

La patogenia de la malaria severa

Geoffrey Pasvol

Inglaterra

INTRODUCCION

Una cuarta parte de la población mundial todavía tiene riesgo de contraer la malaria. En el mundo entero cada año se presenta un poco más de 250 millones de casos. De las cuatro especies conocidas de parásitos maláricos que infectan al hombre, los síntomas más severos son los causados por el *Plasmodium falciparum*, el cual es el responsable de la muerte de más de un millón de personas cada año en Africa (1). Mientras que las infecciones debidas a *Plasmodium vivax*, ovale y *malariae* tienen una ínfima mortalidad, no obstante ellas producen indudablemente mayor morbilidad, cuya extensión es difícil estimar.

En las áreas endémicas, la mayoría de los individuos de la población en general están infectados con parásitos maláricos, pero sólo una minoría desarrolla los síntomas de la enfermedad, y aún más, son muy pocos los que llegan a presentar las manifestaciones severas de esta enfermedad, como son el ataque cerebral y la anemia. Se sabe muy poco el por qué algunos individuos infectados permanecen asintomáticos, otros se hacen sintomáticos con enfermedad moderada y otros desarrollan la enfermedad en su forma fulminante (2). La relativa frecuencia de las dos mayores complicaciones mencionadas, varía quizás dependiendo de la endemicidad. En el Africa, por ejemplo, la insuficiencia renal, edema pulmonar, colapso circulatorio y coagulación intravascular diseminada son hechos raros, en comparación con el sureste asiático.

En Africa, la anemia tiende a ocurrir en personas de menor edad, y el compromiso cerebral en personas mayores, observación ésta que no se ha explicado plenamente, y pareciera que aquellos que desarrollan manifestaciones cerebrales hubieran estado desguar-

necidos frente al parásito.

Malaria cerebral

Todavía no entendemos completamente el por qué pacientes con malaria *falciparum* severa llegan a esa extrema gravedad y mueren (3). En la malaria cerebral parece que no hay una reducción del flujo sanguíneo total cerebral, aunque el flujo sanguíneo arterial que va al cerebro tiene una oxigenación relativamente menor. La malaria cerebral puede ocurrir con ausencia de una reacción celular inflamatoria, con ausencia de invasión directa al tejido, sin que necesariamente haya una ruptura en la barrera sangre-cerebro, sin edema cerebral, sin coagulación vascular diseminada, hipoglucemia o alguna evidencia de un mecanismo inmunopatológico, para la disfunción cerebral observada. En las autopsias, aparte de la pigmentación debida a la hemozoina, por la descomposición de la hemoglobina y aisladas hemorragias petequiales y algunos otros hallazgos menores, el cerebro aparece en estado relativamente normal.

Pero en cambio, el síndrome parece estar relacionado con los esquizontes, dispuestos en paquetes muy apretados, en los pequeños capilares del cerebro (un proceso de secuestación) que a su vez se produce por (4):

- I. un proceso de citoadherencia por el cual las células infectadas con esquizontes específicamente se adhieren a las células endoteliales y,
- II. un proceso de formación de rosetas, por el cual las células no infectadas se adhieren a los esquizontes formando masas aglutinadas que pueden introducirse y atascarse en esos pequeños vasos. Recientemente se ha invocado en la patogénesis de la malaria cerebral en niños la ocurrencia de una presión intracraneal elevada. En Africa oriental, 26 niños con malaria presentaron un aumento de la presión del líquido

Presentado en la Academia Nacional de Medicina el día 1º de julio de 1993.

céfalo-raquídeo y todos los niños que murieron presentaron evidencias clínicas de un síndrome de hernia central o del tallo cerebral, síndrome en el cual el tallo cerebral parece ser comprimido progresivamente a través de la muesca tentorial. Ninguno de aquellos pacientes en los que hubo evidencia de compresión del tallo cerebral se recuperó. Estudios con Doppler en la arteria cerebral media mostraron inversión del flujo sanguíneo en la diástole, signo característico de hernia central.

Anemia

La patofisiología de la anemia a malaria falciparum es a la vez compleja y multifactorial (6) y conduce a una condición que es la mayor causa de mortalidad y morbilidad en pacientes, especialmente niños y mujeres embarazadas. La importancia de la anemia como causa de muerte en la malaria puede muy bien ser subestimada debido a la dificultad de su diagnóstico, especialmente si la parasitemia es baja y el cuadro clínico la hace confundir con otras causas de anemia. Predominan dos formas clínicas de presentarse la enfermedad: malaria severa aguda en la cual sobreviene la anemia y anemia severa en pacientes en los cuales la enfermedad se desarrolla insidiosamente. Los mecanismos principales son los de la destrucción de los hematíes y la disminución de su producción. El primero comprende la pérdida de las células infectadas por su ruptura o por fagocitosis y eliminación de células no infectadas debido a sensibilización por anticuerpos o también por cambios físico-químicos a nivel de las membranas, y particularmente por un aumento de la actividad reticuloendotelial en órganos tales como el bazo y la médula ósea. La disminución de la producción se debe a la hipoplasia medular que se ve en infecciones agudas y la diseritropoyesis, una aparición morfológica, que en términos funcionales conduce a una eritropoyesis ineficaz o inefectiva. En algunos casos se ha postulado el papel del parvovirus como una posible causa de aplasia medular (7). Otras importantes complicaciones de la malaria severa incluyen edema pulmonar, que conduce al síndrome de fatiga respiratoria del adulto, la fiebre biliosa hemoglobínúrica, la insuficiencia renal, y la coagulación intravascular diseminada. No obstante, los mecanismos que llevan a estas complicaciones no están aún completamente dilucidados. Un buen número de interacciones celulares y moleculares sobresalen en la patogénesis de la enfermedad severa. Estos incluyen entre otros,

invasión de los hematíes por merozoitos, citoadherencia a las células endoteliales, adherencia de los esquizontes a los hematíes no infectados, formando rosetas; la producción de una "toxina" por el parásito, que conduce a la producción de citokina, factor necrosis tumoral, y el desarrollo de hipoglicemia.

Invasión

La invasión es un proceso altamente específico, ordenado y secuencial en el cual los merozoitos se adhieren a los hematíes susceptibles, se orientan de tal manera que su extremo apical está apuesto a la membrana del hematíe, y entonces lentamente se deslizan hacia una invaginación del glóbulo rojo (8). Esta invaginación se continúa con la superficie del glóbulo rojo, pero a este nivel, a diferencia del resto de la membrana, hay una disminución de partículas intramembranosas densas al microscopio electrónico. Investigaciones recientes sugieren que esta membrana vacuolar parasitófora probablemente es del parásito, más que de origen en el glóbulo rojo. Una vez que el parásito llega a estar rodeado por la membrana vacuolar parasitófora, viene a estar dentro del citosol del glóbulo rojo. Ha sido materia de intensa investigación reciente la identificación de las moléculas de la superficie del glóbulo rojo a las cuales se adhieren los merozoitos. Juegan un papel importante las sialoglucoproteínas o glucoforinas del hematíe, especialmente GPA y GPB (9,10). Además parece que son importantes en estas moléculas los tetrasacáridos O-ligados, más que los mucho más grandes azúcares N-ligados. La invasión de células no infectadas por parásitos parece estar en correlación con la adherencia de una molécula parasitaria conservada, el antígeno que adhiere al eritrocito de 175kD (EBA 175) a estas células; el EBA 175 ha sido clonado (o sea aislado y reproducido) y secuenciado y demuestra un producto de traducción de 1 435 aminoácidos. Anticuerpos a un péptido sintético de 44 residuos en longitud (EBA péptido 4) inhiben la invasión y bloquean la adherencia de la molécula madre al glóbulo rojo. Además el péptido 4EBA está conservado entre un número de cepas de *P. falciparum* de diferentes partes del mundo, haciéndolo un posible candidato para vacuna. EBA 175 parece reconocer el ácido N-acetil neuramínico ligado en una alfa 2-3 configuración a la galactosa, pero no el otro ácido neuramínico de los tetrasacáridos en el GP, que está ligado en una configuración alfa 2-6 (11). Evidencias actuales no indican que tenga algún papel la banda

3 de los glóbulos rojos en el reconocimiento de los merozoitos, aunque dicha banda puede estar involucrada en un estadio subsiguiente en el proceso de invasión. Una vez que se produce la adherencia y la orientación, sigue la interiorización, pero las moléculas que están involucradas en este proceso aún no han sido identificadas. Buscando un lugar en GPA, un particular epítotope, (o sea la parte específica del antígeno que es reconocido por el anticuerpo) Wr^b , pareció particularmente interesante, puesto que un número de anticuerpos monoclonales Wr^b marcadamente inhiben la invasión. No obstante, cuando fueron probadas células Wr^b negativas, ellas fueron muy susceptibles a la invasión, indicando esto que los anticuerpos estaban actuando por otros mecanismos distintos del bloqueo del receptor (12). Probando la deformabilidad de los glóbulos rojos (por ectacitometría, que examina cómo las células se deforman cuando están expuestas al estrés por cortes, "maltratos", distorsión y la movilidad lateral de GP (usando el método de recuperar la fluo-rescencia después de fotoblanquear (FRAP), indica que las alteraciones en las propiedades fisico-químicas de la membrana de los eritrocitos pueden ser responsables por la disminución de la invasión inducida por estos anticuerpos.

Citoadherencia

La citoadherencia es el proceso por el cual células maduras infectadas específicamente se adhieren a las células endoteliales en las vénulas postcapilares (13). Si se examinan los eritrocitos con el microscopio electrónico de barrido, se aprecia que aparecen en la superficie de la célula un número de protuberancias dispuestas en forma simétrica y regular a medida que se desarrolla el parásito inmaduro del *Plasmodium falciparum*. Se cree que estas "protuberancias" son el punto o el lugar por donde los glóbulos rojos parasitados se adhieren a la célula endotelial en los tejidos profundos y este sitio de contacto puede ser visualizado por microscopio electrónico de transmisión. Varias proteínas han sido identificadas con las protuberancias y ellas incluyen:

1. proteína rica en histidina, que induce una excrecencia debajo de la capa bilípida, y la cual se cree está adherida al citoesqueleto. Esta proteína es también conocida como KAHRP (histidina rica en proteína asociada a la protuberancia).
2. un número de proteínas de alto peso molecular que se cree protruyen desde la proteína rica en histidina (HRP), de las cuales la mejor conocida

es el *Plasmodium falciparum* membrana eritrocito proteína 1 (Pf EMP 1), la cual muestra variación en tamaño y propiedades antigénicas. Además puede estar involucrada una modificación de la banda 3.

3. Una proteína asociada estructuralmente con la "protuberancia", tal como MESA (superficie antigénica de un eritrocito infectado con parásitos maduros), también conocida como Pf EMP2.

La Pf EMP1 o sea el *Plasmodium falciparum* proteína 1 de membrana eritrocítica sufre o experimenta una variación fenotípica antigénica, análoga en muchos modos al recubrimiento variable del tripanosoma, el cual se desprende bajo presión inmune, para ser reemplazado por una variante diferente. Tal mecanismo puede ser responsable al menos en parte por la evasión de la inmunidad del huésped. Ha sido difícil de lograr la purificación del Pf EMP1, aunque el suero adulto hiperinmune puede precipitar este antígeno que parece estar localizado exclusivamente en el lugar de la "protuberancia". Se cree que el Pf EMP1 está unido a un número de elementos potencialmente favorables para adherirse a la superficie de las células endoteliales, los cuales en el momento incluyen: a) la molécula de adhesión CD36, expresada en plaquetas, monocitos/macrófagos y precursores tempranos de eritrocitos. b) ICAM 1, el elemento a ser ligado por la integrina leucocitaria LFA-1. c) más recientemente han sido también implicados otro miembro de la IgG, superfamilia VCAM-1 y la selección ELAM1 (14).

No obstante se cree que es completamente diferente la especificidad de la adherencia a cada una de estas varias moléculas, y todavía está por establecerse cuál de estos elementos aptos para estas adherencias es o son los receptores definitivos al cual se ligan los glóbulos rojos parasitados, en la enfermedad en el hombre. No se ha establecido todavía si el Pf EMP1 es la molécula a la cual se unen los tres.

Formación de rosetas

Una interacción enteramente diferente a la citoadherencia ocurre en la formación de las rosetas, que como dijimos se forman por la adherencia de eritrocitos no infectados a los eritrocitos que contienen estadios maduros del parásito. El interés en la formación de rosetas deriva de su posible papel como un factor de la virulencia parasitaria (15). En un estudio en Gambia, todos los casos de *P. falciparum* obtenidos de niños con malaria cerebral fueron capaces de formar rosetas, mientras que

muchas muestras de pacientes con enfermedad leve no fueron capaces de tal formación de rosetas. Además el plasma de niños con enfermedad leve pudo más frecuentemente romper las rosetas que el plasma de pacientes con malaria cerebral. Ha sido demostrado que un anticuerpo monoclonal al HRP específicamente rompe las rosetas; un hallazgo sorprendente, puesto que se pensó que la localización de esta proteína estaba debajo de la capa bilípida en el citoesqueleto del glóbulo rojo. Mientras que un grupo ha implicado a un grupo de moléculas de bajo peso molecular sobre los eritrocitos infectados, llamadas las "rosetinas" y el ABO azúcares del grupo sanguíneo en las células no infectadas (16), otro grupo ha implicado respectivamente el PFEMP1 y el CD36 (17).

Otros mecanismos

Ha sido activamente buscada la posibilidad de una "toxina", pero la identificación de tal molécula ha permanecido difícil de demostrar (18). En todo caso se ha sugerido, entre otras cosas, que tal toxina resulta de la liberación del factor citokina, tumor necrosis (TNF) (19). Ciertamente, hay una buena correlación entre altos niveles de este factor citokina tumor necrosis y el resultado de la malaria. Este factor puede ser el responsable de la fiebre, leucocitosis, el aumento de la hipoglucemia, la diseritropoiesis y posiblemente también por el deterioro de la conciencia que se observa en la malaria. Otras citokinas, tales como las interleukinas 1,2,6,8 y el gama interferón pueden muy bien también jugar su papel. Una complicación importante de la malaria es la ocurrencia de hipoglucemia y esto se produce por múltiples causas: disminución del almacenamiento debido en gran parte a inanición y/o a malnutrición, malabsorción de la glucosa debido a la disminución del flujo sanguíneo esplácnico, aumento del metabolismo de los tejidos, utilización de la glucosa por el parásito, alteración de la gluconeogénesis e hiperinsulinemia debido a la terapia con quinina (20). El metabolismo de la glucosa trae como consecuencia la producción de lactato, que lleva a una severa acidemia. Se ha demostrado recientemente que la acidemia es uno de los factores de pronóstico más importante en la malaria severa (21). Se ha demostrado que la acidemia está asociada con anomalías del ritmo respiratorio (espe-

cialmente con ritmo respiratorio bajo) y muerte.

CONCLUSION

La resistencia del huésped puede ser un factor importante en el desarrollo de enfermedad severa y muchas de las hemoglobinopatías, más notablemente el rasgo falciforme ha sido demostrado que confiere una protección significativa contra la enfermedad severa y la muerte. Muy recientemente un caso estudiado en control en Gambia en Africa Occidental ha demostrado protección significativa por el HLA clase I antígeno HLA-BW53 contra la malaria cerebral y la anemia cerebral y protección por una clase II haplotipo (DRB1 *1302-DQB1*)501) contra la anemia cerebral (22).

El estudio de la malaria severa es todavía un área fascinante de investigación. Todos los órganos del cuerpo humano están afectados y en este respecto la malaria se destaca como un paradigma en la investigación biomédica. Las investigaciones iniciadas en el sudeste asiático han revolucionado en los últimos 10 años nuestra comprensión de esta importante y a menudo letal enfermedad, pero también trabajos en niños africanos han destacado muchas claras diferencias. La anemia severa en Sur América puede todavía guardarnos muchas sorpresas.

Reconocimientos

Quisiera agradecer a muchas personas que han hecho posible mi visita a Venezuela. Esta no se hubiera materializado, sin la inspiración de Francisco Kerdel Vegas y el apoyo del British Council, y en particular de Mr. John Coope. Estoy muy agradecido al Dr. Blas Bruni Celli y a la Academia Nacional de Medicina por la invitación a venir a esta sesión, y también al Dr. Pablo Pulido del Centro Médico Docente La Trinidad por su ayuda y apoyo.

REFERENCIAS

1. Sturchler D. How much malaria is there worldwide? *Parasitology Today* 1989;5:39-40.
2. Greenwood B, Marsch K, Snow R. Why do some African children develop severe malaria? *Parasitology Today* 1991;7:277-281.
3. White NJ, Ho M. The pathophysiology of malaria. *Adv in Parasitol* 1992;31:83-173.
4. MacPherson GG, Warrell MJ, White NJ, Looareesuwan S, Warrell DA. Human cerebral malaria. A quantitative

- ultrastructural analysis of parasitized erythrocyte sequestration. *Am J Pathol* 1985;119:385-401.
5. Newton CRJC, Kikham FJ, Winstanley PA, Pasvol G, Pashu N, Warrell DA, Marsch K. Intracranial pressure in african children with cerebral malaria. *Lancet* 1991; 337:573-576.
 6. Phillips RE, Pasvol G. The anemia of Plasmodium falciparum malaria. *Balliere's Clinical Haematology* 1992;5:315-330.
 7. Jones PH, Pickett LC, Anderson MJ, Pasvol G. Human parvovirus infection in children and severe anaemia in an area endemic for malaria. *J Trop Med Hyg* 1990;93:67-70.
 8. Pasvol G, Clough B, Carlsson J. Malaria and the red cell. *Blood Rev* 1992;6:183-192.
 9. Pasvol G, Wainscoat JS Weatherall DJ. Erythrocytes deficient in Glycophorin. A resist invasion by the malarial parasite Plasmodium falciparum. *Nature* 1982;297:64-66.
 10. Pasvol G, Carlsson J, Clugh B. The red cell membrane and invasion by malarial parasites. *Balliere's Clinical Haematology* 1993;6:513-534.
 11. Orlandi PA, Klotz FW, Haynes JD. A malaria invasion receptor, the 175-Kilodalton erythrocyte binding antigen of Plasmodium falciparum recognizes the terminal Neu 5Ac (a2-3) Gal-sequences of glycophorin A. *J Cell Biol* 1992;116:901-909.
 12. Pasvol G, Chasis JA, Mohandas N, Anstee DJ, Tanner MJA, Merry A. Inhibition of malarial parasite invasion by monoclonal antibodies against glycophorin A correlates with reduction in red cell membrane deformability. *Blood* 1989;74:1836-1843.
 13. Berendt AR, Ferguson DJP, Newbold CL. Sequestration in Plasmodium falciparum malaria: sticky cells and sticky problems. *Parasitology Today* 1990;6:247-254.
 14. Ockenhouse CF, Tegoshi T, Maeno Y, Benjamin C et al. Human vascular adhesion receptors for Plasmodium falciparum infected erythrocytes: roles for endothelial leukocyte adhesion molecule 1 and vascular cell adhesion molecule 1. *J Exp Med* 1992;176:1183-1189.
 15. Carlson J, Helmby H, Hill AVS, Brewster et al. Human cerebral malaria: association with erythrocyte rosetting and lack of antirosetting antibodies. *Lancet* 1990; 336:1457-60.
 16. Carlson J, Wahlgren M. Plasmodium falciparum erythrocyte rosetting is mediated by promiscuous lectin like interactions. *J Exp Med* 1992;176:1311-1317.
 17. Handunnetti SM, Van Schavendijk MR, Hasler T, Barnwell JW et al. Involvement of CD36 on erythrocytes as a rosetting receptor for Plasmodium falciparum infected erythrocytes. *Blood* 1992;80:2097-2104.
 18. Bate CAW, Taverne J, Playfair HJ. Soluble malaria antigens are toxic and induce the production of tumour necrosis factor in vivo. *Immunology* 1989;66:600-605.
 19. Clark IA, Cowden WB, Butcher GA, Hunt NH. Possible roles of tumor necrosis factor in the pathology of malaria. *Am J Pathol* 1987;129:192-199.
 20. Taylor TE, Molyneux ME, Wirima JJ, Fletcher K, Morris K. Blood glucose levels in malawian children before and during the administration of intravenous quinine for severe falciparum malaria. *N Engl J Med* 1988;319:1040-1047.
 21. Taylor TE, Borgstein A, Molyneux ME. Acid base status in paediatric Plasmodium falciparum malaria. *Q J Med* 1993;86:99-109.
 22. Hill AVS, Allsopp CEM, Kwiatkowski D, Anstey D et al. Common West African HLA antigens are associated with protection from severe malaria. *Nature* 1991; 352:595-600.