

INTERAÇÃO PARASITO- HOSPEDEIRO



Alana Maria Cerqueira de Oliveira
(Organizadora)

2

Atena
Editora
Ano 2022

INTERAÇÃO PARASITO- HOSPEDEIRO



Alana Maria Cerqueira de Oliveira
(Organizadora)

2

Atena
Editora
Ano 2022

Editora chefe

Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

Editora executiva

Natalia Oliveira

Assistente editorial

Flávia Roberta Barão

Bibliotecária

Janaina Ramos

Projeto gráfico

Camila Alves de Cremo

Daphynny Pamplona

Gabriel Motomu Teshima

Luiza Alves Batista

Natália Sandrini de Azevedo

Imagens da capa

iStock

Edição de arte

Luiza Alves Batista

2022 by Atena Editora

Copyright © Atena Editora

Copyright do texto © 2022 Os autores

Copyright da edição © 2022 Atena Editora

Direitos para esta edição cedidos à Atena Editora pelos autores.

Open access publication by Atena Editora



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição Creative Commons. Atribuição-Não-Comercial-NãoDerivativos 4.0 Internacional (CC BY-NC-ND 4.0).

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores, inclusive não representam necessariamente a posição oficial da Atena Editora. Permitido o *download* da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

Todos os manuscritos foram previamente submetidos à avaliação cega pelos pares, membros do Conselho Editorial desta Editora, tendo sido aprovados para a publicação com base em critérios de neutralidade e imparcialidade acadêmica.

A Atena Editora é comprometida em garantir a integridade editorial em todas as etapas do processo de publicação, evitando plágio, dados ou resultados fraudulentos e impedindo que interesses financeiros comprometam os padrões éticos da publicação. Situações suspeitas de má conduta científica serão investigadas sob o mais alto padrão de rigor acadêmico e ético.

Conselho Editorial**Ciências Biológicas e da Saúde**

Profª Drª Aline Silva da Fonte Santa Rosa de Oliveira – Hospital Federal de Bonsucesso

Profª Drª Ana Beatriz Duarte Vieira – Universidade de Brasília

Profª Drª Ana Paula Peron – Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof. Dr. André Ribeiro da Silva – Universidade de Brasília

Profª Drª Anelise Levay Murari – Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto – Universidade Federal de Goiás



Prof. Dr. Cirênio de Almeida Barbosa – Universidade Federal de Ouro Preto
Profª Drª Daniela Reis Joaquim de Freitas – Universidade Federal do Piauí
Profª Drª Débora Luana Ribeiro Pessoa – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Douglas Siqueira de Almeida Chaves – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Dr. Edson da Silva – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri
Profª Drª Elizabeth Cordeiro Fernandes – Faculdade Integrada Medicina
Profª Drª Eleuza Rodrigues Machado – Faculdade Anhanguera de Brasília
Profª Drª Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina
Profª Drª Eysler Gonçalves Maia Brasil – Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira
Prof. Dr. Ferlando Lima Santos – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Profª Drª Fernanda Miguel de Andrade – Universidade Federal de Pernambuco
Prof. Dr. Fernando Mendes – Instituto Politécnico de Coimbra – Escola Superior de Saúde de Coimbra
Profª Drª Gabriela Vieira do Amaral – Universidade de Vassouras
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. Helio Franklin Rodrigues de Almeida – Universidade Federal de Rondônia
Profª Drª Iara Lúcia Tescarollo – Universidade São Francisco
Prof. Dr. Igor Luiz Vieira de Lima Santos – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. Jefferson Thiago Souza – Universidade Estadual do Ceará
Prof. Dr. Jesus Rodrigues Lemos – Universidade Federal do Piauí
Prof. Dr. Jônatas de França Barros – Universidade Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. José Aderval Aragão – Universidade Federal de Sergipe
Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Profª Drª Juliana Santana de Curcio – Universidade Federal de Goiás
Profª Drª Lívia do Carmo Silva – Universidade Federal de Goiás
Prof. Dr. Luís Paulo Souza e Souza – Universidade Federal do Amazonas
Profª Drª Magnólia de Araújo Campos – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. Marcus Fernando da Silva Praxedes – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Profª Drª Maria Tatiane Gonçalves Sá – Universidade do Estado do Pará
Prof. Dr. Maurilio Antonio Varavallo – Universidade Federal do Tocantins
Profª Drª Mylena Andréa Oliveira Torres – Universidade Ceuma
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federaci do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Paulo Inada – Universidade Estadual de Maringá
Prof. Dr. Rafael Henrique Silva – Hospital Universitário da Universidade Federal da Grande Dourados
Profª Drª Regiane Luz Carvalho – Centro Universitário das Faculdades Associadas de Ensino
Profª Drª Renata Mendes de Freitas – Universidade Federal de Juiz de Fora
Profª Drª Sheyla Mara Silva de Oliveira – Universidade do Estado do Pará
Profª Drª Suely Lopes de Azevedo – Universidade Federal Fluminense
Profª Drª Vanessa da Fontoura Custódio Monteiro – Universidade do Vale do Sapucaí
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande
Profª Drª Welma Emídio da Silva – Universidade Federal Rural de Pernambuco



Interação parasito-hospedeiro 2

Diagramação: Gabriel Motomu Teshima
Correção: Mariane Aparecida Freitas
Indexação: Amanda Kelly da Costa Veiga
Revisão: Os autores
Organizadora: Alana Maria Cerqueira de Oliveira

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

l61 Interação parasito-hospedeiro 2 / Organizadora Alana Maria Cerqueira de Oliveira. – Ponta Grossa - PR: Atena, 2022.

Formato: PDF
Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader
Modo de acesso: World Wide Web
Inclui bibliografia
ISBN 978-65-5983-870-7
DOI: <https://doi.org/10.22533/at.ed.707222601>

1. Parasito-hospedeiro. I. Oliveira, Alana Maria Cerqueira de (Organizadora). II. Título.

CDD 616.96

Elaborado por Bibliotecária Janaina Ramos – CRB-8/9166

Atena Editora
Ponta Grossa – Paraná – Brasil
Telefone: +55 (42) 3323-5493
www.atenaeditora.com.br
contato@atenaeditora.com.br



DECLARAÇÃO DOS AUTORES

Os autores desta obra: 1. Atestam não possuir qualquer interesse comercial que constitua um conflito de interesses em relação ao artigo científico publicado; 2. Declaram que participaram ativamente da construção dos respectivos manuscritos, preferencialmente na: a) Concepção do estudo, e/ou aquisição de dados, e/ou análise e interpretação de dados; b) Elaboração do artigo ou revisão com vistas a tornar o material intelectualmente relevante; c) Aprovação final do manuscrito para submissão.; 3. Certificam que os artigos científicos publicados estão completamente isentos de dados e/ou resultados fraudulentos; 4. Confirmam a citação e a referência correta de todos os dados e de interpretações de dados de outras pesquisas; 5. Reconhecem terem informado todas as fontes de financiamento recebidas para a consecução da pesquisa; 6. Autorizam a edição da obra, que incluem os registros de ficha catalográfica, ISBN, DOI e demais indexadores, projeto visual e criação de capa, diagramação de miolo, assim como lançamento e divulgação da mesma conforme critérios da Atena Editora.



DECLARAÇÃO DA EDITORA

A Atena Editora declara, para os devidos fins de direito, que: 1. A presente publicação constitui apenas transferência temporária dos direitos autorais, direito sobre a publicação, inclusive não constitui responsabilidade solidária na criação dos manuscritos publicados, nos termos previstos na Lei sobre direitos autorais (Lei 9610/98), no art. 184 do Código Penal e no art. 927 do Código Civil; 2. Autoriza e incentiva os autores a assinarem contratos com repositórios institucionais, com fins exclusivos de divulgação da obra, desde que com o devido reconhecimento de autoria e edição e sem qualquer finalidade comercial; 3. Todos os e-book são *open access*, *desta forma* não os comercializa em seu site, sites parceiros, plataformas de *e-commerce*, ou qualquer outro meio virtual ou físico, portanto, está isenta de repasses de direitos autorais aos autores; 4. Todos os membros do conselho editorial são doutores e vinculados a instituições de ensino superior públicas, conforme recomendação da CAPES para obtenção do Qualis livro; 5. Não cede, comercializa ou autoriza a utilização dos nomes e e-mails dos autores, bem como nenhum outro dado dos mesmos, para qualquer finalidade que não o escopo da divulgação desta obra.



APRESENTAÇÃO

A Obra “Interação parasito-hospedeiro 2”, traz ao leitor cinco capítulos de relevada importância na área de Imunologia, Parasitologia e Genética. Entretanto, caracteriza-se como uma obra multidisciplinar que vai do estudo de parasitas de interesse humano a parasitas de interesses veterinário englobando os zoonóticos.

Os capítulos estão distribuídos em temáticas que abordam de forma categorizada e interdisciplinar a relação parasito-hospedeiro, as pesquisas englobam estudos de: polimorfismos genéticos, fases do ciclo de vida do parasita, expressão de citocinas, respostas imunológicas, técnicas de biologia molecular (extração de RNA, RT-PCR), técnicas de parasitologia, técnicas de imunologia, técnicas microbiológicas, transmissão zoonótica, doenças negligenciadas, virulência, patogenicidade, bioinseticida, Infecções oportunistas e resistência bacteriana.

A obra foi elaborada primordialmente com foco nos profissionais, pesquisadores e estudantes pertencentes às área de Parasitologia Médica e Veterinária e suas interfaces ou áreas afins. Entretanto, é uma leitura interessante para todos aqueles que de alguma forma se interessam pela área.

Cada capítulo foi elaborado com o propósito de transmitir a informação científica de maneira clara e efetiva, em português, inglês ou espanhol. Utilizando uma linguagem acessível, concisa e didática, atraindo a atenção do leitor, independente se seu interesse é acadêmico ou profissional.

O livro “ Interação parasito-hospedeiro 2”, traz publicações atuais e a Atena Editora traz uma plataforma que oferece uma estrutura adequada, propícia e confiável para a divulgação científica de diversas áreas de pesquisa.

Alana Maria Cerqueira de Oliveira

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1..... 1

PAPEL DEL POLIMORFISMO DEL GEN HAPTOGLOBINA EN LA EXPRESIÓN DE CITOQUINAS EN RESPUESTA A LA ESTIMULACIÓN CON ANTÍGENOS DE *Plasmodium vivax*


Paco Raffoul

Fernando Hernández

Albina Wide

Jacinta Capaldo

Mercedes Fernández-Mestre

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.7072226011>

CAPÍTULO 2..... 16

GIARDIA SPP. IN FREE-RANGING INTRODUCED MONK PARAKEETS AND ITS DISTRIBUTION IN SANTIAGO METROPOLIS, CHILE

Alejandra Sandoval-Rodríguez

Daniela Marcone

Raúl Alegría-Morán

Matilde Larraechea

Karina Yévenes

Fernando Fredes

Cristóbal Briceño

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.7072226012>

CAPÍTULO 3..... 36


EFFECTO DE LA TEMPERATURA Y HUMEDAD RELATIVA SOBRE LA MORTALIDAD DE *Triatoma infestans* SUSCEPTIBLES Y RESISTENTES A PIRETROIDES, EXPUESTOS A UNA CEPA NATIVA DE *Beauveria bassiana* DE LA REGIÓN CHAQUEÑA, SALTA-ARGENTINA

Linda Vanesa Baldiviezo

Nicolás Pedrini

Lucía Beatriz Nieva

Rubén Marino Cardozo

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.7072226013>

CAPÍTULO 4..... 47

PREVALÊNCIA DE CANDIDÍASE ORAL EM PACIENTES HIV POSITIVOS NO MUNICÍPIO DE NOVA IGUAÇU, RIO DE JANEIRO, BRASIL

Fernando Antonio Machado Miguel

Paulo Cesar Ribeiro


Paula Avelar da Silva Ribeiro Goulart

Marcus Heleno Borges Ribeiro

Claudia Maria Blanco Moreira Norberg

Paulo Roberto Blanco Moreira Norberg

Antonio Neres Norberg

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.7072226014>

CAPÍTULO 5..... 58

**ELEMENTOS MICROBIANOS E PARASITÁRIOS ISOLADOS DE ESTUDANTES DA
ÁREA DE CIÊNCIAS DA SAÚDE USUÁRIOS DE LENTES DE CONTATO**

Antonio Neres Norberg

Fernanda Castro Manhães


Paulo Cesar Ribeiro

Alcemar Antonio Lopes de Matos

Maria de Lourdes Ferreira Medeiros de Matos

Edyala Oliveira Brandão Veiga

Nicolau Maués Serra Freire (*in memoriam*)

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.7072226015>

SOBRE O ORGANIZADOR..... 68

ÍNDICE REMISSIVO..... 69

CAPÍTULO 1

PAPEL DEL POLIMORFISMO DEL GEN HAPTOGLOBINA EN LA EXPRESIÓN DE CITOQUINAS EN RESPUESTA A LA ESTIMULACIÓN CON ANTÍGENOS DE *PLASMODIUM VIVAX*

Data de aceite: 01/11/2021

Paco Raffoul

Laboratorio de Fisiopatología, Centro de Medicina Experimental “Miguel Layrisse”
Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas
Caracas, Venezuela

Fernando Hernández

Laboratorio de Fisiopatología, Centro de Medicina Experimental “Miguel Layrisse”
Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas
Caracas, Venezuela

Albina Wide

Escuela de Medicina “Luis Razetti”, Cátedra de Parasitología, Instituto de Medicina Tropical
Facultad de Medicina
Universidad Central de Venezuela
Caracas, Venezuela

Jacinta Capaldo

Laboratorio para Estudios sobre Malaria
Instituto de Altos Estudios en Salud Pública “Dr. Arnoldo Gabaldón”
Caracas, Venezuela

Mercedes Fernández-Mestre

Laboratorio de Fisiopatología, Centro de Medicina Experimental “Miguel Layrisse”
Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas
Caracas, Venezuela

RESUMEN: La malaria es una enfermedad infecciosa causada por especies de parásitos del género *Plasmodium*. Durante la fase eritrocítica, del ciclo de vida parasitario, ocurre la ruptura de los glóbulos rojos infectados, liberándose la hemoglobina y antígenos parasitarios al torrente sanguíneo, estimulándose así el sistema inmunológico. Para evitar los efectos perjudiciales del hemo libre, la haptoglobina (Hp) une rápidamente la hemoglobina (Hb), formando el complejo Hb-Hp estable. Este complejo es reconocido por CD163 y fagocitado por el macrófago. El gen haptoglobina posee dos alelos, generando tres genotipos que codifican para tres proteínas estructural y funcionalmente distintas. Considerando que la haptoglobina actúa como modulador del sistema inmunitario y que la fase eritrocítica del *Plasmodium* es la responsable de la clínica de la malaria, estudiamos el posible papel del polimorfismo del gen haptoglobina en la expresión de citoquinas en respuesta a la estimulación con antígenos de *Plasmodium vivax*. Para ello se realizó un ensayo de estimulación *ex vivo* de muestras sanguíneas de individuos sanos, con genotipo haptoglobina conocido, con antígenos de *P. vivax*. Finalizada la estimulación, se extrajo el ARN total, se sintetizó el ADN complementario y se determinó las citoquinas expresadas por RT-PCR. Los resultados mostraron una expresión incrementada de las citoquinas proinflamatorias, tipo Th1, en los individuos con el genotipo *HP2-2* y una mayor expresión de las citoquinas antiinflamatorias, Tipo Th2, en los individuos con el genotipo *HP1-1*. En conclusión, la expresión de citoquinas está correlacionada con el genotipo

de haptoglobina, el cual puede influir en el tipo de enfermedad desarrollada.

PALABRAS CLAVES: Malaria, *Plasmodium vivax*, Polimorfismo, Haptoglobina, Citoquinas.

ABSTRACT: Malaria is an infectious disease caused by species of parasites of the genus *Plasmodium*. During the erythrocytic phase of the parasitic life cycle, the infected red blood cells rupture, releasing hemoglobin and parasitic antigens into the bloodstream, thus stimulating the immune system. To avoid the damaging effects of free heme, haptoglobin (Hp) rapidly binds hemoglobin (Hb), forming the stable Hb-Hp complex. This complex is recognized by CD163 and phagocytosed by the macrophage. The haptoglobin gene has two alleles, generating three genotypes that code for three structurally and functionally distinct proteins. Considering that haptoglobin acts as a modulator of the immune system and that the erythrocytic phase of *Plasmodium* is responsible for the symptoms of malaria, we study the possible role of the polymorphism of the haptoglobin gene in the expression of cytokines in response to stimulation with antigens of *Plasmodium vivax*. For this, an *ex vivo* stimulation test was carried out on blood samples from healthy individuals, with known haptoglobin genotype, with *P. vivax* antigens. After the stimulation, the total RNA was extracted, the complementary DNA was synthesized and the cytokines expressed by RT-PCR were determined. The results showed an increased expression of pro-inflammatory cytokines, type Th1, in individuals with the HP2-2 genotype and a greater expression of anti-inflammatory cytokines, Type Th2, in individuals with the HP1-1 genotype. In conclusion, the expression of cytokines is correlated with the haptoglobin genotype, which can influence the type of disease developed.

KEYWORDS: Malaria, *Plasmodium vivax*, Polymorphism, Haptoglobin, Cytokines.

1 | INTRODUCCIÓN

La malaria o paludismo es una enfermedad infecciosa causada por parásitos pertenecientes al género *Plasmodium* y transmitida por mosquitos del género *Anopheles*. De las seis especies causantes de la infección en el humano, *Plasmodium falciparum* es la responsable de la mayoría de los casos severos y muerte por malaria a nivel mundial, principalmente en el continente africano. Por otra parte, *Plasmodium vivax* es la especie responsable de la morbilidad fuera de África (Milner, 2018). Venezuela es uno de los países que ha registrado un incremento drástico en el número de infecciones, de 35500 casos en el año 2000 a más de 467000 casos en el 2019, acumulando un 55% de las muertes causadas por esta enfermedad en la región de América, y junto a Brasil y Colombia presentan más del 86% de todos los casos de la región (WHO, 2020). Los parásitos de la malaria humana tienen un ciclo de vida complejo, que alterna entre dos hospedadores: un invertebrado (los mosquitos hembras *Anopheles* spp.), que se comporta como vector y hospedador definitivo, y un vertebrado u hospedador intermediario (el hombre). En el hombre, la infección incluye un ciclo pre-eritrocítico y un ciclo eritrocítico, siendo este último el responsable de los signos y síntomas clínicos de la malaria (Revisado en Wide et al., 2011). Después de la replicación dentro del eritrocito, el parásito de la malaria causa la ruptura de la membrana de los glóbulos rojos, liberando así hemoglobina, hemoglobina parcialmente degradada

y hemozoína en la circulación (Hunt et al., 2001). La hemoglobina es el transportador fundamental de oxígeno en la sangre, pero también es un componente potencial de daño tisular debido a su grupo hemo altamente reactivo. Este grupo hemo contiene hierro, el cual cataliza la generación de especies reactivas de oxígeno a través de las reacciones de Fenton y Haber-Weiss (Sadrzadeh et al., 1984). Para evitar los efectos perjudiciales del hemo libre, los hospederos han desarrollado varios mecanismos homeostáticos, incluida la enzima haptoglobina (Hp). La haptoglobina puede eliminar rápidamente la hemoglobina (Hb) libre de células formando el complejo Hb-Hp estable, que es reconocido e internalizado por el receptor CD163 expresado por los monocitos y macrófagos (Shim et al., 1965; Lim et al., 1998). La haptoglobina es una proteína tetramérica ($\alpha_2\beta_2$) que se caracteriza por la heterogeneidad de la cadena α debido a una duplicación intragénica que resultó en dos alelos diferentes, *HP2* y *HP1* (incluidas dos subvariantes, Hp1F y Hp1S). La diversidad en los fenotipos de Hp, determinado por el genotipo, causa diferentes afinidades de unión por la Hb libre de células (Hp1.1 > Hp1.2 > Hp2.2) y por CD163 (Hp2.2 > Hp1.2 > Hp1.1). Además, los polimorfismos en el gen de la haptoglobina (*HP*) se han asociado con diferentes capacidades funcionales y respuestas orgánicas, incluidas alteraciones en la regulación inmunitaria, estrés oxidativo y deslocalización del hierro dentro de los monocitos (Mendonça et al., 2012).

Considerando que la Hp posee una función inmunomoduladora, ejercida a través de la unión del complejo Hb-Hp al receptor de superficie CD163, se analizó el posible papel del polimorfismo del gen haptoglobina en la expresión de citoquinas en respuesta a la estimulación con antígenos de *Plasmodium vivax*.

2 | MÉTODOS

Población de estudio

En la presente investigación, se incluyeron 21 individuos aparentemente sanos, no relacionados, procedentes de zonas sin transmisión de malaria, sin antecedentes de infección malárica y transfusión sanguínea no infectados, sin infección por *Plasmodium* spp y con genotipo haptoglobina conocido. Estos individuos fueron clasificados de acuerdo al genotipo *HP* en tres grupos:

Grupo 1 (n=6). Individuos con el genotipo homocigoto *HP1-1*

Grupo 2 (n=7). Individuos con el genotipo heterocigoto *HP2-1*

Grupo 3 (n=8). Individuos con el genotipo homocigoto *HP2-2*

Previo a la toma de las muestras, a los individuos participantes se les solicitó la firma de un consentimiento. Cada individuo fue instruido acerca del estudio y del empleo que se le daría a la muestra. Este consentimiento fue aprobado por el comité de Bioética del Instituto Venezolano de Investigación Científica (IVIC).

Preparación del antígeno crudo de *P. vivax*

El antígeno crudo de *P. vivax* se obtuvo a partir de sangre total de tres pacientes infectados, con una parasitemia promedio de 21870 parásitos/mL de sangre. Estas muestras de sangre presentaban los estadios sexuales y asexuales del parásito. Posteriormente, se eliminó la hemoglobina mediante tratamiento con saponina al 0.2% (p/v) y por congelamiento/descongelamiento. Luego se resuspendieron los glóbulos rojos infectados y no infectados en PBS (0.02 mM; pH 7.2) + Inhibidor de proteasa (PMSF; 1 mM). A continuación, se realizaron 20 ciclos de sonicación, de 1 minuto cada uno a 100 vatios y a 4 °C. Después de completar la sonicación del antígeno, se procedió a centrifugar a 12.000 g durante 10 minutos, para obtener el sobrenadante, que contiene el antígeno. Finalmente, el antígeno se almacenó a -70 °C hasta su uso. La concentración del antígeno se determinó mediante el método de Bradford modificado (Bradford, 1976).

Ensayo *ex vivo* de estimulación con antígenos de *P. vivax*

Debido a que en condiciones de reposo o de no estimulación la producción de citoquinas es baja e indetectable, se procedió a realizar un ensayo *ex vivo* en sangre total utilizando antígenos de *P. vivax*. El ensayo consistió en la estimulación de la muestra de sangre venosa anticoagulada, obtenida de los diferentes individuos, con antígenos de *P. vivax*, siguiendo un protocolo cinético de activación considerando los diferentes tiempos de expresión de cada citoquina incluida en el experimento.

La sangre obtenida de cada individuo fue mezclada en una proporción 1:4 en medio RPMI completo (medio RPMI 1640 suplementado con 1 % de Glutamina, 1 % de penicilina y 10 % de suero fetal bovino), y se transfirieron 500 μ L a tubos de 1.5 mL estériles. Posteriormente, se procedió a realizar la estimulación con el antígeno crudo de *P. vivax* a una concentración de 1 μ g/ml. Tras la estimulación se procedió a incubar las muestras en tubos estériles por un tiempo no mayor a 24 horas (h), a 37°C y 5% de CO₂. Con respecto a los tiempos de incubación, se consideró la vida media de cada citoquina y los estudios realizados previamente en el laboratorio. Por consiguiente, fueron considerados cuatro tiempos fundamentales de incubación: tiempo de activación temprana (90 minutos y 4 h) y tiempo de activación tardía (8 y 24 h). Una vez transcurridos los tiempos de incubación se procedió a la extracción del ARN total.

Extracción de ARN total empleando TRIzol® Reagent

La extracción del ARN fue realizada con TRIzol® Reagent siguiendo el protocolo establecido por la casa comercial (Life Technologies Corporation).

Síntesis del ADN complementario

Una vez obtenido el ARN, se procedió a la síntesis del ADN complementario (ADNc), por retro transcripción, empleando el estuche de GoScript™ Reverse Transcriptase (Promega, USA). Para cada muestra, se preparó una mezcla de reacción en la cual se

añadió 500 ng/ μL de ARN, 0.5 μg de oligo dT y se completó hasta un volumen de 9 μL con agua libre de nucleasas. Posteriormente, esta mezcla se incubó a 70°C por 5 minutos, transcurrido este tiempo se colocó en hielo por 5 minutos.

Para la síntesis de la hebra de ADN, se añadió a cada tubo con la mezcla anterior 10 μL de la siguiente mezcla de reacción: 4 μL de Buffer de reacción 5X, 4 μL de MgCl_2 (25mM), 1 μL de la mezcla de nucleótidos dNTP (10mM) y 1 μL de un inhibidor de RNAsas (40 U/ μL). Finalmente, se agregó a cada tubo 1 μL de la enzima Transcriptasa reversa y se incubó la reacción de acuerdo al siguiente programa: 5°C durante 5 min, 4°C por 1h y 70°C durante 15 min.

Determinación por PCR de la expresión de algunas citoquinas

La determinación de la expresión de las citoquinas IL-1A, IL-1B, IL-12, IL-10, IL-4, TGF- β y TNF- α y del gen constitutivo GAPDH (Gliceraldehído 3-fosfato-deshidrogenasa) se realizó por PCR, utilizando los iniciadores diseñados con el software Primer 3 (<http://frodo.wi.mit.edu>). La expresión de IL-6 se realizó utilizando los iniciadores descritos previamente en la literatura (Jang et al., 2006) (Tabla 1).

Para la determinación de la expresión de GAPDH y de cada una de las citoquinas se empleó la siguiente mezcla de reacción: 1X de PCR buffer, 10 μM de cada iniciador (sentido y anti-sentido), 0.2 mM de la mezcla de nucleótidos, 1.5 mM de MgCl_2 y 2 U/mL de la enzima Taq Polimerasa (Platinum, Invitrogen) y 1 μL de la muestra de ADN complementario. La amplificación fue realizada de acuerdo al siguiente programa: 95°C por 5 minutos, 32 ciclos de: desnaturalización a 95°C por 30 segundos, hibridación (según la temperatura descrita en la Tabla 1) por 40 segundos y una extensión a 72°C por 30 segundos, finalmente se realizó un ciclo adicional de extensión a 72°C por 5 minutos. Los productos de PCR se visualizaron en geles de agarosa al 1.5 %, teñidos con bromuro de etidio. La corrida electroforética se realizó por 40 minutos a 100 voltios. Como referencia se utilizó un marcador de tamaño molecular de 100 pb (Lucigen).

Análisis estadístico

Con el programa Image Lab™ (Bio-Rad Laboratories, Inc - 2015) se determinó la intensidad de fluorescencia de GAPDH para cada una de las muestras y en base a estas intensidades se normalizaron las intensidades de fluorescencia de cada una de las citoquinas determinadas (relación citoquina/GAPDH). Los resultados se expresaron como intensidades de fluorescencia. Finalmente, todos los datos de expresión de citoquinas obtenidos en cada grupo se compararon empleando el Test de Kruskal-Wallis (comparación entre los tres genotipos) y el Test de Mann-Whitney (comparación entre los dos alelos), considerando significativo un valor de $p < 0,05$ en el análisis de la expresión de cada una de las citoquinas.

Gen	Iniciadores	Temperatura Hibridación	Tamaño Producto amplificado
GAPDH	F-GAGCCACATCGCTCAGACAC R-CATGTAGTTGAGGTCAATGAAGG	58 ° C	159 pb
IL1B	F-AATGACGCCCTCAATCAAAG R-TCTTGGGCAGTCACATACAA	54° C	182 pb
IL6	F-AGTCTACTCCCTGCTGTCTGAATA R-GGTATACCTAGAGTACCTCCAGAA	50 ° C	643 pb
TNFα	F-TGCTTGTTCCCTCAGCCTCTT R-TGGGCTACAGGCTTGTCACT	57 ° C	185 pb
IL10	F-CCAAGCTGAGAACCAAGACC R-AAGGCATTCTTCACCTGCTC	57 ° C	150 pb
IL4	F-TGAACAGCCTCACAGAGCAG R-GCGAGTGTCTTCTCATGGT	56 ° C	152 pb
TGFβ1	F-GTACCTGAACCCGTGTTGCT R-CAACTCCGGTGACATCAAAA	55 ° C	181 pb
IL12A	F-CACTCCAGACCCAGGAATGT R-GGTAAACAGGCCCTCCACTGT	57 ° C	177 pb

Tabla 1. Iniciadores utilizados para determinar la expresión de GAPDH y citoquinas, con su correspondiente temperatura de hibridación.

3 | RESULTADOS

Ensayo *ex vivo* de expresión de citoquinas por RT-PCR:

En la figura 2 se muestra la representación gráfica de la expresión total de citoquinas, independientemente del genotipo *HP*, de todos los individuos incluidos en respuesta a la estimulación con antígenos de *P. vivax*. Las citoquinas fueron clasificadas en tres grupos: proinflamatorias (IL-1A, IL-1B, TNF- α e IL-6), adaptativas (IL-4 e IL-12) y reguladoras (IL-10 y TGF- β). Como se puede observar, las citoquinas proinflamatorias IL-1B, TNF- α e IL-6, y la citoquina reguladora TGF- β presentaron una mayor intensidad de expresión.

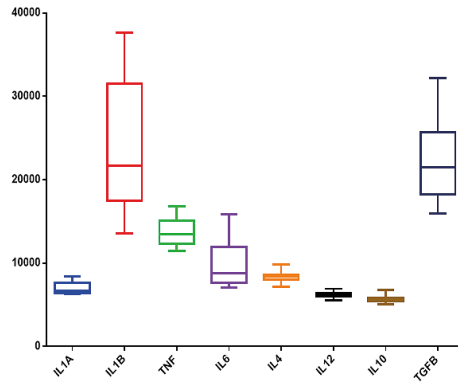


Figura 2. Expresión de algunas citoquinas en respuesta a la estimulación con antígenos de *Plasmodium vivax*. La normalización de la intensidad de fluorescencia de cada banda fue medida y comparada con la intensidad del control interno GADPH. La relación de la intensidad Citoquina/GADPH se realizó para cada una de las citoquinas. Posteriormente las mismas fueron graficadas y comparadas entre sí. El eje de las ordenadas corresponde a la relación Citoquina/GADPH (intensidad de fluorescencia normalizada) y el eje de las abscisas corresponde a cada una de las citoquinas estudiadas.

Al comparar la intensidad de expresión del ARN mensajero de los tres grupos, se observó en el grupo de citoquinas adaptativas (IL-4 e IL-12) una expresión significativamente incrementada de IL-4 en comparación con IL-12 ($p = <0,0001$) (Figura 3).

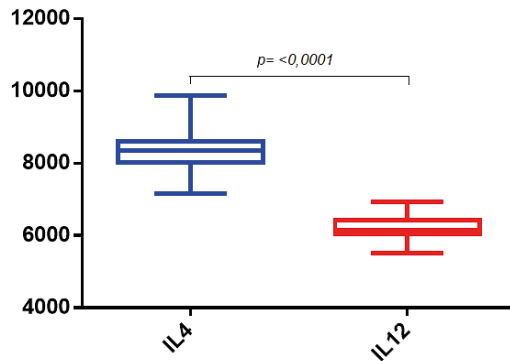
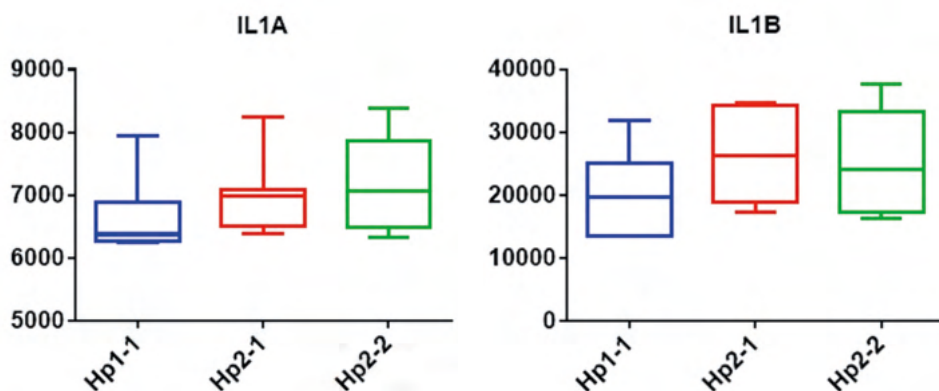


Figura 3. Comparación de la expresión de las citoquinas adaptativas (IL-4 e IL-12), producidas por la estimulación con antígenos de *Plasmodium vivax*. Se representa la intensidad de expresión del ARN mensajero de las citoquinas IL-4 e IL-12 de los individuos incluidos en el estudio. El eje de las ordenadas corresponde a intensidad de expresión (intensidad de fluorescencia normalizada) y el eje de las abscisas corresponde a cada una de las citoquinas.

Comparación de la expresión de citoquinas entre los grupos de individuos clasificados de acuerdo al genotipo *HP*

En la figura 4 se muestra la intensidad de fluorescencia de la expresión de las citoquinas TNF-alfa, IL-1A, IL-1B, IL-4, IL-12, IL-6, IL-10 y TGF β , en relación a la expresión del gen constitutivo *GADPH*, en cada uno de los grupos de individuos clasificados de acuerdo al genotipo *HP*. Al comparar el promedio de la intensidad de fluorescencia, se observó que las citoquinas IL-1A e IL-6 presentaron una intensidad de expresión mayor en el grupo de individuos *HP2-2* con respecto a los grupos *HP1-1* y *HP1-2*, aunque esta diferencia no fue estadísticamente significativa. Asimismo, las citoquinas IL-4 y TGF- β presentaron una intensidad de expresión mayor en el grupo *HP1-1* con respecto al grupo *HP2-2* y *HP1-2*. Siendo la diferencia de expresión de la citoquina IL-4 significativamente mayor en el grupo de individuos homocigotos para el genotipo *HP1-1* en comparación con el grupo de individuos homocigotos para el genotipo *HP2-2* (8.773 vs. 7.982, $p=0,0426$). Por otra parte, se observó una expresión significativamente disminuida de la citoquina IL-4 en el grupo de individuos homocigotos para el genotipo *HP2-2* con respecto al grupo de individuos con el genotipo heterocigoto *HP1-2* (7.982 vs. 8.433, $p=0,0289$). Cabe destacar, que en el grupo de los individuos con el genotipo heterocigoto *HP1-2* las citoquinas presentaron una intensidad de expresión intermedia con respecto a los grupos de individuos con genotipo homocigoto.



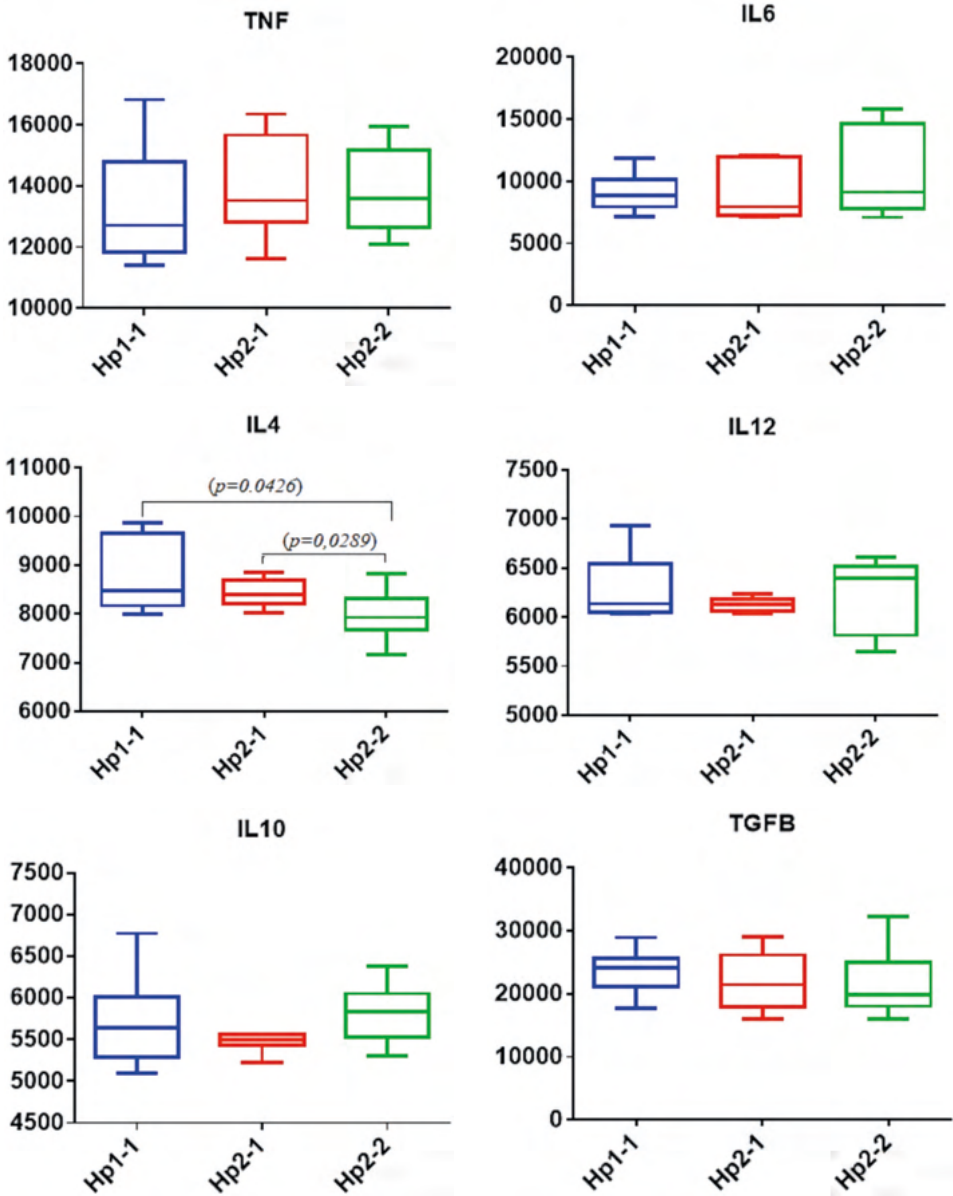


Figura 4. Expresión de algunas citoquinas en respuesta a la estimulación con antígenos de *Plasmodium vivax*, en los diferentes grupos de estudio. El eje de las ordenadas corresponde a la relación Citoquina/GADPH (intensidad de fluorescencia normalizada) y el eje de las abscisas corresponde a cada uno de los grupos clasificados de acuerdo al genotipo HP.

Comparación de la expresión de citoquinas entre los grupos de individuos clasificados de acuerdo al alelo HP

Se realizó un análisis comparativo de la expresión del ARN mensajero para cada

citoquina entre los grupos de individuos clasificados de acuerdo al alelo *HP*: individuos con al menos un alelo *HP1* e individuos con al menos un alelo *HP2*.

En el grupo de individuos con al menos un alelo *HP2* se observó una expresión disminuida de la citoquina IL-4, con respecto al grupo de individuos con al menos un alelo *HP1*, siendo esta diferencia estadísticamente significativa ($p=0,0099$). (Figura 5).

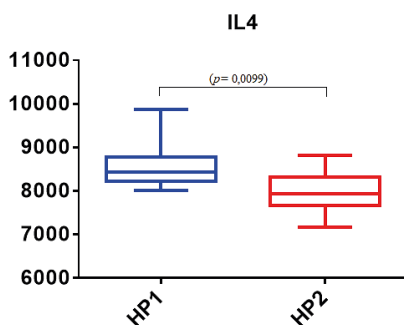


Figura 5. Expresión de IL-4 en respuesta a la estimulación con antígenos de *Plasmodium vivax*, entre los grupos de individuos clasificados de acuerdo al alelo *HP*. El eje de las ordenadas corresponde a la relación Citoquina/GADPH (intensidad de fluorescencia normalizada) y el eje de las abscisas corresponde a cada uno de los grupos clasificados de acuerdo al alelo *HP*.

4 | DISCUSIÓN

Durante la fase eritrocítica los plasmodios (merozoítos) causan la ruptura de los eritrocitos parasitados, lo que trae como consecuencia la liberación al torrente sanguíneo de componentes eritrocitarios (hemoglobina) y parasitarios (hemozoína) (Karunaweera et al., 2003). La exposición antigénica activa al sistema inmunológico, con la liberación de citoquinas proinflamatorias y óxido nítrico, los cuales son importantes para controlar la infección aguda en la fase sanguínea. Simultáneamente la Hb liberada se une a la Hp plasmática para disminuir sus efectos tóxicos y evitar el estrés oxidativo generalizado (Quaye, 2008). En condiciones basales la Hp se encuentra en una concentración aproximadamente mayor a 400 molar respecto a la Hb libre (Bowman & Kurosky, 2002), sin embargo, la respuesta de fase aguda inducida por el parásito induce un incremento en su síntesis, acción que es mediada por la IL-6 (Oliviero & Cortese, 1989). Además, La Hp posee una función inmunomoduladora, que es ejercida a través de la unión del complejo Hb-Hp al receptor de superficie CD163, que se encarga de su remoción del plasma, respuesta que depende del fenotipo de la haptoglobina (Guetta et al., 2007; Langlois & Delanghe, 1996). Basado en ello, en el presente estudio se estableció el posible papel del polimorfismo del gen de haptoglobina en la expresión de citoquinas en respuesta a la estimulación con antígenos de *Plasmodium vivax*.

Al analizar expresión de citoquinas, ante la exposición al antígeno de *P. vivax*, independientemente del genotipo haptoglobina, se observó intensidades de fluorescencia incrementada de IL-1B, IL-6, y TNF- α . En múltiples estudios, se ha demostrado que la infección por *P. vivax* induce una fuerte respuesta inflamatoria, mediada por citoquinas, tales como TNF- α , IFN- γ , IL-1 β , IL-12, IL-6 e IL-8, observándose en algunos estudios concentraciones más altas que las descritas durante la infección por *P. falciparum* (Longley et al., 2016). Las citoquinas proinflamatorias han sido implicadas en el control de la parasitemia. Se ha descrito que la eliminación del parásito, durante la infección por *P. vivax*, va depender de la presencia de células efectoras, tales como los macrófagos, los cuales eliminan los parásitos intracelulares vía óxido nítrico sintasa inducible (iNOS), activándose la producción de óxido nítrico, a través de IFN- γ y TNF- α (Jain et al., 2010). Además, de la producción de IFN- γ y TNF- α , durante la infección malarica son producidas otras citoquinas, como la IL-12 e IL-18, que van actuar juntas para eliminar los parásitos. Finalmente, los episodios febriles, son causados por la liberación de agentes pirogénicos, como las citoquinas TNF- α , IL-1 β e IL-6, que van actuar sobre la termorregulación corporal (Costa et al., 2018). Los resultados obtenidos indican que la infección palúdica induce la expresión de citoquinas proinflamatorias, que eliminan el parásito o promueven la eliminación de eritrocitos infectados por el mismo, en concordancia con lo descrito en la literatura.

En relación a la intensidad de expresión de IL-1A, ésta se observó disminuida con respecto al resto de las citoquinas proinflamatorias. Esto podría explicarse por el hecho de que IL-1 α forma parte de un grupo de citoquinas conocidas como “Citoquinas de función dual”, las cuales se caracterizan por ser expresadas de forma constitutiva, cumpliendo funciones de homeostasis en células de reposo no hematopoyéticas (Moltz, 1993), tales como células epiteliales del tracto gastrointestinal, el riñón, el hígado y los queratinocitos de la piel (Rider et al., 2013; Kong et al., 2006). Por esta razón, es posible que, al utilizar sangre total, no se encuentren presentes las principales fuentes de IL-1 α .

Varios estudios sugieren que la resolución exitosa de la infección de la malaria depende de la capacidad del hospedero para inducir concentraciones adecuadas de citoquinas proinflamatorias y reguladoras durante las etapas claves de la infección. Por lo tanto, simultáneo a la respuesta inflamatoria, la infección aguda por *P. vivax* induce la expresión de citoquinas regulatorias (Hojo-Souza et al., 2017). En el presente estudio, al analizar la expresión de las citoquinas reguladoras, se observó una expresión significativamente incrementada de TGF- β . Si bien, TGF- β está incluida en el grupo de citoquinas reguladoras, estudios realizados en modelos de infección por *Plasmodium sp.* han demostrado que posee una función dual, la cual es dependiente de la concentración en el microambiente y del estadio de la infección. En los estadios más tempranos de la infección TGF- β promueve mecanismos tipo Th1, destinados a controlar el crecimiento parasitario, mientras que en los estadios tardíos inhibe tales mecanismos para limitar la patología asociada a la inflamación (Wahl, 1994). Puede decirse entonces que actúa de forma coordinada con

las citoquinas proinflamatorias en las etapas tempranas de la infección (antes de 6 días). Por esta razón, es posible que la expresión incrementada de TGF- β , observada en este estudio, está asociada con su función de controlar el crecimiento parasitario, considerando que el tiempo máximo de estimulación contemplado en el ensayo fue de 24h. Con respecto a la expresión de las citoquinas adaptativas, en el presente estudio se observó una expresión significativamente incrementada de IL-4 con respecto a IL-12.

Al establecer las comparaciones, considerando el genotipo *HP*, se observó que el grupo de individuos con genotipo homocigoto *HP1-1* y con al menos un alelo *HP1* presentaban una mayor expresión de IL-4 respecto al grupo con genotipo homocigoto *HP2-2*. De igual manera, el grupo homocigoto para el genotipo *HP2-2* mostró una expresión significativamente disminuida de IL-4 respecto al grupo con el genotipo heterocigoto *HP1-2*. Finalmente, a pesar de no hallarse una diferencia significativa, se observó que las citoquinas inflamatorias, IL-A, IL-1B, IL-6 y TNF- α , presentaron una intensidad de expresión mayor en los individuos *HP2-2* y una mayor intensidad de expresión de la citoquina TGF β en los individuos *HP1-1*. En concordancia con lo descrito previamente, ya que macrófagos estimulados vía CD163 por complejos Hp2-2 expresan citoquinas tipo Th1, mientras que aquellos estimulados por complejos Hp1-1 expresan citoquinas tipo Th2 (Guetta et al., 2007). Después del desafío antigénico, las células T cooperadoras CD4⁺ vírgenes (Th) se diferencian hacia células Th1 o Th2, y los mecanismos involucrados en este proceso dependen de citoquinas. La IL-4 juega un papel esencial promoviendo la diferenciación a células Th2, mientras que inhibe la diferenciación de células Th1 (Zamorano et al., 2003). En contraste, la IL-12 induce a las células T CD4⁺ vírgenes a diferenciarse en células Th1 (Sun et al., 2015). Los linfocitos TCD4⁺, son importantes en el control de las formas sanguíneas de la malaria mediante la producción de citoquinas. Además, las células TCD4⁺ y los anticuerpos son requeridos para reducir la parasitemia y mediar la eliminación de los parásitos durante la fase crónica. Al inicio de la infección las células Th1 secretan IFN- γ , que favorece la producción de óxido nítrico por los macrófagos, reduciendo la carga parasitaria, mientras que las células Th2 inducen la producción de anticuerpos IgG, favoreciendo la inmunidad mediada por anticuerpos, y en consecuencia la reducción de la parasitemia y la resolución de la infección latente (Taylor-Robinson et al., 1993; Fonseca et al., 2007; Carpenter et al., 2007). La presencia incrementada de IL-4 indica que el control de la parasitemia, durante la infección aguda, es dependiente de las Th2, pero estas células son requeridas durante la fase crónica de la infección para promover la respuesta de anticuerpos (Stevenson and Riley, 2004). Por lo tanto, la producción simultánea de las diferentes citoquinas, proinflamatorias y reguladoras (IL-6, TNF, IL-2, IL-10, IFN- γ e IL-4), mantendrán un equilibrio entre el control de la infección y las manifestaciones clínicas causadas por la malaria. En consecuencia, la alteración en la producción de estas citoquinas rompe este equilibrio, influyendo en la patogenia, la gravedad de la enfermedad y los episodios recurrentes de malaria por *P. vivax* (Costa et al., 2018).

Finalmente, estudios de asociación entre el polimorfismo del gen de haptoglobina y malaria han demostrado, que el genotipo de la haptoglobina puede no influir en la susceptibilidad a la infección por malaria o el desarrollo de la enfermedad. Sin embargo, el genotipo de la haptoglobina puede influir en el tipo de enfermedad desarrollada, por lo que los individuos Hp2-2 expresan tipos más complicados y graves de malaria (Alfred & Gwakisa, 2013). En consecuencia, la menor actividad antioxidante y el aumento de la reactividad inflamatoria del fenotipo Hp2-2 (perfil de citocinas Th1) podrían reducir la parasitemia, pero la respuesta inflamatoria (Th1) exacerbada cuando no se controla influiría en la patogenia de la enfermedad y los episodios recurrentes de malaria por *Plasmodium vivax*.

REFERENCIAS

- ALFRED B, GWAKISA P. **Haptoglobin gene polymorphism influences the effect of malaria infection on host haptoglobin plasma level but not susceptibility to the disease.** African Journal of Biotechnology. 12 (10): 1115-1120. 2013.
- BOWMAN BH, KUROSKY A. **Haptoglobin: the evolutionary product of duplication, unequal crossing over, and point mutation.** Adv Hum Genet. 12:189-261,453-454.1982.
- BRADFORD, MM. **A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding.** Analytical Biochemistry. 72(1-2): 248-254.1976.
- CARPENTER D, ABUSHAMA H, BERECZKY S, FÄRNERT A, Rooth I, TROYE-BLOMBERG M, Shaw MA. **Immunogenetic control of antibody responsiveness in a malaria endemic area.** Human immunology. 68(3): 165-69. 2007
- COSTA AG, RAMASAWMY R, VAL FFA, IBIAPINA HNS, OLIVEIRA AC, TARRAGÔ AM, LACERDA MVG. **Polymorphisms in TLRs influence circulating cytokines production in *Plasmodium vivax* malaria: TLR polymorphisms influence cytokine productions in malaria-vivax.** Cytokine. 110: 374-380. 2018.
- FONSECA L, SEIXAS E, BUTCHER G, LANGHORNE J. **Cytokine responses of CD4+ T cells during a *Plasmodium chabaudi chabaudi* (ER) blood-stage infection in mice initiated by the natural route of infection.** Malaria Journal. 6 (1): 77. 2007
- GUETTA J, STRAUSS M, LEVY NS, FAHOUM L, LEVY AP. **Haptoglobin genotype modulates the balance of Th1/Th2 cytokines produced by macrophages exposed to free hemoglobin.** Atherosclerosis. 191(1):48-53. 2007.
- HOJO-SOUZA NS, PEREIRA DB, SOUZA FSH, MENDES TAO, CARDOSO MS, TADA MS, BUENO LL. **On the cytokine/chemokine network during *Plasmodium vivax* malaria: new insights to understand the disease.** Malaria Journal. 16 (1), 42. 2017
- HUNT NH, DRIUSSI C, SAI-KIANG L. **Haptoglobin and malaria.** Redox Report. 6 (6): 389-392. 2001.

- JAIN V, SINGH PP, SILAWAT N, PATEL R, SAXENA A, BHARTI PK, SINGH N. **A preliminary study on pro-and anti-inflammatory cytokine profiles in Plasmodium vivax malaria patients from central zone of India.** Acta Tropica. 113(3): 263-268. 2010.
- JANG YK, JUNG DH, JUNG MH, KIM DH, YOO KH, SUNG KW, YANG SE. **Mesenchymal stem cells feeder layer from human umbilical cord blood for ex vivo expanded growth and proliferation of hematopoietic progenitor cells.** Annals of Hematology. 85(4): 212-22. 2006.
- KARUNAWEEERA ND, WIJESEKERA SK, WANASEKERA D, MENDIS KN, CARTER R. **The paroxysm of Plasmodium vivax malaria.** Trends Parasitol. 19 (4):188–93. 2003.
- KONG J, GRANDO SA, LI YC. **Regulation of IL-1 family cytokines IL-1alpha, IL-1 receptor antagonist, and IL-18 by 1,25-dihydroxyvitamin D3 in primary keratinocytes.** J Immunol. 176 (6):3780-7.2006.
- LANGLOIS MR, DELANGHE JR. **Biological and clinical significance of haptoglobin polymorphism in humans.** Clin Chem. 42(10):1589–600. 1996.
- LIM SK, KIM H, LIM SK, BIN ALI A, LIM YK, WANG Y, CHONG SM, COSTANTINI F, BAUMMAN H. **Increased susceptibility in Hp knockout mice during acute hemolysis.** Blood. 92 (6):1870-7. 1998.
- LONGLEY RJ, SATTABONGKOT J, MUELLER I. **Insights into the naturally acquired immune response to Plasmodium vivax malaria.** Parasitology. 143(2), 154-170. 2016.
- MENDONÇA VRR, LUZ NF, SANTOS NJG, BORGES VM, GONÇALVES MS, ANDRADE BB, BARRAL-NETTO M. **Association between the Haptoglobin and Heme Oxygenase 1 Genetic Profiles and Soluble CD163 in Susceptibility to and Severity of Human Malaria.** Infection and Immunity. 80 (4):1445-54. 2012.
- MILNER DA. **Malaria Pathogenesis.** Cold Spring Harb Perspect Med. 8 (1): a025569. 2018
- MOLTZ H. **Fever: causes and consequences.** Neurosci Biobehav Rev. 17 (3):237-69. 1993.
- OLIVIERO S, CORTESE R. **The human haptoglobin gene promoter: interleukin-6-responsive elements interact with a DNA-binding protein induced by interleukin-6.** EMBO J. 8 (4):1145-51. 1989.
- QUAYE IK. **Haptoglobin, inflammation and disease.** Trans R Soc Trop Med Hyg. 102(8):735-42. 200.
- RIDER P, CARMY Y, VORONOV E, APTE RN (2013). **Interleukin-1α.** Semin Immunol. 25 (6):430–8. 2013.
- SADRZADEH SM, GRAF E, PANTER SS, HALLAWAY PE, EATON JW. **Hemoglobin. A biologic Fenton reagent.** J Biol Chem. 259 (23):14354-6. 1984.
- SHIM BS, LEE TH, KANG YS. **Immunological and biochemical investigations of human serum haptoglobin: composition of haptoglobin–haemoglobin intermediate, haemoglobin-binding sites and presence of additional alleles for β-chain.** Nature. 207(5003): 1264-7. 1965.

STEVENSON MM, Riley EM. **Innate immunity to malaria**. Nature Reviews Immunology. 4(3): 169-80. 2004.

SUN L, HE C, NAIR L, YEUNG J, EGWUAGU CE. **Interleukin 12 (IL-12) family cytokines: role in immune pathogenesis and treatment of CNS autoimmune disease**. Cytokine. 75 (2): 249-255. 2015.

TAYLOR-ROBINSON AW, PHILLIPS RS, SEVERN A, MONCADA S, LIEW FY. **The role of TH1 and TH2 cells in a rodent malaria infection**. Science. 260 (5116): 1931-1934.1993.

WAHL SM. **Transforming growth factor beta: the good, the bad, and the ugly**. J Exp Med. 180(5):1587-90. 1994.

WIDE A, NOYA O, CAPALDO J, PABÓN R. **Fundamentos Diagnóstico y Control Malaria - SOS**. Instituto de Altos Estudios, Dr. Arnoldo Gabaldón MPPS. 2011.

WHO. **World malaria report 2020: 20 years of global progress and challenges**. 2020

ZAMORANO J, RIVAS MD, PEREZ G. **Interleukin-4: A multifunctional cytokine**. Inmunología, 22 (2): 215-224. 2003.

ÍNDICE REMISSIVO

B

Bacillus 58, 59, 62, 64
Beauveria bassiana 5, 36, 37, 38, 45, 46
Bioinsecticida 37, 45
blefarite 59, 60, 62, 63

C

Candida 47, 48, 49, 50, 53, 54, 55, 56
Candidíase oral 5, 47, 48, 50, 54, 55, 57
CD163 1, 2, 3, 10, 12, 14
Ceratite 59, 60, 63, 64, 65, 66
Citoquina 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12
Conjuntiva ocular 55, 60, 65
Control biológico 37, 38
Corynebacterium 58, 59, 62, 64

G

Giardia 5, 16, 17, 18, 19, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35
Giardiasis 19, 33

H

Haptoglobina 5, 1, 2, 3, 10, 11, 13
HIV 5, 32, 47, 48, 49, 50, 54, 55, 56, 57

I

IL-4 5, 6, 7, 8, 10, 12
IL-12 5, 6, 7, 8, 11, 12, 15
Imunodeficiência Humana 47, 48, 56
Infecções oportunistas 4, 47, 48, 49
Invasive species 17, 18, 20, 30, 31, 32, 33

L

Lentes de contato 6, 55, 58, 59, 60, 62, 63, 64, 65
Lesões oculares 55, 65

M

Malaria 1, 2, 3, 11, 12, 13, 14, 15, 33
Microbiota 55, 58, 59, 60, 65
Monk parakeet 17, 18, 20, 22, 24, 25, 27, 28, 35
Multidrogarresistentes 59, 64, 65
Myiopsitta monachus 16, 17, 20, 29, 30, 31, 34, 35

N

Neglected disease 19

O

Oxacilina 59, 62, 65

P

Pálpebra 55, 58, 59, 60, 62, 65
Piretroides 5, 36, 37, 38, 39, 41, 44
Plasmodium vivax 5, 1, 2, 3, 7, 9, 10, 13, 14
Polimorfismo 5, 1, 2, 3, 10, 13
Protozoa 17, 21, 22, 23, 27, 29
Pseudomonas aeruginosa 58, 59, 62, 63, 64, 65

R

RT-PCR 4, 1, 2, 6

S

Serratia marcescens 59, 62
SIDA 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57
Síndrome da Imunodeficiência Adquirida 47, 48, 49, 54, 57
Staphylococcus aureus 58, 59, 61, 62, 63, 64, 65
Staphylococcus coagulase negativa 58, 61, 62, 64
Streptococcus 58, 59, 61, 62, 64, 65
Synanthropic species 17, 28

T

Triatoma infestans 5, 36, 37, 45, 46

V


Vancomicina 59, 62, 65


Z


Zoonoses 17, 30, 35


INTERAÇÃO PARASITO- HOSPEDEIRO



www.atenaeditora.com.br 

contato@atenaeditora.com.br 

[@atenaeditora](https://www.instagram.com/atenaeditora) 

www.facebook.com/atenaeditora.com.br 


2


Atena
Editora
Ano 2022


INTERAÇÃO PARASITO- HOSPEDEIRO



www.atenaeditora.com.br 

contato@atenaeditora.com.br 

[@atenaeditora](https://www.instagram.com/atenaeditora) 

www.facebook.com/atenaeditora.com.br 

2


Atena
Editora
Ano 2022