



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
FACULDADE DE FARMÁCIA**

**GEOVANA ALVES DE OLIVEIRA
LUIS MIGUEL DE SOUZA DA SILVA**

**AVALIAÇÃO DAS VIAS METABÓLICAS ASSOCIADAS À ANEMIA CAUSADA
POR MALÁRIA**

**GOIÂNIA/GO
2023**

Rua 240, esquina com 5ª Avenida,
s/nº - Setor Leste Universitário
CEP 74605-170 - Goiânia - Goiás - Brasil.

Fone: (62) 3209-6044
Site: <http://farmacia.ufg.br>



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
FACULDADE DE FARMÁCIA

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR VERSÕES ELETRÔNICAS DE TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO DE GRADUAÇÃO NO REPOSITÓRIO INSTITUCIONAL DA UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio do Repositório Institucional (RI/UFG), regulamentado pela Resolução CEPEC no 1240/2014, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei no 9.610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

O conteúdo dos Trabalhos de Conclusão dos Cursos de Graduação disponibilizado no RI/UFG é de responsabilidade exclusiva dos autores. Ao encaminhar(em) o produto final, o(s) autor(a)(es)(as) e o(a) orientador(a) firmam o compromisso de que o trabalho não contém nenhuma violação de quaisquer direitos autorais ou outro direito de terceiros.

1. Identificação do Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação (TCCG)

Nome(s) completo(s) do(a)(s) autor(a)(es)(as): Geovana Alves de Oliveira e Luis Miguel de Souza da Silva

Título do trabalho: Avaliação das vias metabólicas associadas à anemia causada por malária

2. Informações de acesso ao documento (este campo deve ser preenchido pelo orientador) Concordo com a liberação total do documento [X] SIM [] NÃO¹

[1] Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. Após esse período, a possível disponibilização ocorrerá apenas mediante: a) consulta ao(à)(s) autor(a)(es)(as) e ao(à) orientador(a); b) novo Termo de Ciência e de Autorização (TECA) assinado e inserido no arquivo do TCCG. O documento não será disponibilizado durante o período de embargo.

Casos de embargo:

- Solicitação de registro de patente;
- Submissão de artigo em revista científica;
- Publicação como capítulo de livro.

Obs.: Este termo deve ser assinado no SEI pelo orientador e pelo autor.



Documento assinado eletronicamente por **Luiz Gustavo Araujo Gardinassi, Usuário Externo**, em 16/01/2024, às 14:06, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Luis Miguel De Souza Da Silva, Discente**, em 16/01/2024, às 15:15, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Geovana Alves De Oliveira, Discente**, em 17/01/2024, às 11:56, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **4302794** e o código CRC **F44A089E**.



GEOVANA ALVES DE OLIVEIRA
LUIS MIGUEL DE SOUZA DA SILVA

Avaliação das vias metabólicas associadas à anemia causada por malária

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Farmácia da Universidade Federal de Goiás, como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Gustavo Araújo Gardinassi.

**GOIÂNIA/GO
2023**

Rua 240, esquina com 5ª Avenida,
s/nº - Setor Leste Universitário
CEP 74605-170 - Goiânia - Goiás - Brasil.

Fone: (62) 3209-6044
Site: <http://farmacia.ufg.br>

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UFG.

Oliveira, Geovana Alves de

Avaliação das vias metabólicas associadas à anemia causada por malária [manuscrito] / Geovana Alves de Oliveira, Luis Miguel de Souza da Silva. - 2023.

XXXVI, 36 f.: il.

Orientador: Prof. Luiz Gustavo Araújo Gardinassi.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de Goiás, Faculdade Farmácia (FF), Farmácia, Goiânia, 2023.

Bibliografia.

Inclui siglas, mapas, abreviaturas, gráfico.

1. Anemia. 2. Malária. 3. Metabólica. 4. Interações hospedeiro patógeno. I. Silva, Luis Miguel de Souza da. II. Gardinassi, Luiz Gustavo Araújo, orient. III. Título.

CDU 612.017



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
FACULDADE DE FARMÁCIA

ATA DE DEFESA DE TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Aos quinze dias do mês de janeiro do ano de 2024 iniciou-se a sessão pública de defesa do Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) intitulado “Avaliação das vias metabólicas associadas à anemia causada por malária”, de autoria de Geovana Alves de Oliveira e Luis Miguel de Souza da Silva, do curso de Farmácia, da Faculdade de Farmácia da UFG. Os trabalhos foram instalados pelo(a) Prof. Dr. Luiz Gustavo Araújo Gardinassi – orientador(a) Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto/Universidade de São Paulo com a participação dos demais membros da Banca Examinadora: Doutora Anne Cristine Gomes de Almeida - Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado - FMT-HVD / Centro Universitário FAMETRO e BSc. Osvaldo Campos dos Santos Nonato - Plataforma Bi institucional de Pesquisa em Medicina Translacional Fiocruz/USP. Após a apresentação, a banca examinadora realizou a arguição do(a) estudante. Posteriormente, de forma reservada, a Banca Examinadora atribuiu a nota final de 9,4, tendo sido o TCC considerado aprovado.

Proclamados os resultados, os trabalhos foram encerrados e, para constar, lavrou-se a presente ata que segue assinada pelos Membros da Banca Examinadora.



Documento assinado eletronicamente por **Luiz Gustavo Araujo Gardinassi, Usuário Externo**, em 16/01/2024, às 14:05, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Anne Cristine Gomes de Almeida, Usuário Externo**, em 17/01/2024, às 00:01, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Osvaldo Campos dos Santos Nonato, Usuário Externo**, em 26/01/2024, às 09:28, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **4302792** e o código CRC **793F261B**.



**GEOVANA ALVES DE OLIVEIRA
LUIS MIGUEL DE SOUZA DA SILVA**

Avaliação das vias metabólicas associadas à anemia causada por malária

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Farmácia da Universidade Federal de Goiás, como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Gustavo Araújo Gardinassi.

Prof. Dr. Luiz Gustavo Araújo Gardinassi

Presidente da Banca – Orientador

Profa. Dra. Anne Cristine Gomes de Almeida

Membro

B.Sc. Osvaldo Campos dos Santos Nonato

Membro

**GOIÂNIA/GO
2023**

AGRADECIMENTOS

Inicialmente, agradecemos a Deus, fonte de sabedoria e inspiração, por nos guiar e nos conceder força ao longo de nossa jornada acadêmica.

Expressamos nossa sincera gratidão ao nosso orientador, Luiz Gustavo Araújo Gardinassi, cuja orientação crítica, conhecimento profundo e apoio constante foram pilares fundamentais na construção e refinamento deste trabalho. Seu compromisso conosco é um reflexo de sua dedicação à educação.

Estendemos nossos agradecimentos à Universidade Federal de Goiás, por proporcionar excelentes recursos e condições, para conclusão de nossa trajetória acadêmica.

Por fim, agradecemos aos familiares e amigos que nos apoiaram ao longo desta etapa desafiadora. Seu encorajamento e compreensão foram fundamentais para manter nosso foco e determinação.

RESUMO

A malária é uma doença infectocontagiosa desencadeada pela exposição aos protozoários do gênero *Plasmodium*, os quais são transmitidos por mosquitos *Anopheles* fêmeas. A prevalência global das espécies *P. falciparum* e *P. vivax* culminam em notável morbidade e mortalidade anualmente. Os mecanismos de interação parasito-hospedeiro ainda não são completamente compreendidos. A relação entre os níveis de hemoglobina e o metabolismo sistêmico de pacientes infectados por *P. falciparum*, *P. vivax* ou coinfeção por ambas as espécies foi estudada, o objetivo deste estudo foi investigar quais vias metabólicas e metabólitos estão associados aos níveis de hemoglobina durante a malária. Realizamos a busca por dados públicos de metabolômica na base de dados Metabolights, cujas coortes incluíram pacientes com malária causada por *P. falciparum*, *P. vivax* ou coinfeção por ambas as espécies. Os dados de metabolômica adquiridos por espectrometria de massas acoplada a cromatografia líquida (LC-MS) foram processados, filtrados, transformados e normalizados. Utilizamos o ambiente de computação estatística e gráfica R para analisar a associação entre os níveis de hemoglobina e metabólitos. No programa mummichog, metabólitos e vias metabólicas diversas foram associadas significativamente aos níveis de hemoglobina em cada grupo. Foi verificado que o metabolismo do linoleato foi significativo nas infecções por ambas as espécies de *Plasmodium*, sugerindo um papel importante desta via para a anemia malárica. Essas descobertas promovem a busca por biomarcadores de gravidade da doença e potenciais alvos terapêuticos para a malária.

Palavras-chave: Anemia; Malária; Metabolômica; Interações hospedeiro-patógeno.

ABSTRACT

Malaria is an infectious disease triggered by exposure to protozoa of the *Plasmodium* genus, which are transmitted by female *Anopheles* mosquitoes. The global prevalence of *P. falciparum* and *P. vivax* species results in notable morbidity and mortality each year. The mechanisms of parasite-host interaction are not yet fully understood. The relationship between hemoglobin levels and systemic metabolism of patients infected by *P. falciparum*, *P. vivax* or coinfection with both species has been studied. This study aimed to investigate which metabolic pathways and metabolites are associated with hemoglobin levels during malaria. We conducted a search for public metabolomic data in the Metabolights database, whose cohorts included patients with malaria caused by *P. falciparum*, *P. vivax* or coinfection by both species. Metabolomics data acquired by liquid chromatography – mass spectrometry (LC-MS) were processed, filtered, transformed, and normalized. We used the R statistical and graphical computing environment to analyze the association between hemoglobin levels and metabolites. In the mummichog program, various metabolites and metabolic pathways were significantly associated with hemoglobin levels in each group. We verified that the linoleate metabolism was significant in infections by both *Plasmodium* species, suggesting an important role for this pathway for malarial anemia. These findings promote the search for biomarkers of disease severity and potential therapeutic targets for malaria.

Keywords: Anemia; Malaria; Metabolomics; Host-pathogen interactions.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	8
1.1 O impacto da malária.....	8
1.2 A interação <i>Plasmodium</i> -hospedeiro.....	12
1.3 Metabolômica como ferramenta de estudo da malária.....	14
2. OBJETIVOS	15
2.1. Objetivo geral	15
2.2. Objetivos específicos.....	16
3. METODOLOGIA.....	16
3.1 Busca por dados públicos de pacientes com malária.....	16
3.2 Processamento e análise dos dados de metabolômica.....	16
3.3 Análise estatística dos dados	16
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	17
4.1. Busca e processamento de dados públicos de metabolômica.....	17
4.2 Associações entre metabólitos e hemoglobina em indivíduos com malária causada por <i>P. vivax</i>	18
4.3 Associações entre metabólitos e hemoglobina em indivíduos com malária causada por <i>P. falciparum</i>	20
4.4 Associações entre metabólitos e hemoglobina em indivíduos com malária causada por coinfeção por <i>P. vivax</i> e <i>P. falciparum</i>	23
5. CONCLUSÃO.....	28
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	28

1. INTRODUÇÃO

1.1 O impacto da malária

A malária é uma doença de etiologia infecciosa decorrente da exposição aos protozoários pertencentes ao gênero *Plasmodium*, sendo seu veículo de transmissão a inoculação realizada pela fêmea do mosquito *Anopheles* (Impondo, 2023). As espécies de *Plasmodium* predominantemente associadas à infecção em seres humanos são o *P. falciparum* e o *P. vivax*, as quais, em conjunto, são responsáveis por uma significativa parcela da morbidade e mortalidade relacionadas à malária a nível global (Colvin; Cordy, 2020). A predominância de casos de malária grave e óbitos está ligada ao *P. falciparum*, embora haja um aumento na notificação de casos graves causados pelo *P. vivax* (Gomes *et al.*, 2011).

Segundo dados da Organização Mundial de Saúde (OMS), em 2021 houve um registro de 247 milhões de casos de malária em 84 países onde a doença é endêmica. Isso representa um aumento em relação aos 245 milhões de casos ocorridos em 2020, com a maior parte desse aumento observada em países africanos. Em relação à mortalidade por malária, houve uma redução de 625.000 óbitos em 2020 para 619.000 em 2021.

Dados atuais mostram que na América do Sul, a malária ocorre principalmente na região amazônica em países como Venezuela, Peru, Bolívia e Brasil (Recht *et al.*, 2017). Por se tratar de um país continental com grande território, o Brasil se torna uma área endêmica, que inclui todos os estados da região norte, Maranhão e do Mato Grosso. Dados do Ministério da Saúde indicam uma queda nos casos de malária no Brasil entre 2010 e 2016. Em 2017 os casos aumentaram expressivamente (aproximadamente 52% em relação à 2016), com 189.515 casos reportados, ao passo que os dados mais recentes apontam que em 2021 foram reportados 139.112 casos autóctones, sendo que a grande maioria (83%) dos casos foi de *P. vivax* e 17% de *P. falciparum* (Brasil, 2022). O mapa de risco publicado pelo Ministério da Saúde (Brasil, 2022) demonstra as áreas de risco da malária no Brasil em 2021 (Figura 1).

Em relação às mortes por malária, no ano de 2018 houve um aumento significativo no número de casos de malária no Brasil. Neste ano, o número de óbitos aumentou 64,7%, indo de 34 em 2017, e para 56 em 2018. No ano seguinte, 2019, houve redução de 33,9%, tendo o Brasil registrado 37 óbitos. Em 2020 ocorreu novo aumento, onde foram registrados 51 óbitos, 37,8% de aumento em comparação ao ano anterior. Em 2021, de acordo com dados preliminares, foram registrados 58 óbitos por malária no país, representando 13,7% de aumento em

comparação a 2020. A letalidade por malária na região amazônica é baixa (0,04%), enquanto no restante do país a letalidade chegou a ser 23,25 vezes maior em 2021 (Brasil, 2022). O óbito nestas áreas ocorre, na maior parte, em pessoas que vêm infectadas de outros países ou de estados da região amazônica e não recebem o diagnóstico e tratamento oportunos e adequados devido à dificuldade na suspeição de uma doença relativamente rara nestas áreas e desinformação dos viajantes a respeito dos seus riscos.

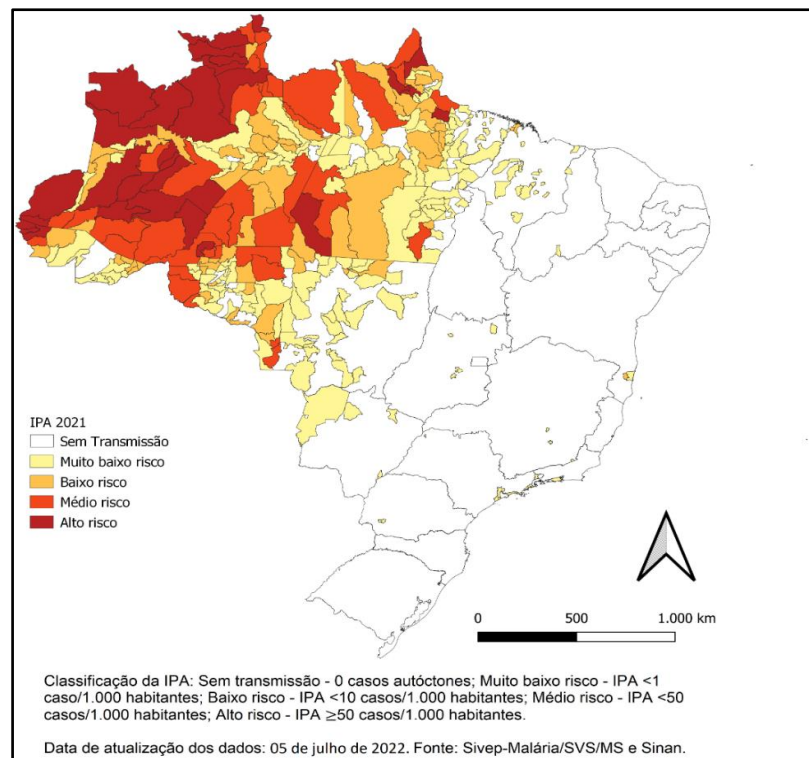


Figura 1 – Mapa de Risco do Brasil. Fonte: Ministério da Saúde – Governo Brasileiro, 2023. <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/m/malaria/situacao-epidemiologica-da-malaria-1/mapa-de-risco/mapa-de-risco-2021-site.png/view>

O inseto vetor da malária trata-se de mosquitos do gênero *Anopheles* e sua ampla distribuição no Brasil é facilitada pelo clima tropical. Este gênero compreende aproximadamente 400 espécies, das quais cerca de 60 são encontradas no Brasil (Siqueira *et al.*, 2018). Carlos e colaboradores (2019) verificaram que os estados do Amapá e Amazonas possuem a maior variedade de espécies que mosquitos desse gênero, corroborando com os dados da OMS que estabelecem essa região como a maior ofensora em notificações. Os autores ressaltam ainda que os dados podem estar sujeitos a vieses de baixa amostragem, assim como a subnotificação. Além disso, a sazonalidade das regiões interfere diretamente no índice de propagação da malária, visto que é maior em períodos chuvosos e sofre um decréscimo do número de casos da doença em períodos de estiagem pois a seca diminui a proliferação do vetor

(Wyse *et al.*, 2006). O principal vetor no Brasil é o *Anopheles (Nyssorhynchus) darlingi* que possui um comportamento antropofílico e endofílico, além de possuir reconhecidamente o hábito de picar no interior (endofagia) e nas proximidades das residências (exofagia) (Siqueira *et. al.*, 2018).

Ademais, desenvolvido para uma alimentação líquida, o aparelho bucal dos mosquitos *Anopheles* é categorizado como picador-sugador (Rey, 2014). Tanto os machos quanto as fêmeas apresentam um metabolismo energético que é influenciado pela ingestão de carboidratos, os quais são comumente obtidos a partir de seivas e frutas. As pesquisas conduzidas por Neves (2016) demonstram que esses açúcares também podem ser obtidos através da secreção doce liberada por pulgões, cochonilhas ou cigarras depositadas nas folhas. No entanto, as fêmeas possuem um conjunto de estiletos bucais longos e rígidos, ao contrário dos machos, cujas peças são apresentadas de forma incompleta ou atrofiada. A diferenciação morfológica destacada, possibilita que as fêmeas desenvolvam hábitos hematófagos, sendo, portanto, responsáveis pela transmissão da malária (Consoli; Lourenço-de-Oliveira, 1994) (Rey, 2014).

O ciclo de vida do *Plasmodium* depende da expressão de proteínas especializadas do hospedeiro, as quais têm um papel fundamental na regulação da sobrevivência do parasito tanto intracelular quanto extracelular, na invasão de diversos tipos de células, e na evasão das respostas do sistema imunológico (Gomes *et al.*, 2011). A fase esquizogônica é iniciada com a inoculação do parasita no hospedeiro humano, em que os esporozoítos invadem as células hepáticas, desencadeando a esquizogonia. Esta fase se subdivide em duas etapas distintas: a esquizogonia pré-eritrocítica e a esquizogonia eritrocítica. No interior dos hepatócitos, os trofozoítos iniciam o processo de divisão assexuada intracelular. Ao término dessa fase, milhares de merozoítos exo-eritrocíticos emergem de cada hepatócito infectado (Krampa *et al.*, 2020) (Figura 2).

No ciclo eritrocítico o *P. falciparum* invade e se prolifera nos eritrócitos, enquanto o *P. vivax* exibe uma preferência pela invasão dos reticulócitos (Gardinassi, *et al.*, 2017). A afinidade do *P. vivax* pelos reticulócitos desempenha um papel importante na redução da parasitemia, associada à progressão moderada da doença e à diminuição das taxas de mortalidade da malária causada por *P. vivax* em comparação com *P. falciparum* (Howes, *et al.*, 2016). Sob uma perspectiva bioquímica, a malária implica em uma complexa interação entre

o parasita e o hospedeiro, por meio de um ambiente compartilhado de recursos, culminando na troca de nutrientes e moléculas de sinalização (Colvin; Cordy, 2020) (Figura 2).

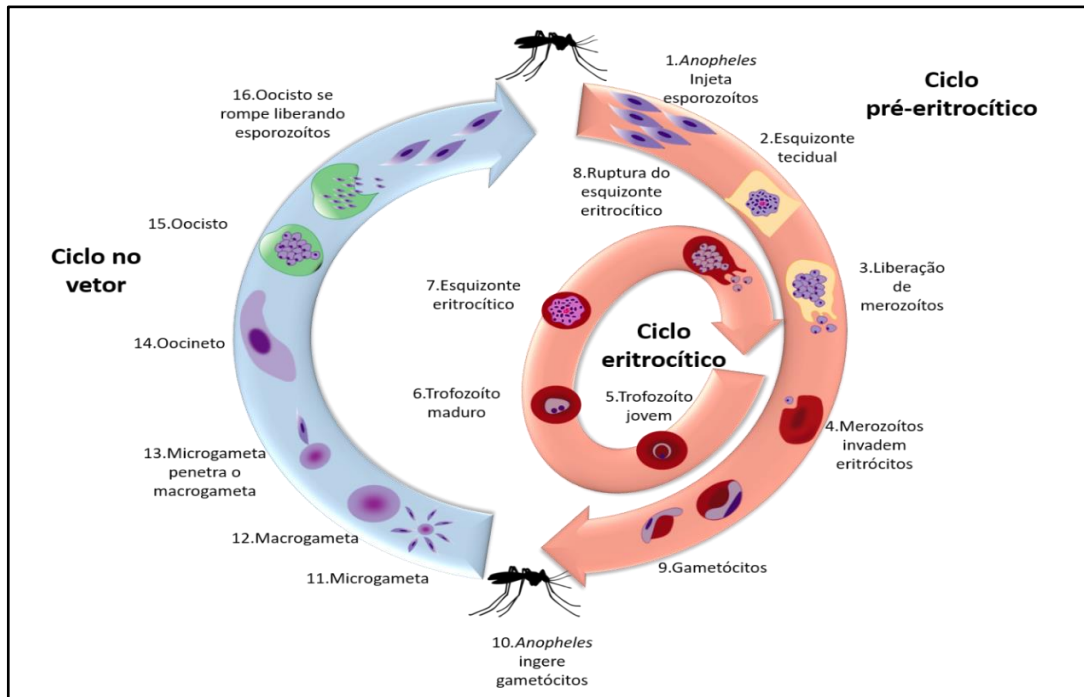


Figura 2 - Ciclo Biológico da Malária. 1. No momento do repasto sanguíneo a fêmea anofelina injeta esporozoítos na pele do hospedeiro vertebrado. Os esporozoítos migram ativamente pela corrente sanguínea até se estabelecerem no hepatócito. 2. O esporozoíto inicia a sua multiplicação intracelular assexuada, dando origem ao esquizonte tecidual. 3. Ocorre a ruptura do esquizonte tecidual e liberação de milhares de merozoítos na corrente sanguínea. 4. Os merozoítos invadem os eritrócitos. 5. Dentro dos eritrócitos os merozoítos se diferenciam em trofozoíto jovem em forma de anel. 6. Os trofozoítos se diferenciam originando os trofozoítos maduros. 7. Inicia-se a multiplicação intracelular assexuada dentro do esquizonte eritrocítico. 8. Com a ruptura do esquizonte eritrocítico são liberados milhares de merozoítos que irão invadir outros eritrócitos dando continuidade ao ciclo eritrocítico. 9. Após sequências de ciclos eritrocíticos, alguns trofozoítos se diferenciam para gametócitos incapazes de desenvolver a fase sexual no hospedeiro vertebrado. 10. A fêmea anofelina ingere os gametócitos. No intestino do vetor os gametócitos se diferenciam em 11. Microgameta (masculino) e 12. Macrogameta (feminino). 13. O microgameta penetra o macrogameta originando o zigoto. 14. O zigoto se diferencia para oocineto móvel que migrará através da parede intestinal do vetor onde sofrerá uma transformação para oocisto. 15. O oocisto se rompe liberando os esporozoítos na hemolinfa do inseto, logo ocorre a migração dos esporozoítos até as glândulas salivares onde ficarão até serem transmitidos ao próximo hospedeiro em um repasto sanguíneo. Fonte: Silva *et al.*, 2023.

Apesar de a infecção por *P. falciparum* ser a principal causa de mortalidade associada à malária, a biologia do *P. vivax* dificulta tanto o controle quanto o tratamento da doença. Esse fenômeno ocorre devido à habilidade dos hipnozoítos, que representam a forma latente e não detectável do parasita no fígado por extensos períodos, que podem se estender de meses a anos. Os hipnozoítos podem ser ativados, desencadeando assim uma nova infecção na corrente sanguínea, o que resulta em uma manifestação sintomática conhecida como recaída, e subsequentemente, resulta na transmissão do parasita.

A presença desses hipnozoítos é uma das razões pelas quais o tratamento, eficaz da malária causada por *P. vivax*, é desafiador. Os medicamentos antimaláricos precisam ser escolhidos cuidadosamente para atacar tanto as formas sanguíneas, quanto as hepáticas dos parasitas, visando a eliminação completa da infecção e prevenindo recaídas. Dessa forma, a eliminação dos hipnozoítos do *P. vivax* no fígado é crucial para alcançar o objetivo de erradicação da malária (Flanery *et al.*, 2022).

A anemia configura-se como uma condição hematológica caracterizada pela redução na concentração de hemoglobina ou na contagem de glóbulos vermelhos circulantes, sendo estes últimos os efetores do transporte de oxigênio no corpo (De Santis, 2019). Além disso, a anemia representa uma manifestação clínica multifatorial com implicações significativas para a saúde pública. A etiologia da anemia abrange uma variedade de causas, incluindo deficiências nutricionais, como a falta de ferro, vitamina B12 e ácido fólico, bem como condições que levam à destruição acelerada das hemácias ou à redução da produção de hemácias pela medula óssea (Batista; Souza; Bresani, 2008).

Em termos de níveis de hemoglobina, os valores de referência variam de acordo com o sexo do indivíduo. Para homens, o valor de referência é tipicamente entre 13,0 g/dL e 16,9 g/dL, enquanto para mulheres, o valor de referência é entre 11,5 g/dL e 14,9 g/dL (Rosenfeld *et al.*, 2019). A avaliação desses níveis é crucial para o diagnóstico e o manejo da anemia, permitindo intervenções terapêuticas adequadas para corrigir a condição subjacente (Cançado; Chiattonne, 2010). Além disso, a compreensão aprofundada dos mecanismos moleculares e celulares envolvidos na patogênese da anemia permite o desenvolvimento de estratégias de prevenção e intervenção eficazes, visando melhorar a qualidade de vida e reduzir as morbidades associadas a essa condição hematológica.

A malária representa uma das principais etiologias de anemia em regiões tropicais (White, 2018). A infecção malárica desencadeia anemia por meio de hemólise, aumento da depuração esplênica de eritrócitos infectados e não infectados, além de promover a diseritropoiese mediada por citocinas (Ajakaye; Ibukunoluwa, 2020). A diseritropoiese na malária está associada à síntese intramedular de substâncias inibidoras da eritropoiese (White, 2018). A anemia causada pela malária é caracterizada pela hemólise tanto de eritrócitos infectados como não infectados. A ruptura dos eritrócitos infectados resulta na liberação, além dos merozoítos, de diversos subprodutos metabólicos do parasita, incluindo a hemozoína, formada durante o processo de digestão da hemoglobina.

A liberação de componentes parasitários desencadeia respostas do hospedeiro, contribuindo para a manifestação de diversos sintomas clínicos (Su; Zhang; Joy, 2020). Os sinais clínicos predominantes da malária incluem febre, sudorese, cefaléia, tremores, náusea, vômito, diarreia, astenia e mialgia. Contudo, há situações em que os pacientes acometidos pela malária permanecem assintomáticos, devido a resistência imunológica, baixa carga parasitária, variação da espécie do parasita, estado de imunossupressão, dentre outros fatores. Desta forma, não manifestam quaisquer sintomas discerníveis, o que pode ocasionar desafios no diagnóstico da doença (Bria; Yeh; Bedingfield, 2021).

Novas tecnologias estão sendo desenvolvidas para abordar os desafios no diagnóstico da malária e na detecção precoce de indivíduos assintomáticos. A detecção de assintomáticos pode ter um impacto substancial na transmissão, no controle e, potencialmente, na erradicação da malária (Krampa *et al.*, 2020). Atualmente, o diagnóstico da malária é predominantemente realizado por meio de análises microscópicas de gota espessa e esfregaço sanguíneo, bem como testes rápidos de antígenos e técnicas moleculares de amplificação de ácidos nucleicos. Recentemente, testes imunocromatográficos, biossensores e imunossensores têm mostrado um notável avanço como ferramentas de detecção promissoras (Baptista *et al.*, 2021).

A eliminação da malária deverá ocorrer após desenvolvimento e administração de vacinas efetivas, as quais, até o momento, têm sido idealizadas com foco em determinar possíveis antígenos expressos por *Plasmodium*, principalmente *P. falciparum*, que podem ser alvos instrumentais para induzir imunidade protetora. No entanto, as variações e polimorfismos antigênicos que surgem nos genes do parasita sob pressão seletiva da resposta imune, constituem grandes desafios para seleção e priorização de antígenos vacinais, além de serem fatores de confusão na interpretação de resultados de ensaios clínicos com vacinas em fase de teste (Moormann; Nixon; Forconi, 2019).

1.2 A interação *Plasmodium*-hospedeiro

O contato inicial entre o parasito e o hospedeiro acontece na primeira barreira física da imunidade inata: a pele. Quando a fêmea do mosquito *Anopheles* se alimenta do sangue, e inocula os esporozoítos no hospedeiro, eles podem ficar retidos na pele por até 6 horas, gerando diferentes respostas imunes (Yamauchi *et al.*, 2007). O aparelho bucal do vetor é responsável por facilitar a migração dos esporozoítos que, ao atingirem a circulação, se dirigem e infectam hepatócitos (Yang *et al.*, 2017).

O dano aos hepatócitos infectados pode resultar na liberação de padrões moleculares ligados a danos (DAMPs - damage associated molecular patterns) e padrões moleculares associados aos patógenos (PAMPs - pathogen-associated molecular pattern), que desencadeiam a ativação da resposta imune inata. DAMPs e PAMPs são reconhecidos por receptores de reconhecimento de padrões (PRRs-pattern recognition receptors), incluindo, por exemplo, TLR2 (glicosilfosfatidilinositol), TLR4 (hemozoína) e TLR9 (hemozoína e DNA), que fazem parte de um conjunto de proteínas transmembrana denominados receptores do tipo Toll (TLRs-toll-like receptors).

Os principais receptores capazes de reconhecer componentes do *Plasmodium* no citoplasma da célula são os genes indutores de ácido retinóico do tipo 1 (RIG 1, do inglês, retinoic acid-inducible gene 1), gene 5 associado a diferenciação de melanoma (MDA5, do inglês, melanoma differentiation associated gene 5) e receptor laboratório de genética e fisiologia 2 (LGP2, do inglês, laboratory of genetics and physiology 2) do tipo RIG-I, capazes de reconhecer ácido ribonucleico (RNA, do inglês, ribonucleic acid) do parasito. O reconhecimento por estes receptores leva a ativação de células hepáticas, assim como de células hematopoiéticas, incluindo células exterminadoras naturais (NKs), macrófagos e células dendríticas (DCs), que iniciam a ativação da resposta imune (Kalantari *et al.*, 2014; Natama *et al.*, 2018).

O estágio hepático é assintomático, porém, existe uma resposta imunológica direcionada aos esporozoítos (Zheng; Tan; Xu, 2014). De fato, a ativação de PRR em hepatócitos promove a expressão dependente de IRF3 e IRF7 de IFN tipo I e tipo III (Sakuragi *et al.*, 2022). Células mielóides, como macrófagos DCs, também exibem aumento da sinalização por IFN-I, o que resulta no recrutamento de células NK e linfócitos citotóxicos (Liehl *et al.*, 2014). Os antígenos presentes na superfície de hepatócitos passam a ser reconhecidos pelo complexo principal de histocompatibilidade do tipo I e apresentados a células T CD8+ citotóxicas capazes de eliminar hepatócitos infectados (Imai *et al.*, 2015).

Durante o período eritrocítico há um novo ciclo de reprodução assexuada que gerará novos merozoítos e gametócitos. O aumento de tamanho e quantidade de parasitos nos eritrócitos infectados tornam estas células rígidas e deformadas e, desta forma, são eliminadas no baço (Bucsan; Williamson, 2020). Entretanto, após o rompimento simultâneo de milhares de eritrócitos infectados no decorrer do ciclo, ocorre a liberação de ligantes de PRRs que induzem a maturação de DCs, as quais migram para o baço. Essa maturação de DCs está

associada a um aumento na expressão de moléculas de co-estimulação, como CD80, CD86, CD40, de MHC-II e moléculas de adesão. Ainda, a infecção por *Plasmodium* ativa inflamassomas, os quais são responsáveis pela maturação de citocinas como IL-1 β e IL-18 e induzem inflamação e patologia na malária (Pereira *et al.*, 2020).

As DCs ativadas produzem interleucina-12 (IL-12), que ativa células NK e induz a produção de IFN- γ . Em conjunto, a sinalização de IL-12 e IFN- γ são cruciais para a diferenciação de células T auxiliares 1 (Th1, do inglês, T helper 1), assim como linfócitos T foliculares (Tfh, do inglês, T follicular helper cell) polarizados para Th1. Tfh promovem a formação de centros germinativos, hipermutação somática e troca de classe de anticorpos produzidos por linfócitos B específicos para *Plasmodium* (Lima-Junior; Pratt-Riccio, 2016). A grande quantidade de eritrócitos eliminados, somada ao sequestro (adesão ao endotélio) que estas células sofrem na tentativa de evadir a resposta imune, pode causar anemia e consequentemente a acidose láctica sistêmica, devido à redução de oxigênio nos tecidos (Possemiers; Vandermosten; Van Den Steen, 2021).

O conhecimento acerca dos mecanismos de interação patógeno-hospedeiro durante a malária foi obtido principalmente via estudos que focaram em um ou poucos componentes do hospedeiro, do vetor ou do patógeno. Estes estudos foram realizados com modelos animais, incluindo camundongos, aves e primatas não-humanos, cada um selecionado devido a algum aspecto, como fácil manuseio ou mesmo a relação evolucionária com humanos (Baird 2009). Embora eles sejam importantes para identificação de mecanismos moleculares atuando na patogênese e proteção contra a malária, estudos utilizando ferramentas em larga escala, por exemplo, genômica, transcriptômica, proteômica e metabolômica têm revolucionado o entendimento da relação entre *Plasmodium* e humanos.

1.3 Metabolômica como ferramenta de estudo da malária

O metabolismo celular é definido como um conjunto de processos bioquímicos nas células que produzem ou consomem energia. As vias do metabolismo central, que envolvem nutrientes abundantes como ácidos graxos e aminoácidos, podem ser separadas em três classes: as vias que sintetizam moléculas (anabolismo), vias que degradam moléculas (catabolismo) e as vias que eliminam resíduos tóxicos produzidas por outras classes (destinação de resíduos) (DeBerardinis e Thompson 2012). O metabolismo celular não é responsável apenas pela

sobrevivência e proliferação celular, mas também por sua resposta efetora no sistema imunológico (Man *et al.*, 2016).

As células envolvidas na resposta imune, quando ativadas passam por uma mudança na expressão de diversos genes, resultando em novas funções como produção de citocinas, mediadores lipídicos, enzimas, capacidade de migrar dos tecidos e/ou sofrer divisão celular. Essa transição de estado quiescente para ativado requer uma distribuição de pequenas moléculas (metabólitos) em diferentes vias, portanto determinadas vias metabólicas são reguladas para direcionar tais mudanças funcionais (Pearce; Pearce 2013).

A metabolômica é a análise global de moléculas pequenas (usualmente menores que 2000 Da) em amostras biológicas. Embora este campo de pesquisa esteja emergindo, as tecnologias relacionadas têm evoluído de forma rápida. Entre estas tecnologias, a espectrometria de massas acoplada à cromatografia líquida (LC-MS) oferece a melhor cobertura de análise. Metabolômica com LC-MS sem alvo definido tipicamente detecta milhares de metabólitos em amostras biológicas. A metabolômica sem alvo definido significa que o ensaio almeja a descoberta sem uma hipótese anterior. Já a metabolômica com alvo definido requer que a análise de cada metabólito tenha sido previamente caracterizada e validada com um padrão químico comercial e é usualmente limitada a menos metabólitos (Gardinassi *et al* 2017).

A metabolômica é uma ferramenta robusta para estudar as interações hospedeiro-patógeno. A análise aprofundada do metabolismo, subprodutos e vias associadas é essencial para compreender os mecanismos subjacentes às respostas do organismo ao patógeno (Colvin; Cordy, 2020), bem como para identificar a atividade de processos fisiológicos e patológicos, potenciais alvos terapêuticos e biomarcadores de infecção (Gardinassi, *et al.*, 2017). A interação entre o parasita e o hospedeiro exerce uma influência direta nas vias metabólicas, uma vez que o parasita se apropria do compêndio de metabólitos do hospedeiro como um substrato para processos de biossíntese (Ghosh, S. *et al.*, 2018).

Utilizando a metabolômica, foi demonstrado que durante infecções por *P. vivax*, ocorrem alterações significativas no metaboloma sanguíneo de humanos, as quais estão associadas à atividade da resposta imune contra este parasito. Como exemplo, podemos citar associações entre o metabolismo de glutamina ou de triptofano com a resposta de indivíduos expostos pela primeira vez ao *Plasmodium* (Gardinassi *et al.* 2018). Ainda, foi demonstrado

que a carga de parasitos circulantes, ou seja, a parasitemia causada por *P. vivax* está significativamente associada a diversos metabólitos circulantes, inclusive produtos da degradação do heme, assim como diversos lipídios (Gardinassi *et al.* 2017).

Dada a relevância da anemia para a gravidade da malária, formulamos a hipótese de que o perfil metabólico de pacientes com malária está associado aos níveis de hemoglobina, e podem fornecer informações ímpares sobre a fisiopatologia da doença.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

- Investigar quais vias metabólicas e metabólitos estão associados aos níveis de hemoglobina durante a malária.

2.2. Objetivos específicos

- Avaliar correlações entre os níveis de hemoglobina e níveis metabólitos;
- Comparar as correlações entre os níveis de hemoglobina e metabólitos em infecções por *P. vivax*, *P. falciparum* ou coinfeção por ambas as espécies.

3. METODOLOGIA

3.1 Busca por dados públicos de pacientes com malária

Dados de metabolômica adquiridos de pacientes com malária causada por *P. falciparum*, *P. vivax* ou co-infecção por ambas as espécies foram obtidos nas bases de dados Metabolights (<https://www.ebi.ac.uk/metabolights/>) com o identificador MTBLS664, além disso, foram adquiridos dados referentes aos níveis de hemoglobina de cada paciente. Este projeto não necessitou de aprovação no comitê de ética, pois foi realizado integralmente de forma computacional.

3.2 Processamento e análise dos dados de metabolômica

Os dados de metabolômica sem alvo definido (untargeted) obtidos via espectrometria de massas acoplado a cromatografia líquida (LC-MS) foram processados com o pacote apLCMS para R (Yu *et al.*, 2009). Após obtenção da tabela de compostos ionizados (picos de razão carga-massa ou m/z), nós realizamos uma filtragem para presença em ao menos 50% das amostras, transformamos os valores para escala logarítmica (\log_2) e normalizamos os dados pela

média. No programa mummichog (Li *et al.*, 2013), a linguagem python foi utilizada para prever vias metabólicas associadas aos níveis de hemoglobina.

3.3 Análise estatística dos dados

Para análise dos dados, utilizamos o ambiente de computação estatística e gráfica R. Nós realizamos regressões lineares para avaliar as associações entre os níveis de hemoglobina e metabólitos independentemente da classificação de pacientes anêmicos, obtendo assim, uma análise não supervisionada, o limiar predefinido como nível de significância foi 0,05.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Busca e processamento de dados públicos de metabolômica

A busca e o processamento de dados públicos de metabolômica desempenham um papel crucial na pesquisa científica, permitindo a descoberta de padrões, identificação de biomarcadores e compreensão dos processos metabólicos em sistemas biológicos. A busca por dados de metabolômica foi realizada na plataforma MetaboLights através do termo de busca “malaria” e filtragem para a espécie *Homo sapiens*. Isto resultou em um total de 15 conjuntos de dados públicos (*datasets*), dos quais selecionamos o estudo com identificador MTBLS664, pois apresenta dados tanto de infecções por *P. vivax* quanto por *P. falciparum*. O processamento inicial dos dados resultou na detecção de 6821 picos de *m/z*, que foram então filtrados pela presença em ao menos 50% das amostras. Isto resultou em 5653 picos de *m/z*, cujas intensidades foram transformadas para log2 e normalizadas pela média.

Os dados compreendem 30 amostras de pacientes com malária causada por *P. vivax*, dos quais 8 são do sexo feminino e 22 do sexo masculino, com média de idade de 31 anos e níveis médios de hemoglobina de 13,7 g/dl. Também foram coletadas 30 amostras de pacientes com malária causada por *P. falciparum*, dos quais 14 são do sexo feminino e 16 do sexo masculino, com média de idade de 27 anos e níveis médios de hemoglobina de 11,4 g/dl. Ainda, os pacientes com coinfeção incluíram 22 amostras, das quais 6 são do sexo feminino e 16 são do sexo masculino, com média de idade de 32 anos e níveis médios de hemoglobina de 12,5 g/dl.

Nós comparamos os níveis de hemoglobina entre os três grupos de pacientes estratificados por sexo e observamos que embora haja menores níveis de hemoglobina durante malária por *P. falciparum* e coinfeção em indivíduos do sexo feminino em relação a malária por *P. vivax*, estas diferenças não foram significativas (Figura 3A). Já, quando comparamos os

indivíduos do sexo masculino, observamos uma diferença significativa entre *P. vivax* e *P. falciparum*, porém não em relação a coinfeção (Figura 3B).

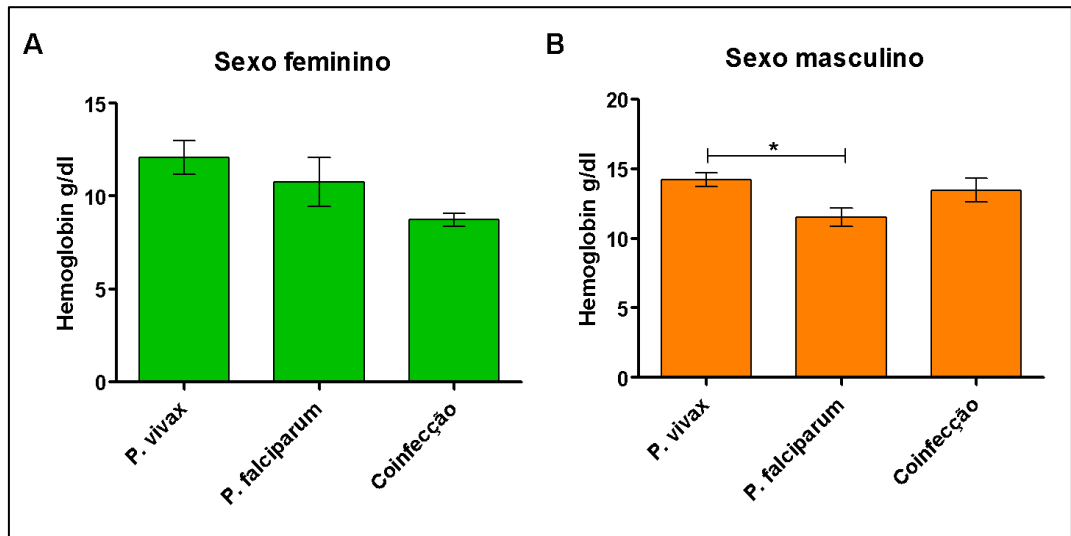


Figura 3 – Comparação dos níveis de hemoglobina durante a malária. (A) Níveis de hemoglobina em indivíduos do sexo feminino durante malária causada por *P. vivax*, *P. falciparum* ou coinfeção. (B) Níveis de hemoglobina em indivíduos do sexo masculino durante malária causada por *P. vivax*, *P. falciparum* ou coinfeção.

Com base nestes resultados, podemos verificar que a malária causada por *P. falciparum* causa as maiores quedas nos níveis de hemoglobina durante a malária. Isto é esperado, pois *P. vivax* invade apenas reticulócitos (eritrócitos imaturos), que compõem uma porcentagem pequena das células vermelhas circulantes, enquanto *P. falciparum* é capaz de infectar eritrócitos de qualquer idade. Essa característica ampla de invasão por parte do *P. falciparum* resulta em uma maior destruição de eritrócitos, contribuindo significativamente para a redução nos níveis de hemoglobina observada.

Além disso, é relevante destacar que a coinfeção, não apresenta diferenças significativas em relação às infecções por uma única espécie. Esse achado sugere que, independentemente da presença de múltiplas espécies de Plasmodium, as repercussões nos níveis de hemoglobina durante a malária permanecem semelhantes, destacando a importância de abordagens de manejo e tratamento que considerem as peculiaridades de cada cepa do parasita. Essa compreensão mais aprofundada das dinâmicas específicas das espécies de Plasmodium pode ser fundamental para orientar estratégias mais eficazes no controle e na prevenção da malária.

4.2 Associações entre metabólitos e hemoglobina em indivíduos com malária causada por *P. vivax*

Para avaliar a relação entre o metabolismo e os níveis de hemoglobina nos diferentes grupos de pacientes, nós utilizamos a regressão linear, um método estatístico que identifica a relação de linearidade entre os níveis de metabólitos e os níveis de hemoglobina no sangue. Para tal, utilizamos os níveis de hemoglobina como variável dependente e os metabólitos como variáveis independentes. Nós identificamos 354 picos de m/z significativamente associados ($p < 0.05$) aos níveis de hemoglobina em pacientes com malária causada por *P. vivax* (Figura 4). Esses resultados fornecem uma visão detalhada das interações metabólicas subjacentes à variação nos níveis de hemoglobina durante a infecção por *P. vivax*, destacando a complexidade e a diversidade das respostas metabólicas induzidas pelo parasita.

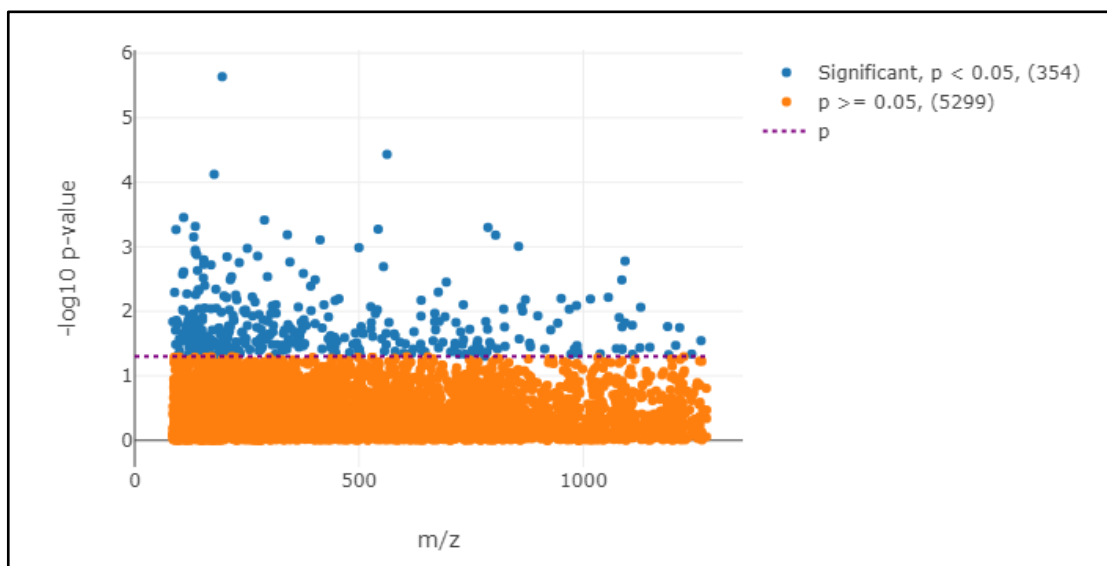


Figura 4 – Gráfico de Manhatan das associações significativas entre metabólitos e hemoglobina. Os pontos acima da linha e coloridos em azul referem-se aos 354 picos de m/z significativos ($p < 0.05$) na análise de regressão linear. Todos os pontos laranja referem-se aos picos não significativos. O eixo x demonstra a razão carga/massa (m/z) de cada pico detectado e o eixo y demonstra o valor de significância (p) resultante da análise de regressão linear e transformado para $-\log_{10}$.

Em seguida, nós utilizamos o programa mummichog para prever as vias biológicas e metabólitos associados aos níveis de hemoglobina durante a malária causada por *P. vivax*. As análises das vias metabólicas de maior relevância associadas à anemia causada por malária por *P. vivax*, incluiu o metabolismo da tirosina e o metabolismo do linoleato (Figura 5). Essas descobertas proporcionam insights valiosos sobre as complexas interações entre o parasita e o hospedeiro durante a infecção por *P. vivax*, evidenciando como as vias metabólicas desempenham um papel fundamental na resposta do organismo à malária.

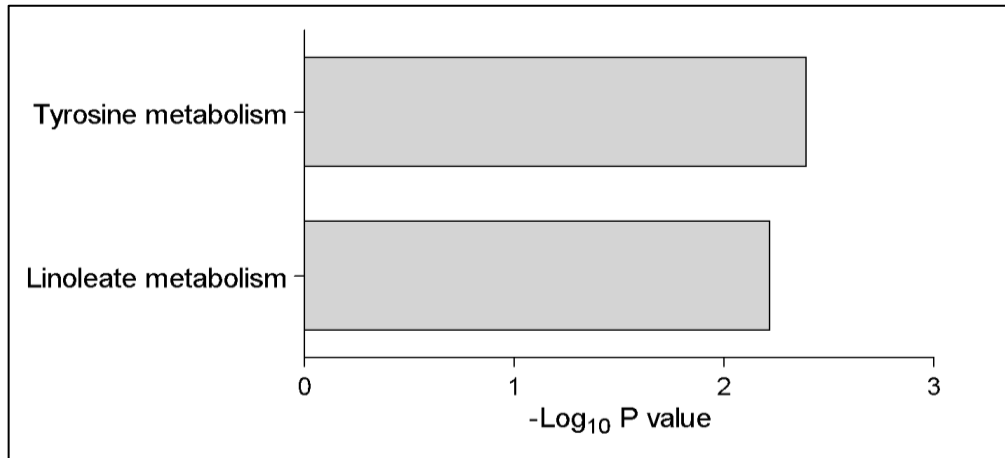


Figura 5 – Vias metabólicas associadas aos níveis de hemoglobina durante malária causada por *P. vivax*. O programa mummichog foi utilizado para prever as vias metabólicas enriquecidas pelos 354 picos de *m/z* significativos. O eixo x representa os valores de significância (p) das predições transformados para $-\log_{10}$.

A avaliação direta de intermediários metabólicos em amostras biológicas tem proporcionado avanços significativos na elucidação dos mecanismos subjacentes aos processos metabólicos (Moco, 2022). Os metabolismos da tirosina e do linoleato são processos complexos que envolvem diversas vias metabólicas e tem implicações significativas em vários aspectos da biologia celular e da saúde humana.

Associações entre metabólitos plasmáticos de pacientes, têm enfoque principalmente nas associações com a malária causada por *P. falciparum*, em comparação com a malária por *P. vivax* (Freitas, *et al.*, 2007). No entanto, a comparação categórica do metaboloma plasmático de pacientes com anemia causada por malária por *P. vivax* identificou de forma significativa metabólitos como norepinefrina e ácido 3-metoxi-4-hidroxifenilglicólico relacionados ao metabolismo da tirosina, e metabólitos como ácido gama-linolênico (GLA), ácido di-homo-gama-linolênico (DGLA), ácido 9-hidroxi-octadecadienóico (9-HODE) e ácido 13-hidroxi-octadecadienóico (13-HODE) associados ao metabolismo do linoleato.

A resposta imunitária à infecção por *P. vivax* está fortemente associada às respostas metabólicas do hospedeiro, os níveis de parasitemia em pacientes com malária causada por *P. vivax* influenciam a concentração de diversos metabólitos plasmáticos (Gardinassi *et al.*, 2018). Os mecanismos subjacentes à anemia na malária têm sido amplamente pesquisados, abordando desde a destruição mecânica dos eritrócitos induzida pelo parasito, a resposta imune humoral e celular mediada por citocinas, até perturbações na eritropoiese. No entanto, apesar das investigações em curso, a compreensão desses mecanismos ainda não foi completamente elucidada (Ventura, 2010).

A identificação de metabólitos continua sendo um desafio significativo na análise metabolômica (Hegeman, 2010), a identificação de certos metabólitos requer informações adicionais devido à sua complexidade (Moco, 2022). Isso é particularmente relevante quando se utiliza a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), onde os metabólitos encontrados podem corresponder a mais de um composto (Calabrese *et al.*, 2022). Esses desafios sublinham a complexidade das análises metabolômicas e a necessidade contínua de desenvolvimento de novas ferramentas e técnicas para melhorar a identificação e caracterização dos metabólitos.

4.3 Associações entre metabólitos e hemoglobina em indivíduos com malária causada por *P. falciparum*

As análises de regressões lineares identificaram 420 picos de m/z significativamente associados ($p < 0.05$) aos níveis de hemoglobina em pacientes com malária causada por *P. falciparum* (Figura 6).

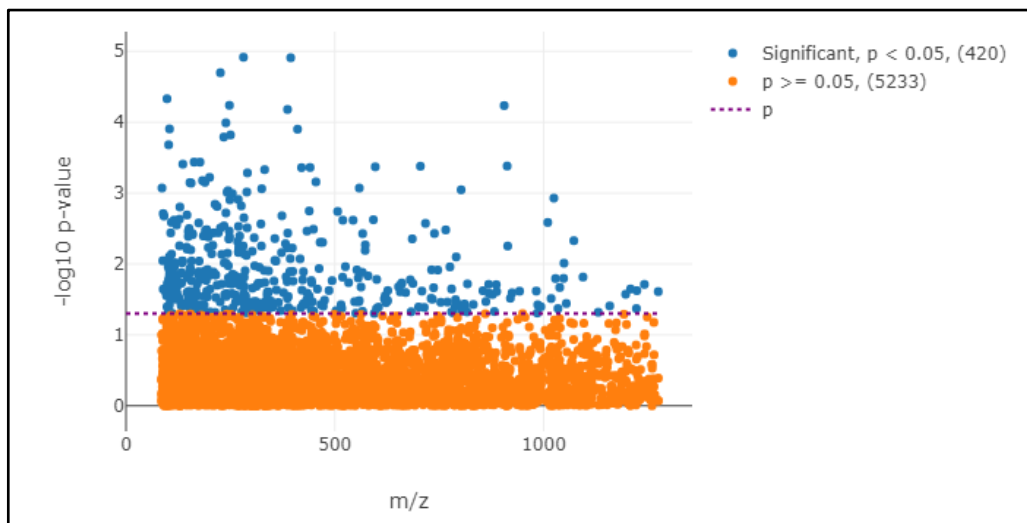


Figura 6 – Gráfico de Manhatan das associações significativas entre metabólitos e hemoglobina. Os pontos acima da linha e coloridos em azul referem-se aos 420 picos de m/z significativos ($p < 0.05$) na análise de regressão linear. Todos os pontos laranja referem-se aos picos não significativos. O eixo x demonstra a razão carga/massa (m/z) de cada pico detectado e o eixo y demonstra o valor de significância (p) resultante da análise de regressão linear e transformado para $-\log_{10}$.

Em seguida, utilizamos o programa mummichog com o intuito de predizer as vias biológicas e os metabólitos associados aos níveis de hemoglobina durante a malária causada por *P. falciparum*. As análises conduzidas resultaram na identificação de uma ampla gama de vias metabólicas que desempenham papéis significativos na modulação dos níveis de hemoglobina nesse contexto específico. Entre as vias metabolicamente relevantes, destacam-se o metabolismo de vitamina A, o metabolismo de glicoesfingolipídios, o metabolismo de

glicerofosfolipídios, a biossíntese de ácidos graxos, o metabolismo de linoleato, o metabolismo de fosfatidilinositol fosfato, a ativação e o metabolismo de ácidos graxos, e o metabolismo de ácido siálico (Figura 7).

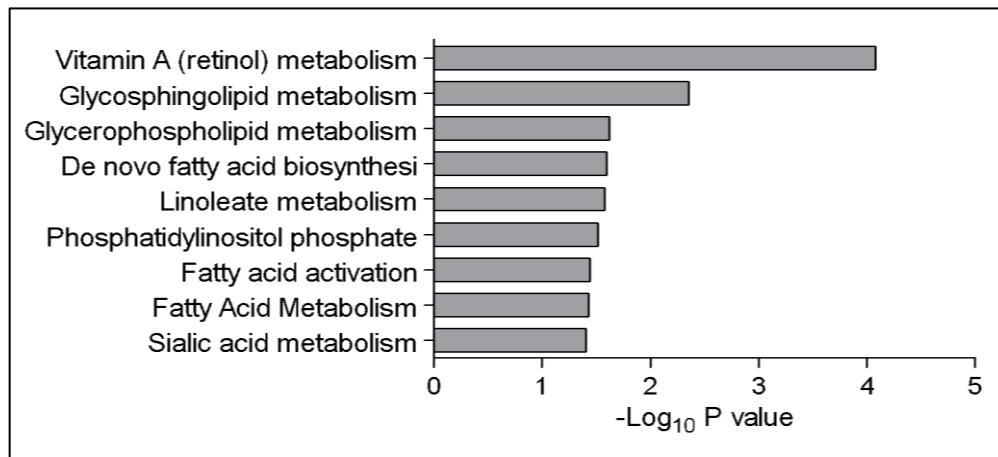


Figura 7 – Vias metabólicas associadas aos níveis de hemoglobina durante a malária causada por *P. falciparum*. O programa mummichog foi utilizado para prever as vias metabólicas enriquecidas pelos 420 picos de *m/z* significativos. O eixo x representa os valores de significância (*p*) das predições transformados para $-\log_{10}$.

A análise metabolômica revelou a presença de metabólitos associados à anemia causada pela malária, incluindo D-Serina, 3-Metoxi-4-hidroxifeniletlenoglicol, D-manose, Fitoesfingosina, Hexadecanoato (n-C16:0), Galactocerebrosídeo e Esfingosina., entre outros. Um estudo recente sugeriu que o tratamento com D-manose pode inibir o crescimento dos parasitas *Plasmodium* no estágio sanguíneo. Resultados indicam que a D-manose retarda o crescimento do *Plasmodium* não por estresse oxidativo, mas pela regulação da população de macrófagos esplênicos, importante na eliminação de eritrócitos parasitados (Lv *et al.*, 2022). Além disso, a D-manose pode prevenir a malária cerebral ao inibir a migração de células T ativadas para o cérebro (Lv *et al.*, 2022).

Nossas análises metabólicas em indivíduos com anemia por malária revelaram metabólitos como ácido linoleico, esfingosina, 3-metoxi-4-hidroxifeniletlenoglicol, D-serina, fosfato de dolcil, D-manose, ácido araquidônico, glicose 6-fosfato, entre outros, na via dos glicerofosfolipídeos no plasma. Estudos de Luzzatto e colaboradores (2016) destacam o papel crucial da G6PD na síntese de glutathione, essencial para combater danos causados pelo estresse oxidativo. A produção de G6PD ocorre durante a eritropoiese, sendo mais ativa nos reticulócitos e hemácias jovens, diminuindo com o envelhecimento dos eritrócitos, uma vez que células maduras não possuem capacidade de síntese enzimática (Luzzatto *et al.*, 2016).

Além disso, dois fármacos que são bastante utilizados durante o tratamento da malária Primaquina e Tafenoquina, causam hemólise em pacientes com deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD). A malária também desencadeia hemólise, resultando na substituição de eritrócitos envelhecidos, que têm atividade de G6PD reduzida, por reticulócitos e eritrócitos jovens que possuem uma atividade enzimática mais elevada. Em um trabalho liderado por Ley e colaboradores (2022), buscou-se avaliar o impacto da malária aguda na atividade da G6PD. Ele concluiu que a atividade da G6PD aumenta de forma considerável e atinge níveis clinicamente significativos durante episódios de malária aguda.

Na análise do perfil metabólico no plasma de pessoas afetadas por anemia proveniente de malária, alguns dos principais metabólitos identificados pelo software Mummichog incluem: hexadecanoato, Dolicil fosfato D-manose, D-manose e D-mio-inositol 1,2 fosfato ciclístico e D-glicose. Um dos metabólitos do metabolismo do fosfatidilinositol fosfato é a D-glicose. Em um estudo conduzido por Sengupta *et al.*, (2020), buscou-se investigar a utilização da glicose do organismo hospedeiro durante a fase inicial da infecção por *Plasmodium*.

Para este trabalho, ele investigou as alterações no host, o consumo de glicose em camundongos Balb/c infectados com *Plasmodium berghei* ANKA, empregando a infusão de glicose marcada com ¹³C, seguida da aplicação da espectroscopia de RMN. Como resultado, Sengupta *et al.*, (2020) conclui que houve modificações substanciais na absorção de glicose no fígado, cérebro e glóbulos vermelhos (RBC) no início da infecção, quando a parasitemia era inferior a 1%. Em termos da via metabólica, observou-se uma redução nos níveis do metabólito 2,3-bisfosfoglicerato nas hemácias.

Os ácidos siálicos são carboidratos compostos por nove átomos de carbono que são comuns na natureza e se encontram nas extremidades de algumas glicoproteínas e glicolipídios das membranas celulares. Atualmente, são conhecidas mais de 50 variantes naturais, sendo os tipos descobertos incluindo o ácido N-acetilneuramínico (Neu5Ac), o ácido desaminoneuramínico (conhecido como ácido 2-ceto-3-desoxi-nonulonônico ou Kdn) e o ácido N-glicolilneuramínico (Neu5Gc) (Ling *et al.*, 2022).

Neste trabalho avaliamos o perfil metabólico de pacientes infectados por anemia proveniente de malária, e constatamos que os principais metabólitos da via do metabolismo do ácido siálico são: D-serina, Dolicil fosfato D-manose, galactocerebrosídeo e D-manose. Nesse sentido, o trabalho conduzido por (Ongwe *et al.*, 2022), via estudo longitudinal avaliou o perfil

metabólico urinário de vinte africanos saudáveis com exposição à malária ao longo da vida e cinco europeus sem exposição à doença, foram todos desafiados com inoculação venosa direta de esporozoítos vivos de *P. falciparum*. Após o desafio da malária, observou-se que 23 dos 53 metabólitos identificados por meio de RMN apresentaram variações entre os grupos europeus e africanos em momentos específicos. Alguns destes metabólitos demonstrou diferenças significativas entre os dois grupos, posteriormente, a análise multinível foi identificada o perfil temporal de nove metabólitos, a saber: imidazol, fenilacetato, mio-inositol, fucose, cis-aconitato, acetaminofeno, acetoacetato, dimetilglicina e pseudouridina.

Segundo Ongwe *et al.*, (2022), o aumento nos níveis de mio-inositol observado em europeus não expostos à malária pode estar associado a alterações na homeostase da glicose induzidas pela infecção por malária. Esse fenômeno, provavelmente, ocorre devido ao rápido desenvolvimento da parasitemia e dos sintomas em indivíduos que não possuem imunidade prévia à malária.

4.4 Associações entre metabólitos e hemoglobina em indivíduos com malária causada por coinfeccção por *P. vivax* e *P. falciparum*

As análises de regressão linear identificaram 534 picos de m/z significativamente associados ($p < 0.05$) aos níveis de hemoglobina em pacientes com malária causada por coinfeccção por *P. vivax* e *P. falciparum* (Figura 8).

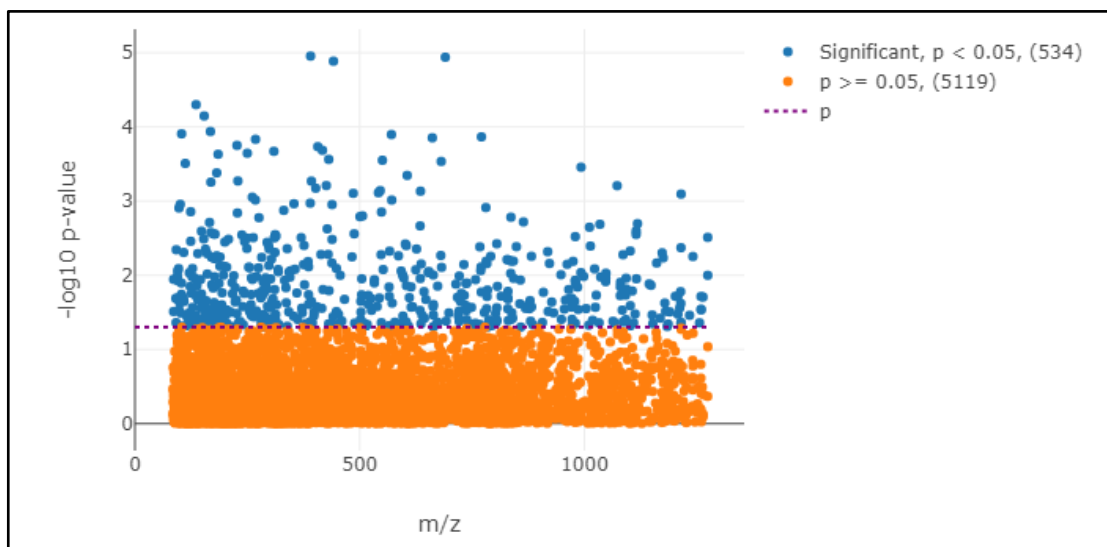


Figura 8 – Gráfico de Manhatan das associações significativas entre metabólitos e hemoglobina. Os pontos acima da linha e coloridos em azul referem-se aos 534 picos de m/z significativos ($p < 0.05$) na análise de regressão linear. Todos os pontos laranja referem-se aos picos não significativos. O eixo x demonstra a razão carga/massa (m/z) de cada pico detectado e o eixo y demonstra o valor de significância (p) resultante da análise de regressão linear e transformado para $-\log_{10}$.

Em seguida, nós utilizamos o programa mummichog para predizer as vias biológicas e metabólitos associados aos níveis de hemoglobina durante a malária causada por coinfeção por *P. vivax* e *P. falciparum*. As análises resultaram na identificação de diversas vias metabólicas relacionadas ao metabolismo de vitamina E, metabolismo de vitamina A, metabolismo de vitamina B, formação de neuroprostanos, biossíntese de ácidos graxos poliinsaturados, degradação de benzoato e metabolismo de vitamina C (Figura 9).

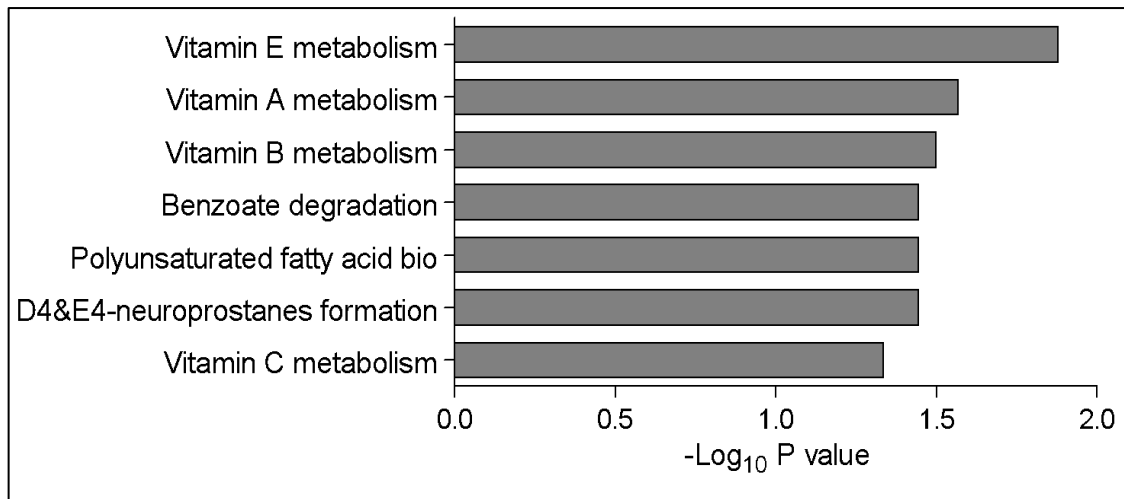


Figura 9 – Vias metabólicas associadas aos níveis de hemoglobina durante malária causada por coinfeção por *P. falciparum* e *P. vivax*. O programa mummichog foi utilizado para predizer as vias metabólicas enriquecidas pelos 534 picos de *m/z* significativos. O eixo x representa os valores de significância (p) das predições transformados para $-\log_{10}$.

O resultado da avaliação metabômica não direcionada de alta resolução da via metabólica da vitamina A, indica que os metabólitos associados à anemia causada por malária são: epoxi-retinol, éster retinílico, 13,14-dihidroxi-retinol, cis-9-retinol e anidroretinol. A forma ativa da vitamina A, retinol, também foi identificada, há uma associação significativa entre o aumento na densidade parasitária da malária e a redução das concentrações séricas de retinol (Filteau, 1993). Mesmo em infecções assintomáticas, quando os indivíduos podem não ter marcadores elevados de inflamação, a infecção por malária está associada à redução das concentrações de retinol (Sandalinas, 2022).

Baixos níveis de vitamina A em modelos animais de infecção por malária correlaciona-se com um aumento na parasitemia (Cox *et al.*, 2005). Além da existência de parasitas da malária, é fundamental ponderar outras possíveis razões que contribuam para a anemia grave (Haldar; Mohandas, 2009), a vitamina A desempenha um papel crucial na promoção de respostas orgânicas eficazes no combate a infecções (El Beitune *et al.*, 2003). A anemia é uma consequência preocupante da deficiência de vitamina A e pode ser agravada pela malária devido

ao desencadeamento de uma série de eventos que podem resultar na diminuição dos níveis de vitamina A no organismo, com implicações significativas na saúde sanguínea.

A infecção por malária induz hemólise tanto de eritrócitos parasitados quanto não parasitados, promove destruição obrigatória das hemácias contendo parasitas na ruptura do esquizonte. A vitamina A desempenha um papel fundamental na regulação da eritropoiese, promovendo o desenvolvimento e maturação celular, regulação da expressão gênica, produção de hemoglobina e homeostase do ferro, portanto, a deficiência dessa vitamina afeta a produção de eritrócitos, resultando em uma diminuição na quantidade de hemácias circulantes no sangue (White, 2018), contribuindo diretamente para a anemia, aumentando as complexas interações entre a doença parasitária e os processos fisiológicos que afetam a saúde sanguínea.

Serghides *et al.*, (2002) investigaram os efeitos do ácido 9-cis-retinóico, observando a redução na produção de TNF α , aumento na depuração fagocítica não opsônica de eritrócitos parasitados e regulação positiva da expressão de CD36. Pode-se explicar parcialmente os efeitos benéficos da suplementação com vitamina A na malária, pelo aumento da eliminação do parasita e a redução das respostas de citocinas pró-inflamatórias à infecção (Sanjoaquin; Molyneux, 2009). Níveis fisiológicos de retinóides têm sido associados à resistência natural do organismo contra infecções (El Beitune *et al.*, 2003), a vitamina A desempenha um papel essencial na modulação da imunidade mediada por células e nas reações dos anticorpos humorais (Sanjoaquin; Molyneux, 2009).

A abordagem combinada de análise metabolômica e transcriptômica demonstrou associações do estresse oxidativo com respostas biológicas (Gardinassi *et al.*, 2018). A análise do metaboloma plasmático de pacientes com anemia resultante de infecção por *P. vivax* sugere que o 3-carboxi-alfa-chromanol, como um metabólito, pode desempenhar um papel na resposta do organismo à malária. Essa correlação pode ser explicada devido à sua influência na homeostase do sistema antioxidante e na modulação da resposta inflamatória (Wallert *et al.*, 2020).

A vitamina E tem propriedade antioxidante e está associada à proteção contra a malária (Kotepu *et al.*, 2023), é conhecida por sua capacidade de preservar a integridade das membranas dos eritrócitos ao combater os efeitos do estresse oxidativo (Sun *et al.*, 2012). O estresse oxidativo desempenha uma função fundamental na fisiopatologia da malária (Gardinassi *et al.*, 2018), a etiologia do estresse oxidativo envolve diversos fatores, abrangendo potencialmente

os mecanismos patogênicos desencadeados pelo parasita, a geração de espécies reativas de oxigênio, assim como a atividade das enzimas antioxidantes nas células hospedeiras, com o propósito de reduzir a progressão da infecção (Percário *et al.*, 2012).

A hemólise intravascular exacerbada em resposta à infecção pelo *Plasmodium*, resulta na liberação considerável de hemoglobina e heme circulante, o heme contendo ferro induz estresse oxidativo intravascular (Mohanty; Nagababu; Rifkind, 2014). Causando um desequilíbrio entre a geração de espécies oxidantes e a eficácia das defesas antioxidantes, este desequilíbrio é um potencial desencadeador do estresse oxidativo (Becker, *et al.* 2004). A geração de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio (ROS e RNS) associadas ao estresse oxidativo desempenha um papel crucial no desenvolvimento de complicações sistêmicas resultantes da infecção por *Plasmodium* (Guha *et al.*, 2006).

Os níveis de vitamina E tendem a diminuir consideravelmente à medida que a densidade de parasitas da malária se eleva, é sugerido que a redistribuição da vitamina E para as membranas dos glóbulos vermelhos durante a fase aguda da infecção por *Plasmodium* está associada a essa diminuição (Kotepu *et al.*, 2023). Portanto, postula-se que o metabolismo da vitamina E pode contribuir para os processos subjacentes à infecção por *Plasmodium*, devido à sua capacidade de reduzir a hemólise e melhorar a fluidez das membranas eritrocitárias (Sun *et al.*, 2012).

Na análise do metaboloma plasmático de indivíduos acometidos por anemia causada por malária, alguns dos principais metabólitos previstos pelo software mummichog, como o trans-cis-2,11-eicosadienoil-CoA, octadecanoato, tetradecanoato e ácido linoléico, desempenham um papel importante na biossíntese de novos ácidos graxos. A descoberta e identificação desses metabólitos desempenham um papel essencial na caracterização e na elucidação dos mecanismos subjacentes à anemia malarial, contribuindo para uma compreensão mais profunda dessa condição hematológica.

No plasma sanguíneo de hospedeiros acometidos por *Plasmodium*, são observadas alterações nos níveis de diversos metabólitos, incluindo ácidos graxos. As infecções agudas causadas por *P. vivax* apresentam correlação com a diminuição de ácidos graxos monoinsaturados. Como parte de seu processo metabólico, os parasitos absorvem lipídios e ácidos graxos do microambiente circundante para a constituição de suas próprias membranas

celulares, sugerindo um aumento na oxidação beta de ácidos graxos nas mitocôndrias como um mecanismo para geração de energia (Colvin; Cordy, 2020).

Os parasitas efetuam a biossíntese de ácidos graxos mediante a aquisição de precursores metabólicos do hospedeiro, promovendo, assim, seu rápido crescimento e uma multiplicação exponencial. Tornando evidente que as vias metabólicas relacionadas à biossíntese de ácidos graxos desempenham um papel fundamental na expansão e proliferação de espécies de *Plasmodium* ao longo das diversas fases do seu ciclo de vida (Mamoun *et al.*, 2010). Essa perturbação metabólica, portanto, assume uma função importante na perpetuação do ciclo de vida do parasita e esses fatores, em conjunto, contribuem para o desenvolvimento da anemia observada em pacientes com malária.

Apesar de amplas investigações, persistem inúmeros desafios para a eficaz incorporação de dados computacionais. No presente estudo, conduzimos uma análise não direcionada (untargeted), nesse escopo, obtivemos uma visão abrangente dos metabólitos envolvidos. Nossos achados constituem alicerces para hipóteses futuras e análises mais robustas. Dentre os obstáculos enfrentados, destacam-se a complexidade dos dados, a diversidade química dos compostos e a variabilidade biológica. Nos próximos anos, a abordagem multiômica, com resolução espacial e análise de células individuais, fomentará inovações adicionais, promovendo uma compreensão mais profunda da biologia celular. Antecipamos avanços em diversas esferas, abrangendo melhorias no desempenho, redução de custos e integração de mais modalidades em um único ensaio. Adicionalmente, almejamos melhorias na sensibilidade e especificidade na detecção e caracterização de cada modalidade como parte das medições multiômicas (Shen *et al.*, 2023).

Observa-se que em sua maioria, as vias metabólicas associadas aos níveis de hemoglobina durante a malária, dependem da espécie de *Plasmodium*, visto que poucas vias foram associadas aos níveis de hemoglobina durante infecção por *P. vivax* e destas, apenas o metabolismo de linoleato foi comum em relação às vias associadas à hemoglobina durante malária causada por *P. falciparum*. Isto sugere, que metabólitos associados ao linoleato e seu metabolismo podem ter papel chave durante a anemia causada por malária, independentemente da espécie. Ainda, somente infecção por *P. vivax* resultou em associação com metabolismo de aminoácido, a tirosina. Embora a infecção por *P. falciparum* e coinfeção por ambas as espécies resultou na associação comum entre hemoglobina e o metabolismo de vitamina A, a maior parte das vias também foi específica para cada grupo. Estes resultados sugerem que o perfil

metabólico dos pacientes com malária depende da espécie de *Plasmodium* ou mesmo se é uma mono-infecção ou coinfeção.

5. CONCLUSÃO

Neste estudo, nós avaliamos as associações entre os níveis de hemoglobina e metabólitos circulantes no sangue de pacientes com malária causada por *P. vivax*, *P. falciparum* ou coinfeção com ambas as espécies. Nossos resultados demonstram que as associações dependem da espécie infectante, assim como se a infecção ocorre por uma única espécie ou por ambas as espécies. O metabolismo de linoleato está associado aos níveis de hemoglobina tanto na infecção por *P. vivax*, quanto na infecção por *P. falciparum*, sugerindo um potencial alvo para futuras investigações. Coletivamente, nossas descobertas contribuem para novas perspectivas sobre a fisiopatologia da malária, assim como fomentam a busca por biomarcadores de gravidade da anemia causada pela malária e potenciais alvos terapêuticos.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AJAKAYE, Oluwaremilekun G.; IBUKUNOLUWA, Mojirayo R. Prevalence and risk of malaria, anemia and malnutrition among children in IDPs camp in Edo State, Nigeria. **Parasite Epidemiology and Control**, v. 8, e00127, 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S240567311930090X>.

BAIRD, J. K. Malaria zoonoses. **Travel Medicine and Infectious Disease**, v. 7, n. 5, p. 269–277, set. 2009.

BAPTISTA, Vitória *et al.* The Future in Sensing Technologies for Malaria Surveillance: A Review of Hemozoin-Based Diagnosis. **ACS Sensors**, v. 6, n. 11, p. 3898-3911, 26 nov. 2021. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acssensors.1c01750>.

BATISTA FILHO, M.; SOUZA, A. I. DE .; BRESANI, C. C.. Anemia como problema de saúde pública: uma realidade atual. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 13, n. 6, p. 1917–1922, nov. 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1413-81232008000600027>.

BECKER, Katja *et al.* Oxidative stress in malaria parasite-infected erythrocytes: host–parasite interactions. **International Journal for Parasitology**, [S.l.], v. 34, n. 2, p. 163-189, 2004. ISSN 0020-7519. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S002075190300314X?via%3Dihub>.

BRASIL. Ministério da Saúde. Situação Epidemiológica da Malária. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/m/malaria/situacao-epidemiologica-da-malaria>. Acesso em: 06 dez. 2023.

BRIA, Yulianti Paula; YEH, Chung-Hsing; BEDINGFIELD, Susan. Significant symptoms and nonsymptom-related factors for malaria diagnosis in endemic regions of Indonesia. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 103, p. 194-200, 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1201971220324905>.

BUCŞAN, A. N.; WILLIAMSON, K. C. Setting the stage: The initial immune response to blood-stage parasites. **Virulence**, v. 11, n. 1, p. 88–103, 3 jan. 2020.

CALABRESE, V. *et al.* Molecular networking and collision cross section prediction for structural isomer and unknown compound identification in plant metabolomics: a case study applied to *Zanthoxylum heitzii* extracts. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 414, p. 4103-4118, abr. 2022. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00216-022-04059-7#citeas>.

CANÇADO, R. D.; CHIATTONE, C. S.. Anemia ferropênica no adulto: causas, diagnóstico e tratamento. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 32, n. 3, p. 240–246, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1516-84842010005000075>.

CARLOS, B. C.; RONA, L. D. P.; CHRISTOPHIDES, G. K.; SOUZA-NETO, J. A. A Comprehensive Analysis of Malaria Transmission in Brazil. **Pathogens and Global Health**, v. 113, n. 1, p. 1–13, 2 jan. 2019

COLVIN, H. N.; JOICE CORDY, R. Insights into malaria pathogenesis gained from host metabolomics. **PLoS Pathog**, v. 16, n. 11, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1008930>.

CONSOLI, R. A. G. B.; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, R. **Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil**. Rio de Janeiro: Fiocruz, 1994. 228 p. Disponível em: <http://books.scielo.org/id/th/pdf/consoli-9788575412909.pdf>. Acesso em 11 dez. 2013

COX, Sharon E., *et al.* Suplementação materna de vitamina A e imunidade à malária na gestação em primigestas ganenses. **Tropical Medicine & International Health**, [S.l.], v. 10, n. 12, p. 1286-97, dez. 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1365-3156.2005.01515.x>.

DE SANTIS, G. C. Anemia: definição, epidemiologia, fisiopatologia, classificação e tratamento. **Medicina (Ribeirão Preto)**, [S. l.], v. 52, n. 3, p. 239-251, 2019. Disponível em: <https://orcid.org/0000-0001-9915-447X>.

DEBERARDINIS, R. J.; THOMPSON, C. B. Cellular Metabolism and Disease: What Do Metabolic Outliers Teach Us? **Cell**, v. 148, p. 1132-1144, 2012.

EL BEITUNE, P. *et al.* Deficiência da vitamina A e associações clínicas: revisão. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v. 53, n. 4, dez. 2003. Disponível em: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222003000400004.

FILTEAU, S. M. *et al.* Influência da morbidade na concentração sérica de retinol em crianças em um estudo comunitário no norte de Gana. **The American Journal of Clinical Nutrition**, [S.l.], v. 58, n. 2, p. 192-197, 1993. ISSN 0002-9165. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/ajcn/58.2.192>.

FLANNERY, E. L. *et al.* Plasmodium vivax latent liver infection is characterized by persistent hypnozoites, hypnozoite-derived schizonts, and time-dependent efficacy of primaquine. **Molecular Therapy. Methods & Clinical Development**, v. 26, p. 427–440, 8 set. 2022.

FREITAS, L. F. *et al.* Malária não complicada por *Plasmodium vivax* e *P. falciparum* no Brasil: evidências sobre fármacos isolados e associações medicamentosas empregados em esquemas terapêuticos recomendados pelo protocolo terapêutico oficial. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 23, n. 10, p. 2285–2294, out. 2007.

GARDINASSI, Luiz G. *et al.* Integrative metabolomics and transcriptomics signatures of clinical tolerance to Plasmodium vivax reveal activation of innate cell immunity and T cell signaling. **Redox Biology**, v. 17, p. 158-170, 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2213231718302556>.

GARDINASSI, Luiz. G. *et al.* Bioinformatics Tools for the Interpretation of Metabolomics Data. **Current Pharmacology Reports**, v. 3, n. 6, p. 374–383, 1 dez. 2017.

GHOSH, S. *et al.* Metabolomic changes in vertebrate host during malaria disease progression. **Cytokine**, v. 112, p. 32-43, dez. 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S104346661830320X?via%3Dihub>.

GOMES, A. P. *et al.* Malária grave por Plasmodium falciparum. **Revista Brasileira De Terapia Intensiva**, v. 23, n. 3, p. 358–369, 2011. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbti/a/fF8CRKZ9TBX6X8MD4WvVTqS/?lang=pt>.

GUHA, M. *et al.* Apoptosis in liver during malaria: role of oxidative stress and implication of mitochondrial pathway. **Faseb J.**, [S.l.], v. 20, n. 8, p. 1224–6, jun. 2006. doi: 10.1096/fj.05-5338fje. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16603602/>.

HALDAR, Kasturi; MOHANDAS, Narla. Malaria, erythrocytic infection, and anemia. **Hematology, American Society of Hematology Education Program**, v. 2009, n. 1, p. 87–93, jan. 2009. Disponível em: <https://ashpublications.org/hematology/article/2009/1/87/19804/Malaria-erythrocytic-infection-and-anemia>.

HEGEMAN, Adrian D. Plant metabolomics—meeting the analytical challenges of comprehensive metabolite analysis. **Briefings in Functional Genomics**, v. 9, n. 2, p. 139–148, mar. 2010. Disponível em: <https://academic.oup.com/bfg/article/9/2/139/215906>.

HOWES, R. E. *et al.* Global Epidemiology of Plasmodium vivax. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, [S.l.], v. 95, n. 6 Suppl, p. 15–34, 2016. DOI: 10.4269/ajtmh.16-0141. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5198891/>.

IMAI, T. *et al.* Cytotoxic activities of CD8+ T cells collaborate with macrophages to protect against blood-stage murine malaria. **eLife**, v. 4, p. e04232, 11 mar. 2015.

IMPONDO LIMA, B. The main measures adopted for vector and parasitological control of malaria: A systematic review. **International Seven Journal of Health Research**, [S. l.], v. 2, n. 5, p. 1220–1248, 2023. DOI: 10.56238/isevjhv2n5-026. Disponível em: <https://sevenpublicacoes.com.br/index.php/ISJHR/article/view/2882>.

KALANTARI, Parisa; DEOLIVEIRA, Rosane B.; CHAN, Jennie; *et al.* Dual engagement of the NLRP3 and AIM2 inflammasomes by plasmodium-derived hemozoin and DNA during malaria. **Cell Reports**, v. 6, n. 1, p. 196–210, 2014.

KOTEPU, Manas *et al.* Efeito da malária nos níveis sanguíneos de vitamina E: uma revisão sistemática e meta-análise. **Nutrients**, [S.l.], v. 15, n. 15, p. 3472, 5 ago. 2023. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2072-6643/15/15/3472>.

KRAMPA, F. D. *et al.* Recent Advances in the Development of Biosensors for Malaria Diagnosis. **Sensors**, v. 20, n. 3, 2020. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1424-8220/20/3/799>.

LEY, B. *et al.* Variation in Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase activity following acute malaria. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 16, n. 5, p. e0010406, maio 2022.

LI, S. *et al.* Predicting Network Activity from High Throughput Metabolomics. **PLOS Computational Biology**, v. 9, n. 7, p. e1003123, 4 jul. 2013.

LIEHL, P. *et al.* Innate Immunity Induced by Plasmodium Liver Infection Inhibits Malaria Reinfections. **Infection and Immunity**, v. 83, n. 3, p. 1172–1180, mar. 2015.

- LIMA-JUNIOR, J. DA C.; PRATT-RICCIO, L. R. Major Histocompatibility Complex and Malaria: Focus on Plasmodium vivax Infection. **Frontiers in Immunology**, v. 7, 2016.
- LING, A. J. W. *et al.* Review of sialic acid's biochemistry, sources, extraction and functions with special reference to edible bird's nest. **Food Chemistry**, v. 367, p. 130755, 15 jan. 2022.
- LUZZATTO, L.; NANNELLI, C.; NOTARO, R. Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Deficiency. **Hematology/Oncology Clinics of North America**, Global Hematology. v. 30, n. 2, p. 373–393, 1 abr. 2016.
- LV, L. *et al.* Mannose inhibits Plasmodium parasite growth and cerebral malaria development via regulation of host immune responses. **Frontiers in Immunology**, v. 13, 2022.
- MAMOUN, C.; PRIGGE, S. T.; VIAL, H. Targeting the Lipid Metabolic Pathways for the Treatment of Malaria. **Drug Development Research**, v. 71, n. 1, p. 44-55, fev. 2010. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2886290/>.
- MAN, K.; KUTYAVIN, V. I.; CHAWLA, A. Tissue Immunometabolism: Development, Physiology, and Pathobiology. **Cell Metabolism**, v. 25, n. 1, p. 11–26, 10 jan. 2017.
- MOCO, Sofia. Studying Metabolism by NMR-Based Metabolomics. **Front. Mol. Biosci., Amsterdam**, v. 9, 27 abr. 2022. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmolb.2022.882487/full>.
- MOHANTY, J. G.; NAGABABU, E.; RIFKIND, J. M. Red blood cell oxidative stress impairs oxygen delivery and induces red blood cell aging. **Front Physiol**, v. 5, p. 84, 28 fev. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fphys.2014.00084>.
- MOORMANN, Ann M.; NIXON, Christina E.; FORCONI, Catherine S. Immune Effector Mechanisms in Malaria: An Update Focusing on Human Immunity. **Parasite Immunology**, v. 41, n. 8, p. e12628, 2019. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/pim.12628>.
- NATAMA, H. M. *et al.* Malaria incidence and prevalence during the first year of life in Nanoro, Burkina Faso: a birth-cohort study. **Malaria Journal**, v. 17, n. 1, p. 163, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12936-018-2315-4>.
- NEVES, David Pereira; MELO, Alan Lane; LINARDI, Pedro Marcos; VITOR, Ricardo W. Almeida. **Parasitologia humana**. 13. ed. São Paulo: Atheneu, 2016. 616 p.
- ONGWE, M. E. *et al.* Urinary Metabolic Profiling in Volunteers Undergoing Malaria Challenge in Gabon. **Metabolites**, v. 12, n. 12, p. 1224, 6 dez. 2022.
- ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. World malária report 2022. Disponível em: https://cdn.who.int/media/docs/default-source/malaria/world-malaria-reports/world-malaria-report-2022.pdf?sfvrsn=40bfc53a_4. Acesso em: 18 nov. 2023.
- PEARCE, E. L.; PEARCE, E. J. Metabolic pathways in immune cell activation and quiescence. **Immunity**, v. 38, n. 4, p. 633–643, 18 abr. 2013.

PERCÁRIO, Sandro *et al.* Oxidative Stress in Malaria. **International Journal of Molecular Sciences**, [S.l.], v. 13, n. 12, p. 16346-16372, dez. 2012. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1422-0067/13/12/16346>.

PEREIRA, L. M. N. *et al.* Caspase-8 mediates inflammation and disease in rodent malaria. **Nature Communications**, v. 11, n. 1, p. 4596, 14 set. 2020.

POSSEMIERS, H.; VANDERMOSTEN, L.; STEEN, P. E. V. DEN. Etiology of lactic acidosis in malaria. **PLOS Pathogens**, v. 17, n. 1, p. e1009122, 7 jan. 2021.

RECHT, Judith; SIQUEIRA, André M.; MONTEIRO, Wuelton M.; *et al.* Malaria in Brazil, Colombia, Peru and Venezuela: Current Challenges in Malaria Control and Elimination. **Malaria Journal**, v. 16, n. 1, p. 273, 2017.

REY, L. **Parasitologia: parasitos e doenças parasitárias do homem nas Américas e na África**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991. 731 p.

ROSENFELD, L. G. *et al.* Valores de referência para exames laboratoriais de hemograma da população adulta brasileira: Pesquisa Nacional de Saúde. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 22, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1980-549720190003.supl.2>

SAKURAGI, S. *et al.* Rubella Virus Triggers Type I Interferon Antiviral Response in Cultured Human Neural Cells: Involvement in the Control of Viral Gene Expression and Infectious Progeny Production. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 17, p. 9799, 29 ago. 2022.

SANDALINAS, F. *et al.* Measuring the impact of malaria infection on indicators of iron and vitamin A status: a systematic literature review and meta-analysis. **British Journal of Nutrition**, [S.l.], v. 129, n. 1, p. 87-103, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1017/S0007114522000757>.

SANJOAQUIN, Miguel A; MOLYNEUX, Malcolm E. Malaria and vitamin A deficiency in African children: a vicious circle? **Malaria Journal**, v. 8, n. 134, jun. 2009. Disponível em: <https://malariajournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/1475-2875-8-134#citeas>.

SENGUPTA, A. *et al.* Early Perturbations in Glucose Utilization in Malaria-Infected Murine Erythrocytes, Liver and Brain Observed by Metabolomics. **Metabolites**, v. 10, n. 7, p. 277, 7 jul. 2020.

SERGHIDES, L.; KAIN, K. C. Mechanism of protection induced by vitamin A in falciparum malaria. **Lancet**, [S.l.], v. 359, p. 1404-1406, 2002. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11978340/>.

SHEN, S. *et al.* Metabolomics-centered mining of plant metabolic diversity and function: Past decade and future perspectives. **Molecular Plant**, v. 16, n. 1, p. 43–63, 2 jan. 2023.

SILVA, N. I. Identificação de uma assinatura transcricional unificada da resposta imune à malária via meta-análise de transcriptomas. 2023. 69 f. Dissertação (Mestrado em Biologia da Relação Parasito-Hospedeiro) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2023.

SIQUEIRA, A.; MARCHESINI, P.; TORRES, R. M.; RODOVALHO, S.; CHAVES, T. **Malária na atenção básica**. Belo Horizonte: Nescon/UFMG, 2018. 175 p.

SU, Xin-zhuan; ZHANG, Cui; JOY, Deirdre A. Host-Malaria Parasite Interactions and Impacts on Mutual Evolution. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 10, 2020. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcimb.2020.587933>.

SUN, Yongye *et al.* Vitamin E supplementation protects erythrocyte membranes from oxidative stress in healthy Chinese middle-aged and elderly people. **Nutrition Research**, v. 32, n. 5, p. 328-334, 2012. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0271531712000668>.

VENTURA, Ana Maria de Souza. **Estudo da anemia na malária por Plasmodium vivax**. 2010. 128 f. Tese (Doutorado em Medicina Tropical) - Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2010. Disponível em: https://www.arca.fiocruz.br/bitstream/handle/icict/13822/ana_ventura_ioc_dout_2010.pdf?sequence=1.

WALLERT, Maria *et al.* Diversity of Chromanol and Chromenol Structures and Functions: An Emerging Class of Anti-Inflammatory and Anti-Carcinogenic Agents. **Frontiers in Pharmacology**, v. 11, 2020. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphar.2020.00362>.

WHITE, Nicholas J. Anemia e malária. **Malaria Journal**, [S.l.], v. 17, n. 371, 19 out. 2018. Disponível em: <https://malariajournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12936-018-2509-9>.

WYSE, A. P. P.; BEVILACQUA, L.; RAFIKOV, M. Modelo Matemático Sazonal para Malária. **TEMA - Tendências em Matemática Aplicada e Computacional**, v. 7, n. 2, p. 391–400, 29 ago. 2006.

YAMAUCHI, Lucy Megumi; COPPI, Alida; SNOUNOU, Georges; *et al.* Plasmodium Sporozoites Trickle out of the Injection site. **Cellular Microbiology**, v. 9, n. 5, p. 1215–1222, 2007.

YANG, Annie S P; O'NEILL, Matthew T; JENNISON, Charlie; *et al.* Cell Traversal Activity Is Important for Plasmodium falciparum Liver Infection in Humanized Mice. **Cell reports**, v. 18, n. 13, p. 3105–3116, 2017.

YU, T. *et al.* apLCMS--adaptive processing of high-resolution LC/MS data. **Bioinformatics (Oxford, England)**, v. 25, n. 15, p. 1930–1936, 1 ago. 2009.

ZHENG, H.; TAN, Z.; XU, W. Immune evasion strategies of pre-erythrocytic malaria parasites. **Mediators of Inflammation**, v. 2014, p. 362605, 2014.