



FACULDADE DE CIÊNCIAS DA EDUCAÇÃO E SAÚDE-FACES
GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

BRENDA TAYRINE TAVARES SOUZA

CONTRIBUIÇÃO DOS MODELOS MURINOS NA MALÁRIA EXPERIMENTAL

Trabalho de conclusão de curso no formato de artigo científico apresentado ao UniCEUB sob orientação da Professora Dra. Maria Creuza do Espírito Santo Barros.

BRASÍLIA

2017

*“Aprendi que deveríamos ser gratos a Deus
por não nos dar tudo o que lhe pedimos”
(William Shakespeare)*

Agradecimentos

Primeiramente a Deus que permitiu que tudo isso acontecesse, ao longo de minha vida, e não somente nestes anos como universitária, mas em todos os momentos.

Agradeço aos meus pais Aldineia e Edvaldo, heróis que me deram apoio, incentivo nas horas difíceis, de desânimo e cansaço.

A minha orientadora Maria Creuza, pelo suporte no pouco tempo que lhe coube, pelas suas correções e incentivos.

Agradeço a Professora Tatiana Karla, pela paciência, dedicação e ensinamentos que possibilitaram que eu realizasse este trabalho.

Aos meus amigos Andréia, Lucas e Danilo por terem me acolhido, passado seus conhecimentos e me aturado durante esses meses.

Ao meu melhor amigo Thiago Fernando, que me aturou esses cinco anos como namorado e vivenciou minha jornada na faculdade e que me ajudou a traduzir textos em inglês para o trabalho.

Agradeço ao meu gato Miu que alegra a minha casa com suas mordidinhas e agradecer por não ter comido meus trabalhos e tarefas.

A todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação, o meu muito obrigado.

CONTRIBUIÇÃO DOS MODELOS MURINOS NA MALÁRIA EXPERIMENTAL

Brenda Tayrine Tavares Souza ¹

Maria Creuza do Espirito Santo Barros ²

RESUMO

A malária é uma doença tropical e subtropical grave, com alta taxa de mortalidade e morbidade em áreas endêmicas. É causada pelo protozoário do gênero *Plasmodium ssp.* As espécies de plasmódios que costumam infectar os humanos são: *P. vivax*, *P. ovale*, *P. Malariae*, *P. knowlesi* e *P. falciparum*. Encontramos os *P. vinckei*, *P. chabaudi* e *P. berghei*, causadores de malária em roedores. O objetivo do trabalho foi expor a contribuição dos modelos murinos e sua relevância na malária experimental e seus benefícios para o entendimento da malária humana. Estudos em humanos, muitas vezes são limitados a observações *post-mortem*. Logo uma das opções mais utilizadas para se estudar fenômenos histológicos e os mecanismos imunopatológicos na malária é o estudo em modelos animais, sendo o camundongo o modelo mais largamente utilizado.

Palavras chaves: *Plasmodium sp*, *Plasmodium berguei*, vacina, malária cerebral, camundongo, ciclo málaría.

ABSTRACT

Malaria is a serious tropical and subtropical disease with a high mortality rate and morbidity in endemic areas. It is caused by the protozoan of the genus *Plasmodium ssp.* The species of plasmids that usually infect humans are: *P. vivax*, *P. ovale*, *P. Malariae*, *P. knowlesi* and *P. falciparum*. We found *P. vinckei*, *P. chabaudi* and *P. berghei*, which cause malaria in rodents. The objective of this work is to present the contribution of the murine models and their relevance in experimental malaria and its benefits for the understanding of human malaria. Studies in humans are often limited to post-mortem observations. Therefore, one of the most used options for studying histological phenomena and the immunopathological mechanisms in malaria is the study in animal models, the mouse being the most widely used model.

Key words: *Plasmodium sp*, *Plasmodium berguei*, vaccine, cerebral malaria, mouse, málaría cycle.

¹ Graduando do curso de Biomedicina do Centro Universitário de Brasília - UniCEUB

² Professora de Biomedicina do Centro Universitário de Brasília - UniCEUB

1. INTRODUÇÃO

A malária é uma doença tropical e subtropical grave, com alta taxa de mortalidade e morbidade em áreas endêmicas como na África, na Região Amazônica da América do Sul e no Sudeste Asiático (SINGHA, 2013). No Brasil, incide predominantemente na Amazônia Legal, que engloba os estados do Acre, Amapá, Amazonas, Maranhão, Mato Grosso, Pará, Rondônia, Roraima e Tocantins (REINERS, 2010; TAUIL, 2006). É causada pelo protozoário do gênero *Plasmodium ssp*, parasito descoberto em 1880, por Laveran. São parasitas intracelulares obrigatórios que apresentam dois hospedeiros, um vertebrado e outro invertebrado (GARNHAN, 1966). A sua principal via de transmissão se dá através da picada da fêmea do mosquito *Anopheles ssp*. A doença tem caráter infecciosa aguda, com picos febris e não contagiosa (SINGHA, 2013).

Muitas espécies de *Plasmodium* já foram identificadas, dentre elas, parasitos de primatas, répteis, mamíferos não primatas e aves (SCHALL, 1990; SLATER, 2005). Mas as espécies de plasmódios que costumam infectar os humanos são: *P. vivax*, *P. ovale*, *P. Malariae*, *P. knowlesi* e *P. falciparum* (SOUZA, 2002; SINGHA; 2013). Entre as demais espécies, destacamos o *P. brasilianum* e *P. simium* como parasitos de macacos, morfologicamente semelhantes aos *P. vivax* e *P. malariae*, respectivamente. Em outros modelos de malária, encontramos os *P. vinckei*, *P. chabaudi* e *P. berghei*, causadores de malária em roedores (SOUZA; RILEY, 2002).

No Brasil, o número de casos de malária ocorre principalmente devido à infecção por *Plasmodium vivax* e é responsável pelo maior número de casos e o *Plasmodium falciparum* é responsável pelo maior número de mortes (BRASIL, 2005). Os principais sintomas da malária por *Plasmodium falciparum* são náusea, febre e dor de cabeça, às vezes acompanhada de diarreia, vômito e com ausência de diagnóstico precoce e tratamento, podendo evoluir para forma grave (QUEIROZ, 2008). A malária grave inclui qualquer uma ou mais das manifestações, como: malária cerebral (CM), anemia normocítica grave, insuficiência renal, hipoglicemia, sangramento espontâneo edema pulmonar, convulsões generalizadas repetidas, acidose e hemoglobinúria (GOOD, 2005).

O estudo de Queiroz (2008) demonstrou que camundongos infectados com cepa de *Plasmodium berghei* ANKA e susceptíveis a malária cerebral podem apresentar angústia respiratória com acidose láctica, anemia e nefrite, podendo desenvolver manifestações clínicas parecidas com a malária por *P. falciparum*.

Estudos em humanos, muitas vezes são limitados a observações *post-mortem*. Logo uma das opções mais utilizadas para se estudar fenômenos histológicos e os mecanismos imunopatológicos na malária é o estudo em modelos animais, sendo o camundongo o modelo mais largamente utilizado, pois, compartilha várias características da doença humana, especialmente uma resposta imune desequilibrada com predominância de uma resposta inflamatória (LOU et al., 2001).

As particularidades de cada espécie de plasmódio murino são o que os torna ideais no estudo e a sua relação com a malária humana. Além disso as diferentes linhagens de modelos animais experimentais de malária podem ser comparadas e fornecerem caminhos importantes para a conhecimento biológico dessa patologia (OTTO et al., 2014).

A história da malária murina começou em 1948, quando ocorreu o isolamento da primeira cepa de *Plasmodium* de roedor nomeado de *Plasmodium berghei* isolado pelo Vincke e Lips, na África central, encontrado em glândulas salivares da espécie silvestre de *Anopheles durenii* e em 1954 foi possível encontrar o parasita na circulação de roedores silvestres (QUEIROZ, 2007). A partir de então, várias espécies e subespécies de *Plasmodium* de roedores foram obtidas (Tabela 1) (PETERS; RICHARDS, 1984).

O trabalho tem como objetivo uma revisão bibliográfica expondo a contribuição dos modelos murinos e sua relevância na malária experimental e seus benefícios para o entendimento da malária humana.

2. METODOLOGIA

Para a realização desta revisão da literatura no formato narrativo que segundo o autor Rother (2007) “As revisões narrativas são publicações amplas, apropriadas para descrever e discutir o desenvolvimento de um determinado assunto, sob o ponto de vista teórico ou contextual”. Foi realizada uma busca de artigos em diferentes bases de dados nacionais e internacionais. Entre elas, EBSCO, Portal de Teses UNB, UFMG e ICB-USP, Scielo, PubMed e serviço online da Organização Mundial de Saúde. Para a seleção dos artigos foram utilizadas as seguintes palavras-chave: “modelos and experimentais”, “murinos”, “malária”, “malária cerebral”, “vacina” e “*Plasmodium sp.*” nos idiomas inglês e português. Foram utilizados artigos publicados entre os anos de 2001 a 2016, contudo trabalhos anteriores a este período também foram utilizados de acordo com a relevância literária que apresentaram.

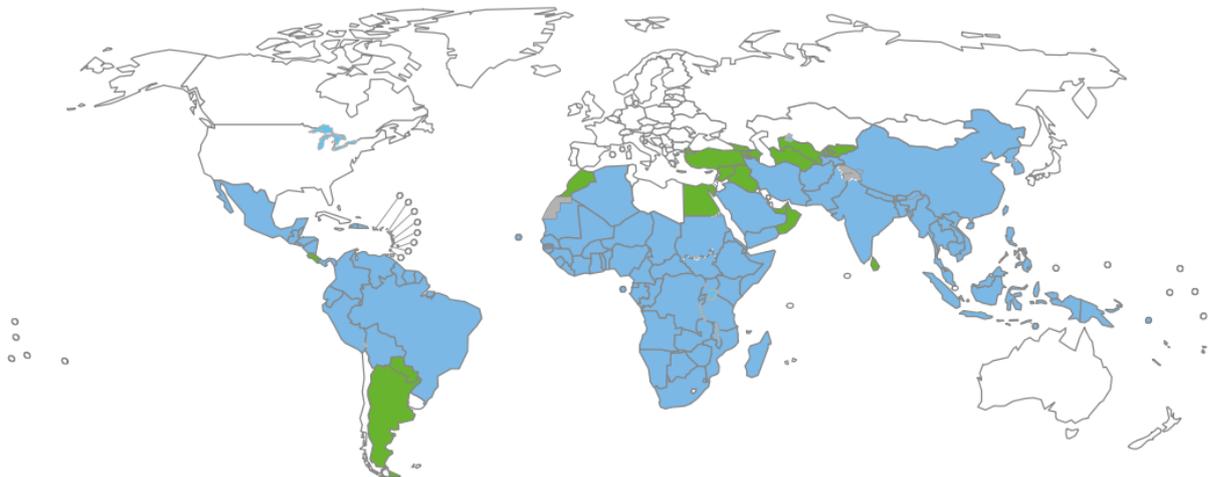
3. DESENVOLVIMENTO

3.1. Epidemiologia

A malária foi considerada endêmica em 91 países e territórios em 2016, abaixo de 108 em 2000. A maior parte da mudança pode ser atribuído à implantação em larga escala de intervenções de controle da malária (WHO, 2016).

O relatório da OMS (2016) relata um melhor acesso às intervenções contra a malária, em particular na África subsaariana. O aumento do tratamento preventivo para gestantes foi relatado nos últimos 5 anos. Além disso, entre todas as populações em risco de malária, ao uso de mosquiteiros tratados com inseticida quase se expandiu rapidamente. Apesar deste notável progresso, a contagem global da malária em 2015 foi 212 milhões de novos casos e 429.000 mortes. Em toda a África, milhões das pessoas ainda não têm acesso às ferramentas de que precisam para prevenir e tratar a doença.

Figura 1. Países endêmicos da malária em 2000 e 2016.



Legenda:

- Países endêmicos da malária, 2016.
- Países não endêmicos para a malária, 2000.
- Países endêmicos em 2000, não mais endêmicos em 2016.

Fonte: Adaptado de WHO (2016)

No Brasil, em 2015 foi registrado o menor número de casos de malária dos últimos 35 anos, com a notificação de 143.647 casos em território nacional, sendo que desses 138.697 foram de casos autóctones e 4.953 importados de outros países, já o número de óbitos foram 26, com redução de 89% se comparado ao ano de 2000 (BRASIL, 2016).

A área endêmica de transmissão da doença no Brasil compreende a região da Amazônia legal, atingindo os estados de Acre, Amapá, Amazonas, Maranhão, Mato Grosso, Pará, Rondônia, Roraima e Tocantins (Figura 2), sendo responsáveis por 99% dos casos de malária autóctone notificados no país. Mesmo com poucos casos de malária autóctone na região extra-amazônica, a vigilância é mantida, procurando evitar a reintrodução da doença devido ao fluxo migratório por áreas susceptíveis, assim como o aumento da letalidade por diagnóstico tardio (BRASIL, 2016).

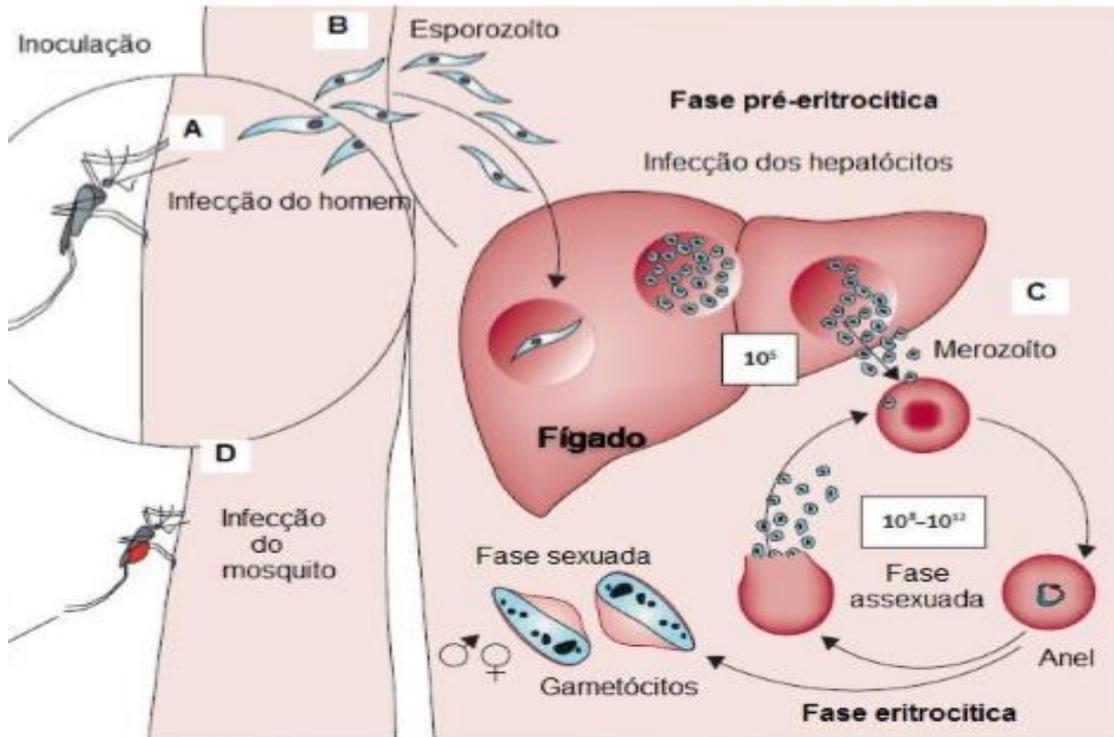
3.2. Ciclo

O ciclo de vida dos plasmódios é dividido em duas fases: no homem a fase assexuada e no hospedeiro fase sexuada (BOYSEN et al., 2013). O ciclo no homem se inicia com o inoculo do parasita na corrente sanguínea pela picada da fêmea do mosquito *Anopheles*, em forma de esporozoítio (HALDAR et al., 2007).

Os esporozoítios na corrente sanguínea migram para o fígado (hepatócitos) e infectam os hepatócitos (fase assexuada pré-eritrocítica), onde se proliferam em torno de 2 a 10 dias, dando origem a vários merozoítios. Em seguida, os hepatócitos se rompem e os merozoítios são liberados e retornam a corrente sanguínea invadindo os eritrócitos (fase assexuada eritrocítica) (Figura 3) (TUTEJA, 2007).

Os merozoítios passam por três diferentes estágios: anel, trofozoítio e esquizonte, durante a fase assexuada eritrocítica (Figura 4). O primeiro estágio apresenta o trofozoítio jovem, caracterizado pela disposição estrutural em forma de anel. O segundo estágio apresenta o trofozoítio maduro, formado pelo aumento da atividade metabólica, a partir da ingestão do citoplasma eritrocítico, e proteólise da hemoglobina. O último estágio consiste na formação de esquizonte, ocasionado por vários ciclos celulares sem divisão da célula. Cada esquizonte possui aproximadamente 20 merozoítios que são liberados na corrente sanguínea após o rompimento da membrana do eritrócito. Esta fase coincide com os acessos febris comumente apresentados durante a evolução da doença (TUTEJA, 2007; WHITE et al., 2014).

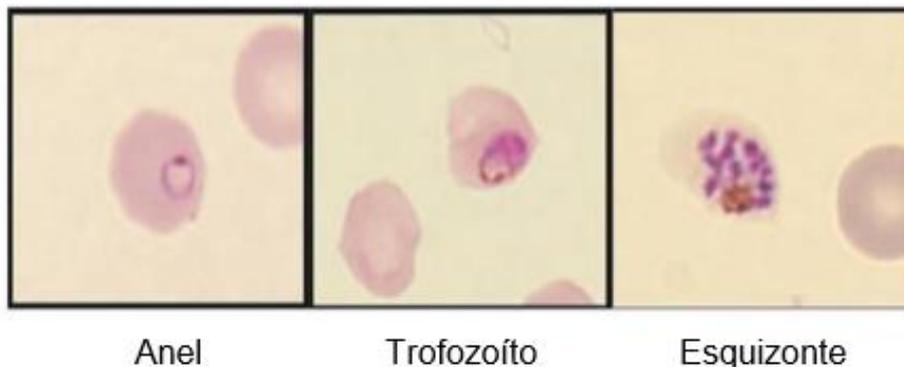
Figura 3. Ciclo do *Plasmodium sp.* no hospedeiro, homem e mosquito. (A) Infecção do Homem; (B) Fase Pré- Eritrocítica; (C) Fase Eritrocítica e (D) Infecção do mosquito.



Fonte: Adaptado de WHITE et al. (2014).

O mosquito ao picar um indivíduo infectado com malária aspira sangue com gametócitos. No seu intestino vai ocorrer a fusão entre o macro-gâmeta e o micro-gâmeta e iniciando o ciclo sexual do parasita no interior do mosquito, assim, o mosquito é o hospedeiro definitivo e o humano é um hospedeiro intermediário (MEDANA, 2006).

Figura 4. Formas evolutivas do *Plasmodium falciparum* na fase eritrocítica.



Fonte: TUTEJA (2007).

Os primeiros sintomas clínicos da malária são inespecíficos, iniciados a partir da ruptura dos eritrócitos parasitados, que liberam antígenos na corrente sanguínea, ativando a resposta imunológica do hospedeiro (SOUZA, 2002; ALBRECHT, 2008). Quadro 1 apresenta os sinais e sintomas causados pela infecção por *P. falciparum*.

Quadro 1. Sinais/sintomas e características laboratoriais da malária grave, causada pela infecção por *P. falciparum*.

Sintomas e sinais	<ul style="list-style-type: none"> • Prostração; • Alteração da consciência; • Dispnéia ou hiperventilação; • Convulsões • Hipotensão arterial ou choque • Edema pulmonar ao Rx de tórax • Hemorragias • Icterícia • Hemoglobinúria • Hiperpirexia (>41°C) • Oligúria
Alterações laboratoriais	<ul style="list-style-type: none"> • Anemia grave • Hipoglicemia Acidose metabólica • Insuficiência renal • Hiperlactatemia • Hiperparasitemia

Fonte: OMS (2000).

Pela inespecificidade dos sinais e sintomas pelo *Plasmodium*, o diagnóstico clínico da malária não é preciso, pois outras doenças febris agudas podem apresentar sinais e sintomas semelhantes, como a dengue, a febre amarela, a leptospirose, entre outras. Dessa forma, a tomada de decisão de tratar um paciente por malária deve ser baseada na confirmação laboratorial da doença, pela microscopia da gota espessa de sangue ou por testes rápidos imunocromatográficos (BRASIL, 2010).

Quadro 2. Características da infecção com as cinco espécies de Plasmodios que infectam seres humanos.

Características	<i>P. falciparum</i>	<i>P. knowlesi</i>	<i>P. malariae</i>	<i>P. ovale</i>	<i>P. vivax</i>
Estágio pré-eritrocítico (dias)	5-7	8-9	14-16	9	6-8
Ciclo eritrocitário (dias)	48	24	72	50	48
Células vermelhas afetadas	Todas	Todas	Eritrócitos maduros	Reticulócitos	Reticulócitos
Febre (horas)	18-36 ou mais	8-12	8-10	8-12	8-12
Malária grave	Sim	Sim	Não	Não	Sim

Fonte: Adaptado de ANTINORI et al., (2012).

3.2 Malária Murina

Mesmo com vários estudos a fisiopatologia da malária é bastante complexa, muitos aspectos envolvidos no desenvolvimento da doença ainda necessitam de esclarecimentos. Assim, por esse motivo, modelos de malária experimental têm sido desenvolvidos em macacos, camundongos e também usam aves e embora nenhum deles reproduza exatamente a malária humana, esses diferentes modelos apresentam aspectos semelhantes aos da malária humana, apresentam aspectos semelhantes nas outras formas graves como anemia, comprometimento renal, angústia respiratório, entre outros (LANGHORNE, 1994; CORAZZA, 2015). Os cientistas procuram constantemente modelos de animais que poderiam ajudar a confirmar, redefinir ou excluir hipóteses (RENIA, 2010).

O modelo murino é um dos mais utilizados por apresentar consideráveis similaridades com a malária cerebral em humanos, principalmente com relação à resposta imunológica e nas manifestações clínicas que dependem da interação entre a linhagem do camundongo e do tipo de plasmódio usado (HUNT, 2003).

As espécies e subespécies de *Plasmodium* são divididas em dois grupos principais: o grupo berghei, composto por *Plasmodium berghei*, *P. yoelii* e *P. y. nigeriensis*, e o grupo vinckei contém *P. vinckei* e *P. chabaudi* (quadro 3) (KILLICK, 1978).

As particularidades de cada espécie de *Plasmodium* murino são o que os torna ideais no estudo e sua relação com a malária humana. *P. chabaudi* e o seu uso principalmente no que concerne os mecanismos de resistência a medicamentos e evasão do sistema imune. Uma das características dessa espécie é a capacidade de gerar infecção crônica e não-letal. *P. yoelii* é mais utilizado em estudos sobre a biologia dos estágios extra eritrocítico, tais como o estágio hepático e a ação do sistema imune nessas formas. *P. berghei*, já é capaz de gerar uma infecção grave, por isso é o indicado em estudos que envolve a malária grave e seus aspectos, como a malária cerebral, por exemplo (OTTO et al., 2014; JUNQUEIRA, 2007).

Quadro 3. Cepas de *Plasmodium berghei*.

(Sub)Espécies	Hospedeiro	Vetor	
<i>P. berghei</i>	<i>Grammomys surdaster</i>	<i>Anopheles durenii</i>	
		<i>Praomys jacksoni</i>	
		<i>Leggada bella</i>	
<i>P. berghei</i> isolados:	K173	Isolado em:	<i>Grammomys surdaster</i> (1948)
	SP11		<i>A. durenii</i> (1961)
	ANKA*		<i>A. durenii</i> (1966)
	LUKA		<i>A. durenii</i> (1966)
	NK65		<i>A. durenii</i> (1964)

Fonte: Adaptado de LUMC (2014).

As diferentes linhagens de camundongos também exibem uma resposta diferencial as espécies de *Plasmodium*. Algumas linhagens de camundongos são potencialmente susceptíveis ao desenvolvimento do quadro de MC, enquanto que outras são resistentes (LOU et al., 2001).

Quadro 4. Susceptibilidade de linhagens de camundongos as diferentes espécies de *Plasmodium* e características da patologia apresentada. Em destaque o modelo utilizado no presente trabalho. MC+ refere-se ao grupo que desenvolve malária cerebral e MC- ao grupo que não desenvolve malária cerebral.

ESPÉCIES PLASMODIUM	LINHAGEM CAMUNDONGO	NEUROPATOLOGIA MC+ ou MC-	SEQUESTRO MICROVASCULAR
<i>Plasmodium berghei</i> K173	C57BL/6	MC +	Leucócitos
<i>Plasmodium berghei</i> ANKA	CBA/J BALB-C C57BL/6 DBA/2	MC + MC - MC + MC + (recuperação)	Eritrócitos parasitados - Leucócitos Leucócitos
<i>Plasmodium berghei</i> NK65	C57BL/6	MC +	Leucócitos
<i>Plasmodium yoelli</i> 17XL	BALB-C DBA/2 SWISS	MC + MC - MC +	Eritrócitos parasitados - Eritrócitos parasitados
<i>Plasmodium chabaudi</i>	CBA/J BALB-C C57BL/6	MC - MC - MC -	- - -

Fonte: Adaptado de LOU et al., (2001).

A cepa de *P. berghei* ANKA (PbA) é mais utilizada nos modelos experimentais de MC por se responsável em ativar o sequestro de células na microcirculação, desencadeando em baixa parasitemia uma infecção letal que evolui rapidamente para um quadro de malária cerebral (LOU et al., 2001, SOUZA, 2002).

A utilização de diferentes linhagens de murino, exibem uma resposta diferente para as espécies de *Plasmodium* (Quadro 5) auxiliam no entendimento dos mecanismos moleculares envolvidos no quadro da malária cerebral pois algumas destas respostas se assemelham às observadas em pacientes com malária (CORAZZA, 2015; SOUZA, 2002).

Os principais modelos utilizados para o estudo da malária cerebral são os camundongos das linhagens CBA e C57BL/6 infectados pelo *Plasmodium berghei* ANKA. Essa espécie de plasmódio consegue ativar o sequestro de células na microcirculação desencadeando baixa parasitemia porém que evolui rapidamente para um quadro de malária cerebral que quando sem tratamento é letal para o camundongo (LOU et al., 2001,

SOUZA et al., 2002). As duas linhagens apresentam alterações neurológicas, ataxia, paralisia muscular, convulsões, coma e morte, que também são observadas semelhantes em seres humanos (BORGES, 2013) e albino suíço e dentre as linhagens resistentes, os camundongos BALB/C e A/J (LOU et al., 2001; MARTINS et al., 2009).

Quadro 5. Manifestações da malária grave nos principais modelos murinos: C57/BL/6, CBA e BALB/C.

<i>Modelo Experimental</i>	Manifestações após a infecção pelo <i>Plasmodium berghei</i> ANKA
 C57BL/6	Malária cerebral Comprometimento placentário Comprometimento agudo do pulmão Síndrome da Angústia Respiratória Comprometimento agudo do rim Comprometimento agudo do fígado
 CBA	Malária cerebral Lesão Pulmonar
 BALB/c	Anemia grave Comprometimento agudo do rim Comprometimento placentário Lesão pulmonar

Fonte: CORAZZA (2015).

Um dos principais problemas sobre o uso de cobaias C57BL/6 infectado com o *Plasmodium berghei* ANKA está relacionado ao modelo de malária cerebral, pois não ocorre ou ocorre minimamente sequestro de eritrócitos na microvasculatura cerebral, ao contrário do que ocorre em seres humanos, provavelmente devido a diferentes fenótipos de adesão (BORGES, 2013). Contudo, vários aspectos da doença são similares aos seres humanos apresentados no Quadro 6.

Quadro 6. Alterações patológicas na malária cerebral entre os Seres Humanos e os Modelos Murinos.

Alterações
Hemorragia cerebral
Obstrução da microvasculatura
Edema perivascular
Necrose da microvasculatura
Alteração e apoptose aumentada em astrócitos e neurônios
Sequestro de eritrócitos parasitados (humanos: +++ e murino: ++)
Sequestro de leucócitos (humanos: ++ e murino: +++)
Sequestro de plaquetas
Participação de fatores de coagulação, como o fator de von Willebrand
Aumento de moléculas de aderência, como ICAM, VCAM, CD36
Expressão aumentada do CPH 1 e 2
Aumento de receptores para o FNT- α
Aumento de citocinas pró-inflamatórias, como FNT- α e IFN- γ
Desenvolvimento de convulsões e coma
Presença de alterações cognitivas e comportamentais

Fonte: BORGES, (2013).

A intensidade da resposta imunológica é um fator determinante para o desenvolvimento de fenótipos resistentes ou suscetíveis à malária cerebral, as linhagens que são susceptíveis desencadeiam uma alta produção de citocinas pró-inflamatórias como FNT- α . Esse mediador inflamatório é importante para o desenvolvimento da malária cerebral, já a diminuição da expressão de receptores de FNT- α II gera diminuição da susceptibilidade de camundongos a malária cerebral (OMER et al., 2003).

Estudos com murino permitem a caracterização de mecanismos imunológicos envolvidos na resposta ao parasito (WILSON; WEINSTOCK, 1996). Com isso, apresentam resultados variáveis, servirá como uma importante ferramenta no desenvolvimento de futuras vacinas e medicamentos contra a malária humana (GARG; DUBE, 2006).

Contudo, primatas não humanos também são utilizados para estudos pela sua proximidade filogenética a seres humanos e sua semelhança na relação parasita hospedeiro

(SHERMAN, 1998; LOU, 2001) especialmente que pode reproduzir o sequestro de PRBC (Sequestro de hemácias parasitadas) e complicações vasculares cerebrais como hemorragias. Problemas com o modelo macaco incluem os fatos do momento de início da malária cerebral por ser difícil determinar e a incidência esperada desta síndrome é baixa comparado com os camundongos onde o desenvolvimento dessa manifestação ocorre com mais frequência nas linhagens susceptíveis. Outros complicadores do uso de macacos são alto custo e falta de macacos geneticamente modificados (ALBRECHT, 2008).

Aspectos de segurança são avaliados em animais de experimentação antes da aplicação de drogas em seres humanos. Quando essa medicação ou vacina está pronta para ser testada em humano, as fases de investigação clínica se iniciam e seguem uma após a outra, até que a maior quantidade possível de informações sobre o medicamento seja adquirida. A pesquisa em seres humanos, são discutidos, a liberdade e os limites da pesquisa científica com relação aos princípios gerais da Bioética e à dignidade. Com isso, todo estudo envolvendo seres humanos deve ser aprovado pelo Comitê de Ética da Instituição onde será realizado e posteriormente pelo CONEP, assim dificultando a validação dos testes em murinos nos seres humanos (NWOBIKE, 2006).

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Modelos experimentais em animais vêm sendo utilizados devido às dificuldades de acompanhamento e avaliação das características patológicas nos indivíduos com malária, principalmente a cerebral.

Estes modelos se tornaram amplamente utilizados principalmente devido à facilidade de manuseio e observação e criação de camundongos em laboratório, além disso, o seu ciclo de vida pode ser mantido em laboratório por meio de transmissão cíclica, permitem que se trabalhe com uma variação de linhagens, ciclos vitais curtos (gestação, amamentação e puberdade), padronização genética e do ambiente.

É importante esclarecer melhor as alterações imunológicas presentes nos modelos murinos, para utilização do modelo mais adequado na procura de medidas terapêuticas com a finalidade de prevenir as formas graves da malária. Para isso são usadas diferentes linhagens de camundongos para a infecção por diferentes espécies de plasmódio que contribuem para o esclarecimento de aspectos envolvidos nos mecanismos que promovem a patogênese da doença. Apesar ser muito estudado, está longe de ser alcançado totalmente.

Os resultados adquiridos nos modelos murino de malária experimental devem ser realizadas com cautela, pois estes apresentam diferenças significativas. No modelo murino, os leucócitos são mais sequestrados na microcirculação que as hemácias, e na malária humana ocorre o oposto.

Os estudos utilizando modelo murino animal são também importantes ferramentas no auxílio a erradicação da malária. Alguns estudos estão voltados para o desenvolvimento de fármacos que visam o tratamento de pessoas infectadas até o desenvolvimento de vacinas.

De modo geral, estudos mais detalhados são ainda necessários para se definir as espécies de *Plamodium* existentes, seus respectivos hospedeiros e distribuição geográfica no mundo, assim como a importância e as consequências do parasitismo nesses animais associando com a malária humana.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBRECHT, L. **Análise do Repertório de Genes Variantes de *Plasmodium Falciparum* da Amazônia e Identificação de Genes Variantes Relacionados ao Fenótipo se Citoaderência a ICAM1 de Isolados de Rondônia.** 2008. 165 f. Tese (Doutorado) do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, São Paulo. 2008.

ÂNGULO, I.; FRESNO, M. Cytokines in the pathogenesis of and protection against malaria. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, Washington, v. 9, p. 1145-1152, nov. 2002.

ANTINORI, S. et al. Biology of Human Malaria Plasmodia Including *Plasmodium knowlesi*. **Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases**, Roma, v. 4, p. 1-10, mar. 2012.

BORGES, T. K. S. **Mecanismos de resposta inflamatória em modelos murinos de *Plasmodium berghei* anka, suscetíveis ou não a malária cerebral.** 2013. 245 f. Tese (Doutorado) do Programa de Pós-Graduação em Patologia Molecular da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília, Brasília, 2013.

BOYSEN, K. E.; MATUSCHEWSKI, E. Inhibitor of Cysteine Proteases Is Critical for Motility and Infectivity of *Plasmodium Sporozoites*. **American Society for Microbiology**. Washington, v. 6, p. 13-873, nov. 2013.

BRASIL. Portal da Saúde. **Situação epidemiológica - dados.** Disponível em: Acesso em: 16 maio 2017. Disponível em: <<http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/o-ministerio/principal/leia-mais-oministerio/662-secretaria-svs/vigilancia-de-a-az/malaria/11346-situacaoepidemiologica-dados>>. Acesso em: 10 out. 2017.

BRASIL. Portal da Saúde. **Brasil registra menor número de casos de malária nos últimos 35 anos.** Disponível em: <<http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/cidadao/principal/agencia-saude/23368->>. Acesso em: 16 maio 2017.

BRASIL, Portal da Saúde. **Guia prático de tratamento da malária no Brasil**. Disponível em: < http://bvsmis.saude.gov.br/bvsmis/publicacoes/guia_pratico_malaria.pdf > Acesso em 20 junho 2017.

COMBES, V. et al. Cerebral malaria: which parasite? Which model?. **Inflammation and Infectious Diseases**, Orleans, v. 2, p. 141-147, maio 2005.

CORAZZA, D. **Influência da pentoxifilina na infecção pelo *Plasmodium berghei* anka em camundongos susceptíveis ou resistentes às formas graves da malária: aspectos histopatológicos**. 2015. 169 f. Dissertação (Mestrado) do Programa de Pós-Graduação em Patologia Molecular da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília, Brasília, 2015.

GARG, R.; DUBE, A. Animal models for vaccine studies for visceral *leishmaniasis*. **Indian Indian Council of Medical Research**. Índia, v. 123, p. 439-454, mar, 2006.

GOOD, M. F. et al. Development and regulation of cell-mediated immune responses to the blood stages of malaria: Implications for vaccine research. **Annual Review of Immunology**, Palo Alto, v. 23, p. 69-99, abr. 2005.

GOMES, A. P. et al. Malária grave por *Plasmodium falciparum*. **Revista Brasileira de Tererapia Intensiva**. São Paulo, v. 23, n.3, p. 358-369, set. 2011.

HALDAR, K.; MOHANDAS, N. Malaria, erythrocytic infection, and anemia. **Hematology. American Society of Hematology. Education Program**, Washington, v. 1, p. 87-93, jan. 2009.

HALDAR, K.; MURPHY, F. C.; MILNER, D. A.; TAYLOR, T. E. Malaria: mechanisms of erythrocytic infection and pathological correlates of severe disease. **Annual Review of Pathology**, Palo Alto v. 2, p. 217-249, jun. 2007.

HUNT, N. H.; GRAU, G. E. Cytokines: accelerators and brakes in the pathogenesis of cerebral malaria. **Trends in Immunology**, Oxford, v. 24, p. 491- 499, set. 2003.

JIDE. C, YING. H, et al. Toll-like receptors, a double-edged sword in immunity to malaria. **Journal of Medical Colleges of PLA** . China, v. 24, p. 118-24, abr. 2009.

JUNQUEIRA, M. I. Immunomodulatory therapy associated to antiparasite drugs as a way to prevent severe forms of malaria. **Current Clinical Pharmacology**, Hoboken, v. 1, p. 59-73, jan. 2007.

KILLICK, K. R. Taxonomy, Zoogeography and Evolution. **Department of Zoology and Applied Entomology**, London. p. 1-52, dez. 1978.

LOU, J.; LUCAS, R.; GRAU, G. E. Pathogenesis of cerebral malaria: recent experimental data and possible applications for humans. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, v. 14, p. 810 - 820, out. 2001.

LUMC. *Plasmodium berghei* - model of malaria. Disponível em: <<https://www.lumc.nl/org/parasitologie/research/malaria/berghei-model/>>. Acesso em: 08 maio. 2017.

MAIER, A. G. Malaria parasite proteins that remodel the host erythrocyte. **Nature Reviews Microbiology**, London, v. 7, p. 341-354, maio 2009.

MARTINS, Y. C.; CARVALHO, L. J. M.; RIBEIRO, D. C. T. Challenges in the determination of early predictors of cerebral malaria: lessons from the human disease and the experimental murine models. **Neuroimmunomodulation**, New York, v. 16, p. 134-145, fer. 2009.

MARSH, K. et al. The pathogenesis of severe malaria in African children. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**. London, v. 51, p. 395-402, ago. 1996.

MEDANA, I. M.; MIU, J.; BALL, H. J. Immunopathogenesis of cerebral malaria. **International Journal for Parasitology**, Oxford, v. 36, p. 569-582, maio 2006.

MIOTO, L. D. et al. Aspectos parasitológicos e imunológicos da malária. **Biosaúde**, Curitiba, v. 14, n. 1, 2012.

NACER, A. et al. Neuroimmunological blood brain barrier opening in experimental cerebral malaria. **PLoS Pathogens**, Califórnia v. 8, p. 1-24, out. 2012.

NAING, C. H. O. et al. Is *Plasmodium Vivax* Malaria a Severe Malaria?: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Plos neglected tropical diseases**. California, V. 8, p. 11, ago. 2014.

NAHREVANIAN, H. Immune effector mechanisms of the nitric oxide pathway in malaria: cytotoxicity versus cytoprotection. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, Salvador, v. 10, p. 283-292, ago. 2006.

NWOBIKE, J. C. Empresas farmacêuticas e acesso a medicamentos nos países em desenvolvimento: o caminho a seguir. **Revista internacional de direitos humanos**. Harcourt, v. 4, p. 8-18, jun. 2006.

NOGUEIRA, F. ROSÁRIO, V. E. Métodos para avaliação da atividade antimalárica nas diferentes fases do ciclo de vida do *Plasmodium*. Lisboa, **Revista Pan-Amaz Saúde**, v. 1, p. 109-124, set. 2010.

OMER, F. M.; SOUZA, J. B.; RILEY, E. M. Differential induction of TGF-beta regulates proinflammatory cytokine production and determines the outcome of lethal and nonlethal *Plasmodium yoelii* infections. **Journal of immunology**. Baltimore v. 15, p. 5430-5436, nov. 2003.

OMS. Organização Mundial Da Saúde. **Tratamento da malária grave e complicada: guia de condutas práticas**. 2. ed. Brasília: Editora Brasil, 2000. 60 p. Versão adaptada para a língua portuguesa.

OTTO, T. D. et al. A Comprehensive Evaluation of Rodent Malaria Parasite Genomes and Gene Expression. **BMC Biology**, London, vol. 12, p. 86, out. 2014.

PETERS, W; RICHARDS, W. H. G. Antimalarial drugs i: Biological Background, **Experimental Methods, and Drug Resistance**. 1. ed. New York: Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1984.

PRICE, R. N. et al. *Vivax malaria*: neglected and not benign. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Northbrook, v. 77, Suppl. 6, p. 79-87, dez. 2007.

QUEIROZ, N. L. **Avaliação da resposta inflamatória cerebral em camundongos BALB/c e C57Bl/6 infectados por *Plasmodium berghei* cepa NK65**. 2007. p. 107. Dissertação (Mestrado) da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte. Instituto de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Parasitologia, 2007.

QUEIROZ, N. L. Imunopatogênese da malária cerebral. **Revista Brasileira de Neurologia**, Rio de Janeiro, v. 44, p. 13-19, jan. 2008.

REINER

S, A. A. O, AZEVEDO, R. C. S, RICCI H. A, SOUZA, T. G. Adesão e reação de usuários ao tratamento da malária: implicações para a educação em saúde. **Texto e Contexto Enfermagem**. Florianópolis, v. 19, p. 536-44, jul. 2010.

RENIA, L. et al. Cerebral malaria: in praise of epistemes. **Trends Parasitol.** Oxford, v. 26, p. 7-275, jun. 2010.

ROTHER, E. Revisão sistemática x revisão narrativa. **Acta Paulista de Enfermagem**, São Paulo, v. 20, n. 2, p.5-6, jun. 2007.

SINGHA, B.; DANESHVAR, C. Human Infections and Detection of *Plasmodium knowlesi*. **Clinical Microbiology Reviews**. Washington, v. 26, ed. 2, p. 165-184, abr. 2013.

SHERMAN, I. W. Malaria: parasite biology, pathogenesis and protection. Washington, **ASM Press**, v.1, p. 419-441, jun. 1998.

SCHALL, J. J. The ecology of lizard malaria. **Parasitology Today**. Burlington, v. 6, p. 264-269, ago. 1990.

SLATER, L. B. Malarial Birds: Modeling Infectious Human Disease in Animals. **Bulletin of the history of medicine**. Baltimore v. 79: p. 261-294, jun. 2005.

TAUIL, P. L. Perspectivas de controle de doenças transmitidas por vetores no Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** v. 39, p. 275-7, maio. 2006.

TUTEJA, R. Malaria: na overview. **Federation of European Biochemical Societies Journal**, Oxford, v. 274, p. 4670-4679, set. 2007.

WILSON, E. H. Behavior of parasite-specific effector CD8+ T cells in the brain and visualization of a kinesis-associated system of reticular fibers. **Immunity**. Cambridge, v. 30, p. 300–311, fer. 2009.

WILSON, M. E.; WEINSTOCK, J. V. Hepatic Granulomas in Murine Visceral Leishmaniasis Caused by *Leishmania chagasi*. **Methods**. v. 9, p. 248-254, abr. 1996.

WHITE, N. J. et al. Malaria. *Lancet*. London, v. 383, p. 35-723, fer. 2014.

WHO (World Health Organization). **World Malaria Report**. 2010. Geneva: World Health Organization, 2010.

WHO. (World Health Organization). **Severe malaria**. *Tropical Medicine and International*, Geneva v. 19, p. 7–131, 2014.

WHO. (World Health Organization). **Global Malaria Programme**. 2016. Geneva. World Health Organization. 2016.