



PAPEL DAS CÉLULAS NATURAL KILLERS EM INFECÇÕES MALÁRICAS¹

Yury Oliveira Chaves², André de Lima Guerra Corado³ e Paulo Afonso Nogueira⁴

Submetido 28/11/2013 – Aceito 19/12/2013 – Publicado on-line 03/04/2014

Resumo

A malária é um problema crucial de saúde pública, sendo a terceira doença infecciosa mais prevalente no mundo, atrás apenas da AIDS e da Tuberculose. O agente etiológico é o protozoário do gênero *Plasmodium* sp. transmitido pela picada de um mosquito. A complexidade no ciclo de vida do parasito causador de malária torna-se uma dificuldade no entendimento dos mecanismos imunes, pois o parasito desenvolveu escape a respostas imunes do hospedeiro. Desta forma, compreender a resposta imunológica aos agentes causadores de malária é fundamental para entender a patogênese e assim contribuir ao desenvolvimento de novos medicamentos e vacinas. Uma das células envolvidas com a resposta aos protozoários causadores de malária é a “Natural Killer” (NK). Estas células são tidas como linfócitos da imunidade inata, distribuídas amplamente pelos tecidos linfoides e não linfoides caracterizadas pela expressão em sua superfície de CD56, com função de lise celular e produção de citocinas. Esta revisão busca descrever e discutir o papel das NK em infecções maláricas, mostrando a importância dessas células em secretar algumas citocinas como TNF- α , em especial o IFN- γ , além da quimiocina CXCL-8 (anteriormente, IL-8).

Palavras-Chave: malária, célula natural killer, IFN- γ , imunidade.

Abstract

Malaria is one of the major problem of public health, is the third most prevalent infectious disease in the world, behind only to AIDS and Tuberculosis. The causative agent is the protozoan of the genus *Plasmodium* transmitted by the bite of a mosquito. The complexity of the life cycle of the parasite that causes malaria, becomes a difficulty to understand the immune mechanisms, since the parasite has developed to escape host immune responses. Thus, understanding the immune response to the causative agents of malaria is crucial for understanding the pathogenesis and can give a new direction to the development of new drugs and vaccines. One of the cells involved in the response to the protozoa are the Natural Killers (NK). These cells are considered lymphocytes of innate immunity, distributed widely by lymphoid and non-lymphoid tissues, characterized by the expression of CD56 on their surface, and function of cell lysis and cytokine production. This review aim to describe and discuss the role of NK cells in malaria infections, showing their importance in secrete various cytokines such as TNF- α , IL-8 and in particular IFN- γ .

Key words: malaria, natural killer cell, IFN- γ , immunity.

¹Parte da dissertação de mestrado do primeiro autor no Programa de Pós-graduação em Imunologia Básica e Aplicada (PPGIBA), Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Av. Gal Rodrigo Octávio, 6200, Coroadó I, 69077-000

² Mestrando do PPGIBA, UFAM, e-mail yury_chaves@amazonia.fiocruz.br

³ Mestrando do PPGIBA, UFAM, e-mail: andredecorado@gmail.com

⁴ Doutor e Pesquisador, Instituto Leonidas e Maria Deane – ILMED, Rua Terezina, 476. Adrianópolis. Manaus - AM. CEP: 69.057-070 e Professor PPGIBA, UFAM, e-mail: paulonogueira@amazonia.fiocruz.br



1. Introdução

Aproximadamente um milhão de pessoas morrem por ano em decorrência da malária (SCHMIDT et al., 2010) e em consequência ao grande número de casos, como os cerca de 216 milhões registrados em 2010, a malária ainda é um problema crucial de saúde pública (MIYAKODA et al., 2008), sendo a terceira doença infecciosa mais prevalente no mundo, perdendo apenas para a AIDS e a Tuberculose (WHO, 2013).

A complexidade no ciclo de vida do parasito causador de malária torna-se uma dificuldade no entendimento das respostas inatas e adaptativas, já que o parasito desenvolveu ao longo do tempo escape as respostas imunes, corroborando para seu estabelecimento no hospedeiro (DAVID et al., 1988; FERREIRA et al., 2004). Desta forma, o objetivo dessa revisão é compreender o papel das células NK em resposta à infecção pelos agentes causadores da malária, avaliando principalmente a produção de IFN- γ por estas células.

2. Malária

O agente etiológico desta doença é um protozoário do gênero *Plasmodium* sp. (espécies endêmicas no Brasil são *Plasmodium vivax*, *Plasmodium falciparum* e *Plasmodium malariae*), transmitido ao homem pela picada da fêmea do mosquito *Anopheles* sp. (BRASIL, 2009). Estes protozoários são parasitas intracelulares obrigatórios que infectam e destroem células, em especial os hepatócitos e os eritrócitos durante a fase assexuada, com período de incubação entre sete a 14 dias (ASHLEY et al., 2006).

O ciclo de vida do parasita compreende duas fases: a fase assexuada acontece no homem quando o *Anopheles* sp. contaminado com esporozoítos inocula a substância salivar composta por repasto sanguíneo, nela os esporozoítos são levados pela corrente sanguínea para o fígado, onde invadem os hepatócitos dando início a fase tecidual ou fase pré-eritrocítica (MILLER et al., 2002). Nesta fase os esporozoítos sofrem sucessivas divisões esquizogônicas as quais acabam por romper os hepatócitos liberando na corrente sanguínea grande quantidade do protozoário, que passa a ser chamado merozoíto (KROTOSKI, 1985). Após esta liberação, inicia-

se a fase eritrocítica da doença, onde os merozoítos invadem os eritrócitos e passam por sucessivas divisões celulares (esquizogonia), que geram grandes quantidades de novos protozoários e rompem a membrana das hemácias liberando mais formas infectantes (HVIID, 1998). Durante o ciclo eritrocítico alguns protozoários se diferenciam em gametócitos, estes são ingeridos pelo mosquito, passando para fase sexuada da doença (BRUCE et al., 1990; SOUZA & RILEY, 2002). A fase sexuada da doença acontece dentro do mosquito fêmea, precisamente no intestino do mosquito, onde os gametócitos diferenciam-se e formam um ovo móvel, chamado de oocineto, que migra até a parede intestinal do mosquito atravessando-a formando o oocisto. Este sofrerá processos de divisão que irá formar os esporozoítos, as formas infectantes do parasito, que posteriormente romperão o oocisto e migrarão até a glândula salivar do mosquito para serem inoculados através da proboscídea do *Anopheles* sp. (BRUCE et al., 1990; MOORE et al., 2002; MOTA & RODRIGUEZ, 2001).

A malária pode causar, em indivíduos infectados, episódios de calafrios, febre (temperatura corpórea igual ou superior a 40 °C) e sudorese, podendo acontecer também mialgia, náuseas e vômitos (BRASIL, 2009). Existe ainda a forma grave da doença, com sintomas que incluem alteração da consciência (malária cerebral), convulsões, hipotensão arterial ou choque, hemorragias, icterícia, hemoglobinúria, anemia grave, hipoglicemia, acidose metabólica, insuficiência renal e hiperparastemia (CHALANDON & KOCHER, 2000; GOMES et al., 2011).

3. Imunidade à Malária

Após a picada do mosquito infectado no hospedeiro, os esporozoítos que possuem tropismo pelos hepatócitos, migram para o fígado. Alguns esporozoítos são reconhecidos e fagocitados pelas células de Kupffer (KC), que irão se dirigir para o linfonodo mais próximo onde apresentarão fragmentos de antígeno para células T “naive” pela ligação com MHC Classe II (GOOD & DOOLAN, 2010; SCHWENK & RICHIE, 2011). Para a modulação de uma resposta efetiva a essa infecção, células dendríticas irão produzir IL-12 que direciona para



um perfil de resposta imune Th1, culminando nas secreções de IL-2 e IFN- γ , promovendo a proliferação e a ativação de linfócitos T citotóxicos que migrarão para os locais infectados (BELNOUE et al., 2008). Alguns estudos em camundongos mostram que células NK ao produzirem IFN- γ recrutam células T para o cérebro contribuindo para a malária cerebral (HANSEN et al., 2007; RILEY et al., 2006; VAN DEN STEEN et al., 2008). A ativação dos linfócitos T citotóxicos resulta na produção e secreção de perforinas e granzimas que irão promover a morte da célula infectada, além de IFN- γ que auxilia na ativação de outras células e o aumento da expressão de MHC de classe I (FERREIRA et al., 1986; GOOD, 2005; HOFFMAN et al., 1989). Outras células também desempenham a função citotóxica no auxílio da destruição de células infectadas, dentre elas células NKT, Linfócitos T $\gamma\delta$ (SCHWENK & RICHIE, 2011).

Estudos como os de Andrade et al. (2010) contribuem para o entendimento da relação da gravidade da doença e produção de citocinas. Pacientes que possuem quadro clínico grave apresentam aumentados os níveis de citocinas pró-inflamatórias, em contra partida os que não apresentam esse quadro clínico possuem os níveis de IL-10, aumentados. Esta citocina é supressora de resposta pró-inflamatória, desta forma as células T reguladoras são ativadas produzindo IL-10 que suprime as respostas de células T efectoras (SCHWENK & RICHIE, 2011; TODRYK et al., 2008). No estudo de MINIGO et al. (2009) é visto que essas subpopulações de T reguladoras possuem relação com a gravidade da infecção causada pelo protozoário causador da malária. A fase eritrocitária caracterizada pela liberação de merozoítos na corrente sanguínea e posterior entrada dos mesmos nos eritrócitos é um alvo potencial para as respostas imunes (LANGHORNE et al., 2002). O parasita no interior do eritrócito passa a expressar na superfície, algumas de suas próprias proteínas, as quais são reconhecidas por células do sistema imune inato através de proteínas de superfícies como CD36 de células fagocíticas e pelos receptores do tipo "Toll-like-Receptors" (TLR) (COBAN et al., 2007; ERDMAN et al., 2009). Além disso, ao romper o eritrócito ocorre liberação de hemozoína ligada ao DNA do

parasito pode ser reconhecida via Toll presentes nas células do sistema imune inato (AUGUSTINE et al., 2009; PERKINS et al., 2011).

Um dos quadros clínicos comuns na malária é a febre, que acontece indiretamente devido liberação de moléculas derivadas do parasita decorrente da ruptura dos eritrócitos, tal evento estimula a produção de citocinas pró-inflamatórias como TNF- α , IL-1, IL-6, IL-12, IFN- γ (FERNANDES et al., 2008; FERREIRA et al., 2004; RILEY et al., 2006). A resposta pró-inflamatória inicial durante a malária parece ter um papel crucial no desenvolvimento da malária cerebral e anemia (FERNANDES et al., 2008; WALTHER et al., 2006). Segundo os estudos de Andrade et al. (2010), existe um equilíbrio de citocinas como IFN- γ , TNF- α e IL-10 para o desenvolvimento de formas não graves da doença, porém o desequilíbrio entres essas citocinas poderão promover um estado assintomático ou gravidade da doença.

Algumas citocinas pró-inflamatórias como IFN- γ e TNF- α vem sendo relatadas como principais responsáveis por quadros clínicos graves quando apresentadas em altas quantidades, podendo causar danos ao hospedeiro comprometendo órgãos e destruindo células (COELHO-CASTELO et al., 2009; HVIID, 1998). Por outro lado, citocinas como TGF- β e IL-10 inibem efeitos patológicos que podem ser manifestados pela exacerbação das respostas pró-inflamatórias, como a malária cerebral e anemia grave (OMER et al., 2003; YAZDANI et al., 2006). Para BUENO et al. (2010), a produção de IL-10 e TGF- β (citocinas antagonistas/supressoras de INF- γ e TNF- α) por células T-reguladoras possui papel importantíssimo no desenvolvimento do controle da parasitemia, entretanto deve haver uma regulação exata, já que a alta produção de citocinas regulatórias também pode ser prejudicial às ações de erradicação do parasita, não havendo resposta forte suficiente para eliminação do patógeno (ANDRADE et al., 2010).

A resposta imune adaptativa é indispensável para o controle de infecções por parasitas. Observa-se uma forte tendência dos linfócitos para a produção de IFN- γ (ROESTENBERG et al., 2009). Essa produção estimula a produção de NO (Óxido Nítrico) por monócitos, potencializando a resposta imune



(GOOD & DOOLAN, 2010; POMBO et al., 2002).

Uma das problemáticas nas infecções maláricas está na razão de que as hemácias não expressam MHC classe I (“Major Histocompatibility Complex”) e nem MHC classe II, estruturas importantes nos reconhecimento das células infectadas. Devido a isso a resposta humoral exerce um papel crucial nesse dilema imunológico da fase eritrocítica (LANGHORNE et al., 2002).

Evidências mostram a interação de células TCD4+ e Th1 com linfócitos B para a produção final de anticorpos específicos que exercem eliminação eficiente do parasito, durante a infecção tardia (LANGHORNE et al., 2002; MEDING & LANGHORNE, 1991). Por exemplo, na primeira exposição ao antígeno pela infecção, os linfócitos B virgens após coativação com células T CD4+ efectoras se diferenciam em linfócitos B produtores de anticorpos. As classes de anticorpos IgM e IgG quando secretados por esses linfócitos B opsonizam os estágios do parasita, além de ativar o sistema complemento e neutralizam a invasão em outros eritrócitos. Esta neutralização é um fenômeno que ocorre pelo reconhecimento de proteínas na superfície dos merozoítos pelos anticorpos opsonizantes, que é essencial para o controle da infecção por impedir o crescimento da densidade parasitaria, fenômenos descritos como inibição celular dependente de anticorpo (ADCI), (HIRUNPETCHARAT & GOOD, 1998).

Os anticorpos opsonizantes secretados em infecções maláricas, em especial as subclasses de IgG1 e IgG3 possuem a função citofílica, pois se ligam a superfície do eritrócito infectado ou do patógeno, favorecendo a fagocitose dessas células infectadas ou dos parasitos (LANGHORNE et al., 1998). Além do efeito opsonizante estas subclasses estão envolvidas na ativação de células citotóxicas que produzem óxido nítrico (BOUHAROUN-TAYOUN et al., 1995; KINYANJUI et al., 2009), assim como, participam da citotoxicidade dependente de anticorpos (ACCD) (DRUILHE et al., 2005; JAFARSHAD et al., 2007; LANGHORNE et al., 1998; MAVOUNGOU et al., 2003; MOORE et al., 2002).

Em alguns casos pode acontecer a disputa de subclasses de IgG, as subclasses IgG2 e IgG4

que podem inibir as respostas citofílicas das IgG1 e IgG3 pela competição dos mesmos domínios desencadeando um desequilíbrio na resposta imune a malária colaborando para o escape do parasito (STEVENSON et al., 2011).

Anticorpos secretados pelas células B podem também ativar a via Clássica do Sistema Complemento, resultando numa cascata proteolítica que culminará na lise da célula ou do patógeno (WALPORT, 2001).

4. Metodologia

Para esta revisão de literatura sobre o papel da célula “Natural Killer” em infecções maláricas buscou-se publicações nas bases de dados eletrônicos PUBMED e MEDLINE com as seguintes palavras: *malaria and natural killer cells, malaria and innate immunity, natural killer cells and innate immunity to protozoan pathogens, Cellular response of malária, immune response of malária e natural killer cells*. Foram selecionados 153 artigos do período de 1985 a 2012.

5. Mecanismos de ativação de células NK nas infecções maláricas

Uma das células envolvidas com a resposta aos protozoários causadores de malária foi descoberta, em 1972, e nomeada em 1975 com nome de *Natural Killer* (NK) (THORNTHWAITE, 2012).

Apesar da ausência do complexo CD3 e de seus receptores não sofrerem rearranjo gênico, as células NK apresentam algumas características pertencentes aos linfócitos, principalmente quanto à morfologia e por possuírem origem num progenitor comum aos linfócitos T (GALY et al., 1995; LEIDEN et al., 1988; RITZ et al., 1985). Por essa razão, são tidas como linfócitos, apesar de serem pertencentes ao sistema imune inato, distribuídas amplamente pelos tecidos linfoides e não linfoides caracterizadas pela expressão em sua superfície de CD56 e com função de lise celular e produção de citocinas (CALIGIURI, 2008; MORETTA et al., 2002).

As células NK são classificadas quanto à densidade da proteína CD56 localizada na sua superfície e pela presença do receptor FcγIII (CD16) em: CD56dim, mais citotóxicas, e CD56bright que secreta grande quantidade de citocinas, em especial IFN-γ (COOPER, 2001). Aproximadamente 90% das células NK



encontradas no sangue periférico são CD56dimCD16+ e o restante é CD56brightCD16-, ou seja, grande parte das NK encontradas no sangue periférico são citotóxicas enquanto, uma pequena porcentagem é produtora de IFN- γ . Acredita-se que células NK CD56bright imaturas (produtora de IFN- γ) podem se diferenciar em células NK CD56dim (CHAN et al., 2007).

Na superfície das células NK existem os receptores inibitórios e os receptores ativadores que atuam no reconhecimento de estruturas celulares, tais receptores desempenham papel fundamental na ativação da célula NK.

Os principais receptores inibitórios das células NK em humanos são conhecidos como KIR (“killer cell Ig-like receptors”) que se ligam ao MHC classe Ia (HLA-A, HLA-B e HLA-C) e o heterodímero CD94/NKG2A que liga ao MHC classe Ib (HLA-E) (COLONNA & SAMARIDIS, 1995; DORFMAN & RAULET, 1996; LANIER, 2008). A ausência de MHC de Classe I na superfície das células leva a célula NK exercer seu efeito citotóxico e lisar a célula alvo caso sejam CD56dim, ou ainda podem produzir grandes quantidades de IFN- γ , TNF- β , IL-10, IL-13 e GM-CSF caso sejam CD56bright (ANFOSSI et al., 2006; KARRE et al., 1986; NATARAJAN et al., 2002; TOWNSEND et al., 1989).

Além de um estímulo ativador ou inibidor em um dos receptores de superfície da célula NK por interação com células T, células dendríticas, células infectadas ou macrófagos é necessário ainda um segundo sinal estimulatório provido por citocinas, como IL-12, IL-15, IL-18, IL-21 e IFN- $\alpha\beta$ presentes no microambiente (COOPER, 2004; VIVIER et al., 2004).

A produção de citocinas pelas células NK como o IFN- γ é importante para direcionar uma resposta adaptativa eficiente, além disso, as células NK podem provocar a lise celular através da produção de granzimas e perforinas (SMYTH et al., 2005).

Na invasão, o merozoíto induz a exposição de várias moléculas na superfície dos eritrócitos resultando em alterações morfológicas que afetam a rigidez e permeabilidade celular (MARTI et al., 2004; SMITH & CRAIG, 2005), devido a essas mudanças moleculares na superfície dos eritrócitos as células NK desempenham seu papel principal de produção precoce de IFN- γ e atividade citotóxica

(KORBEL et al., 2004; SCHARTON-KERSTEN & SHER, 1997).

Para o reconhecimento das células infectadas, as células NK dispõem de uma variedade de mecanismos que envolvem desde a ligação à porção Fc de anticorpos e reconhecimento de expressão de MHC I. Em células que não expressam MHC I, as células NK reconhecem diretamente os eritrócitos infectados pela expressão de moléculas na superfície desses eritrócitos, como por exemplo, a proteína da membrana do eritrócito-1 - PfEMP, (AGUDELO et al., 2012; ARTAVANIS-TSAKONAS et al., 2003; KRISHNEGOWDA et al., 2005; RAZAKANDRAINIBE et al., 2012; ROETYNCK et al., 2006). Portanto, analisando a problemática frente à falta de expressão de MHC-I as células NK necessitam de outras células, moléculas de reconhecimento na sua superfície e citocinas para que haja a ativação e ação citotóxica (MCCALL & SAUERWEIN, 2010). Se as células alvo não têm ou expressam insuficientemente a molécula MHC de classe I, tal como ocorre durante a infecção eritrocítica, a atividade citotóxica ocorre. Essa atividade nas células NK ocorre principalmente após a ligação de células NK a células alvo e liberação de grânulos pré-formados contendo perforina e granzimas no espaço intracelular, levando à lise da célula alvo em poucos minutos (RUSSELL & LEY, 2002). Alguns estudos também reportam a formação de rosetas, quando as células NK (linhagem NK92) se ligam a vários eritrócitos infectados, e isto ajuda na liberação de citocinas (BARATIN et al., 2005).

A citotoxicidade mediada por anticorpo (ADCC) nas células NK ocorre mediante a ligação da porção Fc do anticorpo específicos ao receptor de membrana Fc γ RIII (CD16), estudos mostram que essa ativação de células NK parece se mais eficaz quando está na presença de ambos anticorpo e monócitos (MAVOUNGOU et al., 2003). Outras moléculas estão envolvidas com essa atividade: A forma solúvel do FasL (TANAKA et al., 1995) expresso na superfície das células NK estão relacionados com os processo de lise celular e para a imunoregulação dessa atividade temos FasR (CD95) que funciona como inibidor do desenvolvimento de uma imunopatogênese (BERKE, 1997). Na malária estudos mostram um aumento do sFasL no soro



de pacientes e essa produção está relacionada com a linfopenia contribuindo para os quadros clínicos de anemia em crianças (ISSIFOU et al., 2003; KERN et al., 2000; MATSUMOTO et al., 2000).

Estudos mostram que as células NK dependem das células T para sua ativação. Experimentos, *in vitro*, mostram que a citocina IL-2, quando colocada em contato com as células NK, não foram suficientes para promover sua ativação, destacando que além da sinalização de citocinas, há a necessidade da interação dos linfócitos T para que ocorra a ativação, produção de citocina e consequente memória celular (NEWMAN et al., 2006).

Quando purificadas, as células NK não apresentam ativação significativa (expressão do marcador de superfície CD69) mesmo na presença de antígenos (Eritrócitos infectados), só há um “up-regulation” se essas estiverem em contatos com outras células do sistema imune, confirmando assim que para sua ativação e produção de sinais pró-inflamatório é necessário a interação com outras células (pDC e mDC) (NEWMAN et al., 2006). Outros estudos mostram uma dinâmica celular das células NK em que para uma melhor ação efetiva e posterior produção de IFN, as células NK necessitam de células T e IL-2, contudo, *in vitro*, na ausência de células T as células NK mantêm algumas respostas a eritrócitos infectados o que não foi observado quando adicionado somente de IL-2 (MCCALL & SAUERWEIN, 2010).

Estudos relacionados à ação das células NK mostram que não necessariamente para que haja uma boa resposta imune contra malária, o indivíduo precisou ser infectado pelo parasito, pois as células NK de indivíduos que nunca foram infectados pelo parasito, se essas células forem postas em cultura na presença de eritrócitos infectados, há a ativação celular, produção de interferon além da produção de perforinas e granzimas, moléculas ligadas à atividade citotóxica. No mesmo estudo alguns indivíduos podem possuir fatores imunogenéticos que proporcionam uma resposta oriunda da célula NK mais forte, ou seja, otimizada, enquanto alguns outros indivíduos podem apresentar uma resposta fraca frente ao antígeno (KORBEL et al., 2005).

6. Papéis das células NK nas fases iniciais das infecções maláricas e na produção de IFN- γ

O mecanismo principal da resposta imune inata para a maioria dos parasitas é a ativação de células especializadas na erradicação do patógeno, dentre essas, as células NK (ROLAND et al., 2006).

A malária pode apresentar diversas formas clínicas, que é determinada pela produção de citocinas pró-inflamatórias e citocinas anti-inflamatórias, apresentando desde uma forma mais branda (não grave) e até uma forma mais severa (grave). Buscando entender o papel das células NK e consequentemente da produção de IFN- γ nas diferentes formas clínicas de malária, AGUDELO et al. (2012) demonstraram que pacientes com malária grave apresentaram produção de IFN- γ , por células NK, significativamente maior do que em pacientes com malária não grave e nos controles. Em outro trabalho envolvendo casos de crianças com malária cerebral, uma manifestação clínica de malária grave, é caracterizada pela intensa circulação de TNF- α , IL-1 β e IL-6 (KERN et al., 1989). CABANTOUS et al. (2005) sugerem que o IFN- γ tem ação protetiva contra formas mais graves da doença como, por exemplo, a malária cerebral.

Estudos voltados a relação INF- γ e as manifestações clínicas não graves para malária vem sendo investigadas buscando a possibilidade de que esta citocina confira certa imunidade contra o parasito. D'OMBRAIN et al. (2008) mostraram que a produção prematura de altos níveis de INF- γ está associada com a proteção contra alta e moderada carga parasitária em infecções por *Plasmodium falciparum*. Outra observação importante é a proteção contra reinfeção que também pode estar relacionada com a produção de IFN- γ . LUTY et al. (1999) apontam que a produção de IFN- γ por PMBC em resposta aos antígenos do parasito está associada a uma significativa baixa de reinfeções.

As células NK estão entre os primeiros linfócitos a atuarem nas respostas imunes e são as principais fontes de IFN- γ em resposta aos eritrócitos infectados pelo plasmódio, durante o estágio sanguíneo do protozoário, liberando também grande quantidade de grânulos tóxicos,



além de vários sinalizadores químicos (TNF- α , CXCL8 – IL-8) (ARTAVANIS-TSAKONAS et al., 2003; ARTAVANIS-TSAKONAS & RILEY, 2002; BARATIN et al., 2005; KORBEL et al., 2004).

A intensa produção de IFN- γ é muito importante em infecções maláricas, pois confere em humanos e em camundongos resistência aos esporozoítos e formas hepáticas (DELORON et al., 1991; FAVRE et al., 1997). Em camundongos, as células NK recebem uma sinalização química pela produção de IL-12, e isto colabora para uma atividade pró-inflamatória, além disso, há também a atividade citotóxica contra eritrócitos infectados (DOOLAN & HOFFMAN, 1999) e indução da diferenciação de linfócitos “naive” em Th1, facilitando da expansão clonal de linfócitos T e maturação de células dendríticas, que conseqüentemente, potencializam a resposta imune ao parasita pela ativação de macrófagos e células dendríticas via IFN- γ , controlando a multiplicação e disseminação do parasito (GOOD & DOOLAN, 2010; STEVENSON et al., 2011). A produção de IFN- γ , as atividades citotóxicas são um fator importante para a diminuição da parasitemia, uma vez que há uma correlação positiva entre essas, já nas primeiras horas (RIBEIRO-DIAS & TOSTA, 2006). Esta relação é vista em alguns estudos em humanos, que apontam a importância da produção IFN- γ tanto com o ciclo sanguíneo quanto com o ciclo tecidual, (ARTAVANIS-TSAKONAS & RILEY, 2002).

Um fator interessante do papel das células NK em infecções malárica está na proporção celular e sua relação com a produção de IFN- γ . Em vias de produção normal o IFN- γ é considerado um mediador pró-inflamatório e está associado com a resistência do hospedeiro à infecção pelo *Plasmodium falciparum*, dessa forma, é visto que em consequência ao reconhecimento dos eritrócitos infectados, as células NK apresentam seu papel nas infecções malárias pela produção dessa citocina que estimula outras células do sistema imune para a atividade antiparasitária pela produção de NO por células fagocíticas (JACOBS et al., 1996; ROCKETT et al., 1991).

Durante o ciclo eritrocítico há uma resposta inata para Pf-RBC que ativam diretamente as células NK levando a produção de

CXCL8 (IL-8) e, recrutam outras células para o local de infecção pela colaboração específica com os macrófagos que ativam as células NK levando a produção IFN- γ , que ativarão outras células e, pelo contato com a células infectadas, realizarão as atividades citotóxicas (BARATIN et al., 2005). O IFN- γ pode ter relação com a manutenção dessas células, fazendo com que uma quantidade significativa permaneça na circulação sanguínea como produtora de IFN- γ (MCCALL et al., 2010).

Outras citocinas, como a IL-2 e quimiocinas também são necessárias para a ativação dessas células, por exemplo, a CXCL-8 (anteriormente IL-8) pode estar envolvida no recrutamento de outros tipos celulares, e podem aumentar as respostas das NK a eritrócitos infectados (ANDRADE et al., 2010; SCHOFIELD & GRAU, 2005; WALTHER et al., 2006).

A produção de citocinas, seja regulatória ou pró-inflamatórias, nas infecções maláricas pode influenciar no resultado final das respostas imunes, algumas dessas então envolvidas com a patogênese da doença (RENIA et al., 2006). Há uma forte importância no processo antiparasitário pela produção precoce da citocina IFN- γ pelas células NK (STEVENSON et al., 2011) e essa produção é essencial para ativação de outras células, mostrando a vital importância das células NK nas infecções maláricas (BARATIN et al., 2005). Por outro lado na regulação da ativação celular, o TGF- β e IL-10 atuam como supressores celulares e dependendo deste balanço a fase aguda da malária tenderia para controle da parasitemia com exacerbação da resposta inflamatória ou inversa (LAOUAR et al., 2005; NEWMAN et al., 2006). Esta dinâmica relacionada com a manutenção das populações de células NK também pode ser observada quando são analisadas as porcentagens de outros linfócitos que produzem a mesma citocina, podendo supor que há uma interação entre esses linfócitos para manutenção das respostas imunes. (MCCALL & SAUERWEIN, 2010). Estes dados recebem suporte dos estudos utilizando modelos de camundongos, nos quais mostram, que apesar dessas células constituírem uma menor porcentagem em relação a quantidade de linfócitos totais encontrados na corrente sanguínea, estas células são significantes para



produção dessa citocina pró-inflamatória (MCCALL & SAUERWEIN, 2010) colaborando para a erradicação do parasito.

7. Conclusão

As respostas imunes contra o *Plasmodium* sp. são complexas e dispõe de um arsenal de células que desempenham muitas funções na tentativa de controlar a infecção. Dentre essas células, as células NK, que desempenham papel chave na ligação entre a imunidade inata com a imunidade adaptativa por secretar precocemente grande quantidade de IFN- γ . Além disso, as células NK podem provocar a lise do patógeno pela produção de grande quantidade de granzimas e perforinas, e ainda exerce participação importante no recrutamento de outras células para o local de infecção pela produção de CXCL-8. A importância inata dessas células deve-se ao reconhecimento de moléculas que podem ser expressas na superfície de células infectadas como no caso dos eritrócitos e da pouca expressão de MHC-I pelas células hepáticas infectadas, devido a esses fenômenos há a atividade citotóxica, e por fim com a produção de anticorpos pelos linfócitos B ativados, as células NK exercem as respostas ADCC (“Antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity”) pela ligação da porção Fc ao receptor Fc γ RIII, pelo reconhecimento de proteínas produzidas pelo parasito na membrana de células infectadas.

Agradecimentos

Ao Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de VACINAS-INCVT, CAPES, CNPq, Programa de Pós-graduação em Imunologia Básica e Aplicada (PPGIBA) pelo financiamento. Ao colaborador André Corado e os Doutores Paulo Afonso Nogueira e Marcus Vinícius Guimarães de Lacerda. A Revista *Scientia Amazonia* pela credibilidade neste trabalho.

Divulgação

Este artigo de revisão é inédito e não está sendo considerado para qualquer outra publicação. Os autores e revisores não relataram qualquer conflito de interesse durante a sua avaliação. Logo, a revista *Scientia Amazonia* detém os direitos autorais, tem a aprovação e a permissão

dos autores para divulgação, deste artigo, por meio eletrônico.

Referências

- AGUDELO, O.; BUENO, J.; VILLA, A.; MAESTRE, A. High IFN-gamma and TNF production by peripheral NK cells of Colombian patients with different clinical presentation of *Plasmodium falciparum*. **Malaria Journal**, v.11, p.38, 2012. DOI: 10.1186/1475-2875-11-38
- ANDRADE, B.B.; REIS-FILHO, A.; SOUZA-NETO, S.M.; CLARENCO, J.; CAMARGO, L.M.; BARRAL, A.; BARRAL-NETTO, M. Severe *Plasmodium vivax* malaria exhibits marked inflammatory imbalance. **Malaria Journal**, v.9, p.13, 2010. DOI: 10.1186/1475-2875-9-13
- ANFOSSI, N.; ANDRE, P.; GUIA, S.; FALK, C.S.; ROETYNCK, S.; STEWART, C.A.; BRESO, V.; FRASSATI, C.; REVIRON, D.; MIDDLETON, D.; ROMAGNE, F.; UGOLINI, S.; VIVIER, E. Human NK cell education by inhibitory receptors for MHC class I. **Immunity**, v.25, n.2, p.331-342, 2006. DOI: 10.1016/j.immuni.2006.06.013
- ARTAVANIS-TSAKONAS, K.; ELEME, K.; MCQUEEN, K.L.; CHENG, N.W.; PARHAM, P.; DAVIS, D.M.; RILEY, E.M. Activation of a subset of human NK cells upon contact with *Plasmodium falciparum*-infected erythrocytes. *J Immunol*, v.171, n.10, p.5396-5405, 2003. PMID: 14607943
- ARTAVANIS-TSAKONAS, K.; RILEY, E.M. Innate immune response to malaria: rapid induction of IFN-gamma from human NK cells by live *Plasmodium falciparum*-infected erythrocytes. *J Immunol*, v.169, n.6, p.2956-2963, 2002. PMID: 12218109
- ASHLEY, E.; MCGREADY, R.; PROUX, S.; NOSTEN, F. Malaria. *Travel Med Infect Dis*, v.4, n.3-4, p.159-173, 2006.
- AUGUSTINE, A.D.; HALL, B.F.; LEITNER, W.W.; MO, A.X.; WALI, T.M.; FAUCI, A.S. NIAID workshop on immunity to malaria: addressing immunological challenges. *Nat Immunol*, v.10, n.7, p.673-678, 2009. DOI: 10.1038/ni0709-673.
- BARATIN, M.; ROETYNCK, S.; LEPOLARD, C.; FALK, C.; SAWADOGO, S.; UEMATSU, S.; AKIRA, S.; RYFFEL, B.; TIRABY, J.G.; ALEXOPOULOU, L.; KIRSCHNING, C.J.; GYSIN, J.; VIVIER, E.; UGOLINI, S. Natural killer cell and macrophage cooperation in MyD88-dependent innate



responses to *Plasmodium falciparum*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, v.102, n.41, p.14747-14752, 2005. doi: 10.1073/pnas.0507355102

BELNOUE, E.; POTTER, S.M.; ROSA, D.S.; MAUDUIT, M.; GRUNER, A.C.; KAYIBANDA, M.; MITCHELL, A.J.; HUNT, N.H.; RENIA, L. Control of pathogenic CD8+ T cell migration to the brain by IFN-gamma during experimental cerebral malaria. *Parasite Immunol*, v.30, n.10, p.544-553, 2008. doi: 10.1111/j.1365-3024.2008.01053.x.

BERKE, G. The Fas-based mechanism of lymphocytotoxicity. *Hum Immunol*, v.54, n.1, p.1-7, 1997. doi: 10.1016/S0198-8859(97)00009-8

BOUHAROUN-TAYOUN, H.; OEUVRAY, C.; LUNEL, F.; DRUILHE, P. Mechanisms underlying the monocyte-mediated antibody-dependent killing of *Plasmodium falciparum* asexual blood stages. *J Exp Med*, v.182, n.2, p.409-418, 1995. PMID: 7629503

BRASIL. Ministério da Saúde - Secretaria de Vigilância em Saúde - Departamento de Vigilância Epidemiológica. Guia de Vigilância Epidemiológica. Brasília, 2009.

BRUCE, M.C.; ALANO, P.; DUTHIE, S.; CARTER, R. Commitment of the malaria parasite *Plasmodium falciparum* to sexual and asexual development. *Parasitology*, v.100 Pt 2, p.191-200, 1990. doi:10.1017/S0031182000061199

BUENO, L.L.; MORAIS, C.G.; ARAUJO, F.F.; GOMES, J.A.; CORREA-OLIVEIRA, R.; SOARES, I.S.; LACERDA, M.V.; FUJIWARA, R.T.; BRAGA, E.M. *Plasmodium vivax*: induction of CD4+CD25+FoxP3+ regulatory T cells during infection are directly associated with level of circulating parasites. *PLoS One*, v.5, n.3, p.e9623, 2010. doi: 10.1371/journal.pone.0009623.

CABANTOUS, S.; POUDIOUGOU, B.; TRAORE, A.; KEITA, M.; CISSE, M.B.; DOUMBO, O.; DESSEIN, A.J.; MARQUET, S. Evidence that interferon-gamma plays a protective role during cerebral malaria. *J Infect Dis*, v.192, n.5, p.854-860, 2005. doi: 10.1086/432484

CALIGIURI, M.A. Human natural killer cells. *Blood*, v.112, n.3, p.461-469, 2008. doi: 10.1182/blood-2007-09-077438

CHALANDON, Y.; KOCHER, A. Severe Malaria. *New England Journal of Medicine*, v.342, n.23, p.1715-1715, 2000. doi: 10.1056/NEJMoa1102287

CHAN, A.; HONG, D.L.; ATZBERGER, A.; KOLLNBERGER, S.; FILER, A.D.; BUCKLEY, C.D.; MCMICHAEL, A.; ENVER, T.; BOWNESS, P. CD56bright human NK cells differentiate into CD56dim cells: role of contact with peripheral fibroblasts. *J Immunol*, v.179, n.1, p.89-94, 2007. PMID:17579025

COBAN, C.; ISHII, K.J.; UEMATSU, S.; ARISUE, N.; SATO, S.; YAMAMOTO, M.; KAWAI, T.; TAKEUCHI, O.; HISAEDA, H.; HORII, T.; AKIRA, S. Pathological role of Toll-like receptor signaling in cerebral malaria. *Int Immunol*, v.19, n.1, p.67-79, 2007. doi: 10.1093/intimm/dxl123

COELHO-CASTELO, A.A.M.; TROMBONE, A.P.F.; ROCHA, C.D.; LORENZI, J.C.C. Resposta imune a doenças infecciosas. *Medicina (Ribeirão Preto)*, v.42, n.2, p.127-142, 2009.

COLONNA, M.; SAMARIDIS, J. Cloning of immunoglobulin-superfamily members associated with HLA-C and HLA-B recognition by human natural killer cells. *Science*, v.268, n.5209, p.405-408, 1995. PMID:7716543

COOPER, M. NK cell and DC interactions. *Trends Immunol*, v.25, n. 1, p.47-52, 2004. doi:10.1016/j.it.2003.10.012

COOPER, M.A. Human natural killer cells: a unique innate immunoregulatory role for the CD56bright subset. *Blood*, v.97, n.10, p.3146-3151, 2001. doi:10.1182/blood.V97.10.3146

DAVID, P.H.; DEL PORTILLO, H.A.; MENDIS, K.N. *Plasmodium vivax* malaria: parasite biology defines potential targets for vaccine development. *Biol Cell*, v.64, n.2, p.251-260, 1988. PMID:3067803

DELORON, P.; CHOUGNET, C.; LEPERS, J.P.; TALLET, S.; COULANGES, P. Protective value of elevated levels of gamma interferon in serum against exoerythrocytic stages of *Plasmodium falciparum*. *J Clin Microbiol*, v.29, n.9, p.1757-1760, 1991. PMID: 1774292

D'OMBRAIN, M.C.; ROBINSON, L.J.; STANISIC, D.I.; TARAIIKA, J.; BERNARD, N.; MICHON, P.; MUELLER, I.; SCHOFIELD, L. Association of early interferon-gamma production with immunity to clinical malaria: a longitudinal study among Papua New Guinean children. *Clin Infect Dis*, v.47, n.11, p.1380-1387, 2008. doi: 10.1086/592971

DOOLAN, D.L.; HOFFMAN, S.L. IL-12 and NK cells are required for antigen-specific adaptive



immunity against malaria initiated by CD8+ T cells in the Plasmodium yoelii model. *J Immunol*, v.163, n.2, p.884-892, 1999. PMID:10395683

DORFMAN, J.R.; RAULET, D.H. Major histocompatibility complex genes determine natural killer cell tolerance. *Eur J Immunol*, v.26, n.1, p.151-155, 1996. doi: 10.1002/eji.1830260123

DRUILHE, P.; SPERTINI, F.; SOESOE, D.; CORRADIN, G.; MEJIA, P.; SINGH, S.; AUDRAN, R.; BOUZIDI, A.; OEUVRAY, C.; ROUSSILHON, C. A Malaria Vaccine That Elicits in Humans Antibodies Able to Kill Plasmodium falciparum. *PLoS Med*, v.2, n.11, p.e344, 2005. doi:10.1371/journal.pmed.0020344

ERDMAN, L.K.; COSIO, G.; HELMERS, A.J.; GOWDA, D.C.; GRINSTEIN, S.; KAIN, K.C. CD36 and TLR interactions in inflammation and phagocytosis: implications for malaria. *J Immunol*, v.183, n.10, p.6452-6459, 2009. doi: 10.4049/jimmunol.0901374

FAVRE, N.; RYFFEL, B.; BORDMANN, G.; RUDIN, W. The course of Plasmodium chabaudi chabaudi infections in interferon-gamma receptor deficient mice. *Parasite Immunol*, v.19, n.8, p.375-383, 1997. PMID: 9292896

FERNANDES, A.A.; CARVALHO, L.J.; ZANINI, G.M.; VENTURA, A.M.; SOUZA, J.M.; COTIAS, P.M.; SILVA-FILHO, I.L.; DANIEL-RIBEIRO, C.T. Similar cytokine responses and degrees of anemia in patients with Plasmodium falciparum and Plasmodium vivax infections in the Brazilian Amazon region. *Clin Vaccine Immunol*, v.15, n.4, p.650-658, 2008. doi: 10.1128/CVI.00475-07

FERREIRA, A.; SCHOFIELD, L.; ENEA, V.; SCHELLEKENS, H.; VAN DER MEIDE, P.; COLLINS, W.E.; NUSSENZWEIG, R.S.; NUSSENZWEIG, V. Inhibition of development of exoerythrocytic forms of malaria parasites by gamma-interferon. *Science*, v.232, n.4752, p.881-884, 1986. PMID:3085218

FERREIRA, M.U.; DA SILVA NUNES, M.; WUNDERLICH, G. Antigenic diversity and immune evasion by malaria parasites. *Clin Diagn Lab Immunol*, v.11, n.6, p.987-995, 2004. doi: 10.1128/CDLI.11.6.987-995.2004

GALY, A.; TRAVIS, M.; CEN, D.; CHEN, B. Human T, B, natural killer, and dendritic cells arise from a common bone marrow progenitor cell subset.

Immunity, v.3, n.4, p.459-473, 1995. doi: 10.1016/1074-7613(95)90175-2

GOMES, A.P.; VITORINO, R.R.; COSTA, A.D.P.; MENDONÇA, E.G.D.; OLIVEIRA, M.G.D.A.; SIQUEIRA-BATISTA, R. Malária grave por Plasmodium falciparum. *Revista Brasileira de Terapia Intensiva*, v.23, n.3, p.358-369, 2011.

GOOD, M.F.; DOOLAN, D.L. Malaria vaccine design: immunological considerations. *Immunity*, v.33, n.4, p.555-566, 2010. doi: 10.1016/j.immuni.2010.10.005.

GOOD, M.F. Vaccine-induced immunity to malaria parasites and the need for novel strategies. *Trends Parasitol*, v.21, n.1, p.29-34, 2005. doi: 10.1016/j.pt.2004.10.006

HANSEN, D.S.; BERNARD, N.J.; NIE, C.Q.; SCHOFIELD, L. NK cells stimulate recruitment of CXCR3+ T cells to the brain during Plasmodium berghei-mediated cerebral malaria. *J Immunol*, v.178, n.9, p.5779-5788, 2007. PMID:17442962

HIRUNPETCHARAT, C.; GOOD, M.F. Deletion of Plasmodium berghei-specific CD4+ T cells adoptively transferred into recipient mice after challenge with homologous parasite. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v.95, n.4, p.1715-1720, 1998. PMID:9465082

HOFFMAN, S.L.; ISENBARGER, D.; LONG, G.W.; SEDEGAH, M.; SZARFMAN, A.; WATERS, L.; HOLLINGDALE, M.R.; VAN DER MEIDE, P.H.; FINBLOOM, D.S.; BALLOU, W.R. Sporozoite vaccine induces genetically restricted T cell elimination of malaria from hepatocytes. *Science*, v.244, n.4908, p.1078-1081, 1989. PMID: 2524877

HVIID, L. Clinical disease, immunity and protection against Plasmodium falciparum malaria in populations living in endemic areas. *Expert Rev Mol Med*, v.1998, p.1-10, 1998. doi:10.1017/S1462399498000179

ISSIFOU, S.; MAVOUNGOU, E.; BORRMANN, S.; BOUYOU-AKOTET, M.K.; MATSIEGUI, P.B.; KREMSNER, P.G.; NTOUMI, F. Severe malarial anemia associated with increased soluble Fas ligand (sFasL) concentrations in Gabonese children. *Eur Cytokine Netw*, v.14, n.4, p.238-241, 2003. PMID:14715416

JACOBS, P.; RADZIOCH, D.; STEVENSON, M.M. In vivo regulation of nitric oxide production by tumor necrosis factor alpha and gamma interferon, but



not by interleukin-4, during blood stage malaria in mice. *Infect Immun*, v.64, n.1, p.44-49, 1996. PMID:8557372

JAFARSHAD, A.; DZIEGIEL, M.H.; LUNDQUIST, R.; NIELSEN, L.K.; SINGH, S.; DRUILHE, P.L. A novel antibody-dependent cellular cytotoxicity mechanism involved in defense against malaria requires costimulation of monocytes FcγRII and FcγRIII. *J Immunol*, v.178, n.5, p.3099-3106, 2007. PMID: 17312157

KARRE, K.; LJUNGGREN, H.G.; PIONTEK, G.; KIESSLING, R. Selective rejection of H-2-deficient lymphoma variants suggests alternative immune defence strategy. *Nature*, v.319, n.6055, p.675-678, 1986. PMID: 3951539

KERN, P.; DIETRICH, M.; HEMMER, C.; WELLINGHAUSEN, N. Increased levels of soluble Fas ligand in serum in *Plasmodium falciparum* malaria. *Infect Immun*, v.68, n.5, p.3061-3063, 2000. doi: 10.1128/IAI.68.5.3061-3063.2000

KERN, P.; HEMMER, C.J.; VAN DAMME, J.; GRUSS, H.J.; DIETRICH, M. Elevated tumor necrosis factor alpha and interleukin-6 serum levels as markers for complicated *Plasmodium falciparum* malaria. *Am J Med*, v.87, n.2, p.139-143, 1989. PMID: 2667356

KINYANJUI, S.M.; BEJON, P.; OSIER, F.H.; BULL, P.C.; MARSH, K. What you see is not what you get: implications of the brevity of antibody responses to malaria antigens and transmission heterogeneity in longitudinal studies of malaria immunity. *Malaria Journal*, v.8, p.242, 2009. doi: 10.1186/1475-2875-8-242

KORBEL, D.S.; FINNEY, O.C.; RILEY, E.M. Natural killer cells and innate immunity to protozoan pathogens. *Int J Parasitol*, v.34, n.13-14, p.1517-1528, 2004. doi:10.1016/j.ijpara.2004.10.006

KORBEL, D.S.; NEWMAN, K.C.; ALMEIDA, C.R.; DAVIS, D.M.; RILEY, E.M. Heterogeneous human NK cell responses to *Plasmodium falciparum*-infected erythrocytes. *J Immunol*, v.175, n.11, p.7466-7473, 2005. PMID: 16301654

KRISHNEGOWDA, G.; HAJJAR, A.M.; ZHU, J.; DOUGLASS, E.J.; UEMATSU, S.; AKIRA, S.; WOODS, A.S.; GOWDA, D.C. Induction of proinflammatory responses in macrophages by the glycosylphosphatidylinositols of *Plasmodium falciparum*: cell signaling receptors, glycosylphosphatidylinositol (GPI) structural

requirement, and regulation of GPI activity. *J Biol Chem*, v.280, n.9, p.8606-8616, 2005. doi: 10.1074/jbc.M413541200

KROTOSKI, W.A. Discovery of the hypnozoite and a new theory of malarial relapse. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, v.79, n.1, p.1-11, 1985. PMID: 3922096

LANGHORNE, J.; CROSS, C.; SEIXAS, E.; LI, C.; VON DER WEID, T. A role for B cells in the development of T cell helper function in a malaria infection in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*, v.95, n.4, p.1730-1734, 1998. PMID: 19169

LANGHORNE, J.; QUIN, S.J.; SANI, L.A. Mouse models of blood-stage malaria infections: immune responses and cytokines involved in protection and pathology. *Chem Immunol*, v.80, p.204-228, 2002. PMID: 12058640

LANIER, L.L. Up on the tightrope: natural killer cell activation and inhibition. *Nat Immunol*, v.9, n.5, p.495-502, 2008. doi: 10.1038/ni1581

LAOUAR, Y.; SUTTERWALA, F.S.; GORELIK, L.; FLAVELL, R.A. Transforming growth factor-beta controls T helper type 1 cell development through regulation of natural killer cell interferon-gamma. *Nat Immunol*, v.6, n.6, p.600-607, 2005. doi:10.1038/ni1197

LEIDEN, J.M.; GOTTESDIENER, K.M.; QUERTERMUS, T.; COURY, L.; BRAY, R.A.; GOTTSCHALK, L.; GEBEL, H.; SEIDMAN, J.G.; STROMINGER, J.L.; LANDAY, A.L.; ET AL. T-cell receptor gene rearrangement and expression in human natural killer cells: natural killer activity is not dependent on the rearrangement and expression of T-cell receptor alpha, beta, or gamma genes. *Immunogenetics*, v.27, n.4, p.231-238, 1988. PMID: 3346041

LUTY, A.J.; LELL, B.; SCHMIDT-OTT, R.; LEHMAN, L.G.; LUCKNER, D.; GREVE, B.; MATOUSEK, P.; HERBICH, K.; SCHMID, D.; MIGOT-NABIAS, F.; DELORON, P.; NUSSENZWEIG, R.S.; KREMSNER, P.G. Interferon-gamma responses are associated with resistance to reinfection with *Plasmodium falciparum* in young African children. *J Infect Dis*, v.179, n.4, p.980-988, 1999. doi: 10.1086/314689

MARTI, M.; GOOD, R.T.; RUG, M.; KNUEPFER, E.; COWMAN, A.F. Targeting malaria virulence and remodeling proteins to the host erythrocyte. *Science*, v.306, n.5703, p.1930-1933, 2004. doi: 10.1126/science.1102452



MATSUMOTO, J.; KAWAI, S.; TERAU, K.; KIRINOKI, M.; YASUTOMI, Y.; AIKAWA, M.; MATSUDA, H. Malaria infection induces rapid elevation of the soluble Fas ligand level in serum and subsequent T lymphocytopenia: possible factors responsible for the differences in susceptibility of two species of Macaca monkeys to Plasmodium coatneyi infection. *Infect Immun*, v.68, n.3, p.1183-1188, 2000 doi: 10.1128/IAI.68.3.1183-1188.2000.

MAVOUNGOU, E.; LUTY, A.J.; KREMSNER, P.G. Natural killer (NK) cell-mediated cytolysis of Plasmodium falciparum-infected human red blood cells in vitro. *Eur Cytokine Netw*, v.14, n.3, p.134-142, 2003. PMID: 14656686

MCCALL, M.B.; ROESTENBERG, M.; PLOEMEN, I.; TEIRLINCK, A.; HOPMAN, J.; DE MAST, Q.; DOLO, A.; DOUMBO, O.K.; LUTY, A.; VAN DER VEN, A.J.; HERMSEN, C.C.; SAUERWEIN, R.W. Memory-like IFN-gamma response by NK cells following malaria infection reveals the crucial role of T cells in NK cell activation by P. falciparum. *Eur J Immunol*, v.40, n.12, p.3472-3477, 2010. doi: 10.1002/eji.201040587

MCCALL, M.B.; SAUERWEIN, R.W. Interferon-gamma--central mediator of protective immune responses against the pre-erythrocytic and blood stage of malaria. *J Leukoc Biol*, v.88, n.6, p.1131-1143, 2010. doi: 10.1189/jlb.0310137

MEDING, S.J.; LANGHORNE, J. CD4+ T cells and B cells are necessary for the transfer of protective immunity to Plasmodium chabaudi chabaudi. *Eur J Immunol*, v.21, n.6, p.1433-1438, 1991. doi: 10.1002/eji.1830210616

MILLER, L.H.; BARUCH, D.I.; MARSH, K.; DOUMBO, O.K. The pathogenic basis of malaria. *Nature*, v.415, n.6872, p.673-679, 2002. doi:10.1038/415673a

MINIGO, G.; WOODBERRY, T.; PIERA, K.A.; SALWATI, E.; TJITRA, E.; KENANGALEM, E.; PRICE, R.N.; ENGWERDA, C.R.; ANSTEY, N.M.; PLEBANSKI, M. Parasite-Dependent Expansion of TNF Receptor II-Positive Regulatory T Cells with Enhanced Suppressive Activity in Adults with Severe Malaria. *PLoS Pathog*, v.5, n.4, p.e1000402, 2009. doi:10.1371/journal.ppat.1000402

MIYAKODA, M.; KIMURA, D.; YUDA, M.; CHINZEI, Y.; SHIBATA, Y.; HONMA, K.; YUI, K. Malaria-specific and nonspecific activation of CD8+ T cells

during blood stage of Plasmodium berghei infection. *J Immunol*, v.181, n.2, p.1420-1428, 2008. PMID: 18606696

MOORE, S.A.; SURGEY, E.G.; CADWGAN, A.M. Malaria vaccines: where are we and where are we going? *Lancet Infect Dis*, v.2, n.12, p.737-743, 2002. doi: 10.1016/S1473-3099(02)00451-6

MORETTA, L.; BOTTINO, C.; PENDE, D.; MINGARI, M.C.; BIASSONI, R.; MORETTA, A. Human natural killer cells: their origin, receptors and function. *Eur J Immunol*, v.32, n.5, p.1205-1211, 2002. PMID: 11981807

MOTA, M.M.; RODRIGUEZ, A. Migration through host cells by apicomplexan parasites. *Microbes Infect*, v.3, n.13, p.1123-1128, 2001. doi: 10.1016/S1286-4579(01)01473-3

NATARAJAN, K.; DIMASI, N.; WANG, J.; MARIUZZA, R.A.; MARGULIES, D.H. Structure and function of natural killer cell receptors: multiple molecular solutions to self, nonself discrimination. *Annu Rev Immunol*, v.20, p.853-885, 2002. doi: 10.1146/annurev.immunol.20.100301.064812

NEWMAN, K.C.; KORBEL, D.S.; HAFALLA, J.C.; RILEY, E.M. Cross-talk with myeloid accessory cells regulates human natural killer cell interferon-gamma responses to malaria. *PLoS Pathog*, v.2, n.12, p.e118, 2006. doi:10.1371/journal.ppat.0020118

OMER, F.M.; DE SOUZA, J.B.; CORRAN, P.H.; SULTAN, A.A.; RILEY, E.M. Activation of transforming growth factor beta by malaria parasite-derived metalloproteinases and a thrombospondin-like molecule. *J Exp Med*, v.198, n.12, p.1817-1827, 2003. doi: 10.1084/jem.20030713

PERKINS, D.J.; WERE, T.; DAVENPORT, G.C.; KEMPAIAH, P.; HITTNER, J.B.; ONG'ECHA, J.M. Severe malarial anemia: innate immunity and pathogenesis. *Int J Biol Sci*, v.7, n.9, p.1427-1442, 2011. doi:10.7150/ijbs.7.1427

POMBO, D.J.; LAWRENCE, G.; HIRUNPETCHARAT, C.; RZEPCZYK, C.; BRYDEN, M.; CLOONAN, N.; ANDERSON, K.; MAHAKUNKIJCHAROEN, Y.; MARTIN, L.B.; WILSON, D.; ELLIOTT, S.; EISEN, D.P.; WEINBERG, J.B.; SAUL, A.; GOOD, M.F. Immunity to malaria after administration of ultra-low doses of red cells infected with Plasmodium falciparum. *Lancet*, v.360, n.9333, p.610-617, 2002. doi:10.1016/S0140-6736(02)09784-2



- RAZAKANDRAINIBE, R.; PELLEAU, S.; GRAU, G.E.; JAMBOU, R. Antigen presentation by endothelial cells: what role in the pathophysiology of malaria? *Trends Parasitol*, v.28, n.4, p.151-160, 2012. doi: 10.1016/j.pt.2012.01.004
- RENIA, L.; POTTER, S.M.; MAUDUIT, M.; ROSA, D.S.; KAYIBANDA, M.; DESCHEMIN, J.C.; SNOUNOU, G.; GRUNER, A.C. Pathogenic T cells in cerebral malaria. *Int J Parasitol*, v.36, n.5, p.547-554, 2006. doi: 10.1016/j.ijpara.2006.02.007
- RIBEIRO-DIAS, F.; TOSTA, C.E. Dynamics and kinetics of natural killer cell cytotoxicity in human malaria as evaluated by a novel stepwise cytotoxicity assay. *Rev Soc Bras Med Trop*, v.39, n.4, p.357-364, 2006. doi:10.1590/S0037-86822006000400008
- RILEY, E.M.; WAHL, S.; PERKINS, D.J.; SCHOFIELD, L. Regulating immunity to malaria. *Parasite Immunol*, v.28, n.1-2, p.35-49, 2006. doi: 10.1111/j.1365-3024.2006.00775.x
- RITZ, J.; CAMPEN, T.J.; SCHMIDT, R.E.; ROYER, H.D.; HERCEND, T.; HUSSEY, R.E.; REINHERZ, E.L. Analysis of T-cell receptor gene rearrangement and expression in human natural killer clones. *Science*, v.228, n.4707, p.1540-1543, 1985. PMID: 2409597
- ROCKETT, K.A.; AWBURN, M.M.; COWDEN, W.B.; CLARK, I.A. Killing of *Plasmodium falciparum* in vitro by nitric oxide derivatives. *Infect Immun*, v.59, n.9, p.3280-3283, 1991. PMID: 1879941
- ROESTENBERG, M.; MCCALL, M.; HOPMAN, J.; WIERSMA, J.; LUTY, A.J.F.; VAN GEMERT, G.J.; VAN DE VEGTE-BOLMER, M.; VAN SCHAIJK, B.; TELEN, K.; ARENS, T.; SPAARMAN, L.; DE MAST, Q.; ROEFFEN, W.; SNOUNOU, G.; RÉNIA, L.; VAN DER VEN, A.; HERMSEN, C.C.; SAUERWEIN, R. Protection against a Malaria Challenge by Sporozoite Inoculation. *New England Journal of Medicine*, v.361, n.5, p.468-477, 2009. doi: 10.1056/NEJMoa0805832
- ROETYNCK, S.; BARATIN, M.; VIVE, É.; UGOLINI, S. Cellules natural killer et immunité innée contre le paludisme. *Médecine sciences*, v.22, n.8-9, p.739-744, 2006.
- ROLAND, J.; SOULARD, V.; SELLIER, C.; DRAPIER, A.M.; DI SANTO, J.P.; CAZENAVE, P.A.; PIED, S. NK cell responses to *Plasmodium* infection and control of intrahepatic parasite development. *J Immunol*, v.177, n.2, p.1229-1239, 2006. PMID: 16818782
- RUSSELL, J.H.; LEY, T.J. Lymphocyte-mediated cytotoxicity. *Annu Rev Immunol*, v.20, p.323-370, 2002. doi: 10.1146/annurev.immunol.20.100201.131730
- SCHARTON-KERSTEN, T.M.; SHER, A. Role of natural killer cells in innate resistance to protozoan infections. *Curr Opin Immunol*, v.9, n.1, p.44-51, 1997. doi: 10.1016/S0952-7915(97)80157-4
- SCHMIDT, N.W.; BUTLER, N.S.; BADOVINAC, V.P.; HARTY, J.T. Extreme CD8 T cell requirements for anti-malarial liver-stage immunity following immunization with radiation attenuated sporozoites. *PLoS Pathog*, v.6, n.7, p.e1000998, 2010. doi: 10.1371/journal.ppat.1000998
- SCHOFIELD, L.; GRAU, G.E. Immunological processes in malaria pathogenesis. *Nat Rev Immunol*, v.5, n.9, p.722-735, 2005. doi: 10.1038/nri1686
- SCHWENK, R.J.; RICHIE, T.L. Protective immunity to pre-erythrocytic stage malaria. *Trends Parasitol*, v.27, n.7, p.306-314, 2011. doi: 10.1016/j.pt.2011.02.002
- SMITH, J.D.; CRAIG, A.G. The surface of the *Plasmodium falciparum*-infected erythrocyte. *Curr Issues Mol Biol*, v.7, n.1, p.81-93, 2005. PMID: 15580781
- SMYTH, M.J.; CRETNEY, E.; KELLY, J.M.; WESTWOOD, J.A.; STREET, S.E.; YAGITA, H.; TAKEDA, K.; VAN DOMMELEN, S.L.; DEGLIESPOSTI, M.A.; HAYAKAWA, Y. Activation of NK cell cytotoxicity. *Mol Immunol*, v.42, n.4, p.501-510, 2005. doi: 10.1016/j.molimm.2004.07.034
- SOUZA, J.B.; RILEY, E.M. Cerebral malaria: the contribution of studies in animal models to our understanding of immunopathogenesis. *Microbes Infect*, v.4, n.3, p.291-300, 2002. doi: 10.1016/S1286-4579(02)01541-1
- STEVENSON, M.M.; ING, R.; BERRETTA, F.; MIU, J. Regulating the adaptive immune response to blood-stage malaria: role of dendritic cells and CD4(+)Foxp3(+) regulatory T cells. *Int J Biol Sci*, v.7, n.9, p.1311-1322, 2011. doi:10.7150/ijbs.7.1311



TANAKA, M.; SUDA, T.; TAKAHASHI, T.; NAGATA, S. Expression of the functional soluble form of human fas ligand in activated lymphocytes. *EMBO J*, v.14, n.6, p.1129-1135, 1995. PMID: 7536672

THORNTON, J.T. The Natural Killer Cell: A Historical Perspective and the Use of Supplements to Enhance NKC Activity. *Journal of Immune Based Therapies, Vaccines and Antimicrobials*, v.01, n.03, p.21-51, 2012. doi: 10.4236/jibtva.2012.13004

TODRYK, S.M.; BEJON, P.; MWANGI, T.; PLEBANSKI, M.; URBAN, B.; MARSH, K.; HILL, A.V.S.; FLANAGAN, K.L. Correlation of Memory T Cell Responses against TRAP with Protection from Clinical Malaria, and CD4⁺ CD25^{high} T Cells with Susceptibility in Kenyans. *PLoS One*, v.3, n.4, p.e2027, 2008.

TOWNSEND, A.; OHLEN, C.; BASTIN, J.; LJUNGGREN, H.G.; FOSTER, L.; KARRE, K. Association of class I major histocompatibility heavy and light chains induced by viral peptides. *Nature*, v.340, n.6233, p.443-448, 1989. doi:10.1038/340443a0

VAN DEN STEEN, P.E.; DEROST, K.; VAN AELST, I.; GEURTS, N.; MARTENS, E.; STRUYF, S.; NIE, C.Q.; HANSEN, D.S.; MATTHYS, P.; VAN DAMME, J.; OPDENAKKER, G. CXCR3 determines strain susceptibility to murine cerebral malaria by mediating T lymphocyte migration toward IFN-

gamma-induced chemokines. *Eur J Immunol*, v.38, n.4, p.1082-1095, 2008. doi: 10.1002/eji.200737906

VIVIER, E.; NUNES, J.A.; VELY, F. Natural killer cell signaling pathways. *Science*, v.306, n.5701, p.1517-1519, 2004. doi: 10.1126/science.1103478

WALPORT, M.J. Complement. First of two parts. *N Engl J Med*, v.344, n.14, p.1058-1066, 2001. doi: 10.1056/NEJM200104053441406

WALTHER, M.; WOODRUFF, J.; EDELE, F.; JEFFRIES, D.; TONGREN, J.E.; KING, E.; ANDREWS, L.; BEJON, P.; GILBERT, S.C.; DE SOUZA, J.B.; SINDEN, R.; HILL, A.V.; RILEY, E.M. Innate immune responses to human malaria: heterogeneous cytokine responses to blood-stage *Plasmodium falciparum* correlate with parasitological and clinical outcomes. *J Immunol*, v.177, n.8, p.5736-5745, 2006. PMID: 17015763

WHO - World Health Organization. disponível em <<http://www.who.int>>. Acesso em 16 de dez. 2013.

YAZDANI, S.S.; MUKHERJEE, P.; CHAUHAN, V.S.; CHITNIS, C.E. Immune responses to asexual blood-stages of malaria parasites. *Curr Mol Med*, v.6, n.2, p.187-203, 2006. doi: 10.2174/156652406776055212.