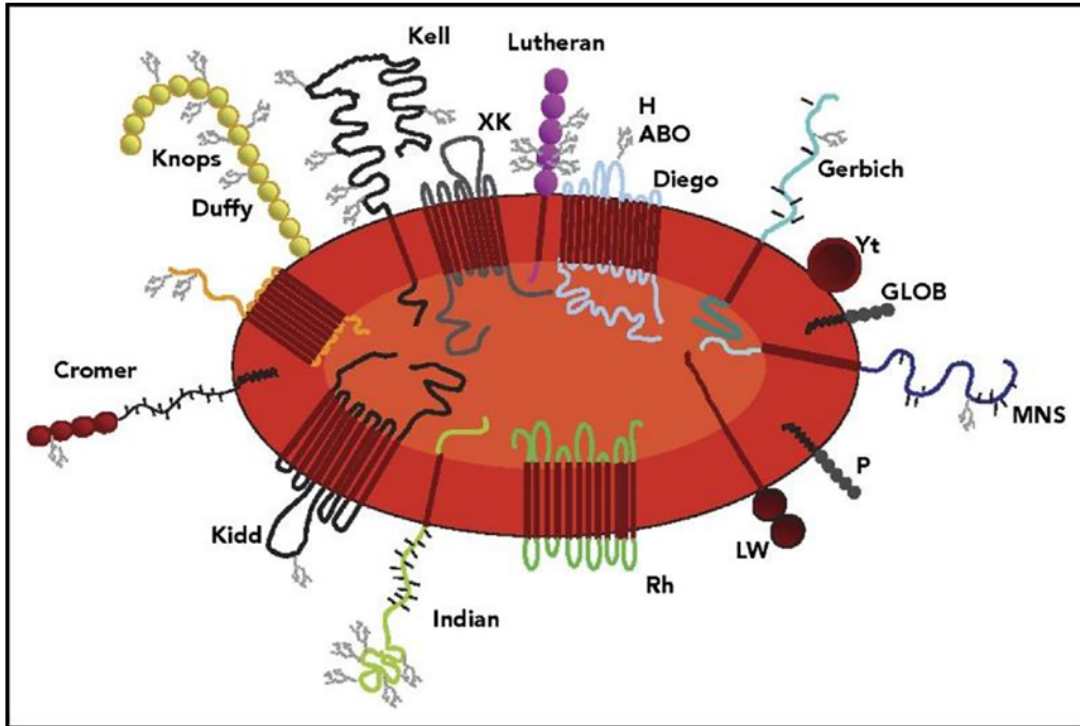
genes produtores de glicosiltransferases, que transportam carboidratos para estruturas precursoras da membrana do eritrócito, como os antígenos ABO (GIRELLO et al., 2016).

Os antígenos são polimórficos na população e os aloanticorpos que os identificam são de ocorrência natural, como no caso do sistema ABO, ou produzidos em decorrência de aloimunização induzida pelas transfusões ou durante a gravidez (ZAGO et al., 2013). Um aloanticorpo é o nome dado a qualquer anticorpo que pode vir a surgir em um membro de uma espécie contra um antígeno de outro membro da mesma espécie (RIBEIRO et al., 2013).

Os sistemas de grupos sanguíneos consistem em um ou mais antígenos controlados por um único locus no gene ou por um grupo de genes homólogos que se relacionam entre si. Apresentam características polimórficas bem definidas, sendo parte integrante dos componentes da membrana (RODRIGUES, 2021).

A membrana eritrocitária transporta uma grande variedade de proteínas de superfície, bem como proteínas que atravessam a camada lipídica da própria membrana celular. São essas proteínas e glicoproteínas de superfície que carregam os antígenos do grupo sanguíneo e sua especificidade é determinada principalmente pela sequência de oligossacarídeos (por exemplo, ABO) ou pela sequência de aminoácidos (por exemplo, Kell, Duffy, Kidd, MNS). Esses antígenos são atribuídos a sistemas ou coleções de grupos sanguíneos com base em sua relação entre si, conforme determinado por estudos sorológicos ou genéticos (SMART et al., 2020). Cada sistema sanguíneo constitui um grupo de antígenos semelhantes em suas características. Dentre eles, os mais significativos são: ABO, Rh, Kidd, Kell, MNS e Duffy (RODRIGUES, 2021). A Figura 5 demonstra a membrana dos eritrócitos com a representação dos grupos sanguíneos. Segundo a classificação da Sociedade Internacional de Transfusão de Sangue (ISBT), já foram descobertos 360 antígenos eritrocitários dos quais 322 estão contidos em 43 sistemas (RODRIGUES, 2021; ISBT, 2022)

Figura 5 - Membrana Eritrocitária com a representação dos grupos sanguíneos



Fonte: SMART et al., 2020

#### 4.2.1 Sistema de Grupo Sanguíneo ABO

O sistema ABO é o sistema de grupo sanguíneo mais importante na terapia transfusional e foi o primeiro a ser descrito. Essa grande contribuição para a medicina foi feita por Karl Landsteiner em Viena, Áustria, em 1900, quando observou que “o soro de humanos saudáveis não só tem um efeito aglutinante nos glóbulos sanguíneos animais, mas também nos glóbulos sanguíneos humanos de diferentes indivíduos”. No ano seguinte, em 1901, Landsteiner conseguiu reconhecer dois antígenos nos eritrócitos separando e misturando as células e os soros de vários indivíduos. Ele chamou os antígenos de A e B. Aqueles indivíduos com o antígeno A em suas hemácias foram chamados de Grupo A; aqueles com o antígeno B, Grupo B. Como muitos indivíduos não possuíam os antígenos A e B e foram denominados Grupo C, que mais tarde foi denominado Grupo O (para o alemão “ohne” que significa “sem” ou “nulo”). O grupo menos comum, chamado AB, foi encontrado por

dois alunos de Landsteiner em 1902. Indivíduos do grupo AB expressam tanto os antígenos A quanto os B em suas hemácias. Com isso, Landsteiner descobriu que o soro de um indivíduo sempre continha anticorpos para o antígeno que não era expresso nas células vermelhas daquele indivíduo (SMART et al., 2020).








A população geral pode então ser dividida em quatro grupos ABO conforme mostrado no Quadro 2 e na Figura 6, com base no agrupamento direto e reverso.

Quadro 2: Relação entre os antígenos e anticorpos presentes no grupo sanguíneo ABO.

Grupo sanguíneo	Antígeno	Anticorpo
A	A	Anti-B
B	B	Anti-A
AB	A e B	Não possui
O	Não possui	Anti-A e Anti-B

Fonte: Elaboração da autora, 2022

Figura 6: Esquema da relação dos antígenos e anticorpos presentes nos eritrócitos no grupo sanguíneo ABO.

<b>TIPOS SANGUÍNEOS ABO</b>				
	A	B	AB	O
<b>Antígenos presentes nos eritrócitos</b>				
<b>Anticorpos presentes no plasma</b>	 Anticorpos Anti-B	 Anticorpos Anti-A	Sem anticorpos	 Anticorpos Anti-A Anticorpos Anti-B
<b>Pode doar para</b>	Tipo A Tipo AB	Tipo B Tipo AB	Tipo AB	Todos
<b>Pode receber Concentrado de Hemácias (CH) de</b>	Tipo A Tipo O	Tipo B Tipo O	Todos	Tipo O

Fonte: Adaptado de BioRender, 2022

Legenda: Tipagens sanguíneas ABO com os antígenos presentes nos eritrócitos e anticorpos presentes no plasma. Os anticorpos são da classe IgM e IgG, com predominância de IgM nos fenótipos A e B. Na tabela estão descritos apenas a compatibilidade para os receptores de Concentrado de Hemácias (CH).

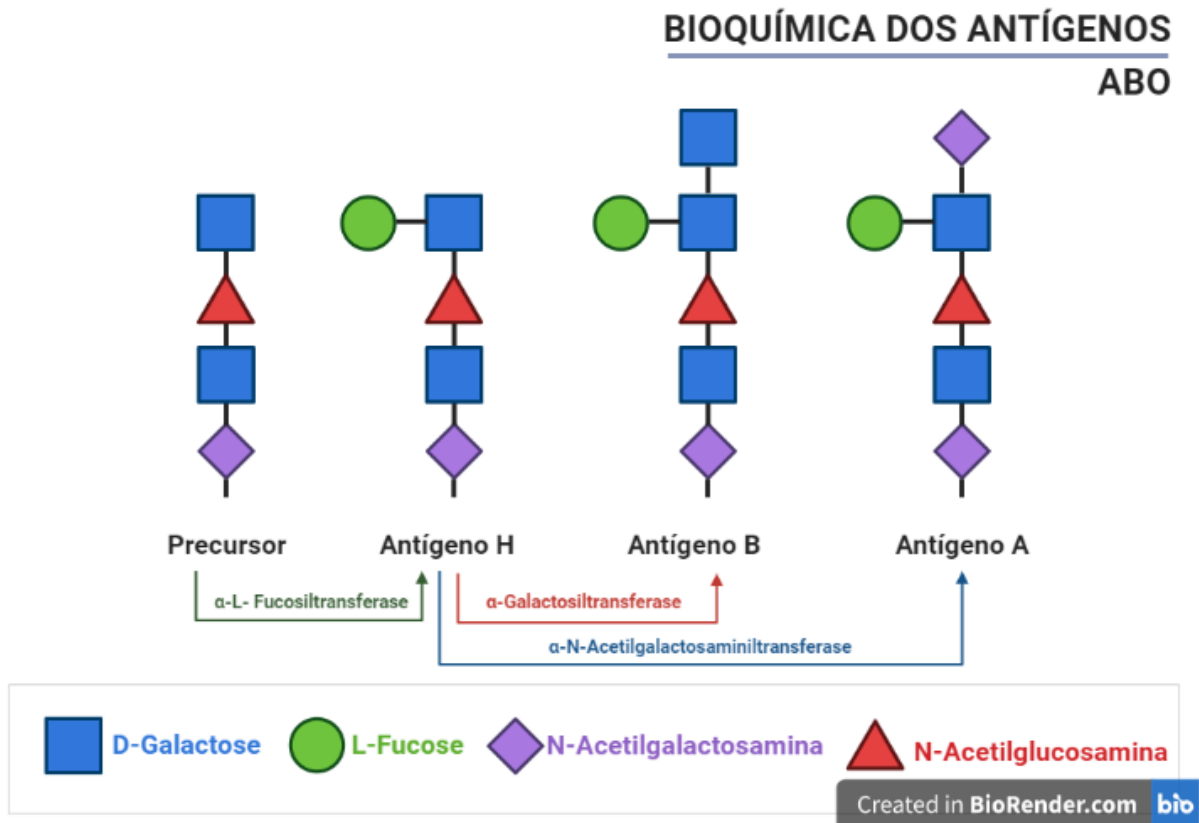
#### 4.2.1.1 Produção de Antígenos ABO

Os antígenos ABO expressos nos eritrócitos dependem da presença tanto do gene H ou Fucosiltransferase 1 (FUT1) quanto dos genes ABO. Os *loci* para os genes ABO e FUT1 não estão ligados (embora sejam funcionalmente relacionados) e, portanto, são alocados a dois sistemas de grupos sanguíneos separados. Os genes FUT1, A e B não codificam diretamente antígenos eritrocitários (SMART et al., 2020). Estes produzem glicosiltransferases (enzimas), que transportam açúcares, adicionando-os a uma substância precursora do eritrócito (GIRELLO et al., 2016).

A H-transferase (FUT1) adiciona o açúcar L-fucose a um substrato precursor, que é uma cadeia de carboidratos já expressa na membrana dos eritrócitos. Feito isso, a 3- $\alpha$ -N-acetil-galactosaminiltransferase (a enzima produzida pelo gene A e, para simplificar, chamada de A-transferase) e a 3- $\alpha$ -galactosiltransferase (a enzima produzida pelo gene B e para simplificar chamada de B-transferase) pode então atuar. A A-transferase adiciona outro resíduo de açúcar chamado N-acetil-D-galactosamina, que resulta na expressão do antígeno A nos eritrócitos. Da mesma forma, a B-transferase adiciona o resíduo de açúcar D-galactose e as células também expressam o antígeno B. Esses eritrócitos, como resultado das ações da H-transferase, da A-transferase e da B-transferase, formam o grupo AB (SMART et al., 2020).

Portanto, o antígeno do grupo A é expresso quando as H-transferases e A-transferases são as duas enzimas presentes; o antígeno do grupo B é expresso quando as enzimas H-transferases e B-transferases estão presentes, e no caso do grupo O somente a H-transferase está presente. A Figura 7 mostra um diagrama simplificado para indicar as diferenças estruturais nas moléculas que resultam na expressão do antígeno ABO (SMART et al., 2020).

Figura 7: Diagrama representando a bioquímica dos antígenos ABO



Fonte: Adaptado de BioRender, 2022

#### 4.2.2 Sistema de Grupo Sanguíneo Rh

A descoberta dos grupos Rh por Karl Landsteiner e Alexander Wiener em 1940, juntamente com o trabalho de Philip Levine e Rufus Stetson em 1939, anunciou a maior descoberta no campo dos grupos sanguíneos desde que Landsteiner descreveu o sistema ABO em 1900. Em 1939, Levine e Stetson descreveram como a mãe de um feto natimorto sofreu uma grave reação hemolítica quando recebeu uma transfusão com o sangue de seu marido. A mãe, que obviamente carecia de algum 'novo' antígeno, deve ter sido imunizada pelo feto que expressou esse antígeno, tendo herdado o gene que o codifica do pai. Quando o sangue do marido compatível com ABO foi transfundido, o anticorpo materno reagiu com esse mesmo antígeno expresso em seus eritrócitos (ZIMMERMAN et al., 2013)..

Composto por mais de 50 antígenos capazes de produzir doença hemolítica, o sistema Rh é o maior e o mais polimórfico de todos os sistemas sanguíneos. Cinco principais e importantes antígenos (C, c, D, E, e) são responsáveis pela maioria dos anticorpos clinicamente significativos. O antígeno RhD é o mais imunogênico, e o termo fator Rh refere-se somente a ele. Indivíduos que apresentam este antígeno na superfície dos seus eritrócitos são denominados de Rh positivos (Rh +), e os que não possuem são chamados de Rh negativos (Rh -) (RODRIGUES, 2021).

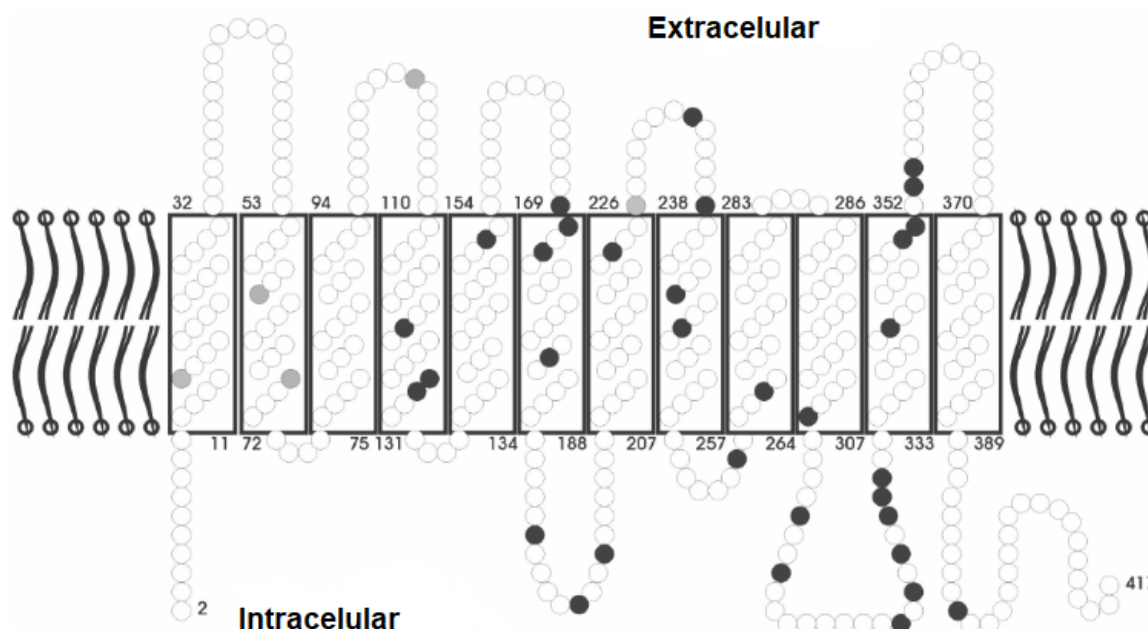
Estima-se que, se uma quantidade de 1 ml a 10 ml de glóbulos vermelhos D positivos forem administrados a um indivíduo D negativo, a chance de esse indivíduo desenvolver anti-D é de 80% (GIRELLO et al., 2016).

Os anticorpos específicos para os antígenos Rh estão normalmente envolvidos em reações transfusionais hemolíticas, anemias hemolíticas auto-imunes (AHAI) e em casos de doença hemolítica perinatal (DHPN). Nesse último caso, ocorre na gravidez subsequente com criança (feto) D positivo de uma mãe Rh(D)-previamente sensibilizada com anticorpos anti-D, na qual as moléculas de IgG atravessam a barreira placentária, produzindo quadro de icterícia neonatal ou DHPN. Com o advento da administração da imunoglobulina anti-D (exemplo: RhoGm<sup>®</sup>), observou-se importante redução dos casos de DHPN por incompatibilidade Rh, mas o anti-D ainda é o aloanticorpo mais comumente encontrado em recém-nascidos. Existem outros anticorpos envolvidos na DHPN, a maioria relacionada ao sistema Rh (GIRELLO et al., 2016).

Os antígenos Rh são codificados pelos genes RHD e RHCE, cada um dos quais produz uma proteína separada que é inserida na membrana dos eritrócitos. A proteína D atravessa a membrana dos eritrócitos 12 vezes, dando origem a seis domínios extracelulares como mostra a figura 8. Apesar de muitos estudos, a função exata das proteínas Rh dentro da membrana das hemácias é desconhecida, mas sua estrutura sugere uma função de transportador transmembrana (SMART et al., 2020).

Progressos consideráveis foram feitos nos últimos dez anos em relação à determinação das bases moleculares dos antígenos pertencentes ao sistema Rh, apesar de a função fisiológica para os eritrócitos ainda não ter sido totalmente compreendida (GIRELLO et al., 2016).

Figura 8: Representação da estrutura do sistema Rh na membrana eritrocitária



Fonte: Adaptado de Wagner et al., 2004

A proteína possui 12 segmentos transmembranares, 6 alças extracelulares e 5 alças intracelulares. Cada aminoácido é representado por um círculo, onde os círculos pretos indicam posições que diferem entre RhD e RhCE em todos os alelos frequentes, círculos cinza indicam posições que diferem entre RhD e RhCE apenas em alguns alelos. A maioria das diferenças está localizada em segmentos transmembranares ou intracelulares; ao longo das alças extracelulares, apenas as alças 3, 4 e 6 diferem entre RhD e RhCE (Adaptado de Wagner et al., 2004).

#### 4.2.3 Sistema de Grupo Sanguíneo Duffy

O grupo sanguíneo Duffy foi descrito em 1950 por Marie Cutbush e Patrick Mollison, onde o anticorpo Anti-Fy<sub>a</sub> foi encontrado em um paciente com hemofilia que recebeu múltiplas transfusões e o sistema foi nomeado com o nome desse paciente (SMART et al., 2020).

É um sistema de importância transfusional, onde é composto por cinco antígenos: Fy<sup>a</sup>, Fy<sup>b</sup>, Fy<sub>3</sub>, Fy<sub>5</sub>, Fy<sub>6</sub>, e codificado pelo gene FY localizado no cromossomo 1q22-23 (RODRIGUES, 2021).

Os antígenos Fy situam-se em uma proteína de 35.000 a 45.000 dáltons que pertence à família dos receptores de quimocinas. A glicoproteína Duffy é



quimiorreceptora nos eritrócitos para diversas substâncias, como quimiocinas (L-8, Melanoma Growth Stimulating Activity-MGSA), e é conhecida também como Antígeno Duffy receptor de quimiocinas (DARC). É receptora também para o *P. vivax* e *P. knowlesi*, e é essencial para a invasão desses parasitas (GIRELLO et al., 2016).

Os antígenos Fy<sup>a</sup> e Fy<sup>b</sup> são os mais importantes do sistema (GIRELLO et al., 2016) e são codificados por um par de genes alélicos codominantes localizados no cromossomo 1 (1q23.2) (SMART et al., 2020).

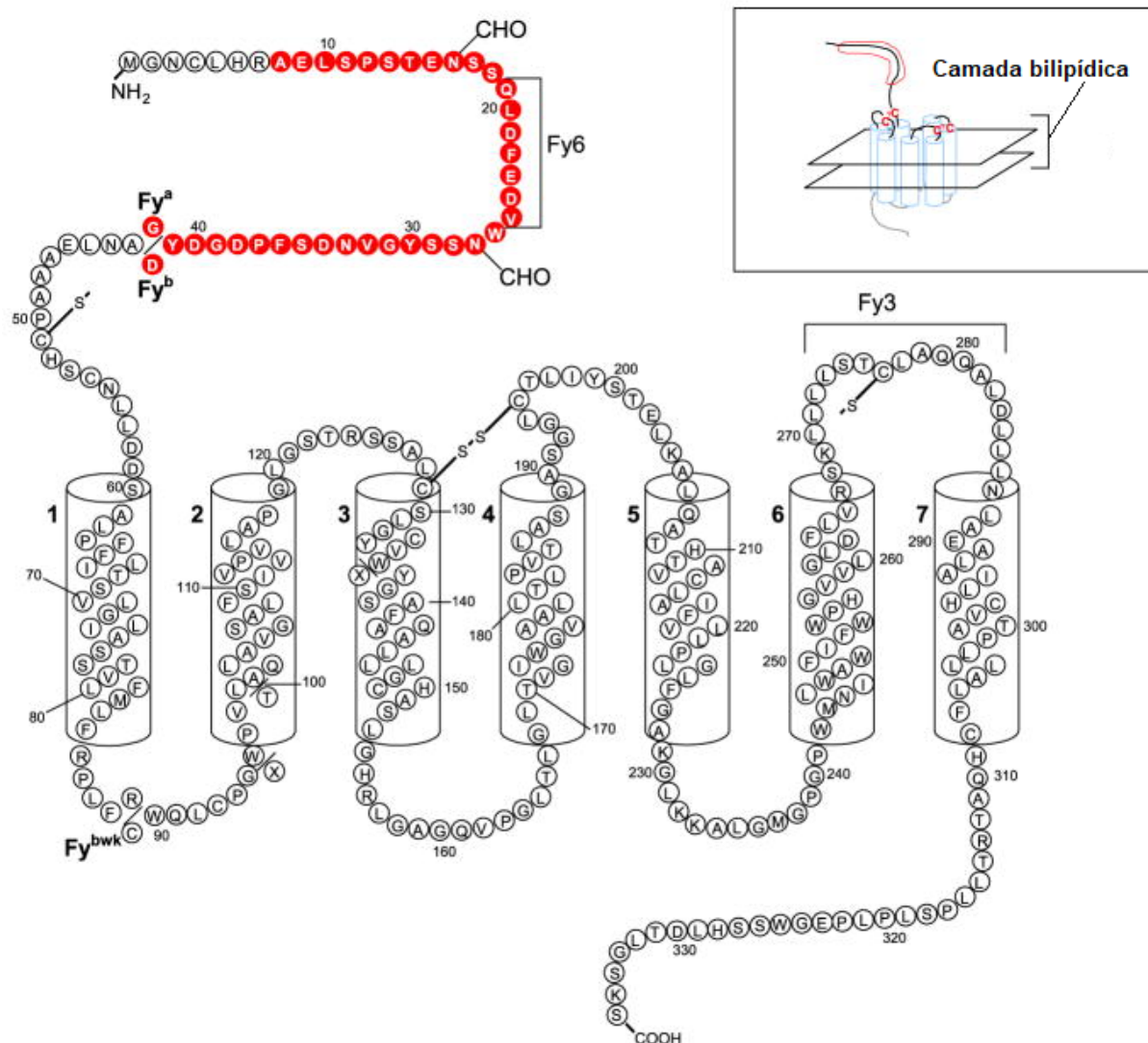
O fenótipo Fy(a-b-), é observado em populações de origem africana, decorrentes de uma mutação na região promotora do gene que liga o fator de transcrição GATA-1, que é fundamental para a expressão de vários genes eritróides. Nos portadores dessa mutação o gene não se expressa no tecido eritróide (ZAGO et al., 2013), porém está presente em células fetais de 6 a 7 semanas, e também em células epiteliais, endoteliais, células de órgãos como rins, cérebro, fígado, coração e pâncreas (RODRIGUES, 2021).

Portanto, indivíduos Fy(a-b-), fenótipo comumente encontrado em indivíduos negros africanos, são naturalmente resistentes à malária pelos plasmódios citados, o que certamente representa uma vantagem evolutiva. Os polimorfismos entre os antígenos Fy<sup>a</sup> e Fy<sup>b</sup> resultam de uma única substituição do aminoácido Glicina (Gly) por Aspartato (Asp) e a frequência fenotípica dos antígenos varia conforme a população estudada (GIRELLO et al., 2016).

A frequência dos antígenos do sistema de grupo sanguíneo Duffy varia muito entre as diferentes populações. O gene *FY* recessivo silencioso é muito raro em caucasianos, mas ocorre com frequência em negros, particularmente aqueles que vivem em áreas de malária. Os eritrócitos ausentes para antígenos Duffy são refratários à invasão por parasitas da malária (como *P. vivax* e *P. knowlesi*). Isso sugere uma resposta adaptativa à doença ou pressão seletiva devido ao parasita; conseqüentemente, a proporção de indivíduos em certas populações africanas que não expressam a proteína DARC em seus eritrócitos é alta. Expressão homozigótica do gene *FYO* resulta no fenótipo Fy(a-b-). A maioria dos exemplos de Fy(a-b-) em negros africanos é resultado de uma mutação homozigótica do gene *GATA-1* na área promotora do gene Duffy, que impede a expressão dos antígenos Duffy apenas nas células vermelhas (é eritrócitos específico). O gene *FYB* geralmente está

presente (exceto em indivíduos de Papua Nova Guiné, onde o gene *FYA* está frequentemente presente, em vez do gene *FYB* ). Esses indivíduos raramente produzem um anti-Fy3, porém muitas vezes são estimulados a fazê-lo (SMART et al., 2020).

Figura 9: Representação da estrutura do sistema Duffy na membrana eritrocitária



Fonte: Adaptado de Zimmerman et al., 2013

Legenda: A proteína Duffy atravessa a membrana dos eritrócitos sete vezes como mostra a figura e contém 336/338 resíduos de aminoácidos. Os dois principais antígenos desse sistema  $Fy^a$  e  $Fy^b$  ocorrem em frequência semelhante na população caucasóide, mas estão ausentes — fenótipo  $Fy(a-, b-)$  — em 60% dos negros africanos e em 90% dos asiáticos. A diferença entre  $Fy^a$  e  $Fy^b$  é causada por uma única variante de resíduo de aminoácido dentro da proteína. Adaptado de SMART et al., 2020.

### 4.3 MALÁRIA

Apesar de muito antiga, a malária continua sendo um dos principais problemas de saúde pública no mundo (NEVES et al., 2016). É uma doença tropical parasitária transmitida por um vetor encontrada em 91 países em todo o mundo (ASHLEY et al., 2018).

Também conhecida como paludismo, febre palustre, impaludismo, maleita ou sezão, o caráter intermitente e exclusivo da malária já estava presente em escritos chineses de 3000 a.C, nas tábuas mesopotâmicas (2000 a.C.) e em escrituras Vedas na Índia (1800 a.C.). A malária foi primeiramente citada na era pré-Cristã, por Hipócrates. Foi ele quem descreveu as suas características de ocorrência sazonal e de febre com padrão paroxístico e intermitente. Entretanto, foi somente no início do século XIX que o termo malária teve origem. Escritores italianos defendiam a tese de que a doença era causada por vapores nocivos exalados dos pântanos tiberianos, designando-a *mal aria*, cujo sentido literal é *mau ar* (NEVES et al., 2016).

As pessoas que contraem malária geralmente ficam muito doentes com febre alta, calafrios e doenças semelhantes à gripe. E embora a malária possa ser uma doença mortal, a doença e a morte por malária geralmente podem ser evitadas (CDC, 2022).

Das cinco espécies que causam malária em humanos, *P. falciparum*, *P. malariae* e *P. ovale* são as únicas espécies de *Plasmodium* que foram consideradas endêmicas para a África Subsaariana. Indivíduos de ascendência africana ocidental, central e oriental há muito são considerados refratários à infecção por *P. vivax* (BRAZEAU et al., 2018). O *P. falciparum* produz altos níveis de parasitas de estágio sanguíneo que se sequestram em órgãos críticos em todas as faixas etárias e causam anemia grave em crianças africanas, nas quais ocorre a grande maioria das mortes por malária. *P. vivax* geralmente produz doença mais leve, mas pode ser grave, e episódios recorrentes trazem significativa morbidade associada (ASHLEY et al., 2018).

Segundo dados do relatório Mundial de Malária de 2021 da Organização Mundial da Saúde (OMS), globalmente, em 2019, havia uma estimativa de 227 milhões de casos de malária em 85 países endêmicos de malária (incluindo o

território da Guiana Francesa). Em 2020, 1 ano após a pandemia de COVID-19 e interrupções nos serviços, o número estimado de casos de malária aumentou para 241 milhões de casos, um adicional de 14 milhões de casos em comparação com 2019 (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2021).

#### 4.3.1 Epidemiologia

A malária é uma doença de regiões tropicais e subtropicais, tendo sido erradicada de países temperados de forma constante nos últimos 100 anos. É transmitida pela picada da fêmea do mosquito *Anopheles*. A incidência da doença depende da adequação ambiental para vetores locais em termos de altitude, clima, vegetação e implementação de medidas de controle e, portanto, está intrinsecamente ligada à pobreza, desastres naturais e guerra. As vias de transmissão menos comuns são de mãe para filho, ou através de transfusão de sangue, uma ocorrência rara em países não endêmicos graças aos procedimentos de triagem de doadores de sangue, mas um risco significativo em locais com poucos recursos (ASHLEY et al., 2018).

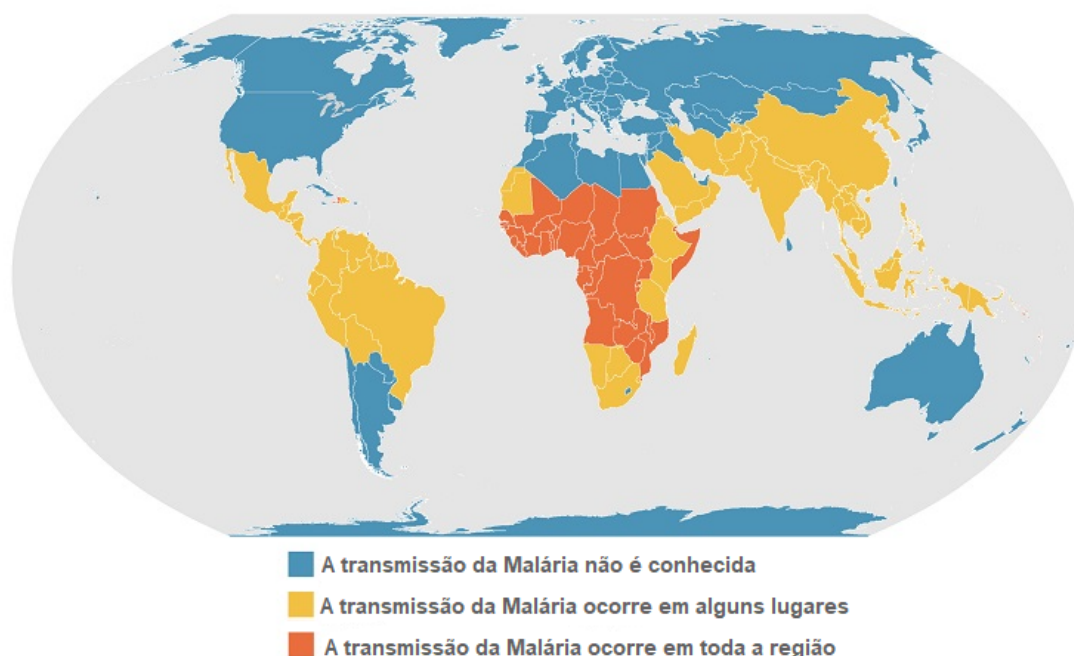
O local onde a malária é encontrada depende principalmente de fatores climáticos, como temperatura, umidade e precipitação. A malária é transmitida em áreas tropicais e subtropicais, onde os mosquitos *Anopheles* podem sobreviver e se multiplicar, e os parasitas da malária podem completar seu ciclo de crescimento nos mosquitos (“período de incubação extrínseca”) (CDC, 2022).

A temperatura é particularmente crítica. Por exemplo, em temperaturas abaixo de 20°C, o *Plasmodium falciparum* (que causa malária grave) não pode completar seu ciclo de crescimento no mosquito *Anopheles* e, portanto, não pode ser transmitido (CDC, 2022).

Em muitos países onde a malária é endêmica, a transmissão da malária não ocorre em todas as partes do país. Mesmo dentro de áreas tropicais e subtropicais, a transmissão não ocorrerá em altitudes muito elevadas, durante as estações mais frias em algumas áreas, nos desertos (excluindo os oásis), e em alguns países onde a transmissão foi interrompida por meio de programas de controle/eliminação bem-sucedidos. Geralmente, em regiões mais quentes perto do equador a transmissão será mais intensa e a malária é transmitida durante todo o ano. A maior

transmissão é encontrada na África ao sul do Saara e em partes da Oceania, como Papua Nova Guiné. Nas regiões mais frias, a transmissão será menos intensa e mais sazonal. Lá, o *Plasmodium vivax* pode ser mais prevalente porque é mais tolerante a temperaturas ambientes mais baixas. O mapa da figura 10 mostra uma aproximação das partes do mundo onde ocorre a transmissão da malária (CDC, 2022).

Figura 10: Representação do mapa de transmissão da Malária no mundo



Fonte: Adaptado de CDC, 2022

#### 4.3.2 A Transmissão da Malária e o Ciclo de vida

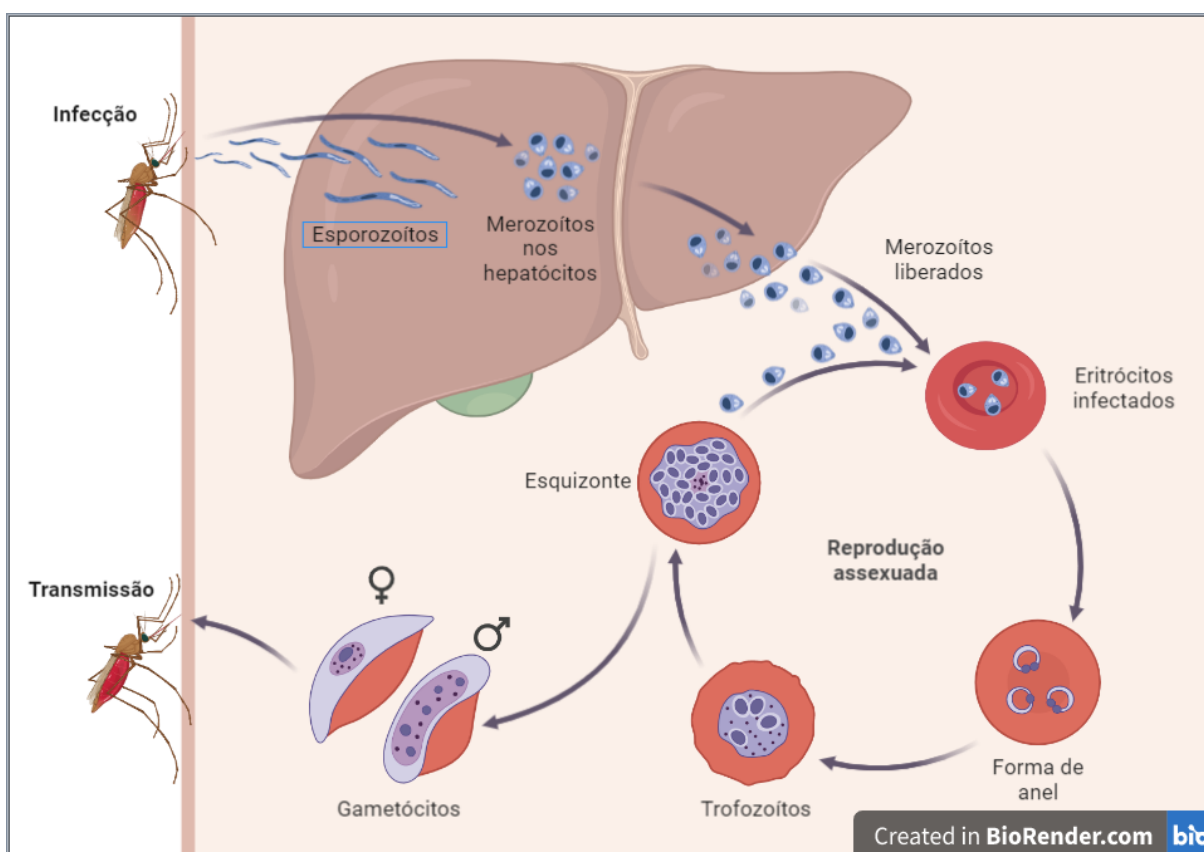
A história natural da malária envolve a infecção cíclica de humanos e mosquitos *Anopheles* fêmeas (CDC, 2022). A transmissão ocorre por meio da picada de uma fêmea do mosquito *Anopheles* infectada. Na picada, os esporozoítos são inoculados caso o mosquito esteja infectado (ASHLEY et al., 2018). Nos humanos, os parasitas crescem e se multiplicam primeiro nos hepatócitos e depois nos eritrócitos (CDC, 2022). O parasita passa por um estágio hepático pré-eritrocítico que normalmente dura entre uma e duas semanas antes do início do

estágio sanguíneo (ASHLEY et al., 2018). No sangue, ninhadas sucessivas de parasitas crescem dentro dos eritrócitos e os destroem, liberando os merozoítos que continuam o ciclo invadindo outros eritrócitos (CDC, 2022).

Os parasitas do estágio sanguíneo são aqueles que causam os sintomas da malária. Quando certas formas de parasitas do estágio sanguíneo (gametócitos, que ocorrem nas formas masculina e feminina) são ingeridas durante a alimentação de sangue por uma fêmea do mosquito *Anopheles*, ocorre a reprodução sexuada e inicia-se um ciclo de crescimento e multiplicação no mosquito. Após 10-18 dias, uma forma do parasita chamada esporozoíto migra para as glândulas salivares do mosquito. Quando o mosquito *Anopheles* se alimenta de sangue em outro humano, a saliva anticoagulante é injetada junto com os esporozoítos, que migram para o fígado, iniciando assim um novo ciclo como mostra a figura 11 (CDC, 2022).

Assim, o mosquito infectado carrega a doença de um humano para outro (agindo como um “vetor”), enquanto os humanos infectados transmitem o parasita ao mosquito (CDC, 2022). Nas infecções por *Plasmodium vivax* e *Plasmodium ovale*, uma proporção de esporozoítos torna-se hipnozoíta dormente, causando recidivas meses ou anos após a infecção inicial (ASHLEY et al., 2018).

Figura 11: Transmissão e Ciclo de vida da Malária



Fonte: Adaptado BioRender, 2022

Legenda: O ciclo no hospedeiro intermediário se dá por meio da picada de uma fêmea do mosquito *Anopheles* infectada. Na picada, os esporozoítos são inoculados, caem na corrente sanguínea e chegam até o fígado invadindo os hepatócitos. Após a invasão dos hepatócitos, os esporozoítos irão se diferenciar em esquizontes hepáticos, onde a função dos mesmos é se multiplicarem e darem origem aos merozoítos. Com a multiplicação dos merozoítos nos hepatócitos, os mesmos acabam lisando e liberando os merozoítos para a corrente sanguínea. Essa fase do ciclo é conhecida como Ciclo Hepático. E é o período de incubação da doença, onde não apresenta nenhum sintoma.

Após a lise dos hepatócitos com a liberação dos merozoítos na corrente sanguínea, dá-se início ao Ciclo Eritrocítico. Os merozoítos são altamente eficazes em infectar os eritrócitos, desse modo, após a infecção os mesmos se diferenciam em trofozoítos. A função do trofozoíto dentro do eritrócito é obter energia, então a hemoglobina é digerida o que leva a produção de uma substância chamada pigmento malárico. Depois de obter energia, os trofozoítos se diferenciam em esquizontes eritrocíticos. Os esquizontes eritrocíticos se multiplicam e se diferenciam em merozoítos. Os eritrócitos ficam repletos de merozoítos, o que leva a lise liberando os merozoítos na corrente sanguínea. Os merozoítos liberados na corrente sanguínea irão infectar novos eritrócitos dando início a um novo Ciclo Eritrocítico. No Ciclo Eritrocítico a reprodução é assexuada e é responsável por todos os sintomas.

Depois de alguns ciclos eritrocíticos, alguns trofozoítos se diferenciam em gametócitos. Os gametócitos (femininos e masculinos) são a forma de vida responsáveis pela reprodução sexuada no mosquito *Anopheles*. Na corrente sanguínea os gametócitos são a forma infectiva para o mosquito, que durante uma refeição de sangue acaba ingerindo os gametócitos. Dentro do mosquito, os gametócitos irão se fundir e formar um zigoto que se diferencia em oocineto, que atravessa a parede do intestino do mosquito e se diferencia em oocisto. Dentro do oocisto serão formados os esporozoítos que depois de um tempo são liberados pelo oocisto e caem na hemolinfa do mosquito até atingir a sua glândula salivar.

### 4.3.3 Sintomas

Os sintomas clínicos das infecções maláricas são observados logo após o início da infecção no estágio sanguíneo, na qual as formas merozoítas do parasita invadem os eritrócitos (DAYANANDA et al., 2018), quando o ciclo eritrocítico produz uma parasitemia acima de um certo limiar (aproximadamente 100 parasitas por  $\mu\text{L}$ ) (ASHLEY et al., 2018). Os períodos de incubação são tipicamente de 10 a 14 dias para *P. falciparum* ou *P. knowlesi*, 2 a 3 semanas para *P. vivax* e *P. ovale* e 18 dias ou mais para *P. malariae*. Relatos clássicos descrevem picos de febre periódicos em intervalos correspondentes à duração do ciclo eritrocitário da espécie infectante (

24h para *P. knowlesi*, 48 h para *P. falciparum*, *P. vivax* ou *P. ovale* e 72 h para *P. malariae*), resultantes da sincronização dos estágios de desenvolvimento (SINGH et al., 2013; ASHLEY et al., 2018).

Uma fase sintomática inicial, caracterizada por mal-estar, cefaléia, cansaço e mialgia, geralmente precede a clássica febre da malária. Estes sintomas são comuns em muitas outras infecções, não permitindo um diagnóstico clínico seguro. O ataque paroxístico agudo (acesso malárico), coincidente com a ruptura dos eritrócitos ao final da esquizogonia, é geralmente acompanhado de calafrio e sudorese. Esta fase dura de 15 minutos a 1 hora, sendo seguida por uma fase febril, com temperatura corpórea podendo atingir 41°C ou mais. Após um período de 2 a 6 horas, ocorre defervescência da febre e o paciente apresenta sudorese profusa e fraqueza intensa. Depois de algumas horas, os sintomas desaparecem e o paciente sente-se melhor. Após a fase inicial, a febre assume um caráter intermitente relacionado com o tempo de ruptura dos eritrócitos contendo esquizontes maduros. Entretanto, a constatação desta regularidade é pouco comum nos dias atuais, em decorrência de tratamento precoce, realizado ainda na fase de assincronismo das esquizogonias sanguíneas. Desta forma, o padrão mais observado é o da febre irregular cotidiana (NEVES et al., 2016).

Ao contrário do *P. falciparum*, que invade os eritrócitos e a parasitemia pode ultrapassar 20-30%, o *P. vivax* exibe especificidade exclusiva para invadir reticulócitos. Esta propriedade distinta do *P. vivax* resulta em menor biomassa do parasita, raramente excedendo 2–3% de parasitemia, mesmo em face de infecções que causam doenças graves. Apesar de ter um limiar pirogênico inferior ao do *P. falciparum*, a produção de citocinas, a ativação endotelial e as respostas inflamatórias pulmonares são maiores em infecção por *P. Vivax* em comparação com a infecção por *P. falciparum* (DAYANANDA et al., 2018).

#### **4.3.4 Tratamento**

O tratamento adequado e oportuno da malária é hoje a principal ferramenta para o controle da doença, pois além de reduzir o sofrimento e evitar a morte dos pacientes, contribui significativamente para a redução da transmissão do parasito a outras pessoas (NEVES et al., 2016).



O mesmo depende de muitos fatores, incluindo a gravidade da doença, a espécie de parasita da malária que causa a infecção e a parte do mundo em que a infecção foi adquirida. As duas últimas características ajudam a determinar a probabilidade de o organismo ser resistente a certos antimaláricos (CDC, 2022).

Nos últimos anos, a resistência aos antimaláricos tem sido uma grande preocupação no tratamento da malária. Por muitos anos, a cloroquina (CQ) foi a droga de escolha no tratamento de infecções por *P. vivax* e *P. falciparum*, uma vez que a droga é barata e eficaz. No entanto, atualmente na maioria das áreas endêmicas, os parasitas desenvolveram resistência a essa droga. Em muitas regiões do mundo, onde a resistência CQ em *P. vivax* é observada, a terapia combinada de artemisinina junto com a primaquina é usada como uma estratégia alternativa de tratamento. Terapias eficazes de combinação de artemisinina, como diidroartemisinina-piperaquina e artesunato-mefloquina, proporcionam maior profilaxia pós-exposição contra a recorrência precoce da infecção em *P. vivax* (DAYANANDA et al., 2018).

O tratamento da malária visa à interrupção da esquizogonia sanguínea, responsável pela patogenia e por manifestações clínicas da infecção. Entretanto, pela diversidade do seu ciclo biológico, é também objetivo da terapêutica proporcionar a erradicação de formas latentes do parasito no ciclo tecidual (hipnozoítos) das espécies *P. vivax* e *P. ovale*, evitando assim as recaídas tardias. Além disso, a abordagem terapêutica de pacientes residentes em áreas endêmicas pode visar também à interrupção da transmissão, pelo uso de drogas específicas contra as formas sexuadas do *P. falciparum* (NEVES et al., 2016).

As malárias causadas pelo *P. vivax*, *P. ovale* e *P. malariae* devem ser tratadas com a cloroquina. Embora o nível considerável de resistência do *P. vivax* à cloroquina já seja observado no sudeste asiático, ainda é infrequente nas demais áreas endêmicas do mundo. Esta droga é ativa contra as formas sanguíneas e também contra os gametócitos dessas espécies. Entretanto, não possui ação contra o ciclo tecidual do *P. vivax* e do *P. ovale*. Em geral, a cloroquina é de baixa toxicidade, sendo muito bem tolerada pelos pacientes e inócua quando utilizada na gravidez. Para se conseguir a cura radical da malária causada por *P. vivax* ou *P. ovale* é necessária a associação de um equizonticida tecidual, a primaquina, para

atuar sobre os seus hipnozoítos. Pelo seu rápido metabolismo no fígado, as doses terapêuticas desse medicamento precisam ser repetidas durante 7 (0,5 mg/kg/dia) ou 14 (0,25 mg/kg/ dia) dias para o sucesso terapêutico. Em consequência da toxicidade da primaquina, a baixa adesão dos pacientes ao tratamento tem contribuído para aumentar a ocorrência de recaídas (NEVES et al., 2016).

Do ponto de vista teórico, a profilaxia da malária pode ser feita em níveis individual e coletivo. Na prática, as circunstâncias que levam as pessoas e populações a viver sob o risco de adquirir a doença funcionam como limitadores do alcance dessas medidas (NEVES et al., 2016).

#### 4.4 A RELAÇÃO DO *P.vivax* COM O SISTEMA DE GRUPO SANGUÍNEO DUFFY

A malária por *P.vivax* foi anteriormente considerada rara ou ausente em populações africanas que não têm a expressão do antígeno do grupo sanguíneo Duffy. Uma mutação pontual no sítio de ligação do fator de transcrição GATA-1 do antígeno Duffy receptor para quimiocinas (DARC) do promotor do gene altera a expressão eritróide, eliminando a expressão do antígeno Duffy na superfície dos eritrócitos. No entanto, estudos recentes relataram vários casos de infecção por *P. vivax* em pessoas Duffy-negativas em diferentes partes da África, incluindo países onde a negatividade Duffy é predominante. Além disso, 29 países africanos, incluindo seis países endêmicos anteriormente não documentados (Benim, Camarões, Moçambique, Senegal, Zâmbia e Zimbábue) têm relatado casos de *P. vivax*, vetores infectados ou parasitemia assintomática. Esses relatórios indicam que a faixa endêmica de *P. vivax* se estendeu além da África Oriental e se espalhou para áreas de negatividade Duffy muito alta (LO et al., 2021).

Enquanto o *P. falciparum* é considerado o parasita da malária mais mortal, com os desfechos clínicos mais graves, o *P. vivax* é mais disseminado e frequentemente associado a altos níveis de morbidade. Comparado com *P. falciparum*, o *P.vivax* tem uma tolerância mais ampla à temperatura e um início mais precoce do desenvolvimento de gametócitos, e pode formar hipnozoítos dormentes, causando recidiva, permitindo que *P. vivax* se espalhe pelo diverso clima africano e supere o *P. falciparum*. A primaquina e a 8-aminoquinolina são antimaláricos

eficazes na eliminação de hipnozoítos e na prevenção de recaídas, mas podem promover hemólise em indivíduos com deficiência de G6PD. Esses fatores tornam a malária por *P. vivax* difícil de controlar e eliminar, destacando a preocupação de que essas 'novas' cepas de *P. vivax* que infectam hospedeiros Duffy-negativos possam se espalhar por grande parte da África e resultar em impactos econômicos e de saúde pública negativos substanciais (LO et al., 2021).

Além disso, a baciloscopia de sangue padrão demonstrou a formação de estágio de anel em reticulócitos infectados de pacientes Duffy-negativos, confirmando que o *P. vivax* detectado em alguns casos era invasivo e não meramente merozoítos transitórios no sangue. A malária Vivax também foi identificada em mosquitos, sugerindo transmissão ativa. Diante desses achados, é necessário um melhor entendimento da biologia vivax na África (BRAZEAU et al., 2018).

Existe uma grande lacuna de conhecimento sobre os mecanismos de invasão de *P. vivax* em eritrócitos Duffy-negativos. Em *P. falciparum*, a invasão de eritrócitos envolve múltiplas interações entre ligantes do parasita e receptores do hospedeiro. Já no *P. vivax*, apenas um único interação ligante-receptor de *P. vivax* foi com detalhe estudada até agora, a Proteína de ligação Duffy do *P. vivax* (PvDBP) (ABOU-ALI et al., 2019).

#### **4.4.2. A Via alternativa utilizada pelo *P. vivax* para invadir os eritrócitos independentes do antígeno Duffy**

O sistema de grupo sanguíneo Duffy está associado à invasão de reticulócitos por *P. vivax*. Estudos em populações onde a malária é comum demonstraram que eritrócitos que não possuem antígenos Duffy são relativamente resistentes à invasão por este *Plasmodium* (ABOU-ALI et al., 2019).

Com a observação consistente de resistência à malária por *P. vivax* associada à negatividade de Duffy, suscetibilidade reduzida a *P. vivax* associada a menor expressão de Duffy e/ou afinidade reduzida entre o antígeno Duffy e o ligante de invasão do parasita, é compreensível que o antígeno Duffy tenha chegado a ser considerado como um receptor essencial para a invasão de eritrócitos de *P. vivax* (ZIMMERMAN et al., 2013).

As interações com eritrócitos Duffy-positivos e Duffy-negativos mostraram que o parasita é capaz de reorientar sua extremidade apical em aposição à membrana dos eritrócitos de ambas as células Duffy-positivas e Duffy-negativas. No entanto, a ausência do antígeno Duffy limita ainda mais a formação de junções que desencadeiam os eventos necessários para completar a invasão (ZIMMERMAN et al., 2013).

A invasão dos eritrócitos pelos merozoítos de *Plasmodium* - um evento essencial no ciclo de vida de todos os parasitas da malária - é um processo altamente complexo, processo de várias etapas que é dependente de uma cascata de interações moleculares específicas. Este processo de invasão de várias etapas requer atividades coordenadas de fixação da célula hospedeira, reorientação colocando a extremidade apical do parasita adjacente à membrana eritrocitária e penetração ativa da célula hospedeira. Central para este processo é o estabelecimento de uma estrutura chamada junção apertada ou móvel, que forma uma conexão estreita entre o parasita invasor e as membranas da célula hospedeira. Para *P. vivax*, a formação dessa junção irreversível é mediada pela PvDBP, uma proteína de aproximadamente 140 kDa localizada em organelas apicais de merozoítos denominadas micronemas. Durante a invasão, o PvDBP é secretado pelos micronemas e se liga ao seu receptor na superfície do reticulócito, o DARC (SOUSA et al., 2014).

O antígeno Duffy reside em um aglomerado de outras proteínas da membrana dos eritrócitos como parte de um complexo multiproteico proteico 4.1R. Este complexo inclui a Banda 3, a glicoforina C e outras proteínas de grupos sanguíneos (Kell, homólogos de ligação a reticulócitos (Rh), KX). Por sua dependência de interação com o antígeno Duffy, a Proteína de ligação Duffy (DBP) do parasita pode ter ganhado ou otimizado uma conexão molecular com outros membros do complexo 4.1R (ZIMMERMAN et al., 2013). Até recentemente, o gene que codifica o PvDBP era descrito como gene de cópia única. No entanto, novas sequências genômicas inteiras de isolados de campo fornecem evidências de uma duplicação do gene DBP em *P. vivax*. A frequência da duplicação de DBP foi maior em regiões geográficas onde foram relatadas as frequências mais altas de pessoas Duffy-negativas infectadas com *P. vivax*. Esses dados sugerem que o PvDBP está

evoluindo rapidamente, possivelmente em resposta às restrições impostas pela negatividade do DARC de eritrócitos em algumas populações humanas (SOUSA et al., 2014).

É possível que o novo polimorfismo da PvDBP permita que essa proteína interaja com receptores alternativos; no entanto, estudos realizados até o momento não identificaram variantes de PvDBP capazes de se ligar a células Duffy-negativas (ZIMMERMAN et al., 2013).

Estudos recentes de biologia celular indicam que as proteínas do parasita liberadas sucessivamente dos micronemas, rhoptérias e grânulos densos são essenciais para o reconhecimento, fixação e motilidade da junção parasita-célula hospedeira. Várias proteínas de ligação a reticulócitos foram localizadas nos micronemas, essas proteínas parecem ser os ligantes alternativos prováveis se o PvDBP se tornar irrelevante em um mecanismo de invasão independente de Duffy . É possível que o *P. vivax* seja capaz de usar vias alternativas de invasão que permaneçam críticas na presença do receptor Duffy e se tornem operacionais na sua ausência (ZIMMERMAN et al., 2013).

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A malária é uma das principais doenças parasitárias, que afeta cerca de 91 países pelo mundo. A espécie *P.vivax* é a mais difundida pelo mundo, exceto na África subsaariana, onde era anteriormente considerada rara ou ausente em populações africanas negativas para o antígeno Duffy em seus eritrócitos.

Porém, essa proteção acabou por não ser absoluta e relatos de malária por *P.vivax* em indivíduos Duffy-negativos indicam que ligantes alternativos podem mediar a invasão. É possível que um novo polimorfismo da proteína de ligação Duffy do *P.vivax* permita que a mesma interaja com receptores alternativos nos eritrócitos, entretanto estudos futuros devem esclarecer a expressão e o papel de várias proteínas ligantes de *P. vivax* e seus respectivos receptores na invasão de eritrócitos Duffy-negativos como sugere LO et al., 2021.

## REFERÊNCIAS

- ABOU-ALI, Rechfy K. *et al.* Impact of Duffy polymorphisms on parasite density in Brazilian Amazonian patients infected by Plasmodium vivax. **Malaria Journal**, [S. l.], p. 1-9, 17 set. 2019. Acesso em: 26 ago. 2022
- ASHLEY, Elizabeth A; PHYO,, Aung Pyae; WOODROW, Charles J. Malaria. **The Lancet**, [S. l.], v. 391, p. 1608-1621, 6 abr. 2018. Acesso em: 08 dez. 2021
- AZEVEDO, Maria Regina Andrade de. **Hematologia básica fisiopatologia e diagnóstico laboratorial**. 6. ed. [S. l.]: Thieme Brazil, 2019.
- BUA, Rosaria Ornella; MESSINA , Angela; STURIALE, Luisa; BARONE, Rita; GAROZZO, Domenico; PALMIGIANO, Angelo. N-Glycomics of Human Erythrocytes. **International Journal of Molecular Sciences**, [S. l.], p. 1-14, 28 jul. 2021. Acesso em 20/09/2022
- BRAZEAU, Nicholas F *et al.* Plasmodium vivax Infections in Duffy-Negative Individuals in the Democratic Republic of the Congo. **The American Society of Tropical Medicine and Hygiene**, [S. l.], v. 99, p. 1128-1133, 10 nov. 2018. Acesso em: 9 dez. 2021.
- CORRONS, Juan Luis Vives; CASAFONTE, L Berga; FRASNEDO, E Feliu. Concise review: how do red blood cells born, live, and die?. **Annals of Hematology**, [S. l.], p. 2425–2433, 3 ago. 2021. Acesso em: 18 abr. 2022.
- CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Malaria**. *In*: Malaria. [S. l.], 2 fev. 2022. Disponível em: <https://www.cdc.gov/malaria/about/index.html>. Acesso em: 24 out. 2022.
- DAYANANDA, Kiran *et al.* Epidemiology, Drug Resistance, and Pathophysiology of Plasmodium vivax Malaria. **Journal of Vector Borne and Diaseses**, [S. l.], v. 55, p. 1-8, 18 jun. 2018. Acesso em: 15 dez. 2021.
- GIRELLO, Ana Lúcia; KUHN, Telma Ingrid b. de Bellis. **Fundamentos da imuno-hematologia eritrocitária**. 4. ed. atual. e aum. [S. l.]: Senac, 2016. 327 p.
- INTERNATIONAL SOCIETY OF BLOOD TRANSFUSION. Table of blood group systems. *In*: **Table of blood group systems**. 10. [S. l.], 30 set. 2022. Disponível em: <https://www.isbtweb.org/resource/tableofbloodgroupsystems.html>. Acesso em: 13 nov. 2022.
- JUNQUEIRA, Luiz Carlos Uchoa. **Histologia Básica: Texto e atlas**. [S. l.]: Guanabara Koogan, 2017. 568 p. v. 13.
- LO, Eugenia *et al.* Contrasting epidemiology and genetic variation of Plasmodium vivax infecting Duffy-negative individuals across Africa. **International Journal of**

**Infectious Diseases**, Elsevier, v. 108, p. 63-71, 7 maio 2021. Acesso em: 8 dez. 2021.

LUX IV, Samuel E. Anatomy of the red cell membrane skeleton: unanswered questions. **Blood**, [S. l.], v. 127, p. 187-199, 14 jan. 2016. Acesso em: 17 set. 2022.

MARIEB, Elaine N.; WILHELM, Patricia Brady; MALLAT, Jon. **Anatomia Humana**. 7. ed. [S. l.]: Pearson, 2014. 914 p.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Guia para uso de Hemocomponentes**. 2. ed. [S. l.: s. n.], 2015. 138 p. Disponível em: [https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia\\_uso\\_hemocomponentes\\_2ed.pdf](https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_uso_hemocomponentes_2ed.pdf). Acesso em: 13 nov. 2022.

NEVES, David Pereira; MELO, Alan Lane de; LINARDI, Pedro Marcos; VITOR, Ricardo W. Almeida. **Parasitologia Humana**. 13. ed. [S. l.]: Atheneu, 2016. 556 p.

RIBEIRO, Flávia Coelho; MARQUES, Marcos Antonio Pereira. **Hematologia e Imunologia aplicadas em imuno-hematologia**. [S. l.]: EPSJV, 2013.

RODRIGUES, Adriana Dalpicolli; DAGNINO, Ana Paula Aquistapase; BATISTA, Bruna Gerardon; CECHINEL, Laura Reck; MEZZOMO, Lisiane Cervieri. **Hematologia Básica**. 2. ed. [S. l.]: Grupo A, 2019. 391 p.

RODRIGUES, Arieny Dias. Sistemas sanguíneos, incompatibilidade e procedimentos alternativos à transfusão. **Brazilian Journal of Development**, [S. l.], p. 13007-13027, 2 fev. 2021. Acesso em: 30 Set. 2022.

SOUSA, Taís Nóbrega de *et al.* The Duffy binding protein as a key target for a Plasmodium vivax vaccine: lessons from the Brazilian Amazon. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, [S. l.], p. 608-617, 10 ago. 2014. Acesso em: 27 Out. 2022.

SINGH, Balbir *et al.* Human Infections and Detection of Plasmodium knowlesi. **Journals .ASM.org**, [S. l.], v. 26, n. 2, p. 165-184, 26 abr. 2013. Acesso em: 16/11/2022

SMART, Elizabeth *et al.* Blood group systems. **ISBT Science Series**, [S. l.], v. 15, p. 123-150, 11 dez. 2020. Acesso em: 30 Set. 2022.

WAGNER, Franz; FLEGEL, Willy A. The molecular basis of the Rh blood group phenotypes. **Immunohematology**, [S. l.], v. 20, p. 23-36, 12 abr. 2004. Acesso em: 30 Set. 2022.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **World Malaria Report 2021**. [S. l.: s. n.], 2021. 322 p.

ZAGO, Marco Antônio; FALCÃO, Roberto Passetto; PASQUINI, Ricardo. **Tratado de Hematologia**. [S. l.]: Atheneu, 2013. 924 p.



ZIMMERMAN, Peter A; FERREIRA, Marcelo U; HOWES, Rosalind E.; MERCEREAU-PUJALON, Odile. Red Blood Cell Polymorphism and Susceptibility to Plasmodium vivax. **National Institutes of Health**, [S. l.], p. 27-86, 31 jul. 2013. Acesso em: 06 Jul. 2022.