

CENTRO UNIVERSITÁRIO SÃO CAMILO

Curso de Biomedicina

Juliana Calit Paim

**A DIFICULDADE NA ESCOLHA DE DROGAS CONTRA A MALÁRIA,
UM PROBLEMA DE SAÚDE PÚBLICA MUNDIAL**

São Paulo

2018

Juliana Calit Paim

**A DIFICULDADE NA ESCOLHA DE DROGAS CONTRA A MALÁRIA,
UM PROBLEMA DE SAÚDE PÚBLICA MUNDIAL**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Biomedicina do Centro Universitário São Camilo, orientado pela Prof^a Dr^a Renata Cristina Pardos Baida, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Biomedicina

São Paulo

2018

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente minha mãe, sem o trabalho e esforço dela nada disso seria possível! Ela e meu namorado sempre foram/estão dispostos a me ajudar, minimizar ao máximo meus problemas e clarear meus dias mais sombrios.

Agradeço imensamente minha família e amigos, sempre estando ao meu lado durante essa jornada.

Ao corpo docente e coordenação do curso de Biomedicina do Centro Universitário São Camilo dedico meus sinceros agradecimentos, a contribuição acadêmica que me foi passada durante esses 4 anos foi impecável, admirável e insubstituível.

Agradeço a minha orientadora deste trabalho, Prof^a Dr^a Renata Pardos Baida, graças a sua paciência e orientação o trabalho foi sintetizado com êxito.

“Diga-me e eu esquecerei, ensina-me e eu poderei lembrar, envolva-me e eu aprenderei.”

- Benjamin Franklin

CALIT, Juliana. **A dificuldade na busca de fármacos contra a malária, um problema de saúde pública mundial**. 2018. 50 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Biomedicina) – Centro Universitário São Camilo – *Campus Ipiranga*, São Paulo, 2018.

A malária é uma parasitose sistêmica de grande importância mundial e, infelizmente, responsável por uma taxa de mortalidade significativa. Ainda que o ciclo esteja definido e importantes antígenos tenham sido caracterizados, existem perguntas chave sobre como este parasita consegue garantir sua sobrevivência. Diante desse contexto, este levantamento bibliográfico tem como objetivo relacionar características clínicas da doença com formas de tratamento desenvolvidas, descrevendo o mecanismo de ação dos principais antimaláricos, quais são as desvantagens em relação ao uso desses fármacos, ressaltando ainda, quais os mecanismos de resistência que surgiram ao longo do tempo e qual foi a atual forma de tratamento desenvolvida para tratar os doentes por malária. Contudo, o problema da malária parece estar longe de ser solucionado, e ainda sim são perguntas que movem este problema, e não as respostas. Hoje, a ciência procura observar este problema de outros ângulos, encontrando formas mais rápidas de rastreamento de alvos que possam bloquear o ciclo do parasita, e inclusive, os alvos que são capazes de bloquear a transmissão, promissores para uma futura erradicação da malária.

Palavras-chave: malária, fármacos contra a malária, mecanismos moleculares de resistência, drogas contra malária, terapia à base de artemisinina, alvos bloqueadores da transmissão, etc.

CALIT, Juliana. **The difficulty in finding drugs against malaria, a global public health problem.** 2018. 50 f. Course Completion Work (Bachelor in Biomedicine) – Centro Universitário São Camilo – *Campus Ipiranga*, São Paulo, 2018.

Malaria is a systemic parasite of mostly global importance and, unfortunately, responsible for a significant mortality rate. Although the cycle is defined, and important antigens have been characterized, there are key questions about how this parasite manages to ensure its survival. So, looking the entire picture, this bibliographic survey aims to relate clinical characteristics of the disease with developed forms of treatment, describing the mechanism of action of the main antimalarials, what are the disadvantages in relation to the use of these drugs, and what mechanisms of resistance have emerged over time and what was the current form of treatment developed to treat malaria patients. However, the problem of malaria seems far from being solved, and they are still questions that move this question, not the answers. Today, science seeks to look at this problem from other angles, finding faster ways of tracking targets that may block the parasite's cycle, and even those targets that are capable of blocking transmission, promising future malaria eradication.

Keywords: malaria, malaria drugs, molecular mechanisms of resistance, malaria drugs, artemisinin-based therapy. Transmission blocking targets, etc.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Mapa ilustrando a situação da mundial da malária.....	1
Figura 2 - Ilustração do ciclo biológico do <i>Plasmodium</i>	3
Figura 3 – Estágios de maturação de <i>P. falciparum</i> e gametócitos de <i>P. vivax</i>	5
Figura 4 – Lâmina de extensão sanguínea humana corada com <i>Giemsa</i> registrando um esquizonte de <i>P. falciparum</i>	9
Figura 5 – “Rosetas” formadas pelos eritrócitos infectados com <i>P. falciparum</i>	11
Figura 6 - Ilustração do interior merozoíto de <i>Plasmodium falciparum</i> , com as proteínas envolvidas na invasão do merozoíto ao eritrócito.....	12
Figura 7 - Ilustração da família de proteínas TRAP e suas funções nas formas de vida do <i>Plasmodium</i>	15
Figura 8 – Ilustração dos alvos dos fármacos disponíveis contra malária no ciclo biológico do parasita.....	16
Figura 9 – Possíveis mecanismos de ação da artemisina no <i>P. falciparum</i>	18
Figura 10 – Estrutura dos estudos de genética química direta e reversa.....	26
Figura 11 – Representação esquemática do ciclo do <i>Plasmodium</i> com ênfase no ciclo sexual do parasita.....	27

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	1
1.1.	Todos têm sua história, e a malária também.....	1
1.2.	A situação mundial da malária.....	1
1.3.	O ciclo biológico do <i>Plasmodium</i>	3
2	OBJETIVO.....	7
2.1.	Objetivos específicos.....	7
3	METODOLOGIA.....	8
4	CHARACTERIZANDO A DOENÇA E OS PRINCIPAIS MECANISMOS MOLECULARES ENVOLVIDOS NA INVASÃO.....	9
4.1.	Uma breve caracterização das infecções causadas por <i>Plasmodium</i>	9
3.2.	Mecanismos moleculares básicos da invasão.....	12
3.3.	Proteínas candidatas vacinais.....	14
5	FÁRMACOS DISPONÍVEIS PARA O TRATAMENTO DE MALÁRIA.....	16
5.1.	Sobre os fármacos, um apanhado geral.....	16
5.2.	Artemisinina seus derivados.....	17
5.3.	Cloroquina.....	18
5.4.	Quinina e Quinidina.....	19
5.5.	Mefloquina.....	19
5.6.	Primaquina.....	19
5.7.	Atovaquona.....	20
5.8.	Proguanil.....	20

5.9. Halofantrina e Lumefantrina.....	20
6 OS MECANISMOS DE RESISTÊNCIA AOS FÁRMACOS DESENVOLVIDOS PELO <i>PLASMODIUM</i>	22
7 A MELHOR FORMA DE DRIBLAR A RESISTÊNCIA É A TERAPIA COMBINADA	24
8 A TRANSMISSÃO DE MALÁRIA CONTINUA, E A BUSCA POR NOVOS ALVOS DE BLOQUEIO E DE FÁRMACOS TAMBÉM.....	26
8.1. <i>Chemical genetics</i> e <i>Chemical genomics</i>	26
8.2. A importante busca pelos alvos bloqueadores da transmissão	27
9 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	30
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	31

1 INTRODUÇÃO

1.1. Todos têm sua história, e a malária também

De acordo com o *CDC (Centers for Disease Control and Prevention)*, a doença denominada malária, está presente na população há mais de 4.000 anos. O nome “malária” vem do italiano, que significa “mal-ar”.

Em 1880, Charles Louis Alphonse Laveran foi o primeiro médico a notar parasitas no sangue de pacientes que sofriam de malária. Em 1886, Camillo Golgi estabeleceu que poderiam existir mais formas de malária e que a febre que os pacientes apresentavam estava correlacionada com a ruptura dos eritrócitos sanguíneos pelo parasita. A taxonomia dos parasitas foi realizada entre 1890 e 1897, e atualmente, conhecemos 5 espécies de *Plasmodium* capazes de causar a malária em humanos: *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium ovale*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium malariae* e *Plasmodium knowlesi* (*Centers for Disease Control and Prevention*, 2017).

A transmissão da doença pela picada do mosquito foi demonstrada em 1897 por meio de pesquisas em pássaros, comprovando-se que o mosquito podia transmitir malária de pássaro para pássaro. Concluiu-se então que o parasita precisaria passar por um ciclo esporogônico, que compreende o intervalo de tempo que o parasita leva para se desenvolver dentro do mosquito. (*Centers for Disease Control and Prevention*, 2017).

1.2. A situação mundial da malária

A malária é um problema de saúde pública global. Em 2015, 95 países notificaram sua transmissão e metade da população mundial encontra-se sob o risco de contrair a doença (Fig. 1) (*World Health Organization*, 2016).

Figura 1 - Mapa ilustrando a situação da mundial da malária

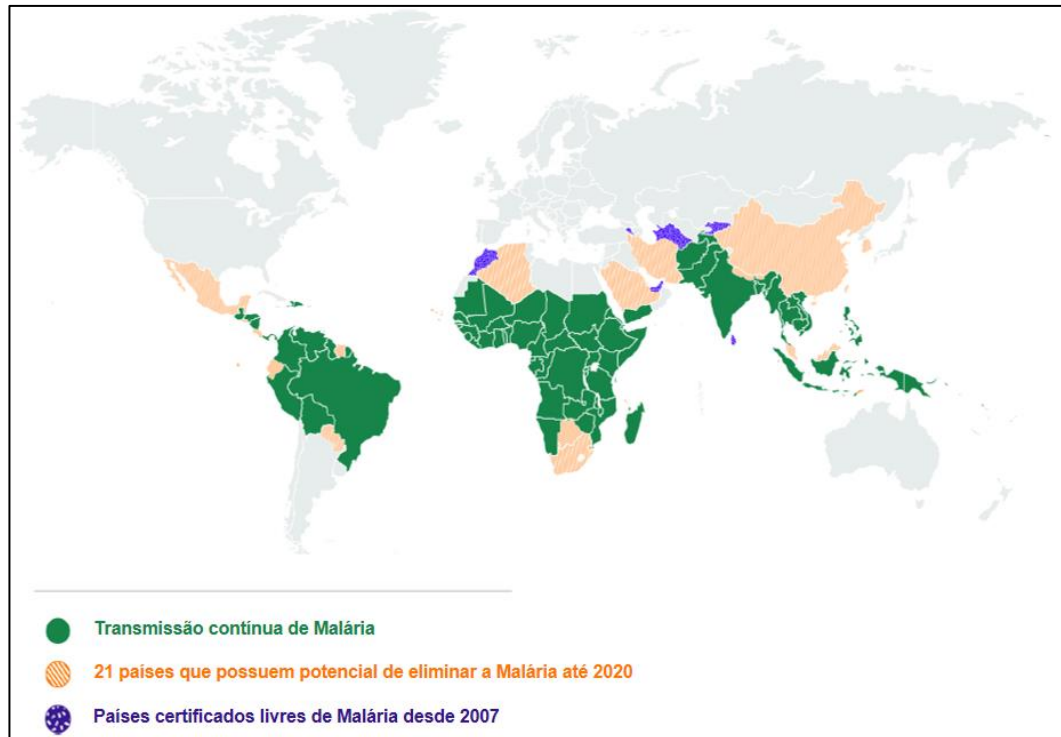


Figura 1 - Mapa mundial colorido de acordo com a situação da malária em cada um dos países. Na cor laranja estão os países que possuem o potencial de eliminação da doença até 2020; Na cor azul estão os países que se encontram livres de malária desde 2007; Na cor verde estão os países onde ocorre a transmissão contínua da doença;

Fonte: (RABINOVICH et al., 2017)

O mapa acima mostra, na cor laranja, 21 países com potencial para eliminar a transmissão de malária até 2020, um dado promissor, pois demonstra o progresso atingido ao se tomar medidas de tratamento e, principalmente, de prevenção da doença nesses locais. Considerando esses 21 países e os que estão ilustrados em azul, livres de malária desde 2007, ainda há 91 países que apresentam transmissão contínua da doença (Fig. 1). Isso mostra que, embora haja progresso, a malária ainda é uma doença negligenciada e um sério problema de saúde pública, registrando aproximadamente 216 milhões de casos em 2016 com 445 mil mortes (*World Health Organization*, 2016).

No território brasileiro, a área endêmica localiza-se na região amazônica, responsável por 99,8% dos casos. No restante do Brasil, os casos notificados, com exceção da região amazônica, são esporádicos e isolados. Na América Latina e na Ásia os casos reportados são principalmente de *P. vivax*, já na África, os casos de

malária reportados são causados principalmente pelo *P. falciparum* (PORTES et al., 2010).

As áreas de alto risco de transmissão de malária reúnem condições indispensáveis para que se formem focos naturais da doença: zonas onde há população humana e de mosquitos do gênero *Anopheles* que mantêm contínua a transmissão e a conseqüente existência do parasita (REY, 2011). Essas áreas são, em geral, as florestas tropicais úmidas. As áreas de médio risco correspondem à floresta menos densa por ocupação humana ou áreas rurais, e as de baixo risco são aquelas onde a transmissão de malária é instável e eventual (SARAIVA et al., 2009).

1.3. O ciclo biológico do *Plasmodium*

O ciclo do *Plasmodium* é considerado complexo, compreendendo um hospedeiro definitivo, o mosquito, e um hospedeiro intermediário, humano. Inicia-se quando a fêmea do gênero *Anopheles* infectada com o parasita em suas glândulas salivares faz o repasto sanguíneo no humano e, durante sua alimentação, inocula o esporozoíto, forma infectante do *Plasmodium*, o que marca o início do estágio exoeritrocítico, ou ciclo hepático (Fig. 2, A) (REY, 2011).

Figura 2 - Ilustração do ciclo biológico do *Plasmodium*

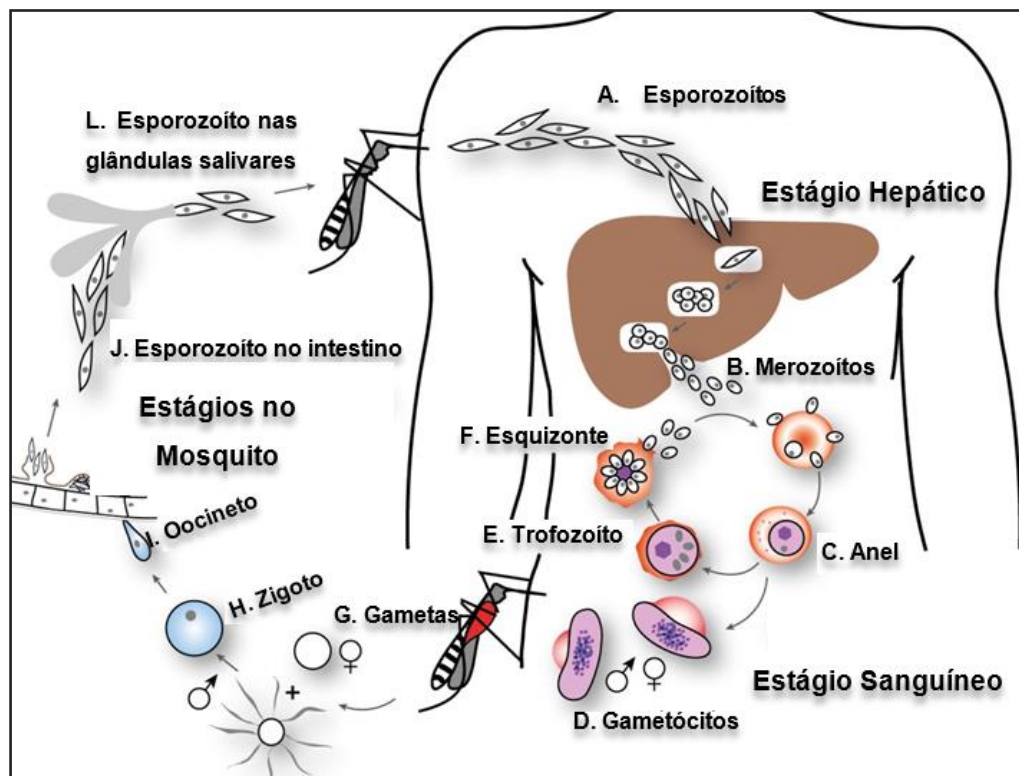


Figura 2 - Quando o mosquito fêmea do gênero *Anopheles* pica um ser humano, inocula os esporozoítos, formas móveis que infectam os hepatócitos humanos, que se desenvolvem e se tornam os merozoítos do ciclo eritrocítico. Os merozoítos invadem os eritrócitos e se diferenciam em trofozoítos e, posteriormente, em esquizontes, que rompem a célula infectada liberando merozoítos livres, que invadem novos eritrócitos. Os gametócitos são formas não replicativas presentes na corrente sanguínea do hospedeiro, são formas sexuais do ciclo do parasita que, quando ingeridos pelo mosquito durante o repasto sanguíneo, possibilitam o ciclo sexual do parasita. No mosquito, os gametócitos se ativam, formam gametas e fecundam, formando o zigoto, oocineto, oocisto e, por fim, os esporozoítos, que se alojam nas glândulas salivares do mosquito, através da hemolinfa.

Fonte: Modificado de (COWMAN; BERRY; BAUM, 2012).

Os esporozoítos invadem os hepatócitos e lá formam os esquizontes, que realizam uma série de divisões, rompem-se e liberam merozoítos na corrente sanguínea, marcando o início do estágio sanguíneo do ciclo do parasita (Fig.2, B) (REY, 2011).

Os merozoítos são formas infectantes do parasita e, uma vez na corrente sanguínea, rapidamente invadem eritrócitos. Dependendo da espécie de *Plasmodium*, pode haver uma seletividade para a infecção destes eritrócitos: as espécies *P. vivax* e *P. ovale* apresentam merozoítos seletivos para eritrócitos jovens, os chamados reticulócitos. Os merozoítos de *P. malariae* possuem seletividade para eritrócitos maduros, com membranas celulares relativamente rígidas. Os merozoítos de *P. falciparum*, diferentemente das outras espécies, não possuem seletividade e sua infecção ocorre em qualquer momento da existência celular dos eritrócitos (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2010).

No eritrócito, o parasita encontra um ótimo ambiente para viver e se alimenta da hemoglobina e outros nutrientes ali presentes. Sua forma mais jovem, denominada de “anel”, dada a sua semelhança à forma desse objeto, dá origem ao trofozoíto, depois ao esquizonte, que sofre várias divisões e rompe a célula, liberando novos merozoítos na corrente sanguínea, que repetem o ciclo assexuado diversas vezes. O ciclo assexuado é responsável pelas manifestações clínicas clássicas da malária: febre, calafrios, sudorese, cansaço e esplenomegalia (Fig.2, C, E, F) (REY, 2011).

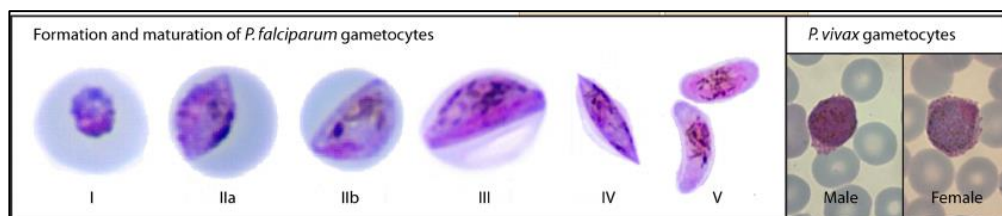
Na espécie *P. vivax* existe uma forma de vida do parasita latente, que se encontra ainda no estágio hepático, denominada hipnozoíto, responsável pelas recaídas em pacientes infectados com o parasita dessa espécie. Muitas vezes, após tratamento “eficaz”, o paciente apresenta novamente as formas eritrocíticas no

sangue, o que muito provavelmente se deve à permanência dos hipnozoítos no fígado (NEVES *et al.*, 2012).

Os merozoítos liberados na corrente sanguínea, ao realizarem uma nova invasão aos eritrócitos, podem originar formas não proliferativas de vida muito mais raras do que as assexuadas, os gametócitos. Esse evento pode ser observado durante os estágios de anemia, requerendo um certo período de infecção antes de sua ocorrência (PRICE *et al.*, 1999). As formas sexuadas do *Plasmodium* não são proliferativas, não possuem relação com os sintomas da doença e demoram alguns dias para se maturarem e tornarem-se viáveis em uma possível fertilização no vetor, contudo, são formas que permanecem remanescentes no sangue do hospedeiro intermediário mesmo após o tratamento farmacológico (não se tratando de um fármaco gametocida), garantindo que ainda haja transmissão mesmo após a parasitemia do paciente estar zerada (Fig.2, D) (NILSSON *et al.*, 2015).

A fertilização do parasita ocorre quando um mosquito fêmea do gênero *Anopheles* realiza o repasto sanguíneo no hospedeiro humano, ingerindo formas assexuadas do parasita e, em menor proporção, os gametócitos (Fig.3) (REY, 2011).

Figura 3 – Estágios de maturação de *P. falciparum* e gametócitos de *P. vivax*



Fonte: Modificado de (BOUSEMA; DRAKELEY, 2011).

Os gametócitos, ao chegarem no estômago do vetor se deparam com três gatilhos disparadores do ciclo esporogônico: a mudança para um pH mais básico (aproximadamente 8.3), a presença de ácido xanturênico e a queda da temperatura de 37°C para 21°C. A exposição a esse ambiente ativa um receptor intracelular que provoca um aumento no cálcio citosólico. Uma proteína sensível à elevação de cálcio citosólico se ativa e dá início aos processos mitóticos, provocando a diferenciação do gametócito macho em microgametas, em um processo denominado exflagelação, e do gametócito fêmea em macrogameta (Fig.2, G) (KUEHN; PRADEL, 2010).

Uma vez que a gametogênese esteja completa, ocorre a fertilização dos gametas, gerando o zigoto. O zigoto se matura em oocineto, forma sexual móvel do parasita, atinge a parede do intestino do mosquito, matura-se em oocisto e, depois de várias divisões se rompe e libera os esporozoítos, que através da hemolinfa, chegam até as glândulas salivares (Fig.2, H, I, J, L) (REY, 2011).

O ciclo deste protozoário é muito complexo, expondo várias oportunidades para a tentativa de bloqueio. Mas, infelizmente, não apenas o ciclo é complexo, o parasita em si também o é. Ainda que vários compostos mostrem alguma atividade de bloqueio do seu ciclo de vida suficientemente boas para a implementação de um tratamento farmacológico para a população, o parasita ainda consegue garantir sua sobrevivência, criando mecanismos de resistência contra os fármacos desenvolvidos.

1.4. O diagnóstico das infecções por malária

De acordo com o Manual de Diagnóstico Laboratorial de Malária, redigido pelo Ministério da Saúde e Secretaria de Vigilância em Saúde do Brasil em 2009, as formas de diagnosticar a malária podem ser variadas. O diagnóstico começa com a anamnese do paciente, sendo úteis informações como, se o paciente (que já apresenta alguns sintomas) esteve em áreas endêmicas e quais foram esses lugares, auxiliando no rastreamento da espécie de *Plasmodium* responsável pela doença. Em casos de suspeita de malária em áreas endêmicas, o diagnóstico fica mais rápido, dispensando a longa anamnese. O exame confirmatório de malária preconizado é a gota espessa, observar a lâmina no microscópio de luz e procurar por parasitas no sangue. Os exames que podem complementar o diagnóstico são: o preparo do esfregaço delgado e os testes rápidos, porém, devido ao alto custo, a gota espessa continua sendo o diagnóstico mais utilizado.

2 OBJETIVO

Realizar uma revisão da literatura através bases de dados e bibliotecas científicas, discorrendo sobre doença em linhas gerais e construindo um histórico dos fármacos designados para o tratamento da malária, que influenciaram positivamente o surgimento de mecanismos resistência do parasita. Como desfecho dessa revisão bibliográfica, abordar as novas estratégias de tratamento contra a malária e novos desenhos experimentais de estudos que vêm sendo desenvolvidos para identificar novos alvos de bloqueio da doença, não deixando de lado a “nova” busca de alvos bloqueadores da transmissão.

2.1. Objetivos específicos

Descrever os aspectos importantes e fundamentais sobre a biologia do *Plasmodium spp.* e as diferenças determinantes entre as espécies mais prevalentes, que ajudem a compreender os alvos de bloqueio por fármacos desenvolvidos contra a malária.

Sintetizar um histórico sobre esses fármacos, estratégias de bloqueio do ciclo do parasita e os principais mecanismos de resistência desenvolvidos ao longo dos anos.

Trazer informações sobre a atual terapia farmacológica implementada e sobre as técnicas que prometem agilizar a busca de novos fármacos que apresentem um potencial de eliminação da doença, bem como a importância da busca de alvos bloqueadores da transmissão.

3 METODOLOGIA

Foi realizada uma revisão da literatura utilizando as principais bases de dados *online* como PubMed e Google Acadêmico, a revista eletrônica Scielo e revistas eletrônicas específicas de acordo com o direcionamento das bases de dados, nas línguas portuguesa e inglesa. Foram utilizados também livros dos acervos bibliográficos da biblioteca Padre Inocente Radrizzani, no Centro Universitário São Camilo.

A busca de artigos nas bases de dados fora de publicações entre 2007/2008 até os dias atuais, com os seguintes descritores: malária, fármacos contra a malária, mecanismos moleculares de resistência, malaria drugs, molecular mechanisms of resistance, dentre outros relacionados com o tema, em inglês e português.

Artigos cuja a data de publicação seja muito inferior a 10 anos e que, principalmente, as informações contidas já são consideradas ultrapassadas ou em desuso pela ciência, não foram utilizados para escrever essa revisão da literatura,

4 CARACTERIZANDO A DOENÇA E OS PRINCIPAIS MECANISMOS MOLECULARES ENVOLVIDOS NA INVASÃO

4.1. Uma breve caracterização das infecções causadas por *Plasmodium*

De maneira geral, existem 4 características clínicas principais relacionadas à malária que auxiliam no diagnóstico geral da doença, descritas por Kumar (2013):

1. Em pacientes com malária é comum a presença do pigmento malárico, observado na extensão sanguínea do sangue de um indivíduo infectado, hemozoína ou hematina, derivado da digestão de hemoglobina (Fig. 4).
2. A esplenomegalia maciça e a hepatomegalia ocasional são marcantes em pacientes infectados com malária. Isso devido à intensa atividade do sistema imunológico do hospedeiro, desenvolvendo a hiperplasia de fagócitos mononucleares.
3. Os intervalos de tempo entre a invasão do merozoíto ao eritrócito e a maturação do esquizonte até a nova liberação de merozoítos na corrente sanguínea demoram, em média, 48 horas para infecções por *P. vivax*, *P. ovale* e *P. falciparum*. Infecções por *P. malariae* costumam ter intervalos de 72 horas. Esses períodos de liberação de merozoítos na corrente sanguínea coincidem com os episódios de febre do paciente. A febre aparece devido a liberação do pigmento malárico e outros restos tóxicos que estavam presentes no eritrócito infectado na corrente sanguínea, desencadeando um processo inflamatório quase que imediato no hospedeiro.
4. Os pacientes infectados com o parasita apresentam anemia hemolítica, acompanhada dos sinais clínicos característicos, como o cansaço anormal, desânimo e presença de bilirrubina na urina.

Figura 4 – Lâmina de extensão sanguínea humana corada com *Giemsa* registrando um esquizonte de *P. falciparum*

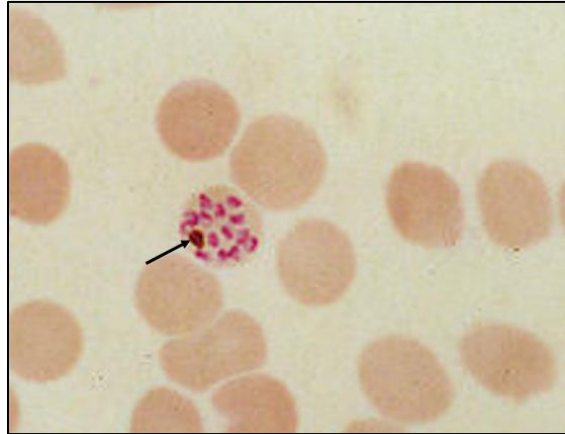


Figura 4 - A seta aponta para o clássico pigmento malárico, ou hemozoína, produto da digestão do grupo heme pelo parasita. A hemozoína é visível na imagem em um único ponto de cor âmbar. Os pontos corados em roxo, também dentro do mesmo eritrócito, são os merozoítos. Portanto, a célula em questão trata-se de um esquizonte de *P. falciparum*.

Fonte: Modificado de (*Original Work By Ernst Hempelmann*)

Existem também características nas infecções casadas por cada uma das espécies de *Plasmodium* que se mostram úteis na clínica, contribuindo para o direcionamento do tratamento farmacológico de forma mais precisa e eficaz.

Nas infecções por *Plasmodium vivax* e *Plasmodium ovale*, geralmente ocorre um período de incubação de 10 a 17 dias, a partir do qual os pacientes começam a se queixar de sintomas que remetem vagamente uma gripe, como cefaleia, mialgia, fotofobia, anorexia, episódios de náuseas e êmese (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2010).

Cada um dos esquizontes de *P. vivax* contém 24 merozoítos, em média, enquanto que os esquizontes de *P. ovale* possuem 12 merozoítos. Os gametócitos de *P. vivax* são arredondados e, os de *P. falciparum*, alongados, lembrando a forma de uma banana (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2010).

Conforme a parasitemia do paciente aumenta, a cada repetição do ciclo sanguíneo são liberados merozoítos juntamente com restos celulares tóxicos e hemoglobina na corrente sanguínea, o que leva a ocorrência do chamado acesso malárico, caracterizado por calafrios, febre entre 39,4°C a 41,2°C, sudorese intensa e exaustão. Esses acessos ocorrem geralmente a cada 48 horas e são também conhecidos como “febre terça benigna”. (REY, 2011).

Nos casos de malária por *P. malariae*, existe uma preferência por eritrócitos mais maduros e com membranas celulares levemente rígidas. Os esquizontes não costumam causar a deformação na hemácia e acomodam apenas 8 merozoítos. Essa espécie não possui hipnozoítos, portanto não existem recaídas (NEVES *et al.*, 2012).

O período de incubação do *P. malariae* é de 18-40 dias a até meses ou anos. O acesso malárico ocorre em ciclos de 72 horas e denomina-se febre quartã, sendo que as infecções não tratadas podem durar até 20 anos (REY, 2011).

O curso doença causada pelo *Plasmodium falciparum*, também conhecida como malária maligna ou malária falcípara, é um pouco diferente das citadas anteriormente, uma vez que possui desenvolvimento mais agressivo e, muitas vezes, fatal, principalmente em crianças. É responsável pela morte de milhares de crianças na África todos os anos (MURIUKI; ATKINSON, 2018).

O desenvolvimento da doença é mais agressivo por vários fatores. Um importante fator é a maquinaria do parasita, que apresenta resistência a fármacos, replica-se mais rapidamente, possui diversas proteínas de adesão em sua membrana que facilitam a citoaderência, formando as chamadas “rosetas” e, além de isso, possui antígenos extremamente polimórficos. Outros fatores importantes vêm do hospedeiro, como por exemplo, a pré-existência de uma doença genética, produção de citocinas pró-inflamatórias, idade e imunidade (MILLER *et al.*, 2002).

Os eritrócitos infectados pelo *P. falciparum* realizam citoaderência com os eritrócitos não infectados, provocando a formação de “rosetas” (Fig. 5), responsáveis pelos sintomas graves dessa infecção (MOLES *et al.*, 2016).

Figura 5 – “Rosetas” formadas pelos eritrócitos infectados com *P. falciparum*

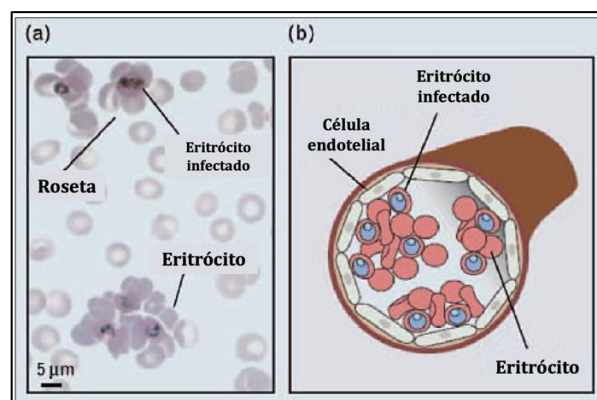


Figura 5 - (a) formação das rosetas *in vitro*, cultura de *P. falciparum*, observada após a preparação em lâmina, corado com *Giemsa* e observado por microscopia de luz. (b) representação esquemática da formação de rosetas na microvasculatura (ROWE; OPI; WILLIAMS, 2009).

Fonte: Modificado de (ROWE; OPI; WILLIAMS, 2009)

A formação de rosetas causa a obstrução microvascular (Fig. 5), interrompendo a perfusão do sangue para o tecido em questão. Além de anemia severa, muitos pacientes apresentam também hipovolemia, desidratação e quadros de acidose metabólica (MILLER et al., 2002). O curso severo da doença é proporcional à obstrução microvascular dos órgãos vitais, como cérebro (levando o paciente rapidamente ao coma), fígado, pulmões e rins do hospedeiro (MOLES et al., 2016).

Como descrito por Murray, Rosenthal e Pfaller (2010), essa espécie não apresenta seletividade ao infectar eritrócitos, sendo capaz de infectá-los em qualquer estágio de sua existência. O período de incubação para essas infecções é de 7 a 10 dias apenas e, após o aparecimento dos sintomas clínicos iniciais, essa espécie provoca um rápido aparecimento de sintomas cotidianos de febre, calafrios, êmese, náuseas fortes e diarreia, causada pela isquemia e necrose no trato gastrointestinal. Os acessos maláricos correm entre 36h e 48h ciclicamente, tornando a malária falcípara uma doença quase fulminante para o paciente, sendo por isso também denominada “malária terçã maligna”.

4.2. Mecanismos moleculares básicos da invasão

Dentre as proteínas mais estudadas no processo de invasão do merozoíto ao eritrócito, estão as proteínas de superfície do merozoíto ou MSP's, PvDBP (do inglês, *P. vivax Duffy Binding Protein*), as PfEBA's (do inglês, *P. falciparum Erythrocyte Binding Antigens*), e as PfRH (do inglês, *Reticulocyte-Binding Protein P. falciparum*), armazenadas em organelas apicais especializadas, denominadas roptrias e micronemas. O antígeno de membrana apical 1, AMA1, também faz parte dos mecanismos de invasão do merozoíto e mostra-se um candidato vacinal importante (HEALER et al., 2002) (Fig. 6).

Figura 6 - Ilustração do interior merozoíto de *Plasmodium falciparum*, com as proteínas envolvidas na invasão do merozoíto ao eritrócito

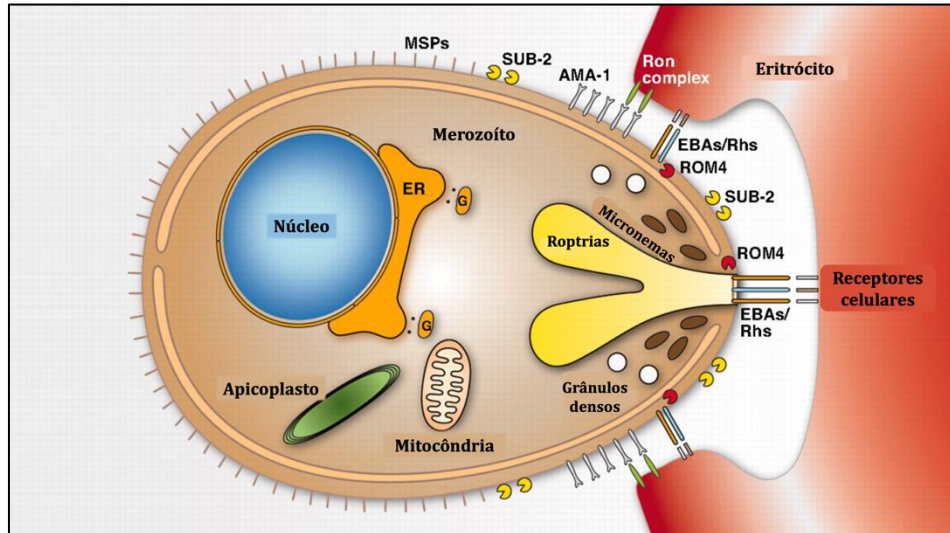


Figura 6 – O merozoíto interage com o eritrócito na extremidade apical através de ligantes de seus ligantes (EBA-175, EBA-140, EBA-181, PfRh1, PfRh2a / b, PfRh4 e PfRh5) que se conectam aos receptores do eritrócito hospedeiro e ativam o processo de invasão; A junção apertada liga a superfície do eritrócito ao merozoíto, e se move através da superfície do parasita invasor. As interações ligante-receptor são liberadas durante a invasão por clivagem de ligantes parasitas com romboide 4 (ROM4). A subtilisina 2 (SUB-2) também está envolvida no processamento e eliminação de proteínas na superfície do merozoíto durante a invasão. O PfAMA-1 participa da junção estreita com o complexo parasita RON que abrange a membrana eritrocitária, a junção estreita e a membrana de merozoíto (KAPPE et al., 2010).

Fonte: Modificado de (KAPPE et al., 2010).

A PvDBP, como o nome já diz, proteína de ligação ao *Duffy*, mostra-se fundamental para a invasão dos merozoítos de *P. vivax* aos reticulócitos. O *Duffy* é um antígeno eritrocitário que, pode ou não, estar presente na membrana do eritrócito e reticulócitos dos indivíduos. Esse é um dos motivos pelos quais essa espécie não é endêmica na África, uma vez que a população africana é, em sua maioria, *Duffy* negativa, dificultando a infecção do parasita na região. Acreditou-se, durante muito tempo, que infecções causadas por *P. vivax* em indivíduos *Duffy* negativos seriam improváveis. Entretanto, foram registrados casos recentes de indivíduos *Duffy* negativos infectados com *P. vivax* na ilha de Madagascar, Angola, Benin, Botswana, Mali, Etiópia, Quênia, Senegal, Sudão e Uganda (GUNALAN et al., 2018)

O *Duffy* também se mostra determinante para a infecção de eritrócitos humanos pelo *Plasmodium knowlesi*, porém, em células sanguíneas de macaco *rhesus* o parasita consegue encontrar mecanismos alternativos para a invasão na ausência desse antígeno (WRIGHT; RAYNER, 2014)

A preparação do parasita para a invasão do merozoíto nos eritrócitos se inicia antes mesmo da sua saída dos hepatócitos, com uma reorganização de suas proteínas de superfície. O merozoíto, ao invadir o eritrócito, é exposto à uma baixa concentração de potássio, ocasionando despolarização e iniciando uma cascata de cálcio que, por sua vez, ativa a secreção de adesinas e invasinas dos micronemas na superfície do parasita. Após o primeiro contato, existem sinalizações específicas não totalmente conhecidas que modificam o citoesqueleto do eritrócito, para que sua forma se altere, concluindo o contato irreversível com o eritrócito e a certa invasão do merozoíto (COWMAN; BERRY; BAUM, 2012).

As roptrias, micronemas e grânulos densos começam a ter atividade imediata após a chegada no alvo de invasão. As substâncias secretadas realizam várias interações com as moléculas da superfície do eritrócito, criando entre o eritrócito e o merozoíto um espessamento denso de elétrons que forma uma espécie de elástico conduzido por actina e miosina, associado à membrana interna do merozoíto, contribuindo assim para que sua morfologia seja oval. A invasão se completa quando esse “elástico” conduz o merozoíto para dentro do eritrócito, onde fica internalizado em um vacúolo parasitóforo. Todo esse processo acontece muito rapidamente, aproximadamente 2 minutos após a liberação dos merozoítos na corrente sanguínea (GAUR; CHITNIS, 2011).

O merozoíto é uma das poucas formas de vida extracelulares do *Plasmodium*, o que implica em sua exposição ao sistema imunológico do hospedeiro. A rapidez da penetração no eritrócito evita a lise do parasita pelo sistema complemento e a opsonização por anticorpos do hospedeiro (WANAGURU et al., 2013).

4.3. Proteínas candidatas vacinais

Há aproximadamente 10 anos identificou-se uma proteína que se tornou forte candidata vacinal, a PfRh5 da família das PfRH. Esta proteína não possui uma região transmembranar e citosólica na região C-terminal e possui poucos polimorfismos por não estar exposta ao sistema imune do hospedeiro, ou seja, sofre baixa pressão seletiva. É a menor proteína de sua família e tem como função principal se ligar a glicosidases na superfície do eritrócito (BAUM et al., 2009) (Fig. 6).

Outra proteína muito importante e de função bem descrita na literatura é a TRAP (do inglês, *Thrombospondin-related Anonymous Protein*), presente no esporozoíto, forma infectante extracelular do parasita. Compõe uma família de proteínas transmembranares do tipo I, importante para a motilidade do parasita, movimento conhecido pelos estudiosos como “*gliding*” (HEISS et al., 2008). A motilidade, a invasão da célula hospedeira e a formação de um vacúolo parasitóforo são tão rápidos que se acredita que esses mecanismos possam estar acoplados (HEINTZELMAN, 2015) (Fig. 7).

No ciclo do *Plasmodium* há 3 formas de vida móveis, o esporozoíto, o merozoíto e o oocineto. O oocineto é uma forma sexuada do parasita, capaz de invadir o epitélio intestinal do mosquito, processo crucial para formar o oocisto que estará carregando os futuros esporozoítos. Existe uma proteína fundamental para que a motilidade do oocineto seja possível e a consequente invasão ao epitélio similar à TRAP, a CTRP (do inglês, *Circumsporozoite and Thrombospondin-related Adhesive Protein*), responsável pelo *gliding* do oocineto (RAMAKRISHNAN et al., 2011) (Fig. 7).

Figura 7 - Ilustração da família de proteínas TRAP e suas funções nas formas de vida do *Plasmodium*

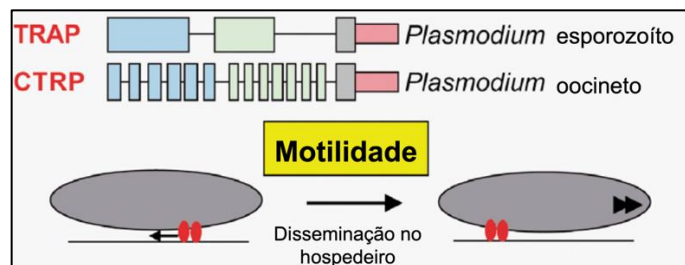


Figura 7 – A TRAP é uma das proteínas responsáveis para a motilidade denominada “*gliding motility*” do esporozoíto; A CTRP é uma proteína abundante no oocineto e também uma das responsáveis pela sua motilidade.

Fonte: Modificado de (BARGIERI et al., 2016)

5 FÁRMACOS DISPONÍVEIS PARA O TRATAMENTO DE MALÁRIA

5.1. Sobre os fármacos, um apanhado geral

Desde de muito antes do século XVII se conhecem compostos capazes de tratar a malária. Os jesuítas espanhóis, por exemplo, aprenderam com as tribos do Novo Mundo sobre uma erva medicinal capaz de curar a “febre” que acometia os nativos, o quinino. Já a cloroquina surgiu mais tarde, entre 1934 e 1946, nos laboratórios da indústria farmacêutica *Bayer*, e ainda é utilizada atualmente para o tratamento da malária causada pelo *Plasmodium vivax* (*Centers for Disease Control and Prevention*, 2017).

A maioria dos antimaláricos desenvolvidos possui ação contra as formas sanguíneas do parasita, porque são responsáveis pelas manifestações clínicas da doença. Os fármacos de ação rápida contra as fases sanguíneas dos parasitas são, por exemplo: cloroquina, quinina, quinidina, mefloquina, atovaquona, artemisinina e derivados, proguanil, pirimetamina e sulfonamidas. Existem também alguns antibióticos que possuem ação antimalárica como, por exemplo, algumas tetraciclinas (WHITE, 1999) (Fig. 8).

Alguns fármacos têm capacidade de eliminar as formas hepáticas latentes, hipnozoítos. Outros podem atuar como esquizonticidas teciduais, com ação no estágio hepático; como esquizonticidas sanguíneos, impedindo a lise do eritrócito infectado e liberação de novos merozoítos na corrente sanguínea, e como gametocidas, capazes de bloquear a transmissão pela morte dos gametócitos, formas essenciais para o ciclo esporogônico do parasita. Por mais que hajam fármacos disponíveis para o tratamento de malária, o problema dessas moléculas é a promiscuidade, citotoxicidade e a rapidez que o parasita tem para desenvolver mecanismos de resistência (KATZUNG; MASTERS; TREVOR, 2014) (Fig. 8).

Figura 8 – Ilustração dos alvos dos fármacos disponíveis contra malária no ciclo biológico do parasita

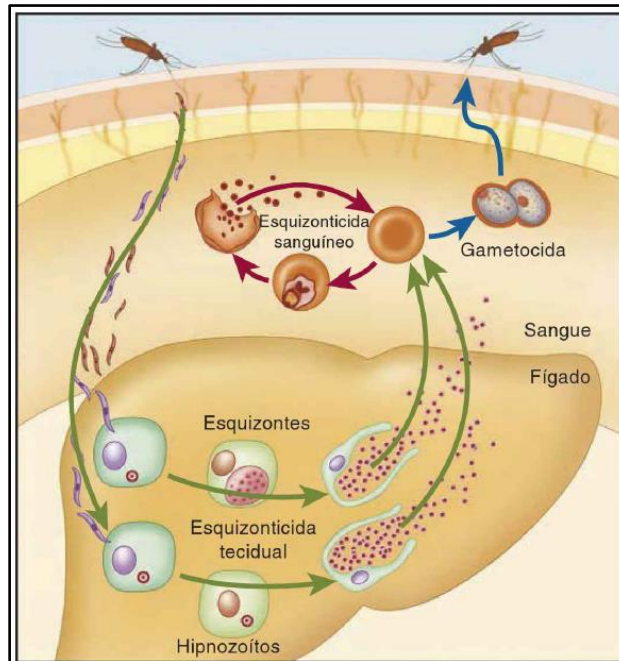


Figura 8 - Ciclo eritrocítico do *Plasmodium* com a representação dos pontos onde os fármacos antimaláricos efetivos podem atuar; Gametocidas inviabilizam a transmissão; Esquizontocida sanguíneo inviabiliza o ciclo eritrocítico, assim como o esquizontocida tecidual;

Fonte: (KATZUNG; MASTERS; TREVOR, 2014)

5.2. Artemisinina seus derivados

Os chineses atribuíram o valor medicinal da artemisinina há mais de 2.000 anos. Derivada de uma planta, é uma lactona sesquiterpenóide com pontes endoperóxido (GILMAN, 2005). Em 1972, cientistas sintetizaram 3 derivados com potência antimalárica maior do que a própria artemisinina: diidroartemisinina, artemeter e o artesunato (MESHNICK; TAYLOR; KAMCHONWONGPAISAN, 1996).

A artemisinina e seus derivados apresentam rápida ação contra os parasitas no estágio sanguíneo, inclusive sobre as formas sexuais (CUI; SU, 2009). A ação antimalárica desses fármacos se dá pela presença da molécula de endoperóxido presente na sua estrutura, agindo particularmente nas formas de anéis (WHITE, 1997).

Dentre os possíveis mecanismos de ação da artemisinina (Fig. 9), um dos mais aceitos é a formação de radicais livres, capazes de modificar covalentemente proteínas importantes para o *Plasmodium* por meio da clivagem da ponte de

endoperóxido do composto, catalisada pelo grupo heme intraparasitário (MESHNICK; TAYLOR; KAMCHONWONGPAISAN, 1996).

Figura 9 – Possíveis mecanismos de ação da artemisina no *P. falciparum*

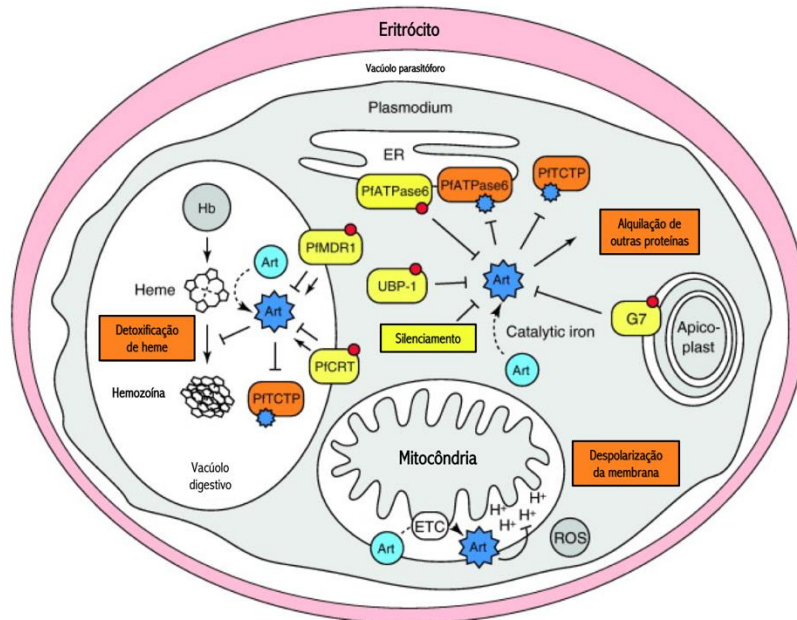


Figura 9 - Acredita-se que o ferro, no contexto de uma molécula de heme ou não, interaja com a ligação peróxido da artemisinina (ART), resultando em radicais ativos centrados em carbono. A cadeia de transporte de elétrons (ETC) da mitocôndria também está envolvida na bioativação de artemisinina. O catabolismo da hemoglobina (Hb) no interior do vacúolo digestivo produz moléculas heme, que precisam ser transformadas como hemozoína inerte. As artemisinina ativada pode interferir neste processo ou/e reagir com várias proteínas no interior do vacúolo digestivo, incluindo o *PfTCTP*. A inativação do retículo endoplasmático (ER) da bomba de cálcio *PfATPase6*, através da interação direta com a ART, também tem sido proposta, assim como a alquilação de várias proteínas parasitas no citoplasma do parasito. ART ativada dentro da mitocôndria pode induzir a despolarização da membrana dessa organela, através da produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) (DING; BECK; RASO, 2011).

Fonte: Modificado de (DING; BECK; RASO, 2011)

5.3. Cloroquina

Desde 1940, a cloroquina é o fármaco de escolha para tratamento e quimioprevenção de malária. O uso no tratamento da malária falcípara é comprometido devido à resistência medicamentosa, discutida mais adiante. É um esquizotocida altamente eficaz, com ação gametocida moderadamente eficaz (KATZUNG; MASTERS; TREVOR, 2014).

Esse fármaco provavelmente age ao se concentrar nos vacúolos alimentares do parasita, causando a falha na biocristalização do produto de clivagem do grupo heme em hemozoína, resultando em toxicidade para o parasita pelo acúmulo de heme livre (KATZUNG; MASTERS; TREVOR, 2014).

5.4. Quinina e Quinidina

A quinina é um alcaloide proveniente da casca de uma árvore sul-americana chamada cinchona. A quinidina e a quinina possuem basicamente a mesma estrutura, exceto pela mudança na configuração do grupo álcool secundário. A quinidina apresenta ação antimalárica mais potente do que a quinina, porém, em contraste, possui maior toxicidade (WHITE, 1997). Ambos têm ação gametocida para *P. vivax* e *P. ovale*, e esquizonticida no estágio sanguíneo. (GILMAN, 2005).

A quinina, por ser uma base fraca, concentra-se nos vacúolos alimentares do *Plasmodium* impedindo a polimerização do grupo heme em hemozoína, tornando o excesso de heme no parasita tóxico, em um mecanismo de ação semelhante ao da cloroquina (SULLIVAN et al., 1996).

5.5. Mefloquina

Esse fármaco se mostra eficaz contra cepas de *P. falciparum* resistentes à cloroquina e é utilizado como terapia medicamentosa e quimioprolíptica. A mefloquina é a mistura racêmica de 4 isômeros ópticos de potência antimalárica semelhantes. Possui ação esquizonticida, apenas (SCHMIDT et al., 1978).

Com mecanismo de ação ainda desconhecido, sabe-se apenas que a mefloquina inibe o acúmulo de hemozoína. Por mais seu uso que seja considerado tóxico para o indivíduo, a mefloquina ainda é o fármaco mais escolhido para quimioprolaxia nas regiões endêmicas (KATZUNG; MASTERS; TREVOR, 2014).

5.6. Primaquina

Um pouco diferente dos outros antimaláricos, a primaquina tem ação voltada para os estágios tissulares, evitando a malária recidiva. A primaquina se mostra eficaz e é utilizada até hoje, porém, os pacientes que fazem seu uso e apresentam deficiência da enzima glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD) podem apresentar

crises de hemólise intensa devido ao uso do fármaco, levando-os ao coma após pouco tempo de tratamento (WALSH et al., 1999).

Como efeito antimalárico, a primaquina age sobre os estágios hepáticos avançados e formas tissulares latentes das espécies *P. vivax* e *P. ovale*. Apresenta também alguma ação sobre os estágios hepáticos em infecções causadas por *P. falciparum*, porém, não apresenta ação sobre os estágios sanguíneos, sendo assim, esse fármaco não é utilizado no tratamento de malária falcípara. Possui ação gametocida em todas as espécies de *Plasmodium* que causam malária em humanos (SMOAK et al., 1997).

5.7. Atovaquona

A atovaquona é um derivado sintético sintetizado com base na atividade antiprotozoária das hidroxinaftoquinonas, mostrando-se eficaz contra infecções causadas pelo *P. falciparum* (HUDSON et al., 1991).

Esse fármaco é um análogo altamente lipofílico da ubiquinona do parasita, capaz de interferir seletivamente no transporte de elétrons na membrana mitocondrial, durante a respiração celular. Além disso, interfere também na produção de ATP e pirimidina no *Plasmodium*. Essas ações, somadas, causam desequilíbrio no potencial da membrana mitocondrial, colapsando a fisiologia do parasita (HUDSON et al., 1991).

5.8. Proguanil

O proguanil é um derivado da biguanida. Sua atividade antimalárica é atribuída ao cicloguanil, inibidor seletivo da diidrofolato redutase, mecanismo de ação similar ao da pirimetamina (FIDOCK; WELLEMS, 1997).

Esse fármaco exerce uma atividade profilática, por meio de seu metabólito ativo, capaz de suprimir o desenvolvimento da infecção causada pelo *P. falciparum*, controlando-a de forma adequada e, em alguns casos, até erradicar a infecção. Não exerce ação gametocida, porém, inviabiliza o oocisto proveniente da fertilização de gametas expostos ao fármaco. Não possui ação sobre as formas tissulares latentes (FIDOCK; WELLEMS, 1997).

5.9. Halofantrina e Lumefantrina

O cloridrato de halofantrina, ou halofantrina, é um fenantreno-metanol. Possui ação esquizonticida, no ciclo sanguíneo do parasita. Esse fármaco apresenta eficácia no tratamento de malária causada por todas as espécies que infectam o homem. Apresenta toxicidade, um dos motivos de não ser amplamente aplicada no tratamento de malária (GILMAN, 2005).

A lumefantrina é um aril álcool, disponível apenas para terapia combinada com o artemeter que, atualmente, é a terapia de primeira escolha para pacientes portadores de malária falcípara (KATZUNG; MASTERS; TREVOR, 2014).

6 OS MECANISMOS DE RESISTÊNCIA AOS FÁRMACOS DESENVOLVIDOS PELO *PLASMODIUM*

Os casos de malária por *P. vivax* e *P. falciparum* resistentes à cloroquina são reportados no mundo inteiro. Potenciais marcadores gênicos de resistência que mostram relação com a resistência à cloroquina são *mdr1* (do inglês, multidrug resistance 1) e *crt-o* (do inglês, putative transporter protein CG 10) (SUWANARUSK et al., 2007).

Essas mutações podem ocasionar um efluxo do fármaco para longe do seu local de ação no parasita, por codificarem mutações em proteínas transportadoras. O aumento de cópias de um determinado gene também pode ser problemático, caso do gene *Pfmdr1*, correlacionado com a resistência a mefloquina (OUJI et al., 2018).

Mutações pontuais nos genes *Pvdhfr* (do inglês, dihydrofolate reductase) e *Pvdhps* (dihydropteroate synthase) estão relacionadas à resistência a pirimetamina e sulfadoxina, respectivamente (NDIAYE et al., 2013). Essas mutações modificam os alvos dos fármacos no citosol, caso de ambos genes (*dhfr* e *dhps*). Esse tipo de mutação também pode ser em nível mitocondrial como, por exemplo, a mutação do citocromo b, observada nos casos de resistência a atovaquona (OUJI et al., 2018).

Em relação à resistência à artemisinina no parasita, é comum observar a mutação em genes que também implicam na resistência de outros fármacos. Esses marcadores incluem o *Pfcrt* e o *Pfmdr1*, citados a cima. Mutações em outros genes como o *Pfmdr6* envolvido na ATPase6 do parasita, o cassete transportador de ligação ao ATP localizado no apicoplasto e a *Pfubp-1* (enzima desubiquinadora) também implicam na resistência à artemisinina do parasita (VALDERRAMOS; FIDOCK, 2006).

A mutação no gene Kelch 13 (*Pfk13*) do *P. falciparum* também é fortemente relacionada à resistência do parasita à artemisinina, sendo constantemente observada no Sudoeste da Ásia (ASHLEY et al., 2014). A grande maioria dos polimorfismos presentes nas espécies de *Plasmodium* resistentes a artemisinina no Camboja ocorrem em posições estritamente conservadas, esse fato sugere que a mutação no gene Kelch 13 pode causar fortes restrições estruturais e funcionais as proteínas do parasita. As proteínas codificadas pelo Kelch, no geral, participam da regulação de respostas citoprotetoras. O precursor do Kelch que apresenta homologia com genes

humanos, os quais são responsáveis por codificar proteínas que agem na adaptação celular ao estresse oxidativo, também reforçam a hipótese que essa mutação é relacionada a uma tolerância a artemisinina, entretanto, o fenótipo propriamente dito ainda não foi identificado (ARIEY et al., 2013).

Na Tailândia, país que possui regiões onde a malária é altamente prevalente, foram identificadas mutações nos genes *Pvdhfr*, *Pvdhps*, *Pvmdr1*, *Pvcrt-o* e *Pvk12* em *P. vivax*, no período de 2008-2014, reafirmando a correlação dessas mutações com a multirresistência dos parasitas aos fármacos (TANTIAMORNKUL et al., 2018).

7 A MELHOR FORMA DE DRIBLAR A RESISTÊNCIA É A TERAPIA COMBINADA

A artemisinina e seus derivados são potenciais fármacos antimaláricos, porém, não podem ser utilizados como monoterapia contra a malária. Isto porque apresentam meia vida plasmática reduzida, o que exige um tempo de tratamento muito longo e, somando-se a isso, existe o problema da resistência do parasita. Por esses motivos, esses antimaláricos são usados em combinação, em terapia chamada de ACT (terapias combinadas à base de artemisinina). Esse modelo de terapia foi desenvolvido ao final dos anos 90 e vêm se mostrando altamente eficaz (ADJUIK M, 2004). A artemisinina gera rápida resposta e reduz a quantidade de parasitas, enquanto o fármaco complementar elimina o restante dos parasitas (ZWANG et al., 2009), sendo a primeira linha de tratamento contra malária recomendado pelo WHO (*World Health Organization*, 2009).

Em Angola, os ACT's implementados são: artemeter-lumefantrina (AL), artesudato-amodiaquina (ASAQ) e diidroartemisinina-piperaquina (DP). Esse modelo de terapia mostra-se 90% eficaz nesse país, no entanto, no Zaire a eficácia reduz-se para 82%, o que pode ser esperado devido a certa resistência à lumefantrina (DAVLANTES et al., 2018).

Um estudo epidemiológico realizado na Tanzânia entre 2005 a 2011 mostra resultados que indicam que, após a introdução da terapia ACT, ocorreu um significativo e relevante declínio na prevalência de infecções causadas por *P. falciparum*, sugerindo ainda que a implementação do ACT pode não ser apenas importante para redução imediata nos níveis de mortalidade e morbidade, mas também para diminuir a ocorrência da transmissão a longo prazo (FROESCHL et al., 2018).

Outro estudo epidemiológico realizado no Vietnã dentre 1991 e 2014, mostrou que houve um declínio de 32,8% nos casos de malária, principalmente devido ao uso da terapia ACT (GOLDLUST et al., 2018).

No Brasil, o tratamento preconizado para as infecções causadas por *P. vivax* é a combinação da cloroquina com primaquina, visto que não é observada a resistência

do parasita a cloroquina, de maneira a banir o uso da droga, embora exista uma preocupação com essa possibilidade se tornar realidade (PRICE et al., 2014).

No Brasil, a terapia à base de artemisinina foi preconizada para o tratamento de *P. vivax* desde 2010, e apresenta efeito esquizonticida semelhante à ação da cloroquina, sendo o tratamento de escolha quando há risco emergente do parasita ser resistente à cloroquina. Embora logisticamente seja mais simples manter a terapia ACT para as duas espécies que mais causam a doença no território brasileiro, ainda há preferência em tratar os pacientes infectados com *P. vivax* com primaquina combinada a cloroquina (DAHER et al., 2018).

8 A TRANSMISSÃO DE MALÁRIA CONTINUA, E A BUSCA POR NOVOS ALVOS DE BLOQUEIO E DE FÁRMACOS TAMBÉM

Embora a terapia de primeira linha contra a malária seja a base de artemisinina (ACT), a resistência à essa droga já foi reportada em cinco países da Ásia. Diante deste contexto, a busca por novos alvos e drogas é urgente (VOGEL, 2014).

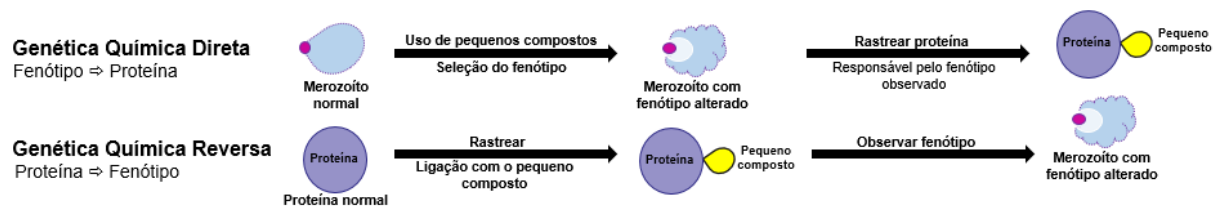
O processo para descoberta de novas drogas contra a malária e outras várias doenças infecciosas produziu poucos sucessos devido às dificuldades de se combater a resistência, e infelizmente, quando novos princípios ativos parecem ser promissores, os problemas são relacionados a promiscuidade do composto e a citotoxicidade. Com isso, milhares compostos foram caracterizados durante anos de estudos e, atualmente, existe a possibilidade de aproveitamento dos compostos já existentes para tentar um reposicionamento desses, verificando a similaridade estrutural de seus ligantes e caracterizando novos alvos, seja para fármacos ou produção de anticorpos (NG et al., 2013).

As mais novas linhas de pesquisa para rastreamento de novos alvos de tratamento e eliminação da malária se denominam “*Chemical Genomics*” e “*Chemical Genetics*”. (CACACE; KRITIKOS; TYPAS, 2017).

8.1. *Chemical genetics e Chemical genomics*

Genética química é o termo utilizado para o estudo de sistemas biológicos utilizando pequenas moléculas para realizar algum tipo de intervenção nesses sistemas, em vez de intervenção genética, que possui o intuito de modelar funções de proteínas. Dentro da genética química, existem duas formas de estudo, a genética química direta, onde pequenos compostos perturbam de alguma forma o sistema biológico, realizando-se então o rastreio fenotípico para se chegar à proteína envolvida no processo, ou a genética química reversa, onde os pequenos compostos tem ação sobre uma proteína específica, e o rastreio é realizado para caracterizar qual o fenótipo (SPRING, 2005) (Fig. 10).

Figura 10 – Estrutura dos estudos de genética química direta e reversa



Fonte: Modificado de (SPRING, 2005).

A genômica química é a extensão da genética química, em escala genômica (MACBEATH, 2001). Este formato de experimento vem sendo muito utilizado pelos pesquisadores de todo mundo e, desde 2008, mais de 6 milhões de compostos foram testados contra os estágios sanguíneos de *P. falciparum*, e 0,5% apresentaram índices de IC₅₀ menores que 1 μM (SPANGENBERG et al., 2013).

8.2. A importante busca pelos alvos bloqueadores da transmissão

O sucesso da transmissão da malária depende da diferenciação e maturação dos gametócitos, processo detectável ao microscópio somente na espécie *P. falciparum*, durante o repasto sanguíneo o mosquito ingere essas formas, dando continuidade ao ciclo sexual. Os gametócitos ingeridos sofrem rapidamente ativação no intestino do mosquito, fertilizam, formam o zigoto, e a partir deste ponto o zigoto passa por estágios de maturação, até que esteja em sua forma de oocisto, carregando centenas de esporozoítos (CAO et al., 2018).

No ciclo sexual do *Plasmodium spp.* (Fig. 11) existe uma grande variedade de alvos que se mostram importantes para o sucesso da transmissão.

Figura 11 – Representação esquemática do ciclo do *Plasmodium* com ênfase no ciclo sexual do parasita

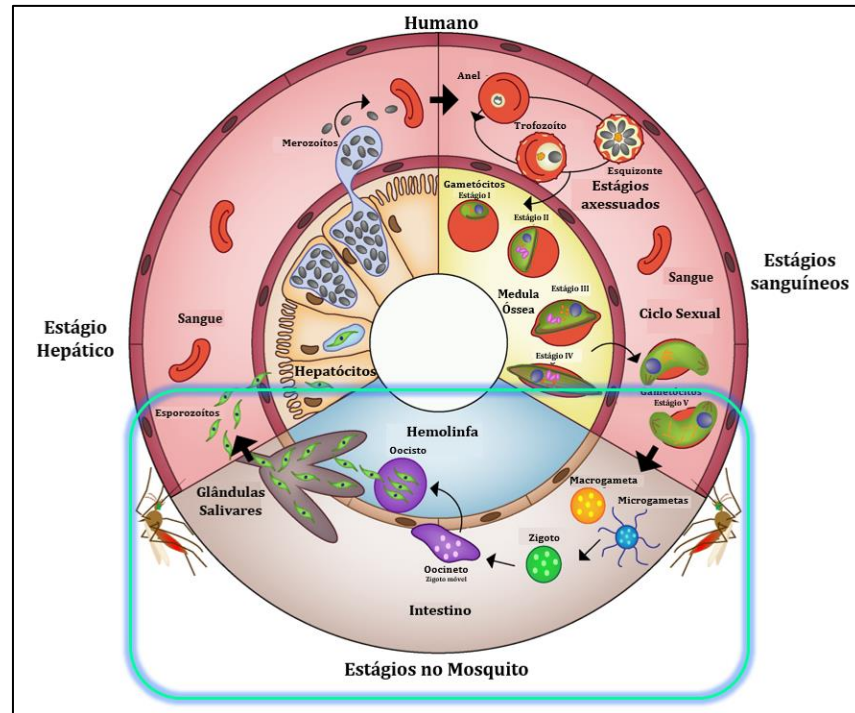


Figura 11 – Os estágios que estão contidos dentro do quadrado azul são os alvos para pesquisas que buscam alvos de bloqueio da transmissão.

Fonte: Modificado de (NILSSON et al. 2015)

As proteínas expressas nesses estágios apresentam baixa pressão seletiva, devido à pequena exposição ao sistema imunológico. Devido a esse fato, as proteínas e alvos encontrados que possam bloquear a transmissão em algum estágio são vistos como “alvos preciosos” (NIKOLAEVA; DRAPER; BISWAS, 2015).

A única limitação para o estudo dos alvos bloqueadores da transmissão de malária é reproduzir os passos que ocorrem no mosquito *in vitro*, para avaliar as tentativas de bloqueio do ciclo sexual com drogas ou da caracterização de função de proteínas. Recentemente foi desenvolvido por Calit et al., 2018, um modelo para estudo de potenciais alvos bloqueadores dos primeiros passos da transmissão, em *P. berghei*, modelo murino para o estudo de malária. O modelo baseia-se na produção de nano-luciferase quando ocorre a formação do zigoto, para isso, o gene que codifica a enzima está sob um promotor (CTRP) que tem alta atividade durante a formação e morfogênese do zigoto. A ideia do modelo é facilitar a interpretação do resultado da fertilização a apenas adicionar o substrato e ler em um luminômetro, de forma que a leitura de luz obtida seja proporcional ao número de oocinetos formados. Esse modelo

se mostra uma poderosa ferramenta para o rastreamento de compostos bloqueadores da transmissão em larga escala.

9 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A malária é uma doença grave, responsável por um elevado nível de mortalidade mundial. Dentre seus sintomas mais característicos está o chamado acesso malárico, crise de febre alta e hemólise intensa que o hospedeiro sofre a cada repetição do ciclo eritrocítico. Por esses motivos, os fármacos desenvolvidos para tratar a doença são focados em bloquear em algum momento o ciclo eritrocítico do parasita, ou seja, o ciclo responsável pelos sinais clínicos da doença.

Conforme novos fármacos foram implementados, outros mecanismos de resistência surgiram e, atualmente, a monoterapia antimalárica é um tratamento pouco eficaz e ultrapassado, sendo substituído pela terapia combinada (terapia a base de artemisinina). A terapia combinada tem apresentado resultados promissores, porém, a prevalência e a transmissão da doença continuam ativas em 91 países. Nos casos de malária no Brasil, causados em maioria pelo *P. vivax*, o registro de novos casos vem aumentando preocupantemente.

Nesse contexto atual, a ciência busca padronizar métodos mais rápidos e “abrangentes” para tentar caracterizar novos alvos bloqueadores do ciclo da doença, seja para o desenvolvimento de anticorpos ou de novos fármacos. Além disso, existe maior atenção no mundo científico para encontrar alvos que bloqueiem a transmissão. Essa estratégia não poderá eliminar a doença de indivíduos infectados, mas poderá ser utilizada como terapia combinada, ou até mesmo vacina profilática para impedir a disseminação do parasita, e quem sabe, um dia, erradicar a doença.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADJUIK M.. Artesunate combinations for treatment of malaria: meta-analysis. **The Lancet**, [s.l.], v. 363, n. 9402, p.9-17, jan. 2004. Elsevier BV. <[http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736\(03\)15162-8](http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736(03)15162-8)>. Acesso em: 21 junho, 2018

ARIEY, Frédéric et al. A molecular marker of artemisinin-resistant Plasmodium falciparum malaria. **Nature**, [s.l.], v. 505, n. 7481, p.50-55, 18 dez. 2013. Springer Nature. <<http://dx.doi.org/10.1038/nature12876>>. Acesso em: 28 de set. de 2018

ASHLEY, Elizabeth A. et al. Spread of Artemisinin Resistance in Plasmodium falciparum Malaria. **New England Journal Of Medicine**, [s.l.], v. 371, n. 5, p.411-423, 31 jul. 2014. New England Journal of Medicine (NEJM/MMS). <<http://dx.doi.org/10.1056/nejmoa1314981>>. Acesso em: 26 maio, 2018

BARGIERI, Daniel Y. et al. Plasmodium Merozoite TRAP Family Protein Is Essential for Vacuole Membrane Disruption and Gamete Egress from Erythrocytes. **Cell Host & Microbe**, [s.l.], v. 20, n. 5, p.618-630, nov. 2016. Elsevier BV. <<http://dx.doi.org/10.1016/j.chom.2016.10.015>>. Acesso em: 28 maio, 2018

BAUM, Jake et al. Reticulocyte-binding protein homologue 5 – An essential adhesin involved in invasion of human erythrocytes by Plasmodium falciparum. **International Journal For Parasitology**, [s.l.], v. 39, n. 3, p.371-380, fev. 2009. Elsevier BV. <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpara.2008.10.006>>. Acesso em: 27 fev, 2018

BOUSEMA, T.; DRAKELEY, C.. Epidemiology and Infectivity of Plasmodium falciparum and Plasmodium vivax Gametocytes in Relation to Malaria Control and Elimination. **Clinical Microbiology Reviews**, [s.l.], v. 24, n. 2, p.377-410, 1 abr. 2011. American Society for Microbiology. <<http://dx.doi.org/10.1128/cmr.00051-10>>. Acesso em: 01 out, 2018

CACACE, Elisabetta; KRITIKOS, George; TYPAS, Athanasios. Chemical genetics in drug discovery. **Current Opinion In Systems Biology**, [s.l.], v. 4, p.35-42, ago. 2017. Elsevier BV. <<http://dx.doi.org/10.1016/j.coisb.2017.05.020>>. Acesso em: 01 julho, 2018.

CALIT, Juliana et al. Screening the Pathogen Box against Plasmodium sexual stages using a new nanoluciferase based transgenic line of *P. berghei* identifies transmission-blocking compounds. **Antimicrobial Agents And Chemotherapy**, [s.l.], p.1-21, 4 set. 2018. American Society for Microbiology. <<http://dx.doi.org/10.1128/aac.01053-18>>. Acesso em: 03 out, 2018

CAO, Yi et al. Functional Conservation of P48/45 Proteins in the Transmission Stages of Plasmodium vivax (Human Malaria Parasite) and *P. berghei* (Murine Malaria Parasite). **Mbio**, [s.l.], v. 9, n. 5, p.1-14, 4 set. 2018. American Society for Microbiology. <<http://dx.doi.org/10.1128/mbio.01627-18>>. Acesso em: 01 out, 2018

CDC, Centers for Disease Control and Prevention. **About Malaria - History**, 2017. <<https://www.cdc.gov/malaria/about/history/index.html>> Acesso em: 08 de fev. de 2018

CDC, Centers for Disease Control and Prevention. **About Malaria – Biology**, 2016. <<https://www.cdc.gov/malaria/about/biology/>> Acesso em: 9 fev, 2018.

COWMAN, Alan F.; BERRY, Drew; BAUM, Jake. The cellular and molecular basis for malaria parasite invasion of the human red blood cell. **The Journal Of Cell Biology**, [s.l.], v. 198, n. 6, p.961-971, 17 set. 2012. Rockefeller University Press. <<http://dx.doi.org/10.1083/jcb.201206112>>. Acesso em: 22 fev, 2018.

CUI, Liwang; SU, Xin-zhuan. Discovery, mechanisms of action and combination therapy of artemisinin. **Expert Review Of Anti-infective Therapy**, [s.l.], v. 7, n. 8, p.999-1013, out. 2009. Informa UK Limited. <<http://dx.doi.org/10.1586/eri.09.68>> Acesso em: 18 maio, de 2018

DAHER, André et al. Efficacy and safety of artemisinin-based combination therapy and chloroquine with concomitant primaquine to treat Plasmodium vivax malaria in Brazil: an open label randomized clinical trial. **Malaria Journal**, [s.l.], v. 17, n. 1, p.1-11, 24 jan. 2018. Springer Nature.<<http://dx.doi.org/10.1186/s12936-018-2192-x>> Acesso em: 15 set, 2018.

DAVLANTES, Elizabeth et al. Efficacy and safety of artemether–lumefantrine, artesunate–amodiaquine, and dihydroartemisinin–piperaquine for the treatment of uncomplicated Plasmodium falciparum malaria in three provinces in Angola, 2017.

Malaria Journal, [s.l.], v. 17, n. 1, p.1-12, 3 abr. 2018. Springer Nature. <<http://dx.doi.org/10.1186/s12936-018-2290-9>>. Acesso em: 29 maio, 2018

DING, Xavier C.; BECK, Hans-peter; RASO, Giovanna. Plasmodium sensitivity to artemisinin: magic bullets hit elusive targets. **Trends In Parasitology**, [s.l.], v. 27, n. 2, p.73-81, fev. 2011. Elsevier BV. <<http://dx.doi.org/10.1016/j.pt.2010.11.006>>. Acesso em: 17 set, 2018.

FIDOCK, David A.; WELLEMS, Thomas E.. Transformation with human dihydrofolate reductase renders malaria parasites insensitive to WR99210 but does not affect the intrinsic activity of proguanil. **Proc Natl Acad Sci U S A**, Usa, v. 20, n. 94, p.10931-10936, set. 1997. Acesso em: 23 maio, 2018

FROESCHL, Guenter et al. Reduction of malaria prevalence after introduction of artemisinin-combination-therapy in Mbeya Region, Tanzania: results from a cohort study with 6773 participants. **Malaria Journal**, [s.l.], v. 17, n. 1, 26 jun. 2018. Springer Nature. <<http://dx.doi.org/10.1186/s12936-018-2389-z>>. Acesso em: 20 junho, 2018

GAUR, Deepak; CHITNIS, Chetan e. Molecular interactions and signaling mechanisms during erythrocyte invasion by malaria parasites. **Current Opinion In Microbiology**, [s.l.], v. 14, n. 4, p.422-428, ago. 2011. Elsevier BV. <<http://dx.doi.org/10.1016/j.mib.2011.07.018>>. Acesso em: 19 fev, 2018

GILMAN, Alfred Goodman. **Goodman e Gilman: As Bases Farmacológicas da Terapêutica**. 10. ed. Rio de Janeiro: McGrawHill, 2005. 1614 p.

GOLDLUST, Sandra M. et al. The decline of malaria in Vietnam, 1991–2014. **Malaria Journal**, [s.l.], v. 17, n. 1, p.23-89, 7 jun. 2018. Springer Nature. <<http://dx.doi.org/10.1186/s12936-018-2372-8>>. Acesso em: 20 junho, 2018

GUNALAN, Karthigayan et al. Plasmodium vivax Infections of Duffy-Negative Erythrocytes: Historically Undetected or a Recent Adaptation?. **Trends In Parasitology**, [s.l.], v. 34, n. 5, p.420-429, maio 2018. Elsevier BV. <<http://dx.doi.org/10.1016/j.pt.2018.02.006>>. Acesso em: 20 agosto, 2018.

HEALER, J. et al. Independent Translocation of Two Micronemal Proteins in Developing Plasmodium falciparum Merozoites. **Infection And Immunity**, [s.l.], v. 70,

n. 10, p.5751-5758, 1 out. 2002. American Society for Microbiology. <<http://dx.doi.org/10.1128/iai.70.10.5751-5758.2002>>. Acesso em: 10 maio, de 2018

HEINTZELMAN, Matthew B.. Gliding motility in apicomplexan parasites. **Seminars In Cell & Developmental Biology**, [s.l.], v. 46, p.135-142, out. 2015. Elsevier BV. <<http://dx.doi.org/10.1016/j.semcdb.2015.09.020>>. Acesso em: 11 maio, 2018

HEISS, K. et al. Functional Characterization of a Redundant Plasmodium TRAP Family Invasin, TRAP-Like Protein, by Aldolase Binding and a Genetic Complementation Test. **Eukaryotic Cell**, [s.l.], v. 7, n. 6, p.1062-1070, 25 abr. 2008. American Society for Microbiology. <<http://dx.doi.org/10.1128/ec.00089-08>>. Acesso em: 11 maio, 2018

HUDSON et al. 566C80: a potent broad-spectrum anti-infective agent with activity against malaria and opportunistic infections in AIDS patients. **Drugs Exp Clin Res**, v. 17, n. 3, p.427-435, 1991. Acesso em: 22 maio, 2018

KAPPE, S. H. I. et al. That Was Then But This Is Now: Malaria Research in the Time of an Eradication Agenda. **Science**, [s.l.], v. 328, n. 5980, p.862-866, 13 maio 2010. American Association for the Advancement of Science (AAAS). <<http://dx.doi.org/10.1126/science.1184785>>. Acesso em: 02 junho, 2018

KATZUNG, Bertam G.; MASTERS, Susan B.; TREVOR, Anthony J.. **Farmacologia: Básica e Clínica**. 12. ed. Porto Alegre: AMGH Editora Ltda., 2014. 1244 p.

KUEHN, Andrea; PRADEL, Gabriele. The Coming-Out of Malaria Gametocytes. **Journal Of Biomedicine And Biotechnology**, [s.l.], v. 2010, p.1-11, 2010. Hindawi Limited. <<http://dx.doi.org/10.1155/2010/976827>>. Acesso em: 09 maio, 2018

KUMAR, Vinay; ABBAS, Abul K.; ASTER, Jon C.. Robbins - **Patologia Básica**. 9. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2013. 927 p.

MACBEATH, Gavin. Chemical genomics: what will it take and who gets to play? **Genome Biology**, v. 2, n. 6, p.1-6, 6 jun. 2001. Disponível em:

<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC138939/>>. Acesso em: 02 julho, 2018.

MESHNICK, S. R.; TAYLOR, T. E.; KAMCHONWONGPAISAN, S.. Artemisinin and the Antimalarial Endoperoxides: from Herbal Remedy to Targeted Chemotherapy. **Microbiological Reviews**, v. 60, p.301-315, jun. 1996. Acesso em: 18 maio, 2018

MILLER, Louis H. et al. The pathogenic basis of malaria. **Nature**, [s.l.], v. 415, n. 6872, p.673-679, fev. 2002. Springer Nature. <<http://dx.doi.org/10.1038/415673a>>. Acesso em: 10 maio, 2018

MILLER, Louis H. et al. The Resistance Factor to Plasmodium vivax in Blacks. **New England Journal Of Medicine**, [s.l.], v. 295, n. 6, p.302-304, 5 ago. 1976. New England Journal of Medicine (NEJM/MMS). <<http://dx.doi.org/10.1056/nejm197608052950602>>. Acesso em: 10 maio, 2018

MINISTÉRIO DA SAÚDE; SUS; SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE: **Manual de Diagnóstico Laboratorial de Malária**. 2 ed. Brasília/: Ms, 2009. 116 p.

MOLES, Ernest et al. Development of drug-loaded immunoliposomes for the selective targeting and elimination of rosetting Plasmodium falciparum- infected red blood cells. **Journal Of Controlled Release**, [s.l.], v. 241, p.57-67, nov. 2016. Elsevier BV. <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jconrel.2016.09.006>>. Acesso em: 30 ago, 2018

MURIUKI, John; ATKINSON, Sarah. How Eliminating Malaria May Also Prevent Iron Deficiency in African Children. **Pharmaceuticals**, [s.l.], v. 11, n. 4, p.1-11, 1 out. 2018. MDPI AG. <<http://dx.doi.org/10.3390/ph11040096>>. Acesso em: 10 maio, de 2018

MURRAY, Patrick R.; ROSENTHAL, Ken S.; PFALLER, Michael A.. **Microbiologia Médica**. 6. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010. 1072 p.

NDIAYE, Daouda et al. Polymorphism in dhfr/dhps genes, parasite density and ex vivo response to pyrimethamine in Plasmodium falciparum malaria parasites in Thies, Senegal. **International Journal For Parasitology: Drugs and Drug Resistance**, [s.l.], v. 3, p.135-142, dez. 2013. Elsevier BV. <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpddr.2013.07.001>>. Acesso em: 27 maio, 2018

NEVES, David Pereira et al. **Parasitologia Humana**. 12. ed. Atheneu, 2012.

NG, Clara et al. ANTI-INFECTIOUS DRUG REPURPOSING USING AN INTEGRATED CHEMICAL GENOMICS AND STRUCTURAL SYSTEMS BIOLOGY APPROACH. **Biocomputing 2014**, [s.l.], nov. 2013. WORLD SCIENTIFIC. <http://dx.doi.org/10.1142/9789814583220_0014>. Acesso em: 23 junho, 2018

NIKOLAEVA, Daria; DRAPER, Simon J; BISWAS, Sumi. Toward the development of effective transmission-blocking vaccines for malaria. **Expert Review Of Vaccines**, [s.l.], v. 14, n. 5, p.653-680, 19 jan. 2015. Informa UK Limited. <<http://dx.doi.org/10.1586/14760584.2015.993383>>. Acesso em: 02 out, 2018

NILSSON, Sandra K. et al. Targeting Human Transmission Biology for Malaria Elimination. **Plos Pathogens**, [s.l.], v. 11, n. 6, p.1-17, 18 jun. 2015. Public Library of Science (PLOS). <<http://dx.doi.org/10.1371/journal.ppat.1004871>>. Acesso em: 09 maio, 2018

OUI, Manel et al. Plasmodium falciparum resistance to artemisinin-based combination therapies: A sword of Damocles in the path toward malaria elimination. **Parasite**, [s.l.], v. 25, n. 2, p.1-12, fev. 2018. EDP Sciences. <<http://dx.doi.org/10.1051/parasite/2018021>>. Acesso em: 26 maio, 2018

PORTES, Maria da Graça Teixeira et al. Anofelinos de Santa Catarina (Diptera: Culicidae), Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, [s.l.], v. 43, n. 2, p.156-160, abr. 2010. FapUNIFESP (SciELO). <<http://dx.doi.org/10.1590/s0037-86822010000200010>>. Acesso em: 13 dez, 2017

PRICE, R et al. Risk factors for gametocyte carriage in uncomplicated falciparum malaria. **The American Journal Of Tropical Medicine And Hygiene**, [s.l.], v. 60, n. 6, p.1019-1023, 1 jun. 1999. American Society of Tropical Medicine and Hygiene. <<http://dx.doi.org/10.4269/ajtmh.1999.60.1019>>. Acesso em: 10 maio, 2018

PRICE, Ric N et al. Global extent of chloroquine-resistant Plasmodium vivax: a systematic review and meta-analysis. **The Lancet Infectious Diseases**, [s.l.], v. 14, n. 10, p.982-991, out. 2014. Elsevier BV. <[http://dx.doi.org/10.1016/s1473-3099\(14\)70855-2](http://dx.doi.org/10.1016/s1473-3099(14)70855-2)>. Acesso em: 15 set, 2018.

RABINOVICH, Regina N. et al. MalERA: An updated research agenda for malaria elimination and eradication. **Plos Medicine**, [s.l.], v. 14, n. 11, p.1-17, 30 nov. 2017. Public Library of Science (PLOS). <<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pmed.1002456>>. Acesso em: 09 maio, 2018

RAMAKRISHNAN, Chandra et al. Vital functions of the malarial ookinete protein, CTRP, reside in the A domains. **International Journal For Parasitology**, [s.l.], v. 41, n. 10, p.1029-1039, ago. 2011. Elsevier BV. <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpara.2011.05.007>>. Acesso em: 11 maio, 2018

REY, Luís. **Parasitologia**: : parasitos e doenças parasitárias do homem nos trópicos ocidentais. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011. 883 p.

ROWE, J Alexandra; OPI, D Herbert; WILLIAMS, Thomas N. Blood groups and malaria: fresh insights into pathogenesis and identification of targets for intervention. **Current Opinion In Hematology**, [s.l.], v. 16, n. 6, p.480-487, nov. 2009. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <<http://dx.doi.org/10.1097/moh.0b013e3283313de0>>. Acesso em: 17 set, 2018.

SARAIVA, Maria das Graças Gomes et al. Expansão urbana e distribuição espacial da malária no município de Manaus, Estado do Amazonas. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, [s.l.], v. 42, n. 5, p.515-522, out. 2009. FapUNIFESP (SciELO). <<http://dx.doi.org/10.1590/s0037-86822009000500008>>. Acesso em: 13 dez, 2017

SCHMIDT, L. H. et al. Antimalarial Activities of Various 4-Quinolinemethanols with Special Attention to WR-142,490 (Mefloquine). **Antimicrobial Agents And Chemotherapy**, p.1011-1030, jun. 1978. Acesso em: 25 maio, 2018

SMOAK, Bonnie L. et al. Plasmodium vivax Infections in U.S. Army Troops: Failure of Primaquine to Prevent Relapse in Studies from Somalia. **The American Journal Of Tropical Medicine And Hygiene**, [s.l.], v. 56, n. 2, p.231-234, 1 fev. 1997. American Society of Tropical Medicine and Hygiene. <<http://dx.doi.org/10.4269/ajtmh.1997.56.231>>. Acesso em: 27 fev, 2018

SPANGENBERG, Thomas et al. The Open Access Malaria Box: A Drug Discovery Catalyst for Neglected Diseases. **Plos One**, [s.l.], v. 8, n. 6, p.1-11, 17 jun.

2013. Public Library of Science (PLoS). <<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0062906>>. Acesso em: 10 de out, 2018

SPRING, David R.. Chemical genetics to chemical genomics: small molecules offer big insights. **Chemical Society Reviews**, [s.l.], v. 34, n. 6, p.472-482, 2005. Royal Society of Chemistry (RSC). <<http://dx.doi.org/10.1039/b312875j>>. Acesso em: 01 julho, 2018.

SULLIVAN, David J. et al. On the molecular mechanism of chloroquine's antimalarial action. **Proc. Natl. Acad. Sci. Usa**, v. 93, p.11865-11870, out. 1996. Acesso em: 24 maio, 2018

SUWANARUSK, Rossarin et al. Chloroquine Resistant Plasmodium vivax: In Vitro Characterisation and Association with Molecular Polymorphisms. **Plos One**, [s.l.], v. 2, n. 10, p.1-9, 31 out. 2007. Public Library of Science (PLoS). <<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0001089>>. Acesso em: 28 maio, 2018

TANTIAMORNKUL, Kritpaphat et al. The prevalence of molecular markers of drug resistance in Plasmodium vivax from the border regions of Thailand in 2008 and 2014. **International Journal For Parasitology: Drugs and Drug Resistance**, [s.l.], v. 8, n. 2, p.229-237, ago. 2018. Elsevier BV. <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpddr.2018.04.003>>. Acesso em: 26 maio, 2018

VALDERRAMOS, Stephanie G.; FIDOCK, David A.. Transporters involved in resistance to antimalarial drugs. **Trends In Pharmacological Sciences**, [s.l.], v. 27, n. 11, p.594-601, nov. 2006. Elsevier BV. <<http://dx.doi.org/10.1016/j.tips.2006.09.005>>. Acesso em: 26 set, 2018.

VOGEL, G.. The genetics of resistant malaria. **Science**, [s.l.], v. 346, n. 6215, p.1276-1277, 11 dez. 2014. American Association for the Advancement of Science (AAAS). <<http://dx.doi.org/10.1126/science.346.6215.1276>>. Acesso em: 26 junho, 2018

WALSH, Douglas s. et al. Randomized Dose-Ranging Study of the Safety and Efficacy of WR 238605 (Tafenoquine) in the Prevention of Relapse of Plasmodium vivax Malaria in Thailand. **The Journal Of Infectious Diseases**, [s.l.], v. 180, n. 4,

p.1282-1287, out. 1999. Oxford University Press (OUP). <<http://dx.doi.org/10.1086/315034>>. Acesso em: 25 maio, 2018

WANAGURU, M. et al. RH5-Basigin interaction plays a major role in the host tropism of Plasmodium falciparum. **Proceedings Of The National Academy Of Sciences**, [s.l.], v. 110, n. 51, p.20735-20740, 2 dez. 2013. Proceedings of the National Academy of Sciences. <<http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1320771110>>. Acesso em: 27 fev, 2018

WHITE, N. J.. Assessment of the Pharmacodynamic Properties of Antimalarial Drugs In Vivo. **Antimicrobial Agents And Chemotherapy**, Bangkok, v. 41, n. 7, p.1413-1422, jul. 1997 Acesso em: 21 maio, 2018

WHITE, N.. Antimalarial drug resistance and combination chemotherapy. **Philosophical Transactions Of The Royal Society B: Biological Sciences**, [s.l.], v. 354, n. 1384, p.739-749, 29 abr. 1999. The Royal Society. <http://dx.doi.org/10.1098/rstb.1999.0426> Acesso em: 18 maio, 2018.

WHO. Methods for surveillance of antimalarial drug efficacy. Geneva: World Health Organization; 2009. Acesso em 29 de maio, 2018

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **World Malaria Report**. Geneva; 2016 13.12.2017. Report No.: ISBN: 978 4 151171 1. Acesso em: 15 fev, de 2018

WRIGHT, Gavin J.; RAYNER, Julian C.. Plasmodium falciparum Erythrocyte Invasion: Combining Function with Immune Evasion. **Plos Pathogens**, [s.l.], v. 10, n. 3, p.1-7, 20 mar. 2014. Public Library of Science (PLoS). <<http://dx.doi.org/10.1371/journal.ppat.1003943>>. Acesso em: 19 fev, 2018

ZWANG, Julien et al. Efficacy of artesunate-amodiaquine for treating uncomplicated falciparum malaria in sub-Saharan Africa: a multi-centre analysis. **Malaria Journal**, [s.l.], v. 8, n. 1, p.203-210, 2009. Springer Nature. <<http://dx.doi.org/10.1186/1475-2875-8-203>>. Acesso em: 21 junho, 2018