

CAPÍTULO II

Biomarcadores en malaria complicada

Nubia Catalina Tovar Acero*

<https://orcid.org/0000-0001-9964-6351>

Maria Fernanda Yasnot Acosta**

<https://orcid.org/0000-0001-8081-4212>

***Abstract.** Biomarkers can be found in different biological fluids such as serum, plasma, urine, cells or biological products in the form of metabolites, cytokines or genetic markers. While biomarkers have been used to diagnose and predict the evolution and outcomes of chronic diseases, malaria research can make an identification of the active form of biomarkers that can accurately discriminate the forms of malaria and particular malaria cerebral malaria. Such biomarkers, once identified, validated and integrated into rapid diagnostic tests, can allow the accurate and early identification of patients with cerebral malaria and their subsequent referral to third level health institutions for immediate intervention. Recent clinical studies, have identified serological factors that have potential to be biomarkers, these can be based on their function and their use in the stages of malaria, in biomarkers of diagnosis and early detection and prognostic biomarkers. This chapter*

* Universidad Del Sinú
Montería, Colombia
✉ ncatalinatv@gmail.com

** Universidad de Córdoba
Montería, Colombia
✉ myasnot@correo.unicordoba.edu.co

Cita este capítulo

Tovar Acero NC, Yasnot Acosta MF. Biomarcadores en malaria complicada. En: Vera Lizcano O, editora científica. *Plasmodium, Trypanosoma y Salmonella: Marcadores moleculares*. Cali, Colombia: Editorial Universidad Santiago de Cali; 2020. p. 61-100.

describes in a general way the most studied biomarkers involved in the prognosis of the severity of malaria in the different vulnerable groups, especially children, pregnant women, travelers, and cerebral malaria

Resumen. Los biomarcadores se pueden encontrar en diferentes fluidos biológicos como suero, plasma, orina, células o pueden ser productos biológicos en forma de metabolitos, citoquinas o marcadores genéticos. Mientras los biomarcadores se han utilizado para diagnosticar y/o pronosticar la evolución y resultados de muchas enfermedades crónicas, investigaciones recientes en la malaria han tomado interés hacia la identificación activa de biomarcadores que pueden discriminar con precisión las formas complicadas de la enfermedad. Una vez identificado un biomarcador, debe ser validado e integrado en las pruebas de diagnóstico al alcance de los médicos. Recientes estudios clínicos han identificado algunas moléculas que hacen parte de la respuesta inmunológica o derivada del metabolismo del hospedero con potencial para ser biomarcadores, éstos se clasifican con base en su función y uso en las etapas de la malaria, en biomarcador de diagnóstico y detección temprana, o biomarcador de pronóstico. Este capítulo describe de manera general los biomarcadores más estudiados con potencial para pronosticar las complicaciones de la malaria en los diferentes grupos vulnerables, especialmente niños, mujeres embarazadas, viajeros y en malaria cerebral.

Palabras clave: Biomarcadores, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium falciparum*, malaria complicada, malaria cerebral, citoquinas.

Introducción

La malaria es la enfermedad tropical más importante en el mundo, tiene una amplia distribución geográfica, afecta a más de 250 millones de personas y causa aproximadamente 400.000 muertes al año; constituyendo una significativa carga para la salud pública, especialmente para los países en desarrollo [1].

Actualmente, las estrategias para el control de la malaria contemplan el desarrollo de herramientas de diagnóstico con mejor sensibilidad,

tratamientos antimaláricos más efectivos y campañas de promoción en la comunidad orientadas principalmente al uso de mosquiteros, insecticidas y control de la densidad vectorial. Pese a los grandes esfuerzos que realizan los países endémicos, pocos han logrado establecer estrategias de control efectivas y duraderas que guíen al camino de eliminación de la malaria [2], por lo cual, la investigación y desarrollo de nuevas herramientas que aporten al control o conocimiento de la patogénesis de la enfermedad sigue siendo imperativo.

La malaria es una enfermedad multifactorial donde interactúan componentes asociados al hospedero, al parásito, factores entomológicos y ambientales; es causada por parásitos del género *Plasmodium* y transmitida a través de la picadura de mosquitos del género *Anopheles*. La interacción entre el parásito y el hospedero desencadena complejas respuestas celulares y moleculares, resultando en diferentes desenlaces clínicos (malaria asintomática, no complicada o complicada). En la malaria complicada se pueden presentar alteraciones hematológicas marcadas, disfunciones pulmonares, renales, hepáticas, cerebrales y metabólicas entre otros, comprometiendo la vida del paciente. Los parámetros bioquímicos, hematológicos y clínicos pueden orientar sobre el grado de compromiso del paciente, pero carecen de la cualidad para pronosticar si el paciente desarrollará una malaria complicada o no. Por esta razón, en los últimos años ha cobrado importancia el estudio de moléculas biológicas con la capacidad de pronosticar los desenlaces clínicos de una enfermedad, denominadas biomarcadores; su definición contempla una sustancia o característica que puede ser medida y evaluada objetivamente como un indicador de procesos biológicos normales, procesos patológicos o como respuesta a una intervención terapéutica [3].

Las investigaciones en malaria se han centrado en la identificación de biomarcadores como predictores confiables de exposición, de susceptibilidad a la infección y de pronóstico de complicaciones. Aunque la mayoría de los biomarcadores prometedores se basan en la comprensión actual de la inmunopatogenia de la enfermedad, algunos se centran más ampliamente en los mecanismos de daño tisular e inflamación. En conjunto, estos biomarcadores pueden ayudar a optimizar las estrategias terapéuticas y reducir la carga de la enfermedad [2].

Este capítulo describe, de manera general, estudios encaminados en la identificación de biomarcadores como pronóstico de complicaciones en malaria, especialmente citoquinas, quemoquinas y moléculas de adhesión endotelial que se encuentran alteradas en el curso de la enfermedad, y que pueden contribuir a predecir los diferentes desenlaces clínicos.

Malaria complicada

Epidemiología y generalidades de la malaria complicada

La malaria complicada es un problema de interés en salud pública para los países en vía de desarrollo, con una incidencia anual de 2 millones de casos en el mundo, generando altos costos para el sistema de salud [4, 5]. De acuerdo con la OMS la malaria complicada es una emergencia médica que puede manifestarse en cualquiera de las siguientes formas: malaria cerebral, acidosis metabólica, anemia severa, hipoglicemia, falla aguda renal y/o edema pulmonar agudo. Las principales complicaciones de la población infantil de África son malaria cerebral en el 4% de los casos y el 17% anemia severa; sin embargo, en los últimos años se reporta un aumento en el número de casos de malaria cerebral en este Continente [6, 7]. Hasta hace algunos años la malaria complicada era atribuida exclusivamente a *P. falciparum*, pero en la última década han aumentado los reportes de número de casos graves atribuidos a *P. vivax*, y en menor proporción a *P. knowlesi* [8]. Las principales complicaciones relacionadas con la infección por *P. vivax* son trombocitopenia, anemia severa, malaria cerebral, y daño a nivel hepático, renal y pulmonar [9, 10].

La malaria complicada es diagnosticada bajo la evidencia de alteraciones clínicas o de laboratorio que expongan una disfunción orgánica vital (Tablas 1 y 2), durante una infección plasmodial comprobada [11]; los parámetros para definir estas alteraciones se realizaron principalmente con base en estudios realizados en población de África, y frente a infecciones por *P. falciparum*; por lo cual, algunos autores han sugerido que los criterios de severidad establecidos por la OMS, requieren un reajuste basado en el contexto epidemiológico de la enfermedad, evaluación de parámetros versus severidad y especie plasmodial [12].

En la patogenia de la malaria complicada por *P. falciparum* se han estudiado ampliamente los mecanismos implicados en la malaria cerebral y la anemia grave, síndromes que pueden explicarse a partir de dos mecanismos fundamentales: la obstrucción vascular causada por glóbulos rojos parasitados y la destrucción de eritrocitos; la interacción entre los eritrocitos parasitados y el endotelio conlleva a un proceso de activación y estrés endotelial que amplifica la respuesta inflamatoria. Estos y otros mecanismos que intervienen de manera específica en diversos sitios anatómicos, contribuyen al desarrollo de las complicaciones clínicas al lesionar intensamente órganos como el cerebro, el pulmón, el riñón y el hígado, y conducen a un compromiso multisistémico cuya alteración fundamental es la acidosis metabólica [2, 9].

En el caso de *P. vivax* no se conocen claramente los mecanismos fisiopatológicos que producen las diversas manifestaciones clínicas graves, se cree que se encuentran estrechamente asociadas con la respuesta inmunitaria del huésped, mediada por la activación de la respuesta proinflamatoria y el desequilibrio en la producción de citoquinas las cuales son responsables del proceso fisiopatológico que desencadena disfunción endotelial y secuestro, generando obstrucción del flujo microvascular y deterioro progresivo de los procesos metabólicos celulares [4]. Los principales reportes de manifestaciones clínicas de la malaria grave causada por *P. vivax* incluye condiciones neurológicas, especialmente coma o sucesivas convulsiones y alteración de la conciencia; condiciones hematológicas, en particular anemia grave (Hb <5 mg / dL), trombocitopenia severa (<50.000 plaquetas/uL), y hemoglobinuria; síntomas sistémicos como el colapso circulatorio, daño vital de órganos, incluyendo la disfunción respiratoria y síndrome de dificultad respiratoria aguda, falla renal aguda, ruptura esplénica, disfunción hepática e ictericia [13].

La fisiopatología de malaria grave por *P. knowlesi* es menos conocida, y se sugiere que la hiperparasitemia, el secuestro y la adhesión endotelial de glóbulos rojos parasitados están involucrados en este comportamiento clínico, sin embargo, esto requiere estudios más detallados [14].

Tabla 1. Criterios de clasificación de malaria complicada por *P. falciparum*

Clasificación de malaria complicada por *P. falciparum*

- Alteración de la conciencia: escala de coma de Glasgow menor a 11 para adultos o escala de coma Blantyre menor de 3 para niños.
- Postración: debilidad generalizada que le impide a una persona sentarse, pararse o caminar sin asistencia.
- Convulsiones múltiples: más de dos episodios en 24 horas.
- Acidosis: un déficit de base > 8 mEq/L o, si este parámetro no es viable, nivel plasmático de bicarbonato < 15 mmol/L o lactato > 5 mmol/l. Acidosis metabólica manifiesta como distrés respiratorio (Respiración profunda, dificultad respiratoria).
- Hipoglicemia (glucosa en sangre < 40 mg/dL).
- Anemia severa: concentración de hemoglobina ≤ 5 g/dL o un hematocrito $\leq 15\%$ en niños $<$ de 12 años (< 7 g/dL y $< 20\%$ respectivamente en adultos) con un conteo de parásitos $> 10.000/\mu\text{L}$.
- Falla renal: creatinina sérica > 3 mg/dL, con un conteo de parásitos $> 100.000/\mu\text{L}$.
- Edema pulmonar: radiológicamente confirmado o saturación de oxígeno $< 92\%$ con el aire del ambiente con una tasa respiratoria > 30 /minutos, a menudo con tiraje en el pecho y crepitaciones en la auscultación.
- Sangrado significativo: incluye sangrado recurrente o prolongado de la nariz, encías o sitios de venopunción, hematemesis o melenas.
- Choque: choque compensado se define como relleno capilar ≥ 3 segundos o gradiente de temperatura en la pierna (extremidad media a proximal), pero no hipotensión. El shock de descompensación se define como presión arterial sistólica en niños de < 70 mm Hg y < 80 mm Hg en adultos, con evidencia de perfusión alterada (extremidades frías o llenado capilar prolongado).
- Hiperparasitemia: densidad de parásitos $> 4\%$ ($\sim 200.000/\mu\text{L}$). En pacientes con *P. falciparum* densidades $> 10\%$ de glóbulos rojos parasitados.

Tomado de: *Guidelines for the treatment of malaria. 3RD Edition* [15].

Tabla 2. Criterios de clasificación de malaria complicada por *P. vivax* y *P. knowlesi*

Clasificación de malaria complicada por *P. vivax* y *P. knowlesi*

- La malaria severa por *P. vivax* se define bajo los mismos parámetros de malaria severa por *P. falciparum*, pero con niveles de parasitemia diferentes.
 - La malaria severa por *P. knowlesi* se define bajo los mismos parámetros de malaria severa por *P. falciparum*, pero con dos diferencias.
 - *P. knowlesi* hiperparasitemia: densidad de parásitos > 100.000/ μ L.
 - Presencia de ictericia y densidad parasitaria > 20.000/ μ L.
-

Tomado de: *Guidelines for the treatment of malaria. 3RD Edition* [15].

Respuesta inmune de citoquinas en la malaria

La respuesta inmunológica que se desencadena frente a una infección por *Plasmodium* es el resultado de una interacción multifactorial y que parte de su complejidad depende de las diferentes formas del parásito dentro del hospedero (esporozoíto, esquizonte, hipnozoíto, merozoíto, trofozoíto y gametocito), la alta variación antigénica y el estado inmunológico de hospedero [16].

La respuesta inmune frente a *Plasmodium* comienza en una fase temprana de la infección por el reconocimiento de patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs del inglés *Pathogen-Associated Molecular Patterns*) y patrones moleculares asociados al daño (DAMPs del Inglés *Damage-Associated Molecular Patterns*) como la hemozoína, el glicofosfatidil inositol, ADN o RNA del parásito y son reconocidos por receptores tipo Toll (TLRs del inglés *Toll-like receptor*) o receptores de manosa presentes en macrófagos, células dendríticas, células asesinas (NK del inglés Natural killer) y NKT (Natural Killer T) que secretan citoquinas proinflamatorias tipo TNF, IL-1 β e IFN tipo I, entre otras [16-18].

Por otro lado, los esporozoítos depositados por el vector en la dermis del hospedero, pueden desplazarse por circulación hacia células hepáticas,

mientras que otros son arrastrados hacia los ganglios linfáticos más próximos donde pueden ser degradados por células dendríticas (DCs del inglés *Dendritic cells*) residentes, lo que contribuye a la activación de linfocitos T CD8⁺ y T CD4⁺ y la consecuente liberación de citoquinas proinflamatorias [19, 20].

La trans migración celular de los esporozoítos por la estructura celular hepática (espacio sinusoidal, hepatocitos y células de Kupffer) permite la interacción entre proteoglicanos de heparán sulfato (HSPGs, del inglés *heparan sulfate proteoglycans*) y la proteína circunsporozoíto (CSP del inglés *circumsporozoite protein*) del parásito, contribuyendo a la remoción de algunos parásitos por este tipo de células [21, 22]. Durante la invasión a los hepatocitos, el parásito induce la expresión de genes que codifican para IFN tipo I, mecanismo que atrae células NK y NKT, que secretan IFN γ , óxido nítrico y otros componentes tóxicos que contribuyen a la eliminación del parásito [23].

La respuesta inmune frente a los estadios sanguíneos del parásito implica mecanismos de la respuesta inmune adaptativa humoral y celular. Evidencias experimentales indican que los glóbulos rojos infectados son reconocidos por células dendríticas esplénicas, que realizan presentación a linfocitos CD4⁺, con la posterior liberación de IL-12, IFN- γ , TNF, IL-21. IFN y TNF están involucrados en la inducción de la producción de especies reactivas de nitrógeno y del oxígeno contribuyendo a la reducción de la parasitemia; adicionalmente, el IFN- γ lidera otras funciones como la activación de macrófagos y células dendríticas, producción de IL-12 que favorece la diferenciación de la subpoblación Th1 y el cambio de isotipo en los linfocitos B conllevando a su activación [24]. El IFN- γ puede ser secretado por otras células del sistema inmunológico entre ellas NK, que estimulan la acción efectora de CD4⁺ y la subpoblación Th1, la subsecuente producción de IFN- γ e IL-2 entre otras citoquinas [17]. La liberación de citoquinas por las células efectoras resulta en una cascada de reacciones sinérgicas entre la respuesta humoral y celular ampliando la respuesta inmune para controlar el proceso infeccioso [25, 26].

Biomarcadores

Como se mencionó anteriormente un biomarcador es una sustancia o característica que puede ser medida y evaluada objetivamente como un indicador de procesos biológicos normales, procesos patológicos o como respuesta a una intervención terapéutica [3]; estos pueden ser utilizados para: 1) hacer diagnóstico de una enfermedad, 2) identificar el riesgo de padecer una enfermedad, 3) clasificar a los pacientes en función de la gravedad de la enfermedad, 4) proporcionar alguna orientación en el tratamiento y en el manejo de una enfermedad y, finalmente, 5) identificar el riesgo de complicación a largo plazo de los pacientes después de la manifestación de una enfermedad en particular. Los biomarcadores se pueden encontrar en diferentes fluidos biológicos tales como suero, plasma, orina, células o pueden ser productos biológicos en forma de metabolitos, citoquinas o marcadores genéticos [27]; su identificación se ha vuelto valiosa para el diagnóstico y el pronóstico de muchas enfermedades crónicas como el cáncer, la diabetes, las enfermedades autoinmunes y el VIH / SIDA; sin embargo, el uso de biomarcadores en enfermedades infecciosas es limitado [28, 29].

Recientes estudios clínicos han identificado factores serológicos que tienen el potencial de ser biomarcadores, estos pueden ser clasificados con base en su función y su uso en las etapas de la enfermedad en: biomarcadores de diagnóstico y detección temprana y biomarcadores de pronóstico [30]. Los biomarcadores utilizados para la detección temprana o diagnóstico se utilizan como un indicador de un factor biológico que representa una manifestación subclínica, la etapa de la enfermedad, o una manifestación de la enfermedad; estos permiten la identificación de los individuos que pueden ser afectados o no por una enfermedad, o que se encuentran en una etapa preclínica, mientras que los biomarcadores como pronóstico son aquellos que orientan acerca del curso clínico de una enfermedad ya diagnosticada en el individuo [31].

Ante la necesidad e importancia de la prevención de las complicaciones de las enfermedades infecciosas, especialmente en áreas endémicas con alta tasa de morbi-mortalidad, en la última

década se han incrementado los estudios enfocados en la búsqueda de biomarcadores que ayuden en el pronóstico de complicaciones. Las investigaciones sobre la patogénesis de las diferentes enfermedades infecciosas, involucra el estudio de la progresión de la enfermedad en el huésped; se ha evidenciado que la disregulación de la respuesta inflamatoria y la activación endotelial son los procesos centrales en la patogénesis que están relacionados con las manifestaciones complicadas observadas en algunas etiologías infecciosas y que la cuantificación plasmática de moléculas asociadas puede pronosticar esos efectos clínicos; debido a que las concentraciones plasmáticas de algunas moléculas son diferentes (aumentan o disminuyen) entre los pacientes enfermos sin complicaciones y los pacientes con complicaciones [32, 9], estas cuantificaciones de la mano de parámetros de laboratorio o hallazgos clínicos pueden constituir una gran herramienta para el diagnóstico y pronóstico clínico [33]. En la Tabla 3 se mencionan moléculas que han sido postuladas como candidatas a biomarcadores de complicación en tres enfermedades infecciosas, por su cualidad de expresarse diferencialmente de los pacientes que no padecen una enfermedad complicada.

Tabla 3. Moléculas candidatas a biomarcadores pronóstico de complicaciones en enfermedades infecciosas

Enfermedad	Biomarcador	Referencias
Sepsis y shock séptico	proteína C reactiva, procalcitonina, ICAM-1, TNF, IL - 8 y la Caspasa 3	[34].
Dengue	IL-7, IL-8, IL-10, TGF-b, VEGFR2 y ANG-2	[35, 36].
Leptospirosis	IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α e IL-12	[37, 38]6), [38].

Biomarcadores pronóstico en malaria complicada

Se estima que aproximadamente el 58% de los casos de malaria por *P. falciparum* se asocian con cuadros complicados, como malaria cerebral, daño renal, anemia severa y daño hepático, y que aproximadamente el 32% de estas personas fallecen, principalmente en África y la India [39]. En Latinoamérica, donde *P. vivax* es la especie predominante, se reportan con mayor frecuencia cuadros complicados, como distrés respiratorio, insuficiencia renal, hepática y alteraciones hematológicas como la anemia y, más frecuentemente, la trombocitopenia severa la cual ha sido reportada en aproximadamente el 20% de los pacientes (< 50.000 plaquetas/mm³), pese a que no en todos los casos se relacionan con desordenes de coagulación [9, 40].

Los mecanismos fisiológicos involucrados en las diversas manifestaciones clínicas de la malaria complicada no son claros para ninguna de las especies; se cree que se encuentran estrechamente asociadas con la respuesta inmunológica que el hospedero desencadena frente al cuadro infeccioso [41]. Inmunológicamente, el curso de la infección por las especies del género *Plasmodium* depende del equilibrio en la producción de citoquinas proinflamatorias y antiinflamatorias. Un número importante de publicaciones científicas describe el papel de las citoquinas como parte de la respuesta inmune durante la infección por malaria, siendo controversial su relación con las manifestaciones clínicas; sin embargo, la respuesta inflamatoria puede conducir a daño tisular y favorecer la activación de macrófagos con el fin de eliminar los parásitos circulantes. Es conocido que las citoquinas pro-inflamatorias son necesarias para la inhibición del crecimiento del parásito y la estimulación de la fagocitosis para eliminar eritrocitos parasitados [42]; sin embargo, el aumento en la concentración de citoquinas inflamatorias, como el interferón gamma (IFN- γ), factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) y la interleucina (IL-6) [9], ha sido asociada con cuadros clínicos de malaria complicada, principalmente malaria cerebral. Diferentes estudios evidencian un aumento del IFN- γ en pacientes con malaria cerebral o anemia severa, concordante con hallazgos en modelos de ratones [26, 43, 44]. La producción temprana de IFN- γ puede proporcionar resistencia contra la infección y la protección de los episodios clínicos complicados [45], sin embargo, otras citoqui-

nas pro-inflamatorias tales como la interleuquina (IL) -12, y el factor de necrosis tumoral (TNF) también han demostrado ser mediadores esenciales en esta protección [46].

Investigaciones realizadas en África, Asia, India y Brasil involucran la cuantificación plasmática de moléculas como IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-13, IL-17^A, IL-18, Galectin-9, IFN- α 2, TNF, IFN- γ , IL-1Ra, sCD40L, G-CSF, GM-CSF, EGF, FGF-2, VEGF, TGF- α , IP-10, MIP-1 α , MIP-1 β , Ang-1, Ang-2, y MCP-1, Eotaxin, RANTES, TGF- β y Foxp3, en grupos de individuos con diferentes presentaciones clínicas de la malaria por *P. falciparum*; dentro de los hallazgos con un número mayor de evidencias se encuentra el IFN- γ , TNF- α y Ang-2 cuyos niveles plasmáticos son mayores en personas con malaria complicada en comparación con pacientes con malaria no complicada o controles sanos. En infecciones por *P. vivax* el número de investigaciones con este tipo de población es menor, algunos estudios realizados en Brasil, Tailandia y Pakistan han comparado poblaciones con diferentes cursos clínicos de la enfermedad; siendo TNF α , IFN- γ IL-10 las moléculas que han tenido diferencias significativas entre los grupos de estudio [46].

La IL-10 es requerida para la protección frente a la malaria y tiene un importante papel como inmunorregulador de la infección causada por *Plasmodium* debido a que neutraliza el efecto de citoquinas que son producidas por los linfocitos T CD8⁺. Existe una variedad de información en cuanto a la concentración plasmática o sérica de IL-10; en modelos experimentales de ratones con malaria se documenta que la concentración elevada de esta citoquina tiene un papel protector contra la malaria cerebral; por otra parte en estudios en población africana evidencian que el aumento de esta citoquina puede prevenir cuadros de anemia severa [47], no obstante, concentraciones elevadas de esa citoquina ha sido documentada en pacientes con malaria cerebral [48]; adicionalmente la concentración plasmática puede verse influenciada por la especie del parásito evidenciando mayores concentraciones de esta citoquina en *P. vivax*, con respecto a otras especies [46]. Una comparación entre los individuos asintomáticos y aquellos con malaria complicada mostró que la proporción de TNF, y también el balance entre IFN- γ / IL-

10, se incrementaron y mostraron una tendencia lineal con aumento gradual de la gravedad de la enfermedad; mientras que los niveles de IL-10 se encontraron elevados en individuos asintomáticos [9].

Un estudio realizado en una zona endémica para malaria en Brasil, donde se caracterizó secuencialmente las alteraciones en los patrones hematológicos y los niveles circulantes de citoquinas en plasma de pacientes infectados con *P. vivax* o *P. falciparum* mostró que durante la fase aguda se observó trombocitopenia, eosinopenia, linfopenia y un aumento significativo de IL6, IL-8, IL-17, IFN- γ , TNF α , e IL1 β , mientras que durante la fase de convalecencia, los parámetros hematológicos volvieron a la normalidad y aunque la citoquina IL-10 se detectó a altas concentraciones durante la fase aguda, volvió a niveles normales durante la fase de convalecencia. La concentración plasmática de IL-10 se correlacionó positivamente con la parasitemia en los pacientes infectados con *P. vivax* y *P. falciparum*. Lo mismo ocurrió con la concentración de TNF- α en pacientes infectados con *P. falciparum* [49].

En términos generales la malaria complicada se ha asociado con altos niveles circulantes de citoquinas tales como el factor de necrosis tumoral (TNF)- α , interleucina (IL)-1 e IL-6. Los estudios han demostrado un vínculo entre el TNF- α , IL-6, IL-10 y la gravedad de la enfermedad en la malaria humana. Otro número importante de citoquinas también se ha asociado con la enfermedad grave, en particular, IL-1 β , IL-2, IL-6, el interferón (IFN) - γ , TNF- α , IL-4), IL-10 y macrófagos de proteínas inflamatorias (MIP-1 β), mientras que los niveles bajos de citoquinas reguladoras, tales como TGF- β y IL-10, se han correlacionado con malaria aguda [49].

La reducción de la morbilidad y la mortalidad de la malaria sigue siendo un desafío esencial en áreas donde la malaria es la principal causa de complicaciones y de muerte. En este sentido, las herramientas de diagnóstico que ayudan a superar este problema son escasas y el diagnóstico se basa principalmente en observaciones clínicas que pueden conducir a prescripciones de tratamiento incorrectas [52]. El uso de un enfoque integral para explorar la relación entre grupos de moléculas

que pueden estar relacionados con la gravedad de las manifestaciones de la enfermedad, puede contribuir a una mejor comprensión de los patrones de susceptibilidad a la gravedad de la enfermedad, tolerancia a la misma e incluso aportan al conocimiento de la inmunopatogenia de esta parasitosis [2].

Por lo tanto, la búsqueda de biomarcadores altamente específicos deben priorizarse para facilitar el diagnóstico. Sin embargo, los marcadores menos específicos, como los que indican el estado inflamatorio, también son extremadamente importantes a la luz de su alta sensibilidad para predecir la gravedad de la enfermedad [9]. La intensa investigación centrada en la inmunopatogenia de la malaria grave contribuirá a la identificación de biomarcadores pronóstico útiles y específicos para casos de malaria complicada.

En la Tabla 4, se muestran de manera resumida, estudios dirigidos a la identificación de moléculas derivadas de la respuesta inmune en pacientes con malaria no complicada y complicada, en diferentes localidades en el mundo y grupos poblacionales (niños, adultos y mujeres embarazadas). La mayoría de las moléculas corresponden a citoquinas proinflamatorias, antiinflamatorias y quemoquinas, de las cuales las concentraciones plasmáticas de IFN γ , TNF α , IL-10, CXCL10 (IP-10) e IL-6 expresan valores diferentes dependiendo de la clínica del paciente. Sin embargo, las concentraciones reportadas para las moléculas varían entre estudios, complicando la estimación de un punto de corte, a partir del cual se pueda hacer una pronóstico de complicación. En la Tabla 3 se listan las investigaciones que contemplan la cuantificación de moléculas que hacen parte de la respuesta inmune, cuya población de estudio tiene grupos de individuos dependiendo de su evolución clínica y en algunos se incluyen poblaciones controles.

Más del 80% de las investigaciones citadas fueron realizadas en África o Asia en personas que padecen malaria por *P. falciparum*; solo un grupo mínimo ha realizado investigaciones en malaria por *P. vivax*, y es más escaso el número de publicaciones realizadas en Latinoamérica al respecto.

Tabla 4. Estudios realizados en diferentes países evaluando moléculas como potenciales biomarcadores en pacientes con malaria complicada.

Moléculas estudiada	Localidad	Población estudio	Especie de parásito	Autor/a ño publicac ión
IL-6, IL-10, IL-17, MCP-1/CCCL2, RANTES/CCCL5 and IP-10/IP-10/CXCL10	Porto Velho, Rondônia, y Belo Horizonte, Minas Gerais, Adultos	Controles sanos (n = 15), controles área endémica (n = 10), malaria no complicada por <i>P. vivax</i> (n = 75), <i>P. vivax</i> tratados (n = 10)	<i>P. v</i>	Hojo-So uza et al. 2017 [53]
IL-6, IL-10 and IL-4, IFN- γ , TNF- α , IL-13, IL-17, IL-22, IL-21 y IL-12p40.	Gabón, África. Niños	Malaria no complicada (n= 21), malaria moderada (n= 85) complicada y controles sanos (n= 15)	<i>P. f</i>	Oyegue et al. 2017 [54]
IL-17, IFN- γ , caracterización de poblaciones de CD4+ T a través de citoquinas	Siaya, Kenya. Niños	Malaria complicada con anemia severa (n=39), malaria no complicada con anemia (n=50)	<i>P. f</i>	Raballah et al. 2017 [55]
IFN- γ , TNF- α , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, and IL-12p70	Malawi, África. Niños	Malaria cerebral (n=29), malaria complicada con anemia (n=30), y controles sanos (n=42)	<i>P. f</i>	Mandala et al. 2017 [56]

Moléculas estudiada	Localidad	Población estudio	Especie de parásito	Autor/a ño publicación
RANTES, CD14, CCR5, CD40	Assam, India. Adultos	Malaria complicada (n=25), malaria no complicada (n=128),	<i>P. f</i>	Bujarbaruah et al. 2017 [57]
Polimorfismos de TNF	Nigeria. Niños	Malaria complicada (n=45), malaria no complicada (n=283), malaria asintomática (n=244)	<i>P. f</i>	Olaniyan et al. 2016 [58]
Galectin-9, IFN- α 2, IL-1 α , TNF, IL-6, IFN- γ , IL-10, IL-1Ra, sCD40L, G-CSF, GM-CSF, EGF, FGF-2, VEGF, TGF- α , IP-10, MIP-1 α , MIP-1 β , MCP-1, IL-8, Eotaxin, GRO, ractalkine, MDC	?	Malaria complicada (n=9), malaria no complicada (n=41)	<i>P. f</i>	Dembele et al. 2016 [59]
TNF- α , IL-6, and IL-10	Dakar, Senegal. Niños	Malaria no complicada (n=72), malaria complicada (n=110)	<i>P. f</i>	Mbengue B et al. 2016 [60]
PfHRP2, Ang2, y ADAM17	Tanzania. Niños	Malaria no complicada (n=39), malaria complicada (123), malaria no hospitalizados (n=32), convalecientes de malaria complicada (n=19)	<i>P. f</i>	Petersen et al. 2016 [61]

Moléculas estudiada	Localidad	Población estudio	Especie de parásito	Autor/año publicación
CD24, CD23, TNF-, IgE, IgG	Bangkok, Tailandia	Malaria no complicada (n=64), malaria complicada (n=25), controles sanos (n=34).	<i>P. f</i>	Kumsiri et al. 2016 [62]
IL-2, IL-4, TNF α , IL-1 β , IFN γ , IL 12 α , IL-17A, IL-18, IL-8, RANTES, IL10, IL-13, TGF- β y Foxp3	Manja, India. Adultos	Malaria no complicada (n=64), malaria complicada (n=51)	<i>P. f</i>	Mahanta et al. 2015 [63]
TNF y IFN- γ	Jazan, Arabia Saudita. Embarazadas	Controles sanos (n=60), malaria no complicada (n=62), malaria complicada (n=64)	<i>P. f</i>	Nasr A et al. 2014 [25]
IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p70, TNF y IFN γ	Sudán. Embarazadas	Malaria no complicada (n=41), malaria complicada (n=39), no infectadas (n=41)	<i>P. f</i>	Chandra siri et al. 2014 [64]
IFN- γ , IL-10, IL 1 β , IL-6, IP-10, TNF, MIP-1 α , Y MI-1 β	Papua Nueva Guinea. Niños	Malaria no complicada (n=153), malaria complicada (n=200), controles sanos (n=162).	<i>P. f</i>	Stanisic et al. 2014 [65]

Moléculas estudiada	Localidad	Población estudio	Especie de parásito	Autor/año publicación
NF- α , IL-6, IL 10, ICAM-1, VCAM-1 y E Selectin	Pakistan. Adultos	Malaria no complicada (n=100), malaria complicada (n=82), controles sanos (n=100).	<i>P. v</i>	Raza et al. 2013 [66]
IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p70, IFN- γ , TNF, CCL2 (MCP-1), CCL5 (RANTES), CXCL9 (MIG) y CXCL10 (IP-10)	Amazonía rasilera (Rondônia, Brasil). Adultos	No infectados (n=176), asintomáticos con malaria por vivax (n=148), sintomáticos con malaria por vivax (n=187), malaria complicada por vivax no letal (n=13), y malaria complicada por vivax asociado con mortalidad (n=6)	<i>P. v</i>	Mendonça et al. 2013 [67]
TNF- α , IL-2, IL 6, IL-10, y IFN- α	Sri Lanka. Adultos.	Malaria no complicada (n=69), malaria complicada (n=62), malaria no complicada con fiebre (n=14)	<i>P. f</i>	Perera et al. 2013 [68]
Microparticulas y TNF	Orissa, India. Adolescentes y adultos.	Malaria no complicada (n=43), malaria complicada (n=85), controles sanos (n=30)	<i>P. f</i>	Sahu et al. 2013 [69]

Moléculas estudiada	Localidad	Población estudio	Especie de parásito	Autor/año publicación
IFN- α genotipos y haplotipos, IL-1 β , IL 13, RANTES	Kenya. Niños	Malaria complicada con anemia severa (n= 124), malaria complicada sin anemia severa (n=384)	<i>P. f</i>	Kempaiah et al. 2012 [70]
IL-12p70, IL-2, IFN- γ , IL-4, IL-5, IL-10, IL-8, IL-6, IL-1 β , TNF, TNF- β y TGF- β 1	Mozambique, África. Adolescentes y adultos.	Malaria no complicada (n=67), malaria complicada (n=67),	<i>P. f</i>	Rovira et al. 2012 [71]
IL-5, IL-6, IL-8, MIG, IL-1Ra, IL-2R, IL-4, IL-10, IFN-, eotaxin-1, IP-10, IL-2, IL-7, IL-13, IL-15, IL-17, TNF-, MIP-1 α , MIP-1 β , MCP-1, IL-1 β , IL-12p70, GM-CSF, and RANTES.	Kenya. Niños	Malaria complicada con anemia severa (n= 80), malaria complicada sin anemia severa (n=37), malaria no complicada (n=31)	<i>P. f</i>	Ong'echa, et al 2011 [44]
IFN- γ , IL-4 and L-10	Sudan. Niños	Malaria complicada (n= 31), malaria no complicada (n= 31) y controles sanos (n= 31)	<i>P. f</i>	Mirghani et al. 2011 [72]
		por gota gruesa (n=81)		
IL-10, IFN-gamma, and TNF	Buritis (Amazonía), Adultos	No infectados (n = 90), asintomáticos (n = 60), malaria moderada (n = 50) y malaria complicada (n = 19).	<i>P. v</i>	Andrade et al. 2010 [9]

Moléculas estudiada	Localidad	Población estudio	Especie de parásito	Autor/año publicación
TNF, IL-4, IL-13, IL-6, IL 10, IL-12 y IFN- γ	India. Adultos	Malaria no complicada (n=13), malaria complicada (n=63), grupo control sano (n=102) de región no endémica, Malaria no complicada (n=76), malaria complicada (n=25), grupo control sano (n=90) de región endémica.	<i>P. f</i>	Sinha et al. 2010 [74]
IFN γ , IL-12, IL 18, IL-10	Polonia. Adultos	Malaria no complicada (n=27), malaria complicada (n=7)	<i>P. f</i>	Wroczyńska et al. 2005 [75]
IL-18, IFN- γ	Bangkok, Thailand. Adultos.	Malaria no complicada (n=19), malaria severa (n= 15)	<i>P. f</i>	Nagamine et al. 2003 [76]
IL-12, TNF- α , TGF- α 1	Gabón, África. Niños	Malaria no complicada (n=47), malaria severa (n= 43),	<i>P. f</i>	Perkins, et al. 2000 [77]

Las investigaciones en malaria en zonas endémicas, *per se* son justificadas; sin embargo, estudios en malaria en países no tropicales, actualmente son de especial atención e interés debido al aumento del fenómeno de la migración poblacional y el auge turístico de los países tropicales. Se sabe que más de 125 millones de viajeros visitan regiones endémicas para malaria cada año y más de 10 000 regresan a sus sitios de origen con malaria [78]. La malaria por *Plasmodium falciparum* es una emergencia médica, debido a su rápida progresión, por lo tanto, es indispensable el inicio inmediato del tratamiento antipalúdico y, para prevenir complicaciones, es importante el diagnóstico precoz, en particular con viajeros no inmunes. En los países desarrollados, estos pacientes son atendidos por médicos con poca experiencia en enfermedades tropicales, teniendo como consecuencia que el diagnóstico y el tratamiento pueden posponerse hasta que el paciente sea remitido a un especialista en este tipo de enfermedades. La aparición de la malaria complicada no es reflejada siempre por cambios significativos en los parámetros estándar de laboratorio como hemograma, pruebas bioquímicas o análisis parasitológicos. Es así que la progresión de una alteración leve de la conciencia a coma puede ocurrir en pocas horas con recuentos bajos de parásitos y con parámetros de laboratorio bioquímicos normales o levemente alterados. Los marcadores pronósticos podrían ser de relevancia clínica ya que las tasas de letalidad aumentan rápidamente con el tiempo y pueden alcanzar hasta el 10,5% en la malaria grave importada [79].

Biomarcadores en malaria gestacional

Se estima que anualmente 100 millones de mujeres y sus bebés se encuentran en riesgo de contraer malaria durante el embarazo [80], la mitad de ellas en el África subsahariana, que causa morbilidad y mortalidad sustanciales, tanto en las madres como en sus descendientes [81, 82]. Este riesgo aumenta en las mujeres primigrávidas; las mujeres embarazadas son más propensas a las infecciones de malaria en comparación con las mujeres no embarazadas; esta enfermedad puede contribuir en el 25% de las causas de mortalidad materna [83]. Normalmente, durante el embarazo se mantiene un equilibrio inmunológico delicado, que involucra células T reguladoras y citoquinas,

para evitar el rechazo del feto [84, 85]. Durante la malaria en el embarazo (ME), los glóbulos rojos parasitados pueden ser secuestrados en la placenta y causar una respuesta inflamatoria con liberación de citoquinas y atracción de células inflamatorias mononucleares hacia el espacio intervelloso de la placenta, perturbando así este equilibrio inmunológico [86, 87]. Esta característica se describe principalmente para *P. falciparum*, aunque también se conoce que *P. vivax* puede inducir inflamación en la placenta. La malaria placentaria (MP) se asocia con anemia de la madre pero también con bajo peso al nacer (BPN) en la descendencia [88-90].

La morbilidad materna y fetal que está asociada con la infección de la malaria requiere una detección y tratamiento adecuados de la MP. Sin embargo, la detección prenatal de MP no es fácil, debido a que en áreas endémicas de malaria, los síntomas clínicos en mujeres embarazadas pueden ser poco frecuentes o inespecíficos debido a la inmunidad parcial si no es primigrávida, mientras que las mujeres y sus bebés aún están expuestos a los efectos negativos de la infección. Además, el diagnóstico por gota gruesa, comúnmente utilizado para diagnosticar la malaria, muestra falsos negativos, ya que la parasitemia puede ser extremadamente baja o ausente cuando los parásitos son secuestrados en la placenta [91]. Por lo tanto, se necesitan métodos de diagnóstico para detectar MP durante el embarazo y de pronóstico para complicaciones que puedan presentar la madre o su feto.

En los últimos años, ha existido interés en detectar biomarcadores del huésped que puedan indicar MP. Las citoquinas involucradas en el proceso inflamatorio en la placenta o las proteínas y las citoquinas involucradas en la placentación o el crecimiento fetal se estudian con frecuencia para su asociación con la MP.

La atención se centra en los biomarcadores del huésped que pueden tener cambios a lo largo del tiempo y, por lo tanto, pueden indicar la existencia de un proceso fisiopatológico interno de la MP. La atención se centra en *P. falciparum* como agente patógeno causante, ya que se conoce que está más estrechamente relacionado con la patología de la MP. Los estudios en MP causada por *P. vivax*, se han estudiado en la

última década, encontrando hallazgos similares que los causados por *P. falciparum*, aunque con menor gravedad clínica. Existe un estudio de Bruna O., et al. realizado en el 2010 [92], en el cual se sugiere que es posible que *P. vivax* pueda hacer adherencia en la placenta, sin embargo la caracterización clínico-patológica aún no se conoce con claridad.

Es claro que la disponibilidad de una herramienta de laboratorio pronóstica para identificar, en una etapa temprana de la gestación, una placenta con un proceso de “disfunción” a causa de MP, representaría un importante avance en términos de diagnóstico y tratamiento. Un biomarcador ayudaría a comprender la evolución clínica de la paciente con infección por *Plasmodium* durante el embarazo, contribuiría a optimizar las intervenciones preventivas y curativas, además, sería una herramienta primaria para predecir los resultados deficientes del embarazo, para adaptar el monitoreo y para asegurar una estrecha vigilancia clínica y ecográfica de las pacientes y permitiría optimizar la prevención de las consecuencias del secuestro placentario. Así mismo, las variaciones en el nivel de biomarcador podrían tener un valor pronóstico para la vigilancia de la evolución del estrés placentario [93].

Biomarcadores en la malaria cerebral

Mientras los biomarcadores se han utilizado para diagnosticar y pronosticar la evolución y resultados de muchas enfermedades crónicas, el campo de la investigación de la malaria se movió hace poco en la dirección de identificar de forma activa biomarcadores que pueden discriminar con precisión las complicaciones en la malaria, especialmente, malaria cerebral (MC) [94].

Tales biomarcadores, una vez identificados, validados e integrados en las pruebas de diagnóstico rápido, podrían permitir la identificación precisa y precoz de los pacientes con riesgo de malaria cerebral y su posterior remisión a los centros sanitarios terciarios para la intervención inmediata.

Desafortunadamente, debido al rápido desarrollo de la MC y la presentación tardía de los pacientes a los hospitales, los estudios con un seguimiento periódico estricto de la concentración plasmática de

estas moléculas en los pacientes con malaria, no han sido factibles hasta el momento, y aún no ha sido identificado el potencial de los biomarcadores de detección temprana para MC antes del inicio de los síntomas. Sin embargo, en los últimos años se han descrito factores serológicos que permiten la discriminación precisa de MC después de la aparición de los síntomas. Estos biomarcadores son indicativos de patología, ya que se basan en procesos específicos que han sido asociados con el desarrollo de MC [94].

La molécula de adhesión endotelial (ICAM-1) tiene un papel fundamental en el secuestro de glóbulos rojos parasitados, la concentración elevada de esta molécula ha sido descrita en cuadros complicados de malaria. Adicionalmente, esta misma molécula es liberada a la circulación, encontrando en algunos estudios realizados en niños de Ghana, altos niveles de ICAM-1 soluble en plasma, los cuales están asociados con el desarrollo de malaria complicada. Estos niveles pueden reflejar la regulación por incremento de ICAM-1 en la microvasculatura cerebral, pudiendo ser pronóstico en un cuadro de MC [50].

Por otro lado, se conoce que las Angiopoyetinas 1 y 2 (ANG-1 y ANG-2) son reguladores críticos de la activación y de la integridad endotelial. La ANG-2 se expresa en las células endoteliales y se almacena como gránulos especializados, para la liberación rápida a estímulos inflamatorios, actuando principalmente como antagonista de angiopoyetina-1; promueve la permeabilidad vascular y facilita la inflamación mediante la sensibilización de células endoteliales por TNF y regulación de ICAM 1, sus niveles también han sido descritos como biomarcadores fiables de MC [32, 95].

Adicionalmente, se han realizado estudios en la proteína 10 kDa inducida por el Interferon gamma (IP-10/CXCL10), una quimiocina secretada a partir de células estimuladas por interferones tipo I y II y lipopolisacaridos, es un quimioatrayente para células T activadas [96]. La secreción de IP10 se presenta en muchas enfermedades inflamatorias, donde se cree que desempeña un papel importante en la quimioatracción de células T activadas. Adicionalmente, los efectos en la concentración plasmática aumentada de la CXCL10 en la microvasculatura cerebral

son desconocidos, pero se sospecha que pueden causar lesiones locales mediante el reclutamiento de leucocitos mononucleares, induciendo hiperinflamación focal (tabla 5) [97].

En la Tabla 5 se muestran los principales hallazgos de estudios realizados en África y Asia en personas con malaria cerebral, en los cuales se evalúan las concentraciones plasmáticas de diferentes citoquinas, quemoquinas y moléculas de adhesión endotelial. De la diversidad de moléculas estudiadas el TNF α , IFN- γ , Ang-1 y Ang-2 son las más reportadas y con mejores resultados al momento de diferenciar otras formas de malaria complicada de la malaria cerebral.

Tabla 5. Estudios de evaluación de moléculas de malaria cerebral

Moléculas estudiadas como biomarcador	Localidad/población	Grupos	Especie de parásito	Autor/año publicación
IFN- γ , TNF- α , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, and IL-12p70	Malawi, África. Niños	Malaria cerebral (n=29), malaria complicada con anemia (n=30), malaria no complicada (n=54) y controles sanos (n=42)	<i>P. f</i>	Mandala et al. 2017 [56]
TNF- α , IL-10, IP-10, MCP-1, eritropoyetina, heme	India. Individuos > 15 años	Malaria complicada (n=45), Malaria cerebral (n=57), malaria no complicada (n=28)	<i>P. f</i>	Dalko et al. 2016 [98]

Moléculas estudiadas como biomarcador	Localidad/población	Grupos	Especie de parásito	Autor/año publicación
IL-1 α , IL-1 β , IL-1RA, IL-2, IL3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12 (p40), IL-12 (p70), IL-13, IL-15, IL-17, (IFN) α 2, IFN γ , IP-10, EGF, GCSF, GM-CSF, (TNF) α , TNF β , MCP-1, MIP-1, MIP- y VEGF	Dakar, S \acute{e} negal Adultos	Malaria no cerebral (n=17), malaria cerebral (n=27), controles sanos (n=18).	<i>P. f</i>	Dieye et al. (2016) [99]
M-CSF, Eotaxin, IL-1 α , MCP-1, IL-10, MIP-1 α , MIP, 1 β , IL-8, IL-6, TNF α , IFN α 2 IL-7, G-CSF, IP-10 IL-3, IL-5, IL-15, TNF- β , IL-2, IL-13, IL-4, IL-12p70, IL-17, IFN- γ , IL-12p40, IL-1 β .	Odiska. India. Adultos	Controles sanos de \acute{a} rea end \acute{e} mica (n=21), sepsis severa (n=10), Encefalitis viral (n=9), Malaria no complicada (n= 37), malaria complicada con (n=53), pacientes con compromiso de m \acute{a} s de dos \acute{o} rganos (n=9), malaria cerebral (n=42)	<i>P. f</i>	Herbert et al. (2015) [100]
IL-4	Sudan. Ni \acute{o} ns	Malaria no complicada (n=45), malaria complicada con anemia severa (n=43), malaria cerebral (n=22), controles sanos (n=60)	<i>P. f</i>	Elhussein et al. (2015) [1041]

Moléculas estudiadas como biomarcador	Localidad/población	Grupos	Especie de parásito	Autor/año publicación
Chitinase 3-like 1	Uganda. Niños	Malaria no complicada (n=53), malaria cerebral (n= 44), malaria complicada anemia (n= 59)	<i>P. f</i>	Erdman et al. (2014) [102]
IL10, IL-12, MIF, TGFβ, TNFα	Cameroon. Niños	Malaria no complicada (n= 233), malaria severa anemia (n=155), malaria cerebral (n=24), controles sanos (n=233)	<i>P. f</i>	Achidi et al. (2013) [103]
TNFα	Nueva Delhi, India. Adultos	Malaria no complicada (n= 138), malaria cerebral (n=2), malaria complicada (n=14)	<i>P. f</i>	Kinra et al. (2013) [104]
CXCL4, CXCL9, CXCL10, and CXCL11	Madhya Pradesh, India. Adultos	Controles sanos (n=16), malaria moderada (n=26), sobrevivientes con malaria cerebral (n=26), no sobrevivientes como malaria cerebral (n= 12)	<i>P. f</i>	Wilson et al. (2011) [97]

Moléculas estudiadas como biomarcador	Localidad/población	Grupos	Especie de parásito	Autor/año publicación
Ang-1, Ang-2, sTie-2, VEGF-A, IP-10 and sICAM-1, von Willebrand factor, von Willebrand factor propeptido	África. Niños	Malaria cerebral (n=67), malaria no complicada (n=32), pacientes con alteraciones de conciencia diferente a malaria (n=24)	<i>P. f</i>	Conroy et al. (2010) [105]
ANG 1, ANG 2	Tailandia. Niños y adultos	Malaria no complicada (n= 70), malaria complicada (n=36), malaria cerebral (n=87)	<i>P. f</i>	Conroy et al. 2009 [106]
sICAM-1, TNF-a, sVCAM-1 y sE-selectin	Camerún. Niños	Malaria cerebral (n=27), malaria complicada con anemia severa (n=42), otras formas severas (n=45), malaria no complicada (n=55), controles sanos (n=43)	<i>P. f</i>	Tchinda et al. 2007 [51]

Moléculas estudiadas como biomarcador	Localidad/población	Grupos	Especie de parásito	Autor/año publicación
IFN- γ , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-12, TNF- α , TGF- β	Gondia District of Estado de Maharashtra In día	Malaria no complicada (n=21), malaria complicada (n=15) y malaria cerebral (n=15)	<i>P. f</i>	Prakash et al. (2006) [107]
TGF- β 1, IL-12 (p70), IL18	Tailandia, Tanzania. Adultos, niños y mujeres embarazadas	Controles sanos (n=22), malaria complicada (n=17), niños de Tanzania con malaria cerebral (n= 28), adultos de Tailandia con malaria cerebral (n= 27), control de mujeres embarazadas sanas (n=16), mujeres embarazadas con malaria (n=23)	<i>P. f</i>	Chaiyaroj et al. (2004) [108]

P. f. Plasmodium falciparum

Conclusiones

En los últimos 20 años, la investigación de biomarcadores sobre la patogenicidad de la malaria ha progresado, el número de investigaciones se ha incrementado; éstas postulan un número considerable de moléculas como candidatas a pronosticar cuadros de malaria complicada, que pueden llegar a contribuir al manejo clínico de los pacientes con malaria, evitando complicaciones o incluso la muerte.

Actualmente, no existe un consenso mundial que postule moléculas como biomarcadores en el pronóstico de la malaria complicada; si existen muchos candidatos potenciales para este rol, pero la diversidad en las unidades de cuantificación, y la falta de estandarización de puntos de cohorte, aún requiere esfuerzos adicionales. Por otra parte, la identificación y descripción de potenciales biomarcadores es solo el primer paso, posteriormente deben generarse estudios de validación, costo efectividad y ensayos clínicos de estos candidatos para llegar a denominarlos como un biomarcador. Adicionalmente, se requiere trabajar en la estandarización de la técnica para cuantificación de estas moléculas que permita tener mejores comparaciones, pero que además su costo beneficio responda a las necesidades de los sistemas de salud permitiendo que ingresen como una herramienta útil en el seguimiento del paciente.

Referencias

- [1] J. Sachs and P. Malaney, The economic and social burden of malaria, *Nature*, vol. 415, p. 680, 2002.
- [2] B. B. Andrade and M. Barral-Netto, Biomarkers for susceptibility to infection and disease severity in human malaria, *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, vol. 106, pp. 70-78, 2011.
- [3] R. Mayeux, Biomarkers: potential uses and limitations, *NeuroRx*, vol. 1, pp. 182-188, 2004.
- [4] C. Naing, M. A. Whittaker, V. Nyunt Wai, and J. W. Mak, Is *Plasmodium vivax* Malaria a Severe Malaria?: A Systematic Review and Meta-Analysis, *PLOS Neglected Tropical Diseases*, vol. 8, p. e3071, 2014.
- [5] WHO, Severe malaria, *Tropical Medicine & International Health*, vol. 19, pp. 7-131, 2014.
- [6] I. N. Nkumama, W. P. O'Meara, and F. H. A. Osier, Changes in Malaria Epidemiology in Africa and New Challenges for Elimination, *Trends in Parasitology*, vol. 33, pp. 128-140, 2017.

- [7] E. A. Okiro, A. Al-Taiar, H. Reyburn, R. Idro, J. A. Berkley, and R. W. Snow, Age patterns of severe paediatric malaria and their relationship to *Plasmodium falciparum* transmission intensity, *Malaria Journal*, vol. 8, p. 4, January 07 2009.
- [8] J. Cox-Singh, J. Hiu, S. B. Lucas, P. C. Divis, M. Zulkarnaen, P. Chandran, et al., Severe malaria - a case of fatal *Plasmodium knowlesi* infection with post-mortem findings: a case report, *Malaria Journal*, vol. 9, p. 10, January 11 2010.
- [9] B. B. Andrade, A. Reis-Filho, S. M. Souza-Neto, J. Clarêncio, L. M. Camargo, A. Barral, et al., Severe *Plasmodium vivax* malaria exhibits marked inflammatory imbalance, *Malaria journal*, vol. 9, p. 13, 2010.
- [10] J. S. Kaushik, S. Gomber, and P. Dewan, Clinical and Epidemiological Profiles of Severe Malaria in Children from Delhi, India, *Journal of Health, Population, and Nutrition*, vol. 30, pp. 113-116, 2012.
- [11] WHO. (2012). Management of severe malaria: a practical handbook – 3rd ed. Available: https://www.severemalaria.org/sites/www.severemalaria.org/files/content/attachments/2017-01-24/WHO_management_SM_3rd_1.pdf
- [12] P. Sypniewska, J. F. Duda, I. Locatelli, C. R. Althaus, F. Althaus, and B. Genton, Clinical and laboratory predictors of death in African children with features of severe malaria: a systematic review and meta-analysis, *BMC Medicine*, vol. 15, p. 147, August 03 2017.
- [13] R. E. Howes, K. E. Battle, K. N. Mendis, D. L. Smith, R. E. Cibulskis, J. K. Baird, et al., Global epidemiology of *Plasmodium vivax*, *The American journal of tropical medicine and hygiene*, vol. 95, pp. 15-34, 2016.
- [14] J. Cox-Singh, J. Hiu, S. B. Lucas, P. C. Divis, M. Zulkarnaen, P. Chandran, et al., Severe malaria-a case of fatal *Plasmodium knowlesi* infection with post-mortem findings: a case report, *Malaria journal*, vol. 9, p. 10, 2010.
- [15] WHO, Guidelines for the treatment of malaria: World Health Organization, 2015.
- [16] J. C. Hafalla, O. Silvie, and K. Matuschewski, Cell biology and immunology of malaria, *Immunological reviews*, vol. 240, pp. 297-316, 2011.
- [17] R. T. Gazzinelli, P. Kalantari, K. A. Fitzgerald, and D. T. Golenbock, Innate sensing of malaria parasites, *Nature Reviews Immunology*, vol. 14, p. 744, 2014.
- [18] G. Krishnegowda, A. M. Hajjar, J. Zhu, E. J. Douglass, S. Uematsu, S. Akira, et al., Induction of proinflammatory responses in macrophages by the glycosylphosphatidylinositols of *Plasmodium falciparum* cell

- signaling receptors, glycosylphosphatidylinositol (GPI) structural requirement, and regulation of GPI activity, *Journal of Biological Chemistry*, vol. 280, pp. 8606-8616, 2005.
- [19] R. Amino, S. Thiberge, B. Martin, S. Celli, S. Shorte, F. Frischknecht, *et al.*, Quantitative imaging of *Plasmodium* transmission from mosquito to mammal, *Nature medicine*, vol. 12, p. 220, 2006.
- [20] I. A. Cockburn and F. Zavala, Dendritic cell function and antigen presentation in malaria, *Current opinion in immunology*, vol. 40, pp. 1-6, 2016.
- [21] K. Baer, M. Roosevelt, A. B. Clarkson Jr, N. Van Rooijen, T. Schnieder, and U. Frevert, Kupffer cells are obligatory for *Plasmodium yoelii* sporozoite infection of the liver, *Cellular microbiology*, vol. 9, pp. 397-412, 2007.
- [22] H. Zheng, Z. Tan, and W. Xu, Immune Evasion Strategies of Pre-Erythrocytic Malaria Parasites, *Mediators of Inflammation*, vol. 2014, p. 6, 2014.
- [23] J. L. Miller, B. K. Sack, M. Baldwin, A. M. Vaughan, and S. H. Kappe, Interferon-mediated innate immune responses against malaria parasite liver stages, *Cell reports*, vol. 7, pp. 436-447, 2014.
- [24] M. B. McCall and R. W. Sauerwein, "Interferon- γ —central mediator of protective immune responses against the pre-erythrocytic and blood stage of malaria, *Journal of leukocyte biology*, vol. 88, pp. 1131-1143, 2010.
- [25] A. Nasr, G. Allam, O. Hamid, and A. Al-Ghamdi, IFN-gamma and TNF associated with severe *falciparum* malaria infection in Saudi pregnant women, *Malaria journal*, vol. 13, p. 314, 2014.
- [26] A. Villegas-Mendez, R. Greig, T. N. Shaw, J. B. de Souza, E. Gwyer Findlay, J. S. Stumhofer, *et al.*, IFN-gamma-producing CD4⁺ T cells promote experimental cerebral malaria by modulating CD8⁺ T cell accumulation within the brain, *J Immunol*, vol. 189, pp. 968-79, Jul 15 2012.
- [27] N. W. Lucchi, V. Jain, N. O. Wilson, N. Singh, V. Udhayakumar, and J. K. Stiles, Potential serological biomarkers of cerebral malaria, *Dis Markers*, vol. 31, pp. 327-35, 2011.
- [28] N. L. Henry and D. F. Hayes, "Cancer biomarkers," *Molecular oncology*, vol. 6, pp. 140-146, 2012.
- [29] R. Fisler and O. Scaros, Biomarkers in clinical development: implications for personalized medicine and streamlining R&D, *CHA Advances Reports*, vol. 47, 2005.
- [30] B. Sarfo, S. Singh, J. Lillard, A. Quarshie, R. Gyasi, H. Armah, *et al.*, The cerebral-malaria-associated expression of RANTES, CCR3 and

- CCR5 in post-mortem tissue samples, *Annals of Tropical Medicine & Parasitology*, vol. 98, pp. 297-303, 2004.
- [31] N. W. Lucchi, V. Jain, N. O. Wilson, N. Singh, V. Udhayakumar, and J. K. Stiles, Potential serological biomarkers of cerebral malaria, *Disease markers*, vol. 31, pp. 327-335, 2011.
- [32] S. J. Higgins, L. A. Purcell, K. L. Silver, V. Tran, V. Crowley, M. Hawkes, et al., Dysregulation of angiopoietin-1 plays a mechanistic role in the pathogenesis of cerebral malaria, *Sci Transl Med*, vol. 8, p. 358ra128, Sep 28 2016.
- [33] H. B. Armah, N. O. Wilson, B. Y. Sarfo, M. D. Powell, V. C. Bond, W. Anderson, et al., Cerebrospinal fluid and serum biomarkers of cerebral malaria mortality in Ghanaian children, *Malaria journal*, vol. 6, p. 147, 2007.
- [34] E. P. Rivers, J. A. Kruse, G. Jacobsen, K. Shah, M. Loomba, R. Otero, et al., The influence of early hemodynamic optimization on biomarker patterns of severe sepsis and septic shock, *Crit Care Med*, vol. 35, pp. 2016-24, Sep 2007.
- [35] C. L. Figueroa, M. Gélvez, and J. Niederbacher, Reguladores de integridad endotelial como posibles predictores de severidad en dengue, *Biomédica: Revista del Instituto Nacional de Salud*, vol. 36, 2016.
- [36] K.-M. Soo, B. Khalid, S.-M. Ching, C. L. Tham, R. Basir, and H.-Y. Chee, Meta-analysis of biomarkers for severe dengue infections, *PeerJ*, vol. 5, p. e3589, 2017.
- [37] C. Chirathaworn, Y. Supputtamongkol, S. Lertmaharit, and Y. Poovorawan, Cytokine levels as biomarkers for leptospirosis patients, *Cytokine*, vol. 85, pp. 80-2, Sep 2016.
- [38] K. Srinath, L. Adarsh, A. Siddiq, B. Madhu, P. K. HR, and M. Mahesh, Clinical profile of leptospirosis with focus on inflammatory biomarkers, *International Journal of Research in Medical Sciences*, vol. 5, pp. 5187-5192, 2017.
- [39] B. Kumar, J. K. Mitra, R. Rao, A. Kumar, M. Kumar, and A. Kumar, "A Study on Incidence, Clinical Profile and Prognosis of Falciparum Malaria in Jharkhand," *International Journal of Contemporary Medical Research* vol. 4, 2017.
- [40] J. Oliveira-Ferreira, M. V. G. Lacerda, P. Brasil, J. L. B. Ladislau, P. L. Tauil, and C. T. Daniel-Ribeiro, Malaria in Brazil: an overview, *Malaria Journal*, vol. 9, p. 115, 2010/04/30 2010.
- [41] I. C. Hirako, C. Gallego-Marin, M. A. Ataide, W. A. Andrade, H. Gravina, B. C. Rocha, et al., DNA-containing immunocomplexes promote inflammasome assembly and release of pyrogenic cytokines

- by CD14+ CD16+ CD64high CD32low inflammatory monocytes from malaria patients, MBio, vol. 6, pp. e01605-15, 2015.
- [42] D. J. Perkins, T. Were, G. C. Davenport, P. Kempaiah, J. B. Hittner, and J. M. Ong'echa, Severe malarial anemia: innate immunity and pathogenesis, International journal of biological sciences, vol. 7, p. 1427, 2011.
- [43] E. Raballah, P. Kempaiah, Z. Karim, G. O. Orinda, M. F. Otieno, D. J. Perkins, et al., CD4 T-cell expression of IFN-gamma and IL-17 in pediatric malarial anemia, PLoS One, vol. 12, p. e0175864, 2017.
- [44] J. M. Ong'echa, G. C. Davenport, J. M. Vulule, J. B. Hittner, and D. J. Perkins, Identification of inflammatory biomarkers for pediatric malarial anemia severity using novel statistical methods, Infect Immun, vol. 79, pp. 4674-80, Nov 2011.
- [45] S. Boström, P. Giusti, C. Arama, J.-O. Persson, V. Dara, B. Traore, et al., Changes in the levels of cytokines, chemokines and malaria-specific antibodies in response to *Plasmodium falciparum* infection in children living in sympatry in Mali, Malaria Journal, vol. 11, p. 109, 2012.
- [46] T. S. Medina, S. P. Costa, M. D. Oliveira, A. M. Ventura, J. M. Souza, T. F. Gomes, et al., Increased interleukin-10 and interferon- γ levels in *Plasmodium vivax* malaria suggest a reciprocal regulation which is not altered by IL-10 gene promoter polymorphism, Malaria journal, vol. 10, p. 264, 2011.
- [47] R. Kumar, S. Ng, and C. Engwerda, The Role of IL-10 in Malaria: A Double Edged Sword, Frontiers in Immunology, vol. 10, 2019-February-12 2019.
- [48] K. Lyke, R. Burges, Y. Cissoko, L. Sangare, M. Dao, I. Diarra, et al., Serum levels of the proinflammatory cytokines interleukin-1 beta (IL-1 β), IL-6, IL-8, IL-10, tumor necrosis factor alpha, and IL-12 (p70) in Malian children with severe *Plasmodium falciparum* malaria and matched uncomplicated malaria or healthy controls, Infection and immunity, vol. 72, pp. 5630-5637, 2004.
- [49] R. N. Rodrigues-da-Silva, J. d. C. Lima-Junior, P. R. Z. Antas, A. Baldez, F. L. Storer, F. Santos, et al., Alterations in cytokines and haematological parameters during the acute and convalescent phases of *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* infections, Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, vol. 109, pp. 154-162, 2014.
- [50] S. Adukpó, K. A. Kusi, M. F. Ofori, J. K. Tetteh, D. Amoako-Sakyi, B. Q. Goka, et al., High plasma levels of soluble intercellular adhesion molecule (ICAM)-1 are associated with cerebral malaria, PLoS One, vol. 8, p. e84181, 2013.

- [51] V. H. Tchinda, A. D. Tadem, E. A. Tako, G. Tene, J. Fogako, P. Nyonglema, et al., Severe malaria in Cameroonian children: correlation between plasma levels of three soluble inducible adhesion molecules and TNF-alpha, *Acta Trop*, vol. 102, pp. 20-8, Apr 2007.
- [52] N. Diez-Padrisa, Q. Bassat, and A. Roca, Serum biomarkers for the diagnosis of malaria, bacterial and viral infections in children living in malaria-endemic areas, *Drugs of today (Barcelona, Spain: 1998)*, vol. 47, pp. 63-75, 2011.
- [53] N. S. Hojo-Souza, D. B. Pereira, F. S. H. de Souza, T. A. de Oliveira Mendes, M. S. Cardoso, M. S. Tada, et al., On the cytokine/chemokine network during *Plasmodium vivax* malaria: new insights to understand the disease, *Malaria Journal*, vol. 16, p. 42, 01/2411/08/received;01/05/accepted 2017.
- [54] S. L. Oyegue-Liabagui, A. G. Bouopda-Tuedom, L. C. Kouna, S. Maghendji-Nzondo, H. Nzoughe, N. Tchitoula-Makaya, et al., Pro-and anti-inflammatory cytokines in children with malaria in Franceville, Gabon, *American journal of clinical and experimental immunology*, vol. 6, p. 9, 2017.
- [55] E. Raballah, P. Kempaiah, Z. Karim, G. O. Orinda, M. F. Otieno, D. J. Perkins, et al., CD4 T-cell expression of IFN- γ and IL-17 in pediatric malarial anemia, *PloS one*, vol. 12, p. e0175864, 2017.
- [56] W. L. Mandala, C. L. Msefula, E. N. Gondwe, M. T. Drayson, M. E. Molyneux, and C. A. MacLennan, Cytokine Profiles in Malawian Children Presenting with Uncomplicated Malaria, Severe Malarial Anemia, and Cerebral Malaria, *Clin Vaccine Immunol*, vol. 24, Apr 2017.
- [57] D. Bujarbaruah, M. P. Kalita, V. Baruah, T. K. Basumatary, S. Hazarika, R. H. Begum, et al., RANTES levels as a determinant of falciparum malaria severity or recovery, *Parasite Immunol*, vol. 39, Sep 2017.
- [58] S. A. Olaniyan, O. K. Amodu, A. A. Bakare, M. Troye-Blomberg, O. O. Omotade, K. A. Rockett, et al., Tumour necrosis factor alpha promoter polymorphism, TNF-238 is associated with severe clinical outcome of falciparum malaria in Ibadan southwest Nigeria, *Acta Trop*, vol. 161, pp. 62-7, Sep 2016.
- [59] B. P. Dembele, H. Chagan-Yasutan, T. Niki, Y. Ashino, N. Tangpukdee, E. Shinichi, et al., Plasma levels of Galectin-9 reflect disease severity in malaria infection, *Malar J*, vol. 15, p. 403, Aug 11 2016.
- [60] B. Mbengue, B. Niang, M. S. Niang, M. L. Varela, B. Fall, M. M. Fall, et al., Inflammatory cytokine and humoral responses to *Plasmodium*

- falciparum* glycosylphosphatidylinositols correlates with malaria immunity and pathogenesis, *Immun Inflamm Dis*, vol. 4, pp. 24-34, Mar 2016.
- [61] J. E. Petersen, S. I. Mkumbaye, A. V. Vaaben, A. Manjurano, E. Lyimo, R. A. Kavishe, *et al.*, Plasma Ang2 and ADAM17 levels are elevated during clinical malaria; Ang2 level correlates with severity and expression of EPCR-binding PfEMP1, *Sci Rep*, vol. 6, p. 35950, Oct 27 2016.
- [62] R. Kumsiri, M. Troye-Blomberg, K. Pattanapanyasat, S. Krudsood, and Y. Maneerat, IgE low affinity receptor (CD23) expression, *Plasmodium falciparum* specific IgE and tumor necrosis factor-alpha production in Thai uncomplicated and severe falciparum malaria patients, *Acta Trop*, vol. 154, pp. 25-33, Feb 2016.
- [63] A. Mahanta, S. K. Kar, S. Kakati, and S. Baruah, Heightened inflammation in severe malaria is associated with decreased IL-10 expression levels and neutrophils, *Innate Immun*, vol. 21, pp. 546-52, Jul 2015.
- [64] U. P. Chandrasiri, L. M. Randall, A. A. Saad, A. M. Bashir, S. J. Rogerson, and I. Adam, Low antibody levels to pregnancy-specific malaria antigens and heightened cytokine responses associated with severe malaria in pregnancy, *J Infect Dis*, vol. 209, pp. 1408-17, May 1 2014.
- [65] D. I. Stanisic, J. Cutts, E. Eriksson, F. J. Fowkes, A. Rosanas-Urgell, P. Siba, *et al.*, Gammadelta T cells and CD14+ monocytes are predominant cellular sources of cytokines and chemokines associated with severe malaria, *J Infect Dis*, vol. 210, pp. 295-305, Jul 15 2014.
- [66] A. Raza, N. K. Ghanchi, A. Sarwar Zubairi, A. Raheem, S. Nizami, and M. A. Beg, Tumor necrosis factor -alpha, interleukin-10, intercellular and vascular adhesion molecules are possible biomarkers of disease severity in complicated *Plasmodium vivax* isolates from Pakistan, *PLoS One*, vol. 8, p. e81363, 2013.
- [67] V. R. Mendonça, A. T. Queiroz, F. M. Lopes, B. B. Andrade, and M. Barral-Netto, Networking the host immune response in *Plasmodium vivax* malaria, *Malaria journal*, vol. 12, p. 69, 2013.
- [68] M. K. Perera, N. P. Herath, S. L. Pathirana, M. Phone-Kyaw, H. K. Alles, K. N. Mendis, *et al.*, Association of high plasma TNF-alpha levels and TNF-alpha/IL-10 ratios with TNF2 allele in severe *P. falciparum* malaria patients in Sri Lanka, *Pathog Glob Health*, vol. 107, pp. 21-9, Jan 2013.
- [69] U. Sahu, P. K. Sahoo, S. K. Kar, B. N. Mohapatra, and M. Ranjit, Association of TNF level with production of circulating cellular

- microparticles during clinical manifestation of human cerebral malaria, *Human immunology*, vol. 74, pp. 713-721, 2013.
- [70] P. Kempaiah, S. B. Anyona, E. Raballah, G. C. Davenport, T. Were, J. B. Hittner, *et al.*, Reduced interferon (IFN)- α conditioned by IFNA2 (- 173) and IFNA8 (- 884) haplotypes is associated with enhanced susceptibility to severe malarial anemia and longitudinal all-cause mortality, *Human genetics*, vol. 131, pp. 1375-1391, 2012.
- [71] E. Rovira-Vallbona, G. Moncunill, Q. Bassat, R. Aguilar, S. Machevo, L. Puyol, *et al.*, Low antibodies against *Plasmodium falciparum* and imbalanced pro-inflammatory cytokines are associated with severe malaria in Mozambican children: a case-control study, *Malar J*, vol. 11, p. 181, May 30 2012.
- [72] H. A. Mirghani, H. G. Eltahir, A. E. TM, Y. A. Mirghani, M. I. Elbashir, and I. Adam, Cytokine profiles in children with severe *Plasmodium falciparum* malaria in an area of unstable malaria transmission in central Sudan, *J Trop Pediatr*, vol. 57, pp. 392-5, Oct 2011.
- [73] E. Ayimba, J. Hegewald, A. Y. Segbena, R. G. Gantin, C. J. Lechner, A. Agosssou, *et al.*, Proinflammatory and regulatory cytokines and chemokines in infants with uncomplicated and severe *Plasmodium falciparum* malaria, *Clin Exp Immunol*, vol. 166, pp. 218-26, Nov 2011.
- [74] S. Sinha, T. Qidwai, K. Kanchan, G. N. Jha, P. Anand, S. S. Pati, *et al.*, Distinct cytokine profiles define clinical immune response to *falciparum* malaria in regions of high or low disease transmission, *Eur Cytokine Netw*, vol. 21, pp. 232-40, Dec 2010.
- [75] A. Wroczyńska, W. Nahorski, A. Bąkowska, and H. Pietkiewicz, Cytokines and clinical manifestations of malaria in adults with severe and uncomplicated disease, *International maritime health*, vol. 56, pp. 103-114, 2005.
- [76] Y. Nagamine, M. Hayano, S.-i. Kashiwamura, H. Okamura, K. Nakanishi, S. Krudsod, *et al.*, Involvement of interleukin-18 in severe *Plasmodium falciparum* malaria, *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, vol. 97, pp. 236-241, 2003.
- [77] D. J. Perkins, J. B. Weinberg, and P. G. Kremsner, Reduced Interleukin-12 and Transforming Growth Factor— β 1 in Severe Childhood Malaria: Relationship of Cytokine Balance with Disease Severity, *The Journal of infectious diseases*, vol. 182, pp. 988-992, 2000.
- [78] J. Rosselló, M. Santana-Gallego, and W. Awan, Infectious disease risk and international tourism demand, *Health Policy and Planning*, vol. 32, pp. 538-548, 2017.

- [79] S. Stauga, A. Hahn, N. W. Brattig, J. Fischer-Herr, S. Baldus, G. D. Burchard, et al., Clinical relevance of different biomarkers in imported plasmodium falciparum malaria in adults: a case control study, *Malaria journal*, vol. 12, p. 246, 2013.
- [80] S. J. Rogerson and H. W. Unger, Prevention and control of malaria in pregnancy—new threats, new opportunities?, *Expert review of anti-infective therapy*, vol. 15, pp. 361-375, 2017.
- [81] M. Desai, F. O. ter Kuile, F. Nosten, R. McGready, K. Asamo, B. Brabin, et al., Epidemiology and burden of malaria in pregnancy, *The Lancet Infectious Diseases*, vol. 7, pp. 93-104, 2007/02/01/ 2007.
- [82] D. Ntirushwa, A strategic framework for malaria prevention and control during pregnancy in the African region, Brazzaville: WHO Regional Office for Africa, pp. 1-38, 2004.
- [83] J. Schantz-Dunn and N. M. Nour, Malaria and pregnancy: a global health perspective, *Reviews in obstetrics & gynecology*, vol. 2, pp. 186-192, Summer 2009.
- [84] D. A. Somerset, Y. Zheng, M. D. Kilby, D. M. Sansom, and M. T. Drayson, Normal human pregnancy is associated with an elevation in the immune suppressive CD25+ CD4+ regulatory T-cell subset, *Immunology*, vol. 112, pp. 38-43, 2004.
- [85] M. P. PICCINNI, T-cell cytokines in pregnancy, *American Journal of Reproductive Immunology*, vol. 47, pp. 289-294, 2002.
- [86] B. Brabin, C. Romagosa, S. Abdelgalil, C. Menendez, F. H. Verhoeff, R. McGready, et al., The sick placenta—the role of malaria, *Placenta*, vol. 25, pp. 359-378, 2004.
- [87] M. R. Ismail, J. Ordi, C. Menendez, P. J. Ventura, J. J. Aponte, E. Kahigwa, et al., Placental pathology in malaria: a histological, immunohistochemical, and quantitative study, *Human pathology*, vol. 31, pp. 85-93, 2000.
- [88] S. J. Rogerson, L. Hviid, P. E. Duffy, R. F. Leke, and D. W. Taylor, Malaria in pregnancy: pathogenesis and immunity, *The Lancet infectious diseases*, vol. 7, pp. 105-117, 2007.
- [89] C. Shulman, T. Marshall, E. Dorman, J. Bulmer, F. Cutts, N. Peshu, et al., Malaria in pregnancy: adverse effects on haemoglobin levels and birthweight in primigravidae and multigravidae, *Tropical Medicine & International Health*, vol. 6, pp. 770-778, 2001.
- [90] H. L. Guyatt and R. W. Snow, Impact of malaria during pregnancy on low birth weight in sub-Saharan Africa, *Clinical microbiology reviews*, vol. 17, pp. 760-769, 2004.
- [91] R. F. Leke, R. R. Djokam, R. Mbu, R. J. Leke, J. Fogako, R. Megnekou, et al., Detection of the *Plasmodium falciparum* Antigen

- Histidine-Rich Protein 2 in Blood of Pregnant Women: Implications for Diagnosing Placental Malaria, *Journal of clinical microbiology*, vol. 37, pp. 2992-2996, 1999.
- [92] B. O. Carvalho, S. C. Lopes, P. A. Nogueira, P. P. Orlandi, D. Y. Bargieri, Y. C. Blanco, *et al.*, On the cytoadhesion of *Plasmodium vivax*-infected erythrocytes, *The Journal of infectious diseases*, vol. 202, pp. 638-647, 2010.
- [93] A. Gueneuc, P. Deloron, and G. I. Bertin, Usefulness of a biomarker to identify placental dysfunction in the context of malaria, *Malar J*, vol. 16, p. 11, Jan 3 2017.
- [94] J. Dunst, F. Kamena, and K. Matuschewski, Cytokines and Chemokines in Cerebral Malaria Pathogenesis, *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, vol. 7, 2017-July-20 2017.
- [95] G. M. de Jong, J. J. Slager, A. Verbon, J. J. van Hellemond, and P. J. van Genderen, Systematic review of the role of angiopoietin-1 and angiopoietin-2 in *Plasmodium* species infections: biomarkers or therapeutic targets?, *Malar J*, vol. 15, p. 581, Dec 1 2016.
- [96] M. Liu, S. Guo, J. M. Hibbert, V. Jain, N. Singh, N. O. Wilson, *et al.*, CXCL10/IP-10 in Infectious Diseases Pathogenesis and Potential Therapeutic Implications, *Cytokine & growth factor reviews*, vol. 22, pp. 121-130, 07/29 2011.
- [97] N. O. Wilson, V. Jain, C. E. Roberts, N. Lucchi, P. K. Joel, M. P. Singh, *et al.*, CXCL4 and CXCL10 predict risk of fatal cerebral malaria, *Dis Markers*, vol. 30, pp. 39-49, 2011.
- [98] E. Dalko, N. Tchitchek, L. Pays, F. Herbert, P. A. Cazenave, B. Ravindran, *et al.*, Erythropoietin Levels Increase during Cerebral Malaria and Correlate with Heme, Interleukin-10 and Tumor Necrosis Factor-Alpha in India, *PLoS One*, vol. 11, p. e0158420, 2016.
- [99] Y. Dieye, B. Mbengue, S. Dagamajalu, M. M. Fall, M. F. Loke, C. M. Nguer, *et al.*, Cytokine response during non-cerebral and cerebral malaria: evidence of a failure to control inflammation as a cause of death in African adults, *PeerJ*, vol. 4, p. e1965, 2016.
- [100] F. Herbert, N. Tchitchek, D. Bansal, J. Jacques, S. Pathak, C. Becavin, *et al.*, Evidence of IL-17, IP-10, and IL-10 involvement in multiple-organ dysfunction and IL-17 pathway in acute renal failure associated to *Plasmodium falciparum* malaria, *J Transl Med*, vol. 13, p. 369, Nov 24 2015.
- [101] A. B. Elhussein, M. A. Huneif, A. Naeem, O. E. Fadlseed, W. G. Babiker, N. E. Rahma, *et al.*, Correlation of interleukin-4 levels with *Plasmodium falciparum* malaria parasitaemia in Sudanese children, *Acta Clin Belg*, vol. 70, pp. 414-8, Dec 2015.

- [102] L. K. Erdman, C. Petes, Z. Lu, A. Dhabangi, C. Musoke, C. M. Cserti-Gazdewich, et al., Chitinase 3-like 1 is induced by *Plasmodium falciparum* malaria and predicts outcome of cerebral malaria and severe malarial anaemia in a case-control study of African children, *Malaria journal*, vol. 13, p. 279, 2014.
- [103] E. A. Achidi, T. O. Apinjoh, C. N. Yafi, R. Besingi, J. K. Anchang, N. W. Awah, et al., Plasma levels of tumour necrosis factor-alpha, interleukin-10, interleukin-12, macrophage inhibition factor and transforming growth factor-beta in children with severe and uncomplicated *falciparum* malaria, *Journal of Tropical Diseases*, 2013.
- [104] P. Kinra and V. Dutta, Serum TNF alpha levels: a prognostic marker for assessment of severity of malaria, *Trop Biomed*, vol. 30, pp. 645-53, 2013.
- [105] A. L. Conroy, H. Phiri, M. Hawkes, S. Glover, M. Mallewa, K. B. Seydel, et al., Endothelium-based biomarkers are associated with cerebral malaria in Malawian children: a retrospective case-control study, *PLoS One*, vol. 5, p. e15291, Dec 29 2010.
- [106] A. L. Conroy, E. I. Lafferty, F. E. Lovegrove, S. Krudsood, N. Tangpukdee, W. C. Liles, et al., Whole blood angiopoietin-1 and -2 levels discriminate cerebral and severe (non-cerebral) malaria from uncomplicated malaria, *Malar J*, vol. 8, p. 295, Dec 15 2009.
- [107] D. Prakash, C. Fesel, R. Jain, P.-A. Cazenave, G. C. Mishra, and S. Pied, Clusters of cytokines determine malaria severity in *Plasmodium falciparum*-infected patients from endemic areas of Central India, *The Journal of infectious diseases*, vol. 194, pp. 198-207, 2006.
- [108] S. C. Chaiyaroj, A. S. M. Rutta, K. Muenthaisong, P. Watkins, M. Na Ubol, and S. Looareesuwan, Reduced levels of transforming growth factor- β 1, interleukin-12 and increased migration inhibitory factor are associated with severe malaria," *Acta Tropica*, vol. 89, pp. 319-327, 2004.