



FACULDADE DE
MEDICINA
LISBOA

Hemoglobinopatias e Malária: obstáculos com potencial futuro

Ana Raquel Realista Coelho dos Santos Pedrosa

Dr. Carlos Manuel Varela Martins

Clínica Universitária de Hematologia

2015 / 2016

Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa



Resumo

Passados quase 70 anos da proposta de Haldane, existem ainda caminhos por desvendar nesta relação entre as hemoglobinopatias e a Malária. Hoje conhecemos apenas alguns dos mecanismos que permitem esta seleção natural. Estes novos conhecimentos impulsionam novas investigações: pode ser este o caminho para novas terapêuticas e novos métodos preventivos. No entanto, apesar do crescente conhecimento, importa não descurar o mais importante neste longo caminho: a pessoa humana. É crucial que tais inovações cheguem aos que mais delas precisam, às populações que vivem nas zonas endémicas.

Abstract

Almost 70 years since Haldane's Malaria Hypothesis, there are still roads to uncover in the relationship between haemoglobinopathies and Malaria. Today we only understand some of the mechanisms that enable this natural selection. The need for further understanding of this process urges new investigations, which could be the way to develop new therapeutics and new preventive methods. However, regardless this boom of crescent knowledge, we cannot forget the most important factor on this long road: the human being. It is crucial that those innovations reach the ones that need them the most, the ones that live in endemic areas.

Acrónimos

HbC	Hemoglobina C
HbE	Hemoglobina E
HbF	Hemoglobina Fetal
HbS	Hemoglobina S
ODM	Objetivos do Desenvolvimento para o Milénio
OMS	Organização Mundial de Saúde
PfEMP1	<i>Plasmodium falciparum Erythrocyte Protein 1</i>
CR1	Recetor de complemento 1

Introdução

A Malária corresponde à doença parasitária mais importante nos humanos, é transmitida pela picada da fêmea do mosquito *Anopheles* (Figura 1) infetada, em 106 países, afetando 3 mil milhões de pessoas em todo o mundo e causando aproximadamente 2000 mortes por dia [17].

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS) cerca de 1.3 mil milhões de pessoas continuam em risco de contrair a doença. Em 2015 estima-se que tenham ocorrido 214 milhões de novos casos e 438 mil mortes relacionadas com a doença, e destas cerca de 80 % ocorreram em apenas 15 países, a sua grande maioria em África. [38]. As crianças e as mulheres grávidas são particularmente vulneráveis à infeção, sendo que só em 2013 mais de 75 % das mortes relacionadas com a Malária ocorreram em crianças com menos de 5 anos [28].

A doença é causada por seis espécies de *Plasmodium*, nomeadamente *P. falciparum*, *P. vivax*, duas espécies simpátricas de *P. ovale*, *P. malariae* e *P. knowlesi*. Enquanto que o *P. falciparum* corresponde à espécie mais prevalente no continente Africano, sendo responsável pela grande maioria das mortes causadas pela doença em todo o mundo, o *P. vivax* domina na maioria dos países fora da África Subsariana, sendo também responsável, a par do *P. knowlesi*, no Sudeste Asiático, por casos de Malária grave [37].



1

Os sintomas clínicos da doença manifestam-se quando os parasitas invadem e se multiplicam no interior dos eritrócitos (Figura 2). O seu desenvolvimento intracelular é acompanhado por várias alterações eritrocitárias, não só estruturais, bioquímicas, como também funcionais. Tais alterações conduzem ao aparecimento de sintomas clínicos e patológicos, nomeadamente, anemia grave e malária cerebral [19].

A invasão dos eritrócitos, que demora entre 30 a 90 segundos, dá-se quando a forma extracelular do parasita – o merozoíto – libertado após a rutura de um eritrócito infetado se ancora à superfície de um não infetado. Apesar do início do processo ocorrer de forma aleatória, para que este se dê com sucesso, os merozoítos reorientam-se através de motores de actina-miosina, de forma a que a sua porção apical contate com a membrana eritrocitária. Nesta fase são introduzidos componentes (protéases, fosfolipases e lípidos) no interior do eritrócito, que conduzem a alterações estruturais impor-

tantes e possibilitam a entrada do merozoíto, que aí se desenvolve e reside durante as restantes 48 horas da sua vida no interior do eritrócito [22].

No mundo, a Malária distribui-se pela maior parte das regiões tropicais; o *P. falciparum* predomina na África, Nova Guiné, República Dominicana e Haiti, sendo, também, encontrado na América do Sul, no subcontinente Indiano, na Ásia oriental e na Oceânia; o *P. vivax* é mais comum na América Central, distribuindo-se também, à semelhança do anterior, na América do Sul, no subcontinente Indiano, na Ásia oriental e na Oceânia; o *P. malariae* é encontrado nas áreas mais endémicas, especialmente na África subsariana, sendo muito menos comum; o *P. ovale* distribui-se, quase exclusivamente, pela África; enquanto que o *P. knowlesi* tem sido identificado na ilha do Bornéu e, em algumas zonas do Sudeste Asiático onde os seus principais hospedeiros são o Macaco de Rabo Comprido e o de Rabo de Porco [17].

¹Fêmea de mosquito *Anopheles*. (Hugh Sturrock, National Geographic)

As hemoglobinopatias constituem as doenças monogênicas mais comuns, sendo que em cada ano nascem cerca de 400 mil crianças portadoras de uma hemoglobinopatia, quase 90 % das quais em países subdesenvolvidos [36]. As elevadas frequências de hemoglobinopatias refletem a seleção natural sugerida por Haldane em 1949 como mecanismo protetor face à Malária e mais tarde confirmada por Allison em 1954 no caso da Anemia das Células Falciformes (Hemoglobina S (HbS)). Nas décadas que se seguiram à hipótese de Haldane – a *Malaria Hypothesis* –, foram propostos vários argumentos que a sustentavam: a semelhança na distribuição geográfica da Malária e das hemoglobinopatias, quer local, regional ou global;



2

estudos da população genética; estudos clínicos conduzidos em áreas de Malária endêmica; e estudo dos mecanismos *in vivo* e *ex vivo*. Apesar de existir uma forte evidência desta proteção por parte da HbS e da α -Talassemia (objetos de maior investigação), hoje em dia, existem poucas dúvidas de que a Malária é responsável pela atual distribuição geográfica da maioria das hemoglobinopatias [36]. Contudo, nenhuma das hemoglobinopatias confere total proteção contra a infecção parasitária, reduzindo apenas a morbidade e mortalidade associadas à doença.

Hemoglobinopatias

As hemoglobinopatias, alterações da estrutura e produção da hemoglobina, dividem-se em dois grupos: as variantes estruturais da hemoglobina que resultam, na sua maioria, de substituições de um único aminoácido nas cadeias α e β , e as talassemias, classificadas de acordo com a ineficaz produção de uma das cadeias de globulina [31].

Apesar das hemoglobinopatias conferirem resistência contra a Malária através de mecanismos imunitários, são também um grande problema mundial. Estas perturbações

² Destruição de eritrócitos pelo *P. falciparum* no fígado (*Albert Bonniers Frolay*, National Geographic)

da hemoglobina apresentam uma elevada frequência de portadores, particularmente nas regiões onde a Malária é endêmica, e caracterizam-se por apresentarem uma ampla heterogeneidade clínica e fenotípica.

Apesar da distribuição das hemoglobinopatias estar bem definida, a sua verdadeira frequência continua a ser de difícil determinação. Essencialmente, as hemoglobinopatias encontram-se distribuídas pelas regiões tropicais do Antigo Mundo; para lá da faixa tropical a sua distribuição traduz os diferentes padrões migratórios, especialmente nas regiões Mediterrâneas e em África [33].

A Anemia das Células Falciformes (HbS) distribui-se pela África Subsariana, por algumas populações Mediterrâneas, oásis populacionais do Médio Oriente e algumas regiões do subcontinente Indiano. A Hemoglobina E (HbE) é encontrada na parte mais oriental do subcontinente Indiano, em Mianmar e pelo sudeste Asiático, alcançando elevadas frequências no nordeste da Tailândia e no Camboja. A Hemoglobina C (HbC) restringe-se a alguns países da África Ocidental e às regiões do Mediterrâneo norte. As α^+ -Talassemias ocorrem em elevadas frequências na faixa tropical, enquanto as α^0 se restringem ao Sudeste Asiático e a algumas regiões do Mediterrâneo. As β -Talassemias distribuem-se, também, pela faixa tropical, em diferentes frequências [33].



Distribuição global das hemoglobinas S e E. [31]



Distribuição global das α e β Talassemias [31].

Têm sido propostos diferentes mecanismos de proteção contra malária grave e complicada por parte das diversas hemoglobinopatias. Entre os mais relevantes, têm sido descritos a redução da invasão parasitária dos eritrócitos, diminuição do crescimento parasitário intra-eritrocitário, fagocitose aumentada dos eritrócitos infetados e aumento da resposta imune contra os eritrócitos infetados.

Hemoglobina S / Células Falciformes

As Células Falciformes associam-se a um grupo de alterações sintomáticas que resultam de mutações no gene HBB, que conduzem à produção de HbS. A sua forma homozigótica (HbSS) é fatal no início da vida se não houver tratamento adequado; por sua vez, o estado heterozigótico (HbAS) contém uma cadeia β -globulina mutante (β_s). Tais mutações levam a alterações na forma do eritrócito semelhantes a uma foice. Esta é uma das alterações eritrocitárias mais prevalentes, maioritariamente nas regiões endémicas de malária; sendo o estado heterozigótico (HbAS) a hemoglobinopatia com tradução protetora face à Malária mais bem descrita.

Vários estudos apontam para as células falciformes como um mecanismo de proteção contra a Malária; demonstrando a existência de mecanismos que inibem o crescimento parasitário, levando, em condições de desoxigenação, a alterações da sua própria natureza, afetando gravemente os parasitas.

Em geral, os diversos estudos que têm demonstrado que este estado heterozigótico se traduz por uma proteção de cerca de 50 % nos casos de Malária não complicada e superior a 80 % contra a Malária severa por *Plasmodium falciparum* [36].

Apesar do facto de a HbAS conferir proteção contra a Malária ser agora uma certeza, o mecanismo pelo qual tal acontece permanece algo desconhecido. Esta proteção dá-se, maioritariamente, por dois mecanismos: por um lado, o crescimento parasitário intracelular é fortemente inibido pela polimerização da HbS quando os níveis de oxigénio não ultrapassam os 5 %, por outro, verifica-se um aumento da fagocitose de células falciformes infetadas por parte das células do hospedeiro quando comparado com eritrócitos normais infetados. Contudo, estudos recentes apontam para a existência de um outro mecanismo: quando comparados com eritrócitos HbAA infetados, a aderência dos eritrócitos HbAS infetados às paredes da microvasculatura e aos monócitos sanguíneos é, marcadamente, menor, o que se correlaciona com a expressão reduzida da proteína de superfície *Plasmodium falciparum Erythrocyte Protein 1* (PfEMP1) implicada na patogénese da Malária grave e na evasão dos eritrócitos infetados à destruição imunitária no baço [3].

Mais ainda, o efeito protetor da HbAS nas populações naturalmente expostas à doença aumenta com a idade, o que indica que o mecanismo de proteção possa não ser inteiramente inato e tenha, também, um componente adquirido, imunológico [36].

Apesar de ser clara esta relação de proteção, os seus mecanismos continuam ainda hoje desconhecidos; sendo possível que não exista apenas um, mas que esta defesa resulte da composição de diversos processos.

Hemoglobina C

A Hemoglobina C resulta de uma mutação pontual, na qual há a troca de um glutamato por uma lisina no sexto aminoácido da cadeia β . Enquanto o seu estado heterozigótico (HbAC) é assintomático, a forma homozigótica (HbCC) pode traduzir-se por hemólise ligeira, esplenomegalia e cálculos renais. No que toca à proteção conferida por esta hemoglobinopatia face à malária, os resultados são contraditórios. Por um lado, alguns estudos têm demonstrado que os parasitas não proliferam nos eritrócitos HbCC *in vitro* por uma resposta osmótica anormal que impossibilita a rutura da célula, necessária para a libertação dos merozoitos, e que existe alguma diminuição do crescimento parasitário no interior dos eritrócitos em indivíduos HbAC em casos de malária ligeira ou grave. Por outro lado, vários estudos sugerem que o *P. falciparum* pode infetar e proliferar no interior de eritrócitos HbCC e que não existe proteção contra a malária ligeira [20]. Esta

proteção parece ser específica para casos particulares de Malária grave e é maior no estado homozigótico (HbCC) do que em heterozigóticos (HbAC); tendo sido demonstrada, no Burquina Faso, uma redução do risco de Malária com expressão clínica em crianças com HbAC de apenas 29 %, enquanto que em crianças com HbCC esta redução é de 93 % [36].

Os mecanismos pelos quais a HbC confere proteção contra a Malária não são ainda conhecidos na sua totalidade. Os primeiros estudos sugerem uma diminuição da capacidade de crescimento e multiplicação do parasita no interior dos eritrócitos HbC em condições de hipoxia. Contudo, estudos recentes apontam para um mecanismo semelhante ao da HbS, que envolva um componente imunológico, com redução da patogenicidade das células infetadas por *P. falciparum* por diminuição da expressão da PfEMP1 [36].

Hemoglobina E

A Hemoglobina E resulta da substituição de um glutamato por uma lisina na vigésima sexta posição da cadeia β . Sabe-se muito pouco sobre os efeitos da HbE na Malária. Esta hemoglobinopatia é característica de populações que estão tradicionalmente expostas à doença, e por isso existe algum conhecimento que correlaciona a prevalência das duas condições [36]. Esta mutação revela uma redução da plasticidade e deformabilidade *in vitro*, prejudicando o crescimento e libertação dos merozoítos. Esta hemoglobinopatia confere proteção contra a malária severa por reduzir a invasão eritrocitária por parte dos merozoítos, diminuir o crescimento parasitário no interior dos eritrócitos, aumentar a fagocitose dos eritrócitos infetados e aumentar a probabilidade de infeção em idade precoce (principalmente por *P. vivax*, o que confere um certo grau de proteção contra futuras infeções graves por *P. falciparum*) [20].

Talassemias

As talassemias estão amplamente distribuídas pelo mundo e constituem alterações na síntese de uma das cadeias de globulina, sendo que a α -Talassemia apresenta uma síntese anormal de α -globulina e a β -talassemia de β -globulina. A diminuição das globulinas conduz a uma redução da produção dos tetrâmeros de hemoglobina [17] (constituído por 2 cadeias α -globulinas e 2 cadeias β -globulinas), responsável por fornecer e transportar oxigênio aos tecidos.

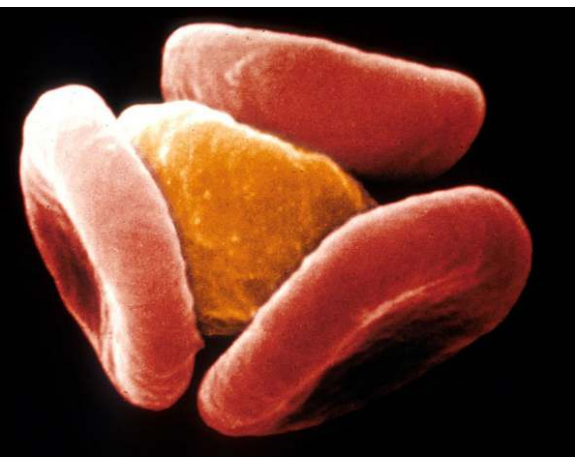
Existe uma forte evidência de que a atual distribuição geográfica das talassemias é explicada pela seleção natural exercida pela Malária; quer a α , quer a β talassemias seguem uma distribuição muito semelhante à da Malária, e, contrariamente a outras alterações da hemoglobina, os defeitos moleculares que se traduzem nas talassemias são extremamente diversos, tendo aumentado separadamente e sido amplificados localmente nas múltiplas populações onde a Malária é endêmica.

α -Talassemias

A α -Talassemia resulta de mutações que afetam um ou os dois genes α -globulina (α^+ -Talassemia ou α^0 -Talassemia, respetivamente) [23]. Existe uma diminuição da síntese de uma das cadeias α -globulinas, que resulta de uma deleção da duplicação dos genes α -globulina do cromossoma 16 (16p13.3). Os heterozigóticos para α^+ perderam um dos dois genes α -globulina ($-\alpha/ \alpha\alpha$) e são clinicamente normais, por outro lado, os homozigóticos ($-\alpha/ -\alpha$) apresentam uma ligeira anemia com níveis reduzidos de hemoglobina nos eritrócitos. As α^0 -Talassemias são letais no estado homozigótico ($-/-$), existindo total ausência de síntese de α -globulina. A maioria dos estudos que aponta para uma ligação entre a α -Talassemia e um estado de proteção contra a Malária, observaram-na na presença das variedades α^+ [20].

A α^+ -Talassemia corresponde à alteração genética mais frequente na população humana e é responsável por um ligeiro estado hemolítico e está associada a um certo grau de eritropoiese ineficaz, sobrevivência eritrocitária reduzida e, com isso, aumento do *turnover* eritrocitário com uma relativa elevada proporção de novos eritrócitos circulantes. Por ser bastante comum nas regiões endêmicas de Malária, considera-se que confere proteção contra a doença causada por formas graves de infeção por *Plasmodium falciparum*.

Estudos *in vitro* mostram que eritrócitos α -talassemicos infetados por *Plasmodium* se ligam a elevados níveis de anticorpos de soros de Malária endêmica (o que poderá melhorar a resposta imunitária).



3

Estes anticorpos podem promover diversos mecanismos anti-parasitários, sendo os mais frequentes a opsonização, a lise mediada por complemento, a citotoxicidade dependente de anticorpos e a inibição da sequestração de eritrócitos infetados. [20]

Investigações mais recentes demonstraram que quer a α -Talassemia, quer os polimorfismos no gene do Recetor de complemento 1 (CR1) que resultam numa diminuição dos níveis de CR1 nos eritrócitos, estão associados à deficiência deste recetor. Os eritrócitos com défice de CR1 mostram uma marcada redução na capacidade de formar rosetas (Figura 3) (marcadores patogénicos das formas de malária severa). Ambos, os polimorfismos CR1 e a α -Talassemia conferem uma proteção independente contra a Malária grave. Contudo os mecanismos desta redução do CR1 na α -Talassemia não são ainda conhecidos [36].

β -Talassemias

A β -Talassemia deve-se à diminuição da síntese de cadeias β -globulina, o que conduz ao um excesso relativo de cadeias α -globulina; podendo existir a ausência total de cadeias β - β^0 -Talassemia – ou a ausência parcial – β^+ -Talassemia. Existem mais de 180 diferentes mutações do gene β -globulina localizado no cromossoma 11 (11p15.5) e a sua alteração leva a danos mecânicos dos percursores de eritrócitos e dos seus produtos, bem como à destruição oxidativa da membrana [20]. Em heterozigotia, associa-se a uma anemia muito ligeira e a alterações da morfologia eritrocitária, causando eritropoiese ineficaz, revelando-se protetora contra os casos de malária potencialmente letal; já na forma homozigótica, está associada a anemia severa durante os segundo e terceiro meses de vida e, na ausência transfusões sanguíneas regulares, conduz à morte nos primeiros dois anos de vida. A severidade da doença parece estar diretamente relacionada com o grau de desequilíbrio entre as cadeias α e β globulina [32].

Vários estudos têm vindo a demonstrar que a β -Talassemia confere proteção contra a Malária. Nos primeiros anos de vida, esta resistência parece envolver uma diminuição mais lenta da produção de Hemoglobina Fetal (HbF). Existe um aumento da fagocitose de eritrócitos β -talassémicos infetados quando comparados com os normais infetados. E, também, uma maior proporção na ligação dos anticorpos do soro de indivíduos de áreas de malária endémica aos eritrócitos β -talassémicos [20].

³Roseta. (Dr. David Ferguson, Oxford)

Malária no Mundo

O ano de 2015 encerrou os Objetivos do Desenvolvimento para o Milénio (ODM), que conduziram ao mais bem-sucedido movimento antipobreza da história mundial. Nos primeiros 15 anos do segundo milénio, a taxa global de incidência da Malária desceu cerca de 37 % e a taxa global de mortalidade cerca de 58 %; tendo sido evitadas 6.2 milhões de mortes associadas à doença, principalmente em crianças com idade inferior a 5 anos na África Subsariana. No final deste período, 98 países onde a Malária é endémica haviam revertido a incidência da doença. Foi, assim, alcançada a sexta meta dos ODM «parar e começar a reduzir a incidência da malária» (Meta 6C) [29].

Contudo, a Malária continua a ser um dos grandes desafios de Saúde Pública. A doença é, ainda, endémica em 97 países e territórios; existem 3.3 mil milhões de pessoas em risco de infeção e corresponde a uma grande proporção dos gastos em saúde nos países mais pobres. Estima-se que em 2015, 15 países representaram 80 % dos casos de Malária e 16 países 78 % das mortes. A carga mundial da mortalidade é dominada pelos países da África Subsariana, com a República Democrática do Congo e a Nigéria a representar mais de 35 % de todas as mortes por Malária do mundo. É mais difícil alcançar tais metas nos países com maior carga da doença; e milhões de pessoas continuam a não ter acesso aos serviços de saúde que necessitam [38].

A par com o desequilíbrio no acesso e capacidade financeira para fazer face à doença, verifica-se um aumento das resistências aos medicamentos antimalários. Contudo, apesar das alterações na sensibilidade, os doentes continuam a responder ao tratamento combinado sempre que se associe um medicamento continue a ser eficaz.

Para combater os desafios pendentes e emergentes, a OMS desenvolveu o *Global Technical Strategy for Malaria 2016-2030*, propondo uma redução da incidência mundial da doença e da mortalidade associada de pelo menos 90 %, eliminar a doença em pelo menos 35 países e prevenir o restabelecimento da Malária em todos os países livres da doença [37], assente em três pilares: garantir o acesso universal à prevenção, diagnóstico e tratamento; aumentar os esforços para eliminar e prevenir a reintrodução da Malária; e transformar a vigilância da doença numa intervenção fundamental.

Contudo, para alcançar tão ambiciosos objetivos é necessário prestar mais atenção ao *P. vivax*, responsável por quase 50 % dos casos de malária fora da África Subsariana a cada ano. Este *Plasmodium* pode permanecer latente durante meses, ou até anos, e o número de parasitas circulantes na corrente sanguínea é tipicamente baixa, levantando dificuldades na sua deteção quando comparado com as demais espécies [37].

Conclusões

Os parasitas que transmitem a Malária têm coexistido e evoluído com o hospedeiro humano durante milhares de anos, o que conduziu à seleção das variantes eritrocitárias que conferiam uma relativa resistência face à infeção.

A diferente distribuição das hemoglobinopatias parece estar relacionada com os diferentes padrões migratórios adotados pelos humanos ao longo dos anos, com a colonização das diferentes áreas do globo, o desenvolvimento da agricultura, pesca e comercialização a levarem à distribuição dos parasitas por diferentes áreas do globo, e com isso à seleção de novas mutações que conferiam proteção à população; sendo possível encontrar diferentes mecanismos de proteção entre as diversas populações afetadas.

O grau de proteção contra a Malária varia consoante as hemoglobinopatias, mas, regra geral, é maior face à Malária grave e moderada para os casos de Malária não complicada.

Grande parte das mutações que conferem proteção contra a Malária ainda não foram profundamente analisadas, sabe-se apenas que apresentam características comuns, como a presença de mutações, sobreposição da distribuição geográfica dos padrões genéticos e da Malária, inibição do crescimento e proliferação parasitária. Contudo, não existem dúvidas face à hipótese proposta por Haldane em 1949, sendo, no entanto necessário promover novas investigações para compreender quais os mecanismos que conduzem a esta proteção, qual o valor destas mutações, não só em termos evolucionários, mas também no que respeita a novas possibilidades preventivas e terapêuticas, para fazer frente ao crescente aumento das resistências aos anti-malários.

Apesar do crescente conhecimento sobre as hemoglobinopatias, a Malária e a sua relação, é crucial não descurar as populações afetadas por estas situações. Por um lado, é certo que as hemoglobinopatias promovem uma relativa proteção contra a doença, por outro, é sabido que constituem, a par com a Malária, um pesado fardo para as populações afetadas, particularmente nos países mais pobres.

Erradicar a Malária só será possível se tornarmos os cuidados de saúde acessíveis e eficazes, particularmente nas populações mais vulneráveis, a quem muitas vezes são negados.



Referências

- [1] AIMONE, Ashley Mariko; PERUMAL, Nandita; COLE, Donald C. A systematic review of the application and utility of geographical information systems for exploring disease-disease relationships in paediatric global health research: the case of anaemia and malaria. *International journal of health geographics*, 2013, 12.1: 1.
- [2] ANGASTINIOTIS, Michael, et al. Prevention and control of haemoglobinopathies. *Bulletin of the World Health Organization*, 1995, 73.3: 375.
- [3] CHOLERA, Rushina, et al. Impaired cytoadherence of Plasmodium falciparum-infected erythrocytes containing sickle hemoglobin. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2008, 105.3: 991-996.
- [4] CRAIG, Alister, et al. Genetics and malaria – more questions than answers. *Trends in parasitology*, 2001, 17.2: 55-56.
- [5] CYRKLAFF, Marek, et al. Host actin remodeling and protection from malaria by hemoglobinopathies. *Trends in parasitology*, 2012, 28.11: 479-485.
- [6] DRISS, Adel, et al. Genetic polymorphisms linked to susceptibility to malaria. *Malaria journal*, 2011, 10.1: 1.
- [7] ELGUERO, Eric, et al. Malaria continues to select for sickle cell trait in Central Africa. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2015, 112.22: 7051-7054.
- [8] ENEVOLD, Anders, et al. Potential impact of host immunity on malaria treatment outcome in Tanzanian children infected with Plasmodium falciparum. *Malaria journal*, 2007, 6.1: 153.

- [9] FLINT, Jonathan, et al. 1 The population genetics of the haemoglobinopathies. *Baillière's clinical haematology*, 1998, 11.1: 1-51.
- [10] FORD, Jason. Red blood cell morphology. *International journal of laboratory hematology*, 2013, 35.3: 351-357.
- [11] GALINSKI, Mary R.; BARNWELL, John W. Plasmodium vivax: who cares?. *Malaria Journal*, 2008, 7.1: 1.
- [12] GONÇALVES, Bronner P.; GUPTA, Sunetra; PENMAN, Bridget S. Sickle haemoglobin, haemoglobin C and malaria mortality feedbacks. *Malaria journal*, 2016, 15.1: 1.
- [13] HANCHARD, Neil, et al. Classical sickle beta-globin haplotypes exhibit a high degree of long-range haplotype similarity in African and Afro-Caribbean populations. *BMC genetics*, 2007, 8.1: 52.
- [14] HARTEVELD, Cornelis L.; HIGGS, Douglas R. α -Thalassaemia. *Orphanet journal of rare diseases*, 2010, 5.1: 1.
- [15] HILL, A. V. S. Haemoglobinopathies and malaria: new approaches to an old hypothesis. *Parasitology Today*, 1987, 3.3: 83-85.
- [16] KAI, Oscar K.; ROBERTS, David J. The pathophysiology of malarial anaemia: where have all the red cells gone?. *BMC medicine*, 2008, 6.1: 24.
- [17] KASPER, D.; FAUCI, A.; HAUSER, S.; LONGO, D.; JAMESON, J.; LOSCALZO, J. Harrison's Principles of Internal Medicine 19E. *Mc Graw Hill Education*, 2015
- [18] KUESAP, Jiraporn, et al. Coexistence of Malaria and Thalassemia in Malaria Endemic Areas of Thailand. *The Korean journal of parasitology*, 2015, 53.3: 265.
- [19] LELLIOTT, Patrick M., et al. The influence of host genetics on erythrocytes and malaria infection: is there therapeutic potential?. *Malaria journal*, 2015, 14.1: 1-15.
- [20] LÓPEZ, Carolina, et al. Mechanisms of genetically-based resistance to malaria. *Gene*, 2010, 467.1: 1-12.
- [21] MMBANDO, Bruno P., et al. Negative Epistasis between Sickle and Foetal Haemoglobin Suggests a Reduction in Protection against Malaria. *PloS one*, 2015, 10.5.
- [22] MOHANDAS, Narla; AN, Xiuli. Malaria and human red blood cells. *Medical microbiology and immunology*, 2012, 201.4: 593-598.
- [23] OLD, J. M. Screening and genetic diagnosis of haemoglobin disorders. *Blood Reviews*, 2003, 17.1: 43-53.
- [24] PIEL, Frédéric B., et al. Global distribution of the sickle cell gene and geographical confirmation of the malaria hypothesis. *Nature communications*, 2010, 1: 104.

- [25] SINISCALCO, M., et al. Population genetics of haemoglobin variants, thalassaemia and glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency, with particular reference to the malaria hypothesis. *Bulletin of the World Health Organization*, 1966, 34.3: 379.
- [26] SNOUNOU, G.; JARRA, W.; PREISER, P. R. Malaria multigene families: the price of chronicity. *Parasitology today*, 2000, 16.1: 28-30.
- [27] TAYLOR, Steve M.; PAROBK, Christian M.; FAIRHURST, Rick M. Haemoglobinopathies and the clinical epidemiology of malaria: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet infectious diseases*, 2012, 12.6: 457-468.
- [28] THE GLOBAL FUND TO FIGHT AIDS, TUBERCULOSIS AND MALARIA. Results Report 2015. *Geneva: The Global Fund*, 2015
- [29] UNITED NATIONS. DEPARTMENT OF ECONOMIC; UNITED NATIONS. DEPARTMENT OF PUBLIC INFORMATION. The millennium development goals report 2015. *United Nations Publications*, 2015.
- [30] WEATHERALL, D. J., et al. The population genetics and dynamics of the thalassemiias. *Hematology/oncology clinics of North America*, 2010, 24.6: 1021-1031.
- [31] WEATHERALL, D. J.; CLEGG, J. B. Inherited haemoglobin disorders: an increasing global health problem. *Bulletin of the World Health Organization*, 2001, 79.8: 704-712.
- [32] WEATHERALL, D. J.; PROVAN, A. B. Red cells I: inherited anaemias. *The Lancet*, 2000, 355.9210: 1169-1175.
- [33] WEATHERALL, David J. Hemoglobinopathies worldwide: present and future. *Current molecular medicine*, 2008, 8.7: 592-599.
- [34] WEATHERALL, David J. The challenge of haemoglobinopathies in resource poor countries. *British journal of haematology*, 2011, 154.6: 736-744.
- [35] WEATHERALL, David J. The inherited diseases of hemoglobin are an emerging global health burden. *Blood*, 2010, 115.22: 4331-4336.
- [36] WILLIAMS, Thomas N.; WEATHERALL, David J. World distribution, population genetics, and health burden of the hemoglobinopathies. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 2012, 2.9: a011692.
- [37] WORLD HEALTH ORGANIZATION, et al. Eliminating Malaria. *Geneva: WHO*, 2016.
- [38] WORLD HEALTH ORGANIZATION, et al. World malaria report 2015. *Geneva: WHO*, 2015.
- [39] YUTHAVONG, Y.; WILAIRAT, P. Protection against malaria by thalassaemia and haemoglobin variants. *Parasitology today*, 1993, 9.7: 241-245.



Página 1: Ulumbi, Quênia, 2014. *UNICEF*

Página 13: Campo de Refugiados de Dadaab, Quênia, Julho de 2011. *UNHCR*

Página 16: Burquina Faso, 2014. *Jessica Dimmock, MSF*