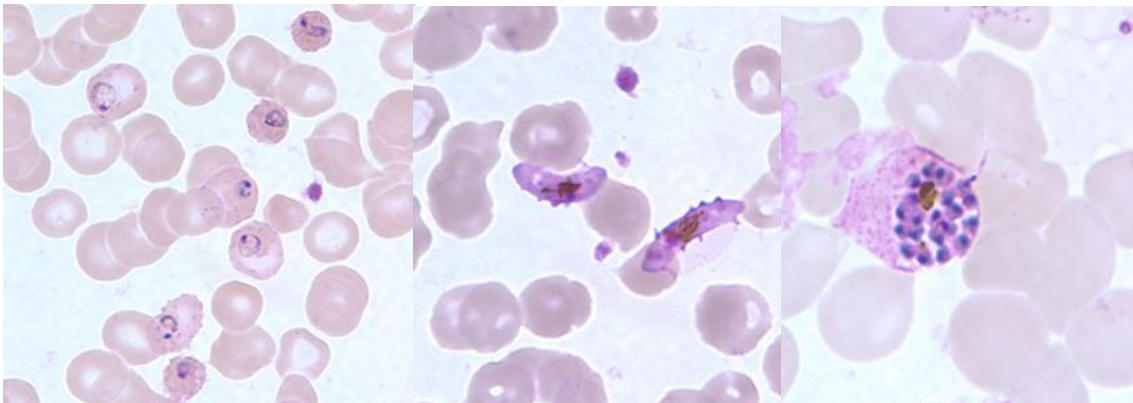


UNIVERSIDAD DE SEVILLA

FACULTAD DE FARMACIA



LA RESISTENCIA A LA MALARIA EN EL SER HUMANO

TRABAJO FIN DE GRADO

Julia Ortega Chisvert

2022

UNIVERSIDAD DE SEVILLA

FACULTAD DE FARMACIA

GRADO EN FARMACIA



LA RESISTENCIA A LA MALARIA

DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA

Trabajo Fin de Grado de carácter bibliográfico

Julia Ortega Chisvert

Tutora: Ángela María García Sánchez

Sevilla, junio de 2022

RESUMEN

El paludismo o malaria es la parasitosis más importante del ser humano. El responsable de esta enfermedad es un protozoo del género *Plasmodium* que es transmitido a través de la picadura de la hembra del mosquito *Anopheles*. Son cuatro las especies más importantes: *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae*, *P. falciparum*.

Estos parásitos han coexistido y evolucionado durante miles de años con las personas, lo que ha favorecido la selección natural de ciertas mutaciones en genes importantes para el funcionamiento del eritrocito. Por ello, en lugares con alta incidencia de malaria, podemos observar una alta prevalencia de ciertos polimorfismos genéticos relacionados con algunas hemoglobinopatías, como la hemoglobina S, la deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PD) o el antígeno Duffy.

En los individuos heterocigotos se ha observado que la hemoglobina S constituye un factor de protección contra la malaria, mientras que, en los homocigotos constituye un factor de riesgo. Esta protección es debida a una detención del crecimiento del parásito a bajas concentraciones de O₂ y a una exposición anormal de la proteína PfEMP1.

El déficit de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa también proporciona protección frente a la malaria. Al producirse la infección por *Plasmodium*, se generan numerosos compuestos oxidantes que van a producir alteraciones en la membrana del hematíe. Los individuos con este déficit no son capaces de solucionar esto y las células alteradas acaban siendo eliminadas, produciéndose hemólisis. Además, el parásito es muy sensible a los agentes oxidantes.

Otro polimorfismo ventajoso en estudio es el del antígeno Duffy. Se ha visto que en personas Duffy negativas el parásito no invade los glóbulos rojos, mientras que sí lo hace en individuos Duffy positivos.

El estudio de todos estos polimorfismos y su relación con la malaria podría, en un futuro, abrir camino hacia nuevos tratamientos o vacunas frente a la enfermedad.

PALABRAS CLAVE: malaria, paludismo, resistencia, hemoglobina S, glucosa 6-fosfato-deshidrogenasa, antígeno Duffy.

ÍNDICE

1.	INTRODUCCIÓN	4
1.1.	Qué es la malaria	4
1.2.	Phylum apicomplexa	5
1.3.	Ciclo biológico	6
1.4.	Morfología e identificación de especies de <i>Plasmodium</i>	8
1.5.	Fisiopatología de la enfermedad	11
1.6.	Sintomatología.....	13
1.7.	Epidemiología.....	15
1.8.	Vector del paludismo: mosquito <i>Anopheles</i>	16
1.9.	Diagnóstico.....	17
1.10.	Profilaxis	18
2.	OBJETIVOS DE LA REVISIÓN	21
3.	METODOLOGÍA	22
4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	23
4.1	Anemia de células falciformes. Hemoglobina S	23
4.2	Déficit de glucosa 6 fosfato deshidrogenasa (G6PD)	26
4.3	Eritrocitos duffy negativos	30
5.	CONCLUSIONES	32
6.	BIBLIOGRAFÍA	33

1. INTRODUCCIÓN

1.1. QUÉ ES LA MALARIA

El paludismo o malaria es una enfermedad producida por protozoos intracelulares del género *Plasmodium* y transmitida por la picadura del mosquito *Anopheles* (Fleta Zaragoza, 2001). El género *Plasmodium* pertenece al phylum Apicomplexa. Se han identificado más de 100 especies que parasitan aves, mamíferos y reptiles, pero son cuatro las especies responsables de la malaria en el ser humano (Romero Cabello et al., 2018):

- *Plasmodium falciparum*: es la más patógena y es la causante de la fiebre terciana maligna y sus complicaciones.
- *Plasmodium vivax*: causante de la fiebre terciana benigna, frecuentemente recurrente.
- *Plasmodium ovale*: causante de la fiebre terciana benigna recurrente.
- *Plasmodium malariae*: causante de la fiebre cuartana (Gállego Berenguer, 2006).

Es la parasitosis más importante del ser humano; según el último informe mundial de malaria de la OMS, se estima que en 2020 hubo 241 millones de casos y 627.000 muertes. La Región de África de la OMS es la mayor afectada (96% de todas las muertes por malaria en 2020) y son los niños menores de 5 años los que más sufren las consecuencias de la enfermedad, ya que constituyen el 80% de las muertes por malaria en esta región (OMS, 2021b).

La enfermedad es capaz de producir una gran diversidad de síntomas, que pueden ser muy leves (paludismo no complicado) o producir una infección grave y potencialmente mortal (paludismo grave). Los parásitos invaden en primer lugar el hígado y luego los eritrocitos. La sintomatología es producida por los estadios intraeritrocíticos del parásito. Al desarrollarse en el interior de los glóbulos rojos, generan gran cantidad de sustancias de desecho, entre ellas el pigmento de hemozoína y otros factores tóxicos, que se acumulan en el eritrocito parasitado. Finalmente, se produce la lisis del glóbulo rojo y la liberación de estas sustancias al torrente sanguíneo, desencadenando una respuesta inmune que da lugar a los síntomas característicos de la enfermedad (CDC, 2019).

El cuadro clínico se caracteriza por ciclos de fiebre, escalofríos y malestar general. Conforme la enfermedad evoluciona aparece hepatoesplenomegalia y anemia. La fiebre se produce al tener lugar la lisis de los eritrocitos, que tiene lugar cada 48 h en las infecciones por *P. ovale* y *P. vivax* (fiebres tercianas) y cada 72 h en *P. malariae* (fiebres cuartanas). Este ciclo es irregular en *P. falciparum* (Prats Pastor, 2012).

1.2. PHYLUM APICOMPLEXA

El phylum Apicomplexa constituye un amplio grupo de protozoos intracelulares obligados que se caracterizan por la presencia de un orgánulo llamado complejo apical, estructura que permite la penetración de los parásitos al interior de la célula (Prats Pastor, 2012).

El complejo apical contiene ADN de 35kb y representa un tercer tipo de genoma de la célula. Está formado por varias estructuras (Apt Baruch, 2013) (Figura 1):

- Conoide: contiene proteínas cuya función es adherirse a la célula del hospedador.
- Anillo polar: estructura que permite un aumento de diámetro del polo anterior.
- Roptrias y micronemas: se encuentran en el interior del conoide. El micronema contiene un grupo de proteínas esenciales en la interacción parásito-hospedador de todos los apicomplexa.

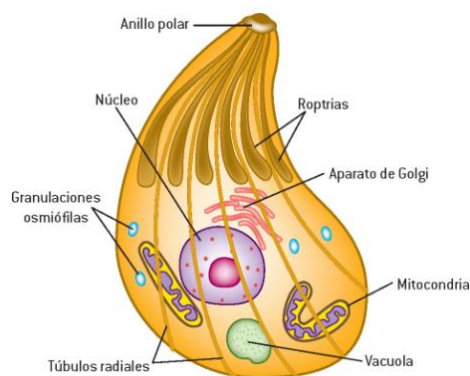


Figura 1. Estructura protozoo Apicomplexa (Apt, 2013)

Los zoítos, al ponerse en contacto con la superficie de las células del hospedador, producen una señal que se transduce y provoca la reorientación de los mismos, la exocitosis del micronema y la fijación a la célula. A continuación, se produce la exocitosis de las roptrias y formación de la vacuola parasitófora a partir los lípidos de membrana de la célula del hospedador (Apt Baruch, 2013).

Los apicomplexa son parásitos intracelulares heteroxenos, es decir, requieren más de un hospedador para completar su ciclo biológico, el cual alterna fases de reproducción sexual y asexual, presentando tres fases: esquizogonia o merogonia (multiplicación asexual), gamogonia (fase sexual, oogamia con microgametos y macrogametos) y la esporogonia (multiplicación asexual del cigoto que produce numerosos esporozoítos) (Apt Baruch, 2013).

1.3. CICLO BIOLÓGICO

El ciclo biológico de *Plasmodium* spp. (Figura 2) es un ciclo heteroxeno obligado y bicompartimental (Gállego Berenguer, 2006). Necesita dos hospedadores para cumplir su ciclo biológico: un hospedador intermediario, el ser humano, en el que se realiza la reproducción asexual o esquizogónica del parásito, y un hospedador definitivo, mosquito hembra del género *Anopheles*, donde se efectúa la reproducción sexual y, posteriormente, la esporogonia (Fleta Zaragoza, 2001).

En el ser humano, se llevan a cabo dos fases de división asexual o esquizogonia: una fase hepática (esquizogonia exoeritrocítica) y una fase hemática (esquizogonia eritrocítica) (Prats Pastor, 2012).

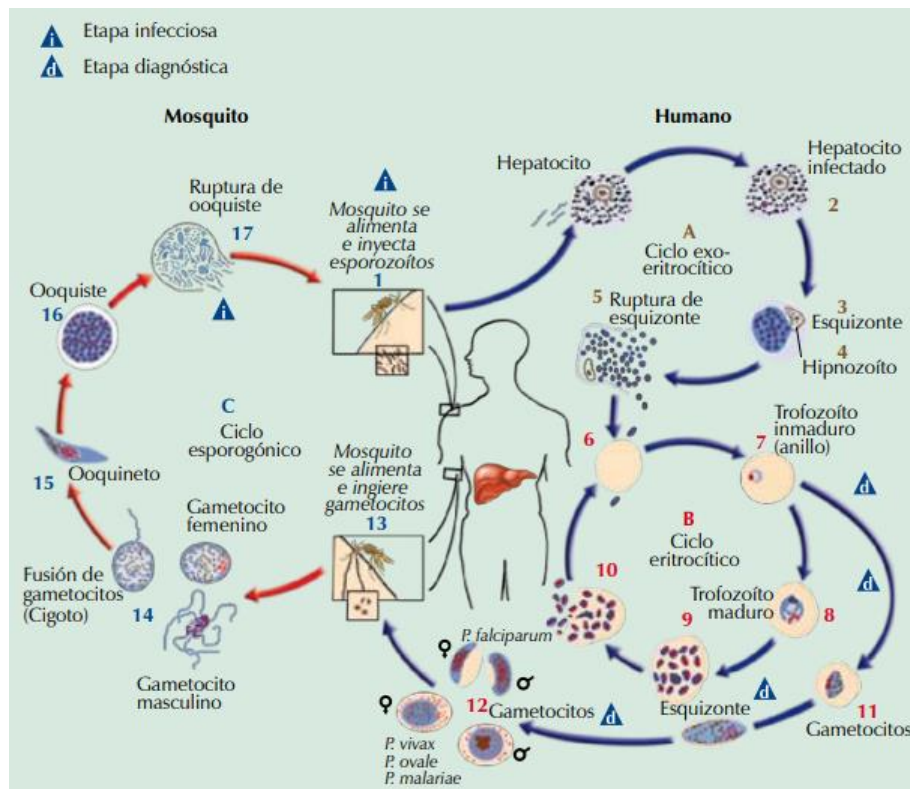


Figura 2. Ciclo biológico de *Plasmodium* spp. (Campuzano y Blair, 2010).

El ciclo se inicia con la inoculación de los esporozoítos contenidos en las glándulas salivares del mosquito a la sangre de una persona durante la picadura. Los esporozoítos tienen una forma alargada fusiforme y fina con un núcleo central y un tamaño de 12 a 15 μm de longitud (Prats Pastor, 2012).

Tras su inoculación, llegan a través de la sangre a los hepatocitos, en los que penetra, comenzando aquí la fase hepática. Dentro de los hepatocitos, se multiplican asexualmente por

división múltiple (esquizogonia exoeritrocítica), dando lugar a numerosos merozoítos. Tras unos 8 días, los merozoítos pasan a la sangre y penetran en los glóbulos rojos, iniciando la fase hemática o eritrocítica (Prats Pastor, 2012).

En el caso de las especies *P. vivax* y *P. ovale*, hay formas del parásito que se desarrollan a nivel hepático con lentitud y permanecen de forma latente durante meses o años. Estas formas reciben el nombre de hipnozoítos y, cuando se reactivan por factores aun desconocidos, continúan su desarrollo produciendo nuevos merozoítos, lo que provoca la recaída de los pacientes en los que aparentemente había sido eliminada la enfermedad (Romero Cabello et al, 2018).

El ciclo eritrocitario comienza cuando los merozoítos pasan a la sangre y penetran en los eritrocitos. En ellos, los merozoítos se transforman en trofozoítos jóvenes. Estos son nucleados y se tiñen de color rojo con la tinción de Giemsa. Tienen un anillo de citoplasma que se tiñe de color azul y una vacuola digestiva grande. En esta etapa es difícil determinar la especie, aunque en el caso de *P. falciparum* puede haber dos o más parásitos dentro del mismo eritrocito. Estos trofozoitos reciben el nombre de “forma de anillo” (Apt Baruch, 2013).

El trofozoíto joven comienza a alimentarse de la hemoglobina del eritrocito y crece con rapidez, el citoplasma se agranda y la vacuola digestiva se hace menos patente. En trofozoítos que están madurando, se pueden observar unos puntos de color rosa sobre la envoltura del glóbulo rojo infectado, lo cual es útil para la determinación específica de la especie de *Plasmodium* (puntos de Schüffner para *P. vivax* y gránulos de Maurer para *P. falciparum*). Además, aparecen en su citoplasma unos gránulos de pigmento que reciben el nombre de hemozoína y que corresponden al producto final de la digestión de la hemoglobina del glóbulo rojo (Apt Baruch, 2013).

A continuación, se inicia la multiplicación asexual, esquizogonia eritrocítica, formándose el esquizonte que dará lugar a un número variable de merozoítos eritrocíticos (Romero Cabello et al. 2018). Esto produce el estallido del glóbulo rojo y la liberación de estos merozoítos junto con el pigmento de hemozoína hacia el torrente sanguíneo. Si consiguen evadir los mecanismos inmunitarios del hospedador, invadirán nuevos eritrocitos comenzando una nueva esquizogonia y dando lugar a una nueva “generación” de parásitos (Apt Baruch, 2013).

El número de merozoítos producidos por esquizonte varía según la especie de *Plasmodium* al igual que la duración de cada esquizogonia eritrocítica. Esta tiene una duración de 48 horas

para *P. falciparum*, *P. vivax* y *P. ovale* (malaria terciana) y de 72 horas para *P. malariae* (malaria cuartana). Esto explica la periodicidad de los ciclos febriles (Apt Baruch, 2013).

Durante estos ciclos repetidos, algunos merozoítos, al penetrar en los hematíes, se diferencian en formas sexuales, gametocitos (macro y microgametocitos), que al ser ingeridos por el mosquito dan lugar a gametos en el estómago del insecto. El macrogametocito se convierte en macrogameto y el microgametocito vuelve a multiplicarse antes de madurar dando lugar a varios microgametos que poseen un flagelo. El microgameto mediante tropismo localiza un macrogameto, penetra en él y se fusionan los núcleos, teniendo lugar la fecundación. Esto dará lugar a la formación de un cigoto o huevo que es móvil y recibe el nombre de ooquineto. El ooquineto penetra en la pared intestinal donde deja de ser móvil y pasa a llamarse ooquiste (Romero Cabello et al. 2018).

El ooquiste, por esporogonia, da lugar a los esporozoítos (fase esporogónica). Tras la ruptura del ooquiste, los esporozoítos migran hacia las glándulas salivales del mosquito, donde permanecen hasta ser inoculados con la saliva en una nueva picadura (Romero Cabello et al. 2018).

1.4. MORFOLOGÍA E IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES DE *PLASMODIUM*

Las distintas especies del género *Plasmodium* que parasitan al ser humano pueden ser identificadas en función de la morfología de sus estadios intraeritrocíticos (Figura 3).

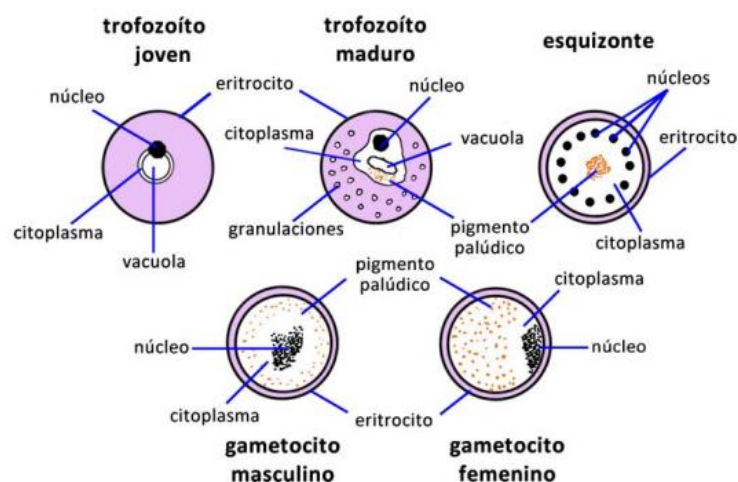


Figura 3. Estadios intraeritrocíticos de *Plasmodium* spp. (García Más et al., 2008)

Plasmodium vivax

En un frotis sanguíneo se pueden observar trofozoítos, esquizontes y gametocitos. Los eritrocitos parasitados aumentan de tamaño y presentan puntos de Schüffner.

El trofozoíto joven (Figura 4A) tiene forma de anillo, ya que su citoplasma se dispone formando un círculo alrededor de una gran vacuola y ocupa aproximadamente un tercio del diámetro del eritrocito. Presenta un gránulo denso de cromatina que conforma el núcleo. Al madurar, el trofozoíto adquiere forma amebode, irregular, y ocupa casi todo el eritrocito. Se pueden observar pequeños gránulos de pigmento pardo (García Más et al., 2008).

El esquizonte (Figura 4B) es grande e irregular, ocupa casi todo el eritrocito. Contiene de 12 a 24 merozoítos dispuestos de forma irregular.

El macrogametocito (Figura 4C) es grande y redondeado u ovalado. Presenta un citoplasma homogéneo con un núcleo compacto excéntrico. El microgametocito también es redondo u oval y presenta un núcleo central con cromatina difusa (García Más et al., 2008).

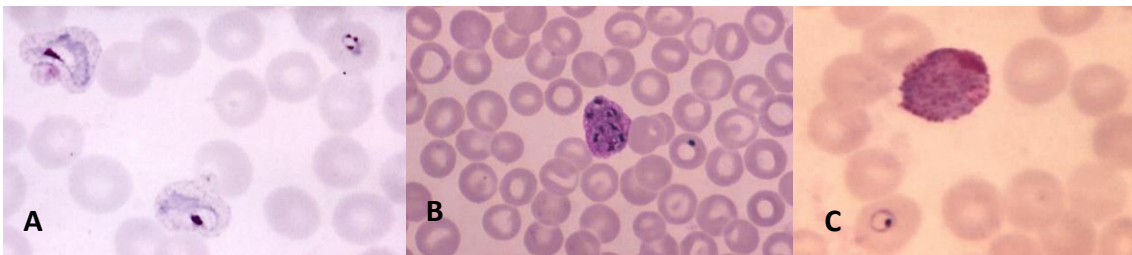


Figura 4. *Plasmodium vivax*. A. Trofozoítos, B. Esquizonte, C. Macrogametocito. (CDC, 2020b).

Plasmodium ovale

En un frotis sanguíneo se pueden observar todos los estadios. La mayoría de los eritrocitos parasitados adquieren una forma ovalada típica con mayor diámetro de lo normal y algunos presentan los extremos irregulares y rasgados. Además se pueden observar puntos de Schüffner (García Más et al., 2008).

Los trofozoítos son muy parecidos a los de *P. vivax*, aunque más grandes. El esquizonte es grande, ocupa hasta tres cuartas partes del eritrocito y contiene de 8 a 12 merozoítos dispuestos en racimos irregulares. El macro y el microgametocito (Figura 5) son muy parecidos a los de *P. vivax* aunque de menor tamaño (García Más et al., 2008).

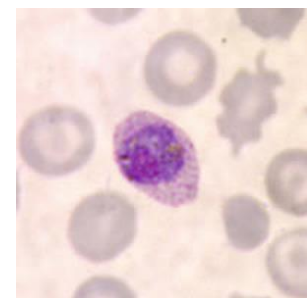


Figura 5. Microgametocito *P. ovale*. (CDC, 2020b).

Plasmodium falciparum

En un frotis sólo se observan trofozoítos y gametocitos. Los esquizontes (Figura 6A), que contienen de 18 a 32 merozoítos, no suelen identificarse ya que se adhieren a las paredes de los vasos internos. Los eritrocitos parasitados son de tamaño normal y en algunos aparecen puntos de color rosado grandes llamados gránulos de Maurer (Apt Baruch, 2013).

El trofozoíto joven (Figura 6B) tiene forma en anillo y ocupa aproximadamente una sexta parte del eritrocito. Presenta un círculo delgado de citoplasma y una o dos masas esféricas de cromatina. Además pueden observarse dos o más trofozoítos por eritrocito (Apt Baruch, 2013).

Tanto el macrogametocito como el microgametocito (Figura 6C) tienen forma característica de media luna o banana con los extremos puntiagudos o redondeados. El macrogametocito presenta un núcleo compacto y central, mientras que el microgametocito presenta un núcleo difuso y más excéntrico (García Más et al., 2008).

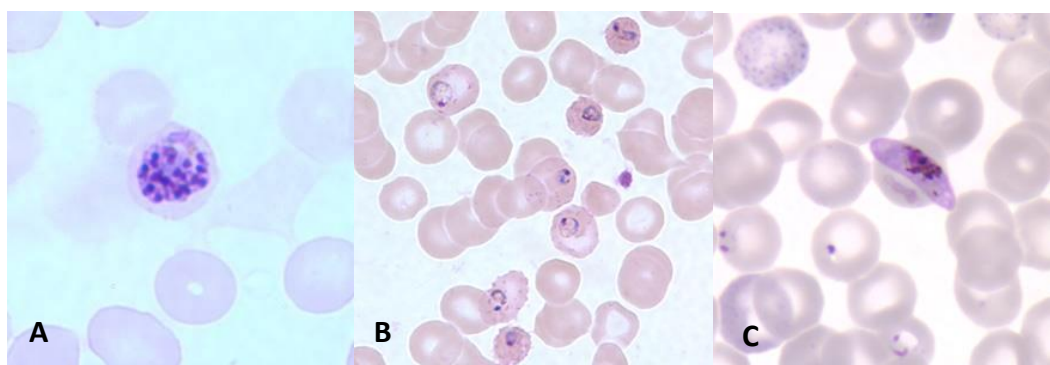


Figura 6. *Plasmodium falciparum*. A. Esquizonte, B. Trofozoito joven, C. Gametocito. (CDC, 2020b).

Plasmodium malariae

En un frotis se pueden observar todos los estadios. Los eritrocitos parasitados presentan un tamaño normal y sin gránulos.

Los trofozoítos jóvenes tienen forma de anillo y son muy parecidos a los de *P. vivax*. Los trofozoítos maduros (Figura 7) y esquizontes aparecen en forma de banda. Estos últimos contienen de 6 a 12 merozoítos dispuestos en forma de roseta con el pigmento palúdico central. El macrogametocito es redondeado con un núcleo excéntrico y citoplasma homogéneo. El microgametocito es redondeado y su núcleo es difuso (García Más et al., 2008).



Figura 7. Trofozoíto en banda *P. malariae*. (CDC, 2020b).

1.5. FISIOPATOLOGÍA DE LA ENFERMEDAD

La patogenia y sintomatología de la malaria dependen de la especie de *Plasmodium*, de su ciclo de vida y de la inmunidad del hospedador. Las alteraciones patológicas se producen con la ruptura de los eritrocitos parasitados y la liberación de merozoítos y sustancias de desecho a la sangre, que son elementos con carácter antigénico que estimulan a los macrófagos. Las moléculas del parásito con mayor potencial para estimular macrófagos son los fragmentos de glicosil-fosfatidil-inositol (GPI) del parásito. La estimulación de los macrófagos induce la producción de citoquinas proinflamatorias y altas concentraciones del Factor de Necrosis Tumoral α (TNF- α), que provocan un estado de inflamación sistémica produciendo la sintomatología clásica de la malaria (Campuzano y Blair, 2010).

La respuesta inmune se inicia desde la fase preeritrocítica, en la que los esporozoítos pueden ser reconocidos y bloqueados por anticuerpos específicos, generados por una exposición previa a *Plasmodium* o por inmunización. Sin embargo, esta respuesta no tiene una gran eficacia, ya que los esporozoítos están poco tiempo en la circulación. Los linfocitos T CD8+ pueden eliminar a los hepatocitos infectados pero esta respuesta es insuficiente y los merozoítos alcanzan la circulación, infectando a los eritrocitos. La fase eritrocítica se caracteriza por una respuesta inflamatoria importante, mediada por la activación de linfocitos NK, CD8 y CD4 que producen grandes cantidades de IFN- γ y otras citoquinas proinflamatorias. El IFN- γ activa las células fagocíticas y promueve la fagocitosis de los merozoítos presentes en la circulación y los eritrocitos infectados (Romero Cabello et al., 2018).

Plasmodium falciparum es la especie más patógena debido a las alteraciones que produce en los eritrocitos parasitados y a la expresión de moléculas de adherencia en la membrana de los mismos (Campuzano y Blair, 2010). Esto da lugar a un proceso denominado citoadherencia o secuestro. El parásito ha desarrollado los mecanismos de adherencia como una estrategia de supervivencia, ya que le permite evitar el paso por el bazo y, por tanto, evitar su destrucción y favorecer su multiplicación. Además, le permite protegerse del sistema inmune cubriéndose de eritrocitos no infectados y, disminuir el acceso de células del sistema inmune y citoquinas a los sitios de secuestro mediante bloqueo de la microcirculación (Vásquez y Tobón, 2012).

Este proceso de secuestro es debido a la citoadherencia del eritrocito infectado al endotelio vascular, la formación de rosetas (unión de hematíes infectados y no infectados), la disminución de la maleabilidad del eritrocito y, en el caso de la malaria placentaria, la unión de los parásitos a los proteoglicanos de la superficie de la placenta (Campuzano y Blair, 2010).

La citoadherencia se produce debido a la formación de protuberancias electrodenudas en la superficie de los glóbulos rojos infectados. Estas protuberancias reciben el nombre de “*knobs*” y contienen proteínas derivadas del parásito (Romero Cabello et al., 2018). Las principales proteínas responsables de las propiedades citoadhesivas de los eritrocitos infectados son miembros de la familia “*Plasmodium falciparum erythrocyte membrane protein-1*” (PfEMP-1) (Campuzano y Blair, 2010).

Las moléculas PfEMP-1 interactúan con receptores endoteliales y se adhieren principalmente a CD36, ICAM-1, trombospondina, PECAM/CD31 y condroitín sulfato A (CSA), en diferentes lechos vasculares, dependiendo de la afinidad de la PfEMP-1 por diferentes moléculas de adhesión celular expresadas por el endotelio en diferentes órganos (Campuzano y Blair, 2010).

La variabilidad en la sintomatología y el grado de severidad de la enfermedad viene determinado por la afinidad de PfEMP-1 por los diferentes receptores endoteliales. En el caso de la malaria cerebral, parece estar relacionada con una cepa de *P. falciparum* que expresa PfEMP-1 con alta afinidad al ICAM-1 en la vasculatura cerebral, mientras que en el caso de la malaria placentaria, PfEMP-1 presenta gran afinidad por el CSA (Campuzano y Blair, 2010).

Además, PfEMP1 también es un antígeno de superficie importante que interviene en la respuesta inmunitaria dependiente de anticuerpos, para la eliminación de los eritrocitos infectados de la circulación. Sin embargo, pequeñas subpoblaciones de parásitos varían la expresión de esta proteína, dando lugar a una variación antigénica que permite al parásito evadir el sistema inmune del hospedador al variar PfEMP-1 en cada pico de parasitemia (Pasternak y Dzikowski, 2009).

Las proteínas PfEMP-1 (Figura 8) son proteínas de gran tamaño, de unos 200 a 350 kDa. Todas comparten cierta similitud en sus principales características estructurales (Kraemer y Smith, 2006):

- Un segmento N terminal (NTS);
- Un número variable de dominios “Duffy Binding Like” (DBL; α - ϵ);
- Una o dos regiones interdominio ricas en cisteína (CIDR; α - γ);
- Un dominio transmembrana (TM);
- Un dominio C2;
- Y un segmento terminal ácido intracelular conservado (ATS).

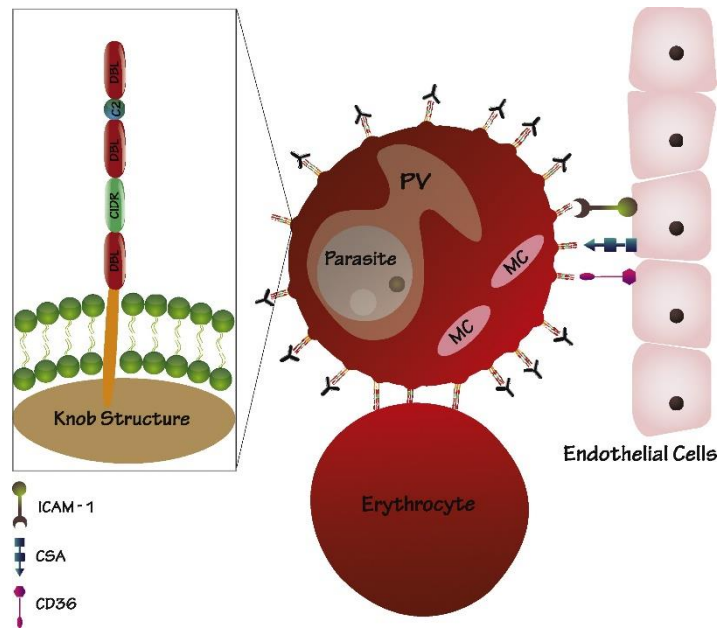


Figura 8. Estructura de la proteína PfEMP-1 y esquema de su unión con diferentes receptores endoteliales (Pasternak y Dzikowski, 2009).

Las regiones responsables de la función de adhesión de la proteína PfEMP-1 son el dominio DBL y el dominio CIDR. Estos dominios son regiones extracelulares variables, que median la adhesión a través de la unión a los diferentes receptores endoteliales como CD36, ICAM1 y CSA (Kraemer y Smith, 2006).

Los subconjuntos específicos de PfEMP-1 se unen a receptores específicos del huésped en función de sus componentes únicos de DBL y CIDR. Por ejemplo, casi todos los dominios CIDR- α se unen a CD36, mientras que los dominios CIDR- β no se unen a estos receptores. Además, el dominio DBL β -C2 es un módulo de adhesión común en la unión con el receptor ICAM-1 (Kraemer y Smith, 2006).

1.6. SINTOMATOLOGÍA

Las manifestaciones clínicas se deben sólo a la fase de multiplicación asexual de los parásitos en los eritrocitos, es decir, a la esquizogonia eritrocítica. Las otras fases del ciclo biológico en el ser humano no producen síntomas (Puente et al., 2005).

La sintomatología está influida por factores dependientes del parásito y del huésped. En cuanto al parásito, *P. ovale* y *P. vivax* parasitan sólo los eritrocitos más jóvenes, *P. malariae* los más viejos y *P. falciparum* tiene capacidad de parasitar todas las edades, por lo que sus parasitemias suelen ser mucho mayores. En cuanto al huésped, el grado de inmunidad que éste pueda presentar influye en las manifestaciones (Puente et al., 2005).

Inicialmente, los síntomas son muy inespecíficos, comunes a las cuatro especies, y consisten en malestar general, cefalea, cansancio, molestias abdominales, mialgias y fiebre. Además, son frecuentes las náuseas, los vómitos y la hipotensión ortostática (Fleta Zaragoza, 2001).

La fiebre aparece al romperse los glóbulos rojos parasitados. Al principio esta ruptura es anárquica, por lo que la fiebre es irregular. Poco a poco, la esquizogonia eritrocítica, y por tanto la ruptura de los hematíes, se hace sincrónica, por lo que la fiebre se vuelve cíclica (Puente et al., 2005). Esto recibe el nombre de paroxismo febril y presenta tres etapas (Figura 9) (CDC, 2022):

- 1- Etapa de frío: sensación de frío, escalofríos.
- 2- Etapa de calor: fiebre alta, cefalea intensa, vómitos y convulsiones en niños pequeños.
- 3- Etapa de sudoración: la temperatura baja a un nivel normal, produciendo sudoración y cansancio.

Las esquizogonias eritrocíticas tienen lugar cada 48 horas en las especies *P. vivax*, *P. ovale* y *P. falciparum*, y cada 72 horas en *P. malariae*, produciendo fiebre al tercer día (malaria tercianas) y al cuarto día (malaria cuartana) respectivamente (Puente et al., 2005).

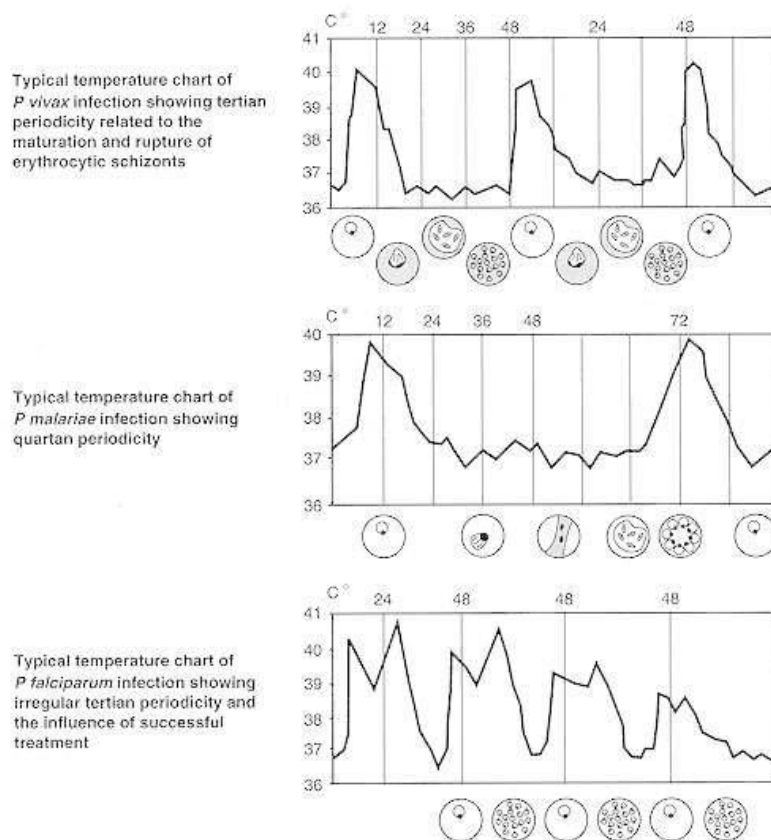


Figura 9. Curvas típicas de temperatura del paroxismo febril en la infección por *Plasmodium* (Crutcher y Hoffman, 1996)

Las formas graves de la enfermedad y la mortalidad son debidas fundamentalmente a *P. falciparum* debido a los mecanismos de secuestro y citoadherencia y, a su capacidad de invadir eritrocitos de todas las edades. Las complicaciones más frecuentes del paludismo son la anemia grave y el paludismo cerebral (Buck y Finnigan, 2021).

La anemia palúdica grave es debida a un aumento en la destrucción de los eritrocitos. Esto es debido a la lisis celular producida por los parásitos tras la esquizogonia eritrocítica, la eliminación de los eritrocitos parasitados por el bazo y células del sistema inmune, y al secuestro eritrocitario. Además de aumentar la destrucción de glóbulos rojos hay una disminución en la producción (Buck y Finnigan, 2021).

El paludismo cerebral representa el 80% de los casos mortales de paludismo y afecta con mayor frecuencia a niños menores de 5 años (Buck y Finnigan, 2021). Es producido por la adherencia de los eritrocitos parasitados a las células endoteliales del cerebro lo cual genera hipoxia (Romero Cabello et al., 2018).

1.7. EPIDEMIOLOGÍA

La malaria o paludismo es una parasitosis ampliamente distribuida en zonas tropicales y subtropicales de África, Asia, América Central y América del Sur (Figura 10) (Puente et al., 2005). En las zonas endémicas de paludismo el grado de infección está determinado por el equilibrio entre el vector (mosquito *Anopheles*), el parásito, la población susceptible y las circunstancias ambientales (Fleta Zaragoza, 2001).

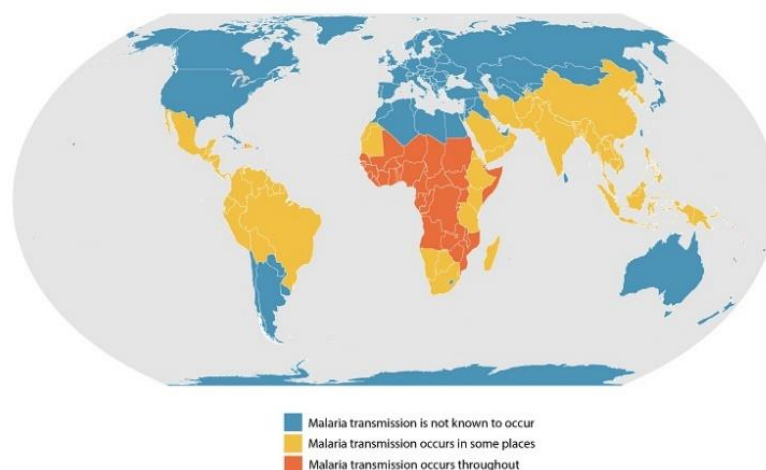


Figura 10. Distribución de la malaria en el mundo (CDC, 2020a).

Según el último Informe Mundial de la Malaria, publicado por la Organización Mundial de la Salud el 6 de marzo de 2021, se notificaron 241 millones de casos de paludismo en 2020 y hubo 627.000 muertes, de las cuales el 96% ocurrieron en África, donde predomina *Plasmodium falciparum*. Además, el 80% de las muertes por malaria en África se produjo en niños menores de 5 años (OMS, 2021b).

Según dicho informe, el 96% de los casos de malaria se registraron en 29 países, de los cuales 6 notificaron el 55% del total mundial: Nigeria (27%), República Democrática del Congo (12%), Uganda (5%), Mozambique (4%), Angola (3,4%) y Burkina Faso (3,4%) (OMS, 2021b).

En cuanto a la distribución mundial de las especies:

- *P. falciparum* se encuentra a nivel mundial en áreas tropicales y subtropicales, y especialmente en África donde predomina esta especie.
- *P. vivax* se encuentra principalmente en Asia, América Latina y en algunas partes de África.
- *P. ovale* se encuentra principalmente en África (especialmente África occidental) y las islas del Pacífico occidental.
- *P. malariae* se encuentra en todo el mundo (CDC, 2020a).

1.8. VECTOR DEL PALUDISMO: MOSQUITO ANOPHELES

Los mosquitos del género *Anopheles* (Figura 11A), pertenecientes a la familia Culicidae, son los vectores culpables de la transmisión de *Plasmodium* spp., concretamente la hembra. Existen unas 500 especies, de las cuales unas 50 son capaces de transmitir el parásito (Pages, 2007).

El ciclo de vida del mosquito consta de cuatro etapas: huevo, larva, pupa y adulta. Las tres primeras etapas son acuáticas (Romero et al., 2018). La hembra deposita los huevos en el agua, generalmente en agua dulce, no contaminada y poco agitada. Estas características hacen que los mosquitos *Anopheles* sean principalmente rurales y que el riesgo de transmisión sea mayor en zonas rurales que en zonas urbanas (Pages, 2007).

Las hembras son hematófagas, y por tanto las responsables de la transmisión de la malaria, a diferencia de los machos, que se alimentan de jugos vegetales (Romero Cabello et al., 2018). Suelen picar entre el atardecer y el amanecer. La picadura normalmente es indolora y presenta menor picor que otros géneros de mosquitos (Pages, 2007).

Son mosquitos de cuerpo delgado y frágil y miden de 5 a 10 mm de largo. Al posarse sobre una superficie plana, trazan una línea recta con la cabeza, el tórax y el abdomen, formando un ángulo de 40 a 90° con la superficie. La cabeza es globulosa y está provista de dos ojos compuestos. Poseen dos antenas largas y finas, de 15 segmentos, plumosas en el caso de los machos y pilosas en las hembras (Romero Cabello et al., 2018). El aparato bucal es complejo y forma una trompa o probóscide larga y fina. También encontramos unos palpos maxilares muy desarrollados, que son tan largos como la trompa (Apt Baruch, 2013) (Figura 11B).

Del tórax salen dos alas principales que se encuentran invadadas y cubiertas de escamas y pelos. Tras las alas encontramos dos halterios u órganos balancines, que sirven para mantener el equilibrio durante el vuelo. Del tórax salen también tres pares de patas largas y finas. Tienen un abdomen largo dividido en ocho segmentos y en los tres últimos se encuentran los órganos sexuales (Apt Baruch, 2013).



Figura 11. A. Mosquito *Anopheles*. B. Morfología de la hembra, con palpos de igual longitud que la trompa y antenas pilosas. Tomadas de CDC- Public Health Image Library (PHIL).

1.9. DIAGNÓSTICO

El diagnóstico del paludismo es clínico, sin embargo, los síntomas pueden ser parecidos a los de otras enfermedades y a veces muy inespecíficos. Por ello, el procedimiento empleado para el diagnóstico consiste en la observación directa de los parásitos en la sangre. Se lleva a cabo la visualización de *Plasmodium* en frotis y gota gruesa (Figura 12). El mejor momento para realizar el frotis es justo antes de la rotura de los hematíes ya que será cuando haya mayor número de eritrocitos parasitados. El inconveniente de este método es su poca sensibilidad, ya que se necesita de una parasitemia elevada. Tras la realización del frotis y la gota gruesa se lleva a cabo la tinción de Giemsa y se observa al microscopio (Romero Cabello et al., 2018).

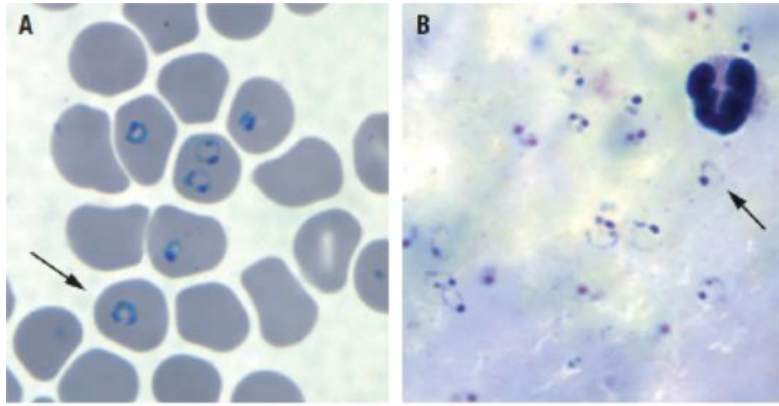


Figura 12. A. Tinción de Giemsa de una extensión fina de sangre periférica. B. Tinción de Giemsa de una gota gruesa de sangre periférica (Prats Pastor, 2012).

Existen además técnicas de detección de anticuerpos específicos como las técnicas de inmunofluorescencia en las que se agrega al frotis un colorante fluorescente con afinidad por los ácidos nucleicos, como el naranja de acridina (Romero Cabello et al., 2018).

También se pueden usar técnicas de detección de antígenos, que son rápidas y fáciles de realizar, como la inmunocromatografía (ICT-Malaria), OptiMAL® y Determine®, basadas en la detección de la proteína rica en histidina (HRP) o de la enzima lactato deshidrogenasa. Por último, otra técnica muy empleada gracias a su alta sensibilidad es la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (Romero Cabello et al., 2018).

1.10. PROFILAXIS

Las medidas de protección contra el paludismo pueden ser de dos tipos: prevención de las picaduras del mosquito y tratamiento profiláctico en zonas de riesgo (quimioprofilaxis) (Lénoard et al., 2003).

Las hembras de *Anopheles* pican entre el atardecer y el amanecer, tienen una actividad exclusivamente nocturna. La prevención de las picaduras constituye la primera línea de defensa contra el paludismo. Podemos llevar a cabo las siguientes medidas (Lénoard et al., 2003):

- Uso de ropa que cubra el cuerpo y que sea suficientemente gruesa para disminuir las zonas de exposición al mosquito. La ropa debe ser preferentemente de colores claros.

- Las zonas expuestas del cuerpo deben ser impregnadas con repelentes, que constituyen una primera línea de defensa contra las picaduras. El más utilizado y eficaz es el DEET (N,N-Dietil-3-metilbenzamida).
- Uso de mosquiteras impregnadas con insecticida en las habitaciones y en la cama. Los insecticidas más utilizados son la permetrina y la deltametrina.
- Evitar salir entre el anochecer y el amanecer.

La quimioprofilaxis consiste en la administración de un fármaco antimalárico antes, durante y después de un viaje a una zona endémica. Su objetivo es disminuir el riesgo de desarrollar malaria complicada. Hay numerosos fármacos (Tabla 1) y su elección dependerá del paciente y de la zona a la que viaje debido a las resistencias del parásito a dichos fármacos (Capdevila e Icart, 2010).

Tabla 1. Fármacos para la quimioprofilaxis de la malaria. Tomada y adaptada de la CDC.

Fármaco	Atovaquona/ proguanil (Malarone®)	Cloroquina (Resochín®)	Doxiciclina (Vibracina®)	Mefloquina (Lariam®)	Primaquina
Inicio	1-2 días antes de la exposición	1 semana antes	1-2 días antes	1-2 semanas antes	1-2 días antes
Posología	Diaria	Semanal	Diaria	Semanal	Diaria
Fin	1 semana tras la exposición	4 semanas tras la expo	4 semanas tras la expo	4 semanas tras la exposición	1 semana tras la exposición

Las diferentes zonas endémicas se pueden dividir en función de la resistencia de los parásitos a la cloroquina. También se deberá tener en cuenta las resistencias a otros fármacos como la mefloquina. A la hora de escoger un fármaco es importante conocer estas resistencias. En zonas con sensibilidad a la cloroquina, este será el fármaco de elección, mientras que en áreas resistentes a este antimalárico encontramos tres fármacos recomendados por la CDC y la OMS: la atovaquona/proguanil, la doxiciclina y la mefloquina. También encontramos la

primaquina, utilizada en la profilaxis “terminal” para destruir los hipnozoítos (Capdevila e Icart, 2010).

La cloroquina, la mefloquina y la doxiciclina actúan únicamente en la fase eritrocitaria del ciclo pero no actúan sobre las formas hepáticas. Por este motivo, es de gran importancia mantener el tratamiento un tiempo después de la exposición, cuatro semanas. En el caso de la atovaquona/proguanil se puede suspender tras una semana ya que actúa también en la replicación hepática del parásito. Por otro lado, la primaquina actúa también sobre las formas latentes, hipnozoítos, de *P. vivax* y *P. ovale* (Capdevila e Icart, 2010).

Otra medida profiláctica importante para cualquier enfermedad es la administración de vacunas. En el caso de la malaria, existe una única vacuna aprobada, la cual fue recomendada por la OMS en 2021. Esta vacuna es la RTS,S/AS01 y actúa frente a *P. falciparum*. Se ha comprobado que reduce significativamente los casos graves y potencialmente mortales de paludismo infantil. La OMS recomienda su administración para la prevención del paludismo por *P. falciparum* a los niños que habiten en zonas donde la transmisión sea alta o moderada. Se debe administrar con una pauta de cuatro dosis a los menores a partir de cinco meses de edad. Esta recomendación se basa en el conocimiento adquirido durante el desarrollo de programas piloto de vacunación en tres países, Ghana, Kenya y Malawi (OMS, 2021a).

2. OBJETIVOS DE LA REVISIÓN

La malaria o paludismo es la enfermedad parasitaria más importante en el ser humano. Cada año, gran número de personas adquieren la enfermedad ocasionando numerosas muertes, principalmente en niños. Por esta causa, numerosos científicos han analizado y estudiado diversos factores genéticos y polimorfismos relacionados con los eritrocitos, capaces de otorgar protección frente a la malaria.

Este Trabajo de Fin de Grado tiene como finalidad la realización de una revisión bibliográfica centrada en los mecanismos de resistencia a la malaria. Para ello, se han establecido los siguientes objetivos específicos:

- Realizar una revisión bibliográfica sobre los polimorfismos ventajosos que presentan algunas hemoglobinopatías, en concreto la hemoglobina S, la deficiencia de G6PD y el antígeno Duffy.
- Valoración de las ventajas que otorgan estos polimorfismos frente a la enfermedad.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

Para la realización de este Trabajo de Fin de Grado se ha llevado a cabo una revisión bibliográfica de estudios sobre diferentes polimorfismos genéticos y su protección frente a la malaria. Para ello, se han empleado fuentes de información primarias y secundarias, como PubMed, Dialnet, ScienceDirect y Scielo, siendo PubMed la base de datos más consultada.

Para la búsqueda de información sobre los parásitos, se han empleado los libros de parasitología disponibles en la biblioteca de la Universidad de Sevilla, así como las páginas web de la OMS o de la CDC, que proporcionan gran información sobre este parasitismo y que fueron consultadas entre los meses de marzo y abril de 2022.

Se han utilizado diversas palabras clave como: “Plasmodium”, “malaria”, “paludismo”, “sickle cell disease”, “glucose-6-phosphate dehydrogenase” y “Duffy”. También se han obtenido numerosos artículos a partir de la bibliografía de otros trabajos anteriores.

Al ser temas poco estudiados y aún desconocidos, no se han descartado publicaciones en base al año de publicación de los artículos. Hubo algunas dificultades en la búsqueda de publicaciones sobre la protección que ofrecen algunas hemoglobinopatías frente a la malaria.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El paludismo es la parasitosis más importante del ser humano. Durante miles de años, *Plasmodium* ha coexistido y evolucionado con el hombre, lo que ha favorecido la selección natural de mutaciones en genes esenciales para el funcionamiento del eritrocito, que impiden la malaria grave y aumentan la supervivencia. Los niños con estos polimorfismos genéticos presentan una ventaja selectiva durante su infancia, lo que les permite llegar a la edad adulta y transmitir estos genes beneficiosos a su descendencia (Bautista, 2011).

Así, los genes que afectan a la estructura o funcionalidad de los glóbulos rojos son los que presentan mayor número de polimorfismos genéticos asociados a la protección contra la malaria o sus síntomas. Algunos de estos polimorfismos ventajosos son algunas hemoglobinopatías como la hemoglobina S, la deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PD) o el antígeno Duffy (Bautista, 2011).

4.1 ANEMIA DE CÉLULAS FALCIFORMES. HEMOGLOBINAS.

La enfermedad de células falciformes es una hemoglobinopatía autosómica recesiva producida por la mutación del gen de la cadena de β -globina en la que se produce la sustitución de la valina por el ácido glutámico en el sexto aminoácido de la hemoglobina (Roldan-Isaza et al., 2020).

En situaciones de oxigenación, la HbS tiene la misma solubilidad que la HbA (hemoglobina normal), pero, en ausencia de oxígeno, la solubilidad de la HbS disminuye, precipitando en forma de polímeros. Estos polímeros deforman la estructura bicóncava del eritrocito dando lugar a hematíes con forma de media luna, falciformes o en forma de hoz característicos. Estas formas falciformes obstruyen el flujo sanguíneo en los capilares produciendo crisis vaso-oclusivas dolorosas y recurrentes y, hemólisis por rotura de los hematíes (Figura 13). Además, esto puede producir complicaciones importantes como infecciones, crisis aplásicas, accidentes cerebrovasculares o hipertensión pulmonar (Morales-Indiano, 2017).



Figura 13. Células falciformes obstruyendo el flujo sanguíneo. Tomada de OSF HealthCare Blog, 2017.

La sintomatología por presencia de HbS se produce en el estado homocigoto (HbSS) dando lugar a la anemia de células falciformes o drepanocitosis. Además, los heterocigotos compuestos, que presentan la combinación de la HbS con una HbC o una β -talasemia, desarrollan síndromes falciformes con clínica similar a la anemia de células falciformes por HbSS. Es decir, las manifestaciones clínicas (enfermedad de células falciformes) se pueden producir debido a 3 genotipos diferentes: HbSS (anemia falciforme), HbSC o HbS/ β -talasemia (Morales-Indiano, 2017).

Los pacientes heterocigotos para la HbS no presentan manifestaciones clínicas y sus valores del hemograma son normales debido a la presencia de la HbA (HbAS). Se dice que tienen el rasgo de células falciformes o rasgo drepanocítico (Morales-Indiano, 2017).

La anemia de células falciformes es especialmente prevalente en el continente africano y personas con antepasados originarios del África subsahariana, la India, Arabia Saudita o los países del Mediterráneo. En algunas zonas de África subsahariana hasta un 2% de los niños nacen con esta enfermedad y la prevalencia del rasgo drepanocítico oscila entre el 10 y 40% en África ecuatorial. En países como Ghana o Nigeria, la frecuencia de este rasgo es del 15% al 30%, mientras que en Uganda llega al 45% en la tribu Baamba del oeste del país (OMS, 2006).

Se observó que la hemoglobina S era más frecuente en aquellas poblaciones donde la malaria constituía una enfermedad endémica. Esto sirvió de base para la teoría “malaria hipótesis” que sugería que la mutación heredada de uno de los padres, es decir, el rasgo drepanocítico, proporcionaba un grado de protección contra la malaria (Roldan-Isaza, 2020). Esta teoría fue iniciada en 1949 por Haldane y continuada por Clifford en 1954, quien observó un predominio del rasgo HbAS (heterocigotos) en personas que vivían en zonas endémicas de malaria. Sin embargo, esta teoría presentaba gran escepticismo ya que las observaciones no habían sido probadas. Posteriormente, para hacer frente a esto, el Dr. Fred Piel junto con su equipo, llevó a cabo un estudio que mostró que el gen de células falciformes presenta mayor prevalencia en el África subsahariana, Oriente Medio y la India, y que éstas, coinciden con las zonas de alta prevalencia de la malaria (Figura 14), lo que confirma la “malaria hipótesis” (Cabrera, 2018).

La hemoglobina falciforme (HbS) constituye un factor de protección contra la malaria en los individuos heterocigotos, es decir, en aquellos que presentan el rasgo de células falciformes (HbAS). Sin embargo, la situación en individuos homocigotos, aquellos que presentan la enfermedad (HbSS), es muy distinta. En estos individuos la tasa de letalidad es mayor y presentan una mayor susceptibilidad a las formas graves de malaria (Cabrera, 2018).

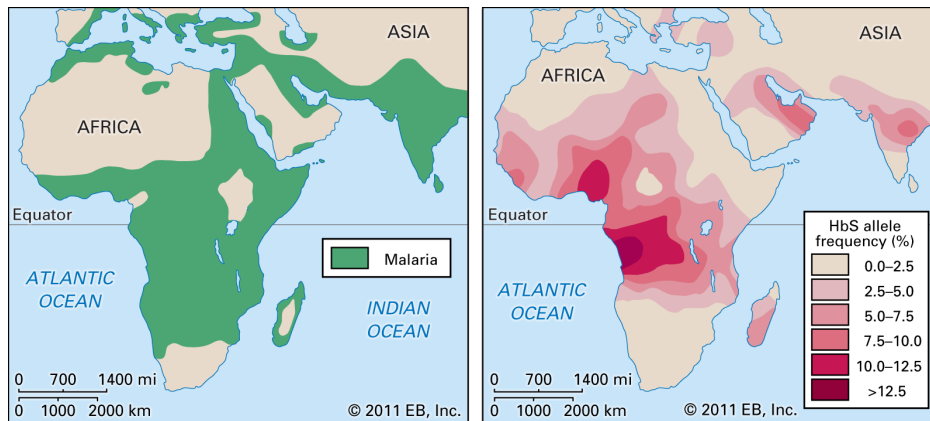


Figura 14. Distribución de la malaria y de la anemia falciforme. Tomada de *Encyclopedia Britannica, Inc.*

A lo largo de los años, se han intentado proponer múltiples mecanismos para explicar este fenómeno. Un estudio llevado a cabo por Archer et al. (2018), encontró que los parásitos, en los eritrocitos con HbAS mantenidos a bajas concentraciones de oxígeno, detienen su crecimiento antes de la replicación del ADN. Este estudio demostró que la polimerización de la hemoglobina (HbS) es la responsable de esta detención del crecimiento.

El efecto protector de la HbAS es debido principalmente al secuestro de los glóbulos rojos infectados en la microcirculación hipóxica. La concentración de O_2 en la sangre arterial es aproximadamente del 13% mientras que la concentración de O_2 en la mayoría de los órganos donde se produce el secuestro de los eritrocitos infectados es menor al 7,5%. En el estudio se observa una correlación directa entre la concentración de O_2 y el crecimiento del parásito en los glóbulos rojos infectados. Se demostró que a bajas concentraciones de O_2 , a las cuales hay mayor polimerización de la HbS, se produce una detención del crecimiento del parásito lo que conlleva, además, a una menor citoadherencia (Archer et al., 2018).

El estudio postuló que sólo los eritrocitos infectados que expresen la proteína PfEMP1 tendrán una polimerización significativa de la hemoglobina, ya que son las únicas células que se secuestran en la microvaculatura hipóxica. Esto fue muy significativo sobre todo en concentraciones de O_2 del 5 y del 7.5%, que son las que mejor simulan el entorno de la microcirculación (Archer et al., 2018).

Otro de los mecanismos de protección propuestos implica la exposición anormal de la proteína PfEMP1 en la superficie de los eritrocitos con HbAS infectados. Esta exposición anormal está caracterizada por niveles reducidos de PfEMP1, menor densidad de los “knobs”, distribución heterogénea de la proteína y de los knobs y por la morfología anormal de estos últimos. Estas alteraciones están asociadas con reducciones de hasta el 50% en la citoadherencia

de los eritrocitos que contienen HbAS infectados. Esta reducción de la citoadherencia mediada por PfEMP1 puede proteger a los niños con HbAS contra la malaria, limitando la carga parasitaria y reduciendo los efectos que produce la activación de las células endoteliales (Beaudry et al., 2014).

Además, esta protección contra la malaria también podría estar explicada por el aumento de la expresión de la enzima hemo oxigenasa-1 (HO-1). Esta enzima cataliza la degradación del grupo hemo dando lugar a monóxido de carbono (CO) y biliverdina. La HO-1 ha demostrado tener un papel protector en diferentes enfermedades inflamatorias. Los pacientes con hemoglobina S presentan niveles de hemo libre más altos por lo que tienen mayor expresión de esta enzima, favoreciendo el catabolismo de este y la formación de biliverdina y monóxido de carbono. Este último tiene un efecto protector a nivel del sistema nervioso, es vaso relajante y antiinflamatorio por lo que mejora los síntomas graves de la enfermedad (Cabrera, 2018).

Por último, se ha observado una disminución de la expresión de las células T CD8+ a nivel cerebral en individuos con HbS infectados. Esto hace que disminuya la respuesta endotelial inflamatoria y por tanto una disminución de los síntomas de malaria cerebral (Cabrera, 2018).

4.2 DÉFICIT DE GLUCOSA 6 FOSFATO DESHIDROGENASA (G6PD)

La deficiencia de G6PD fue descubierta gracias a una serie de investigaciones realizadas para entender el motivo por el que algunas personas desarrollaban anemia hemolítica al ingerir primaquina, un fármaco antipalúdico. Este déficit, inicialmente descrito en la zona mediterránea, se encontró también en numerosas poblaciones de África, Oriente Medio y Asia. Su distribución se superpone a la del paludismo ya que este déficit asegura un cierto grado de protección contra la enfermedad (Wajcman y Galactéros, 2004).

Actualmente se estima que más de 400 millones de personas en el mundo portan este déficit de G6PD. El gen de esta enzima se localiza en el cromosoma X por lo que la transmisión está ligada al sexo, siendo el hombre homocigoto para la enfermedad mientras que la mujer es mayoritariamente portadora (heterocigota) y suele ser asintomática. Sin embargo, en poblaciones con alta frecuencia del gen, las mujeres pueden ser homocigotas (Wajcman y Galactéros, 2004).

La glucosa 6 fosfato deshidrogenasa es una enzima eritrocítica cuya función consiste en mantener la homeostasis del eritrocito frente al estrés oxidativo. La G6PD cataliza la primera etapa de la vía de las pentosas (Figura 15), transforma la glucosa 6-fosfato en 6-

fosfogluconolactona, que se hidroliza a 6-fosfogluconato. Durante esta reacción, una molécula de NADP⁺ se reduce a NADPH + H⁺. La molécula NADPH es un gran antioxidante que va a permitir mantener la reserva de glutatión reducido a altos niveles y estabiliza la estructura de la catalasa. Esto permite al eritrocito defenderse del estrés oxidativo (Wajcman y Galactéros, 2004).

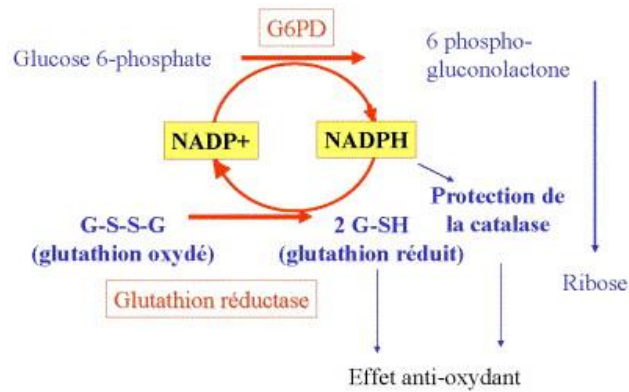


Figura 15. Esquema de la función de la G6PD (Wajcman y Galactéros, 2004)

Todas las células nucleadas son capaces de adaptar los niveles de G6PD en respuesta a una situación de estrés oxidativo. Sin embargo, los eritrocitos son anucleados, pierden el núcleo durante la eritropoyesis, por lo que a partir de este momento la síntesis proteica se detiene y la cantidad de enzima será la que haya sido sintetizada en los precursores eritroides. Debido a esto, la actividad de la enzima será máxima en los reticulocitos y los hematíes jóvenes. La G6PD tiene una semivida de 62 días y los niveles de enzima disponible disminuyen regularmente con la edad de la célula. En una persona normal, a pesar de esta disminución, la actividad se mantiene siempre superior a las necesidades del eritrocito, lo que explica la tolerancia ante un déficit moderado (Wajcman y Galactéros, 2004).

La forma normal y natural de la enzima es la G6PD B. Gracias a diversos estudios se observó la existencia de un polimorfismo con actividad normal, en el que la asparagina de la posición 126 es sustituida por un aspartato. Este polimorfismo recibe el nombre de G6PDA. Existen casos en los que se produce una segunda mutación, dando lugar a una enzima con una disminución moderada de la actividad. Esta variante recibe el nombre de G6PDA- y su frecuencia es cercana al 20% en las poblaciones africanas (Coulibaly et al., 2000). En este caso, la actividad enzimática inicial es parecida a la normal, sin embargo, tiene un tiempo de semivida de 13 días, lo que hace que la actividad enzimática global en los eritrocitos se sitúe entre el 5 y el 15% de la normal (Piomelli et al., 1968). Esto puede compensarse con una pequeña estimulación de la actividad

de la médula ósea, lo que hace que aumente la reticulocitosis y no produce anemia (Wajcman y Galactéros, 2004).

Existe otra variante llamada variante “mediterránea”, más grave que la anterior, en la que la actividad enzimática global es inferior al 5% de la normal (Piomelli et al., 1968) y posee una semivida de 8 días, es muy inestable. Esta variante se encuentra principalmente en el Mediterráneo, Oriente Próximo y Medio. En ausencia de estrés oxidativo es bien tolerada pero bajo cierto factores como la ingesta de algunos fármacos o alimentos, puede provocar graves accidentes hemolíticos (Figura 16) (Wajcman y Galactéros, 2004).

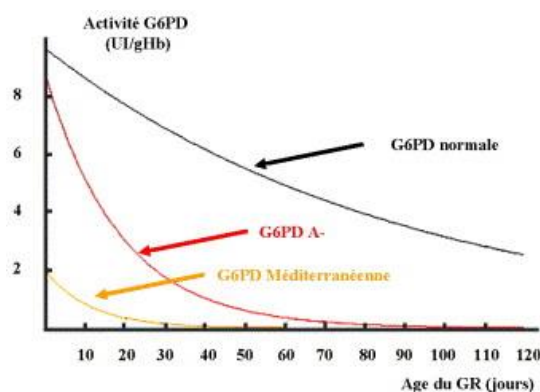


Figura 16. Actividad enzimática de las variantes (Wajcman y Galactéros, 2004)

Las diferentes variantes se clasifican en función de la severidad de la deficiencia en (Peters y Van Noorden, 2009):

- Clase I: mutaciones severas con anemia hemolítica no esferocítica crónica.
- Clase II: déficit severo con actividad enzimática inferior al 10% de la normal.
- Clase III: déficit moderado con actividad enzimática entre el 10 y el 60% de la normal.
- Clase IV: déficit asintomático con actividad entre el 60 y 100% de la normal.
- Clase V: aumento de la actividad, 150% de la normal.

Cuando los eritrocitos con déficit de G6PD son sometidos a estrés oxidativo por diversos factores, se produce un exceso de radicales libres, ya que no son capaces de defenderse ante esta situación. Este exceso va a provocar que la hemoglobina del hematíe se transforme en metahemoglobina (hemoglobina oxidada). Además, se van formar otros derivados oxigenados, como los hemicromos, que van a precipitar en forma de Cuerpos de Heinz, pequeñas inclusiones que aparecen en los eritrocitos formadas por globina desnaturalizada. Los Cuerpos de Heinz se fijan a la membrana eritrocítica y estos glóbulos rojos van a ser eliminados por los macrófagos en el bazo produciendo hemólisis (Wajcman y Galactéros, 2004).

La distribución geográfica del déficit de glucosa 6-fosfato deshidrogenasa se superpone a la de la malaria, ya que constituye un factor de protección frente a esta enfermedad. Además, también se superpone a regiones de consumo de las habas y regiones donde se usan frecuentemente otros factores oxidantes como una alimentación especiada. Esto es debido a que la existencia de un estímulo oxidante moderado en el caso de la variante G6PD A- aumentaría la resistencia de la célula al desarrollo del parásito (Wajcman y Galactéros, 2004).

Como en todas las infecciones, la infección por *Plasmodium* produce la liberación de gran cantidad de compuestos oxidantes que van a producir en el eritrocito alteraciones en la membrana. Estas alteraciones serán mitigadas por los sistemas reductores del glóbulo rojo. Sin embargo, en el caso de las personas con déficit de G6PD, estos sistemas de defensa reductores están disminuidos y las células alteradas serán eliminadas, produciéndose hemólisis. Esto constituye una ventaja para los individuos infectados por el parásito ya que este es muy sensible a los agentes oxidantes (Wajcman y Galactéros, 2004).

Los glóbulos rojos de los individuos con déficit de G6PD presentan un exceso de compuestos oxidantes, lo que constituye un entorno desfavorable para el desarrollo del parásito, dificultando su crecimiento (Wajcman y Galactéros, 2004). El parásito se acaba adaptando a este entorno, pero será especialmente sensible ante nuevas situaciones en las que aumente el estrés oxidativo (Roth y Schulman, 1988).

Un estudio realizado por Luzzatto et al. (1969), mostró que el porcentaje de células parasitadas era mayor en los eritrocitos con una cantidad normal de G6PD que en aquellos con deficiencia de esta enzima. Este estudio puso de manifiesto que en niñas heterocigotas infectadas, la probabilidad de encontrar parásitos en células normales es de 2 a 80 veces mayor que en aquellas con déficit de G6PD. El mecanismo exacto por el que los parásitos prefieren las células normales no está del todo claro pero los autores contemplan tres posibilidades:

- 1) El parásito reconoce ciertas alteraciones en la membrana de los eritrocitos con deficiencia y no los invade.
- 2) El parásito una vez en el interior de la célula no consigue prosperar, detiene su crecimiento debido al entorno desfavorable.
- 3) Los parásitos se desarrollan en el interior de los eritrocitos pero estos debido a las alteraciones que presentan por la oxidación son destruidos y eliminados de la circulación.

En las mujeres heterocigotas por tanto, sólo la mitad de los eritrocitos están disponibles para la parasitación. Debido a que la mortalidad por malaria está directamente relacionada con la concentración de parásitos en sangre, este déficit supondría una ventaja para las mujeres heterocigotas en zonas endémicas de malaria (Luzzato et al., 1969).

Posteriormente, otro estudio llevado a cabo por Guindo et al. (2007) en Mali, zona hiperendémica de malaria, mostró que la variante G6PD A- ofrece protección a los niños hemocigotos. Sin embargo, las niñas heterocigotas sufren la misma morbilidad y mortalidad de la infección por *Plasmodium* que los pacientes sin esta deficiencia mientras que sí que puede haber protegido a niñas homocigotas (Guindo et al., 2007).

4.3 ERITROCITOS DUFFY NEGATIVOS

Mayne (1932), descubrió que *P. vivax* no infectaba a los afroamericanos, por lo que se consideraron resistentes a la infección por esta especie. Sin embargo, este hecho no era universal. Young et al. (1946) demostraron que la resistencia a la infección se daba a nivel eritrocitario y, Miller et al. (1975), descubrieron que los eritrocitos que carecían del antígeno Duffy eran refractarios a la invasión por *P. knowlesi* (especie que infecta a primates). Posteriormente, varios estudios demostraron la resistencia de los afroamericanos Duffy negativos a la infección por *P. vivax* (Gunalan et al., 2018).

El antígeno Duffy es un receptor expuesto en la superficie del glóbulo rojo descrito como receptor de *Plasmodium vivax* y numerosas quimioquinas de tipo CXC y CC (Mercereau-Puijalon y Ménard, 2010). El parásito necesita este receptor para penetrar en el interior del hematíe y desarrollar su fase intracelular del ciclo. Hace miles de años, una mutación bloqueó el promotor del gen, lo que produjo que el antígeno Duffy no se expresara en algunos individuos del África occidental. Esta mutación fue creciendo gracias a la presión selectiva. Estos individuos Duffy negativos están protegidos frente a la infección por *P. vivax*, por lo que el parásito prácticamente es inexistente en esta zona (González-Ordóñez, 2005).

La demostración de que los homocigotos Duffy-negativos no desarrollan la infección por *P. vivax* en la fase sanguínea fue seguida por experimentos in vitro que demostraron que el antígeno Duffy era el receptor de este parásito (Mercereau-Puijalon y Ménard, 2010).

Miller et al. (1975) estudiaron el proceso de invasión de los merozoítos de *P. knowlesi* al interior de los eritrocitos de varios fenotipos Duffy. La invasión para los tres fenotipos Duffy positivos, Fy(a+b-), Fy(a- b+), y Fy(a+b+), fue similar, mientras que, la invasión fue nula o

insignificante para el fenotipo Duffy negativo, Fy(a-b-). Además, la grabación de un vídeo permitió mostrar que, aunque los merozoítos de *P. knowlesi* se adherieron tanto a los eritrocitos Duffy positivos como negativos, el proceso de invasión completo, que implica la posterior invaginación del parásito, no ocurre en los glóbulos rojos Duffy negativos. Esto indica que la unión inicial al hematíe es Duffy independiente, mientras que el paso siguiente es Duffy dependiente. Desde entonces, se ha demostrado que en este proceso interviene una “proteína de unión Duffy” análoga a la proteína de unión a Duffy de *P. vivax* (PvDBP) (Mercereau-Puijalon y Ménard, 2010).

Más adelante, Barnwell et al. (1989) estudiaron el proceso de invasión de *P. vivax* en los eritrocitos. Vieron que el parásito no invadía a los eritrocitos Duffy negativos, mientras que sí infectaba a los Duffy positivos.

P. vivax es inexistente o muy raro en África occidental y central y tiene una prevalencia muy baja en el África oriental. Esta distribución, comparada con el resto del mundo, es debida a la falta de expresión del antígeno Duffy en los eritrocitos de las poblaciones africanas en las que la homocigosidad para el alelo nulo es altamente prevalente. Sin embargo, *P. vivax* es endémico en algunas poblaciones de Sudán, Somalia y Etiopía, donde los individuos son predominantemente Duffy positivos (Mercereau-Puijalon y Ménard, 2010).

5. CONCLUSIONES

- La evolución y coexistencia de *Plasmodium* con el ser humano ha favorecido la selección natural de mutaciones en genes esenciales para el funcionamiento del eritrocito, impidiendo la malaria grave y aumentando en consecuencia la supervivencia de las personas.
- La hemoglobina falciforme constituye un factor de protección contra la malaria en los individuos heterocigotos debido a la detención del crecimiento del parásito y a la disminución de la citoadherencia por una exposición anormal de la proteína de superficie PfEMP1 en el eritrocito.
- En individuos homocigotos, aquellos que presentan la enfermedad de células falciformes, constituye un factor de riesgo, aumentando la tasa de letalidad de la enfermedad.
- El déficit de glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa protege frente a la malaria debido a la hemólisis producida ante un pequeño estímulo oxidante y debido a la creación de un entorno desfavorable para el crecimiento y desarrollo de *Plasmodium*.
- Los individuos Duffy negativos están protegidos frente a la infección por *Plasmodium vivax* ya que este antígeno es el receptor del parásito, impidiendo la invasión del eritrocito y por tanto el desarrollo de la infección.
- La distribución geográfica de estas mutaciones estudiadas se superpone con la distribución de la malaria, lo cual muestra la protección que ofrecen estas enfermedades.
- La protección que ofrecen estas mutaciones contra la malaria es un tema que ofrece aún muchas incógnitas. El conocimiento de los mecanismos implicados en la protección del paludismo es muy importante para el futuro desarrollo de nuevas estrategias farmacológicas por lo que es de gran necesidad continuar con la investigación.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Apt Baruch WL. Parasitología Humana. México: Mc Graw Hill Education; 2013.
- Archer N, Petersen N, Clark M, Buckee C, Childs L, Duraisingh M. Resistance to *Plasmodium falciparum* in sickle cell trait erythrocytes is driven by oxygen-dependent growth inhibition. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2018; 115 (28): 7350-7355.
- Barnwell JW, Nichols ME, Rubinstein P. In vitro evaluation of the role of the Duffy blood group in erythrocyte invasion by *Plasmodium vivax*. *J Exp Med*. 1989; 169: 1795–802.
- Bautista JM. Adaptación evolutiva a la malaria en el ser humano. SEBBM Divulgación. 2011.
- Beaudry JT, Krause MA, Diakite SA, Fay MP, Joshi G, Diakite M, et al. Ex-vivo cytoadherence phenotypes of *Plasmodium falciparum* strains from Malian children with hemoglobins A, S, and C. *PLoS One*. 2014; 9 (3).
- Buck E, Finnigan NA. Malaria. StatPearls Publishing LLC. 2021. Treasure Island (FL): PMID: 31869175.
- Cabrera MM. Malaria y hemoglobina S: ¿resistencia o protección?. *Medisur*. 2018; 16 (4): 504-510.
- Campuzano Zuluaga G, Blair Trujillo S. Malaria: consideraciones sobre su diagnóstico. *Medicina y Laboratorio*. 2010; 16 (7-8): 311-354.
- Capdevila JA, Icart R. Profilaxis de la malaria en el viajero. *Rev Clín Esp*. 2010; 210 (2): 77-83.
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Malaria - About Malaria – Disease [en línea]. 2019. [Consultado en marzo 2022]. Disponible en: <https://www.cdc.gov/malaria/about/disease.html>
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Malaria - About Malaria [en línea]. 2020a. [Consultado en abril de 2022]. Disponible en: <https://www.cdc.gov/malaria/about/>

- Center for Disease Control and Prevention (CDC). Laboratory Identification of Parasites of Public Health Concern (DPDx) – Malaria [en línea]. 2020b. [Consultado en marzo 2022]. Disponible en: <https://www.cdc.gov/dpdx/malaria/>
- Coulibaly F, Koffi G, Touré H, Bouanga JC, Allangba O, Tolo A, et al. Molecular genetics of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in a population of newborns from Ivory Coast. *Clinical Biochemistry*. 2000; 33 (5): 411-413.
- Crutcher JM, Hoffman SL. Malaria. En: Baron S, editor. *Medical Microbiology*. 4ª ed. Galveston (TX): University of Texas Medical Branch; 1996.
- Encyclopædia Britannica. Malaria and sickle cell anemia, distribution of [en línea]. 2011. [Consultado en mayo de 2022]. Disponible en: <https://www.britannica.com/science/malaria/images-videos#/media/1/359534/160694>
- Fleta Zaragoza J. Paludismo: un grave problema de salud mundial. *Medicina Integral*. 2001; 38 (4): 167-174.
- Gállego Berenguer J. *Manual de parasitología : morfología y biología de los parásitos de interés sanitario*. Barcelona: Publicacions i Edicions, Universitat de Barcelona; 2006.
- García Más I, Muñoz Araújo B, Aguirre Inchaurre A, Polo Roldán I, García Moreno A, Refoyo Román P. *Manual de laboratorio de Parasitología: Coccidios sanguíneos. Reduca (Biología)*. Serie Parasitología. 2008; 1 (1): 49-62.
- González-Ordóñez AJ. Grupos sanguíneos y enfermedad. *Med Clin (Barc)*. 2005; 125 (10): 382-388.
- Guindo A, Fairhurst RM, Doumbo OK, Wellems TE, Diallo DA. X-Linked G6PD Deficiency Protects Hemizygous Males but Not Heterozygous Females against Severe Malaria. *PLoS Medicine*. 2007; 4 (3): 516-522.
- Gunalan K, Niangaly A, Thera MA, Doumbo OK, Miller LH. *Plasmodium vivax* Infections of Duffy-Negative Erythrocytes: Historically Undetected or a Recent Adaptation?. *Trends in parasitology*. 2018.
- Kraemer S, Smith J. A family affair: var genes, PfEMP1 binding, and malaria disease. *Current Opinion in Microbiology*. 2006; 9(4): 374-380.
- Léonard P, Moutschen M, Demonty J. Prévention du paludisme chez l'adulte. *Rev Med Liege*. 2003; 58 (6): 382-387.

- Luzzato L, Usanga EA, Reddy S. Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Deficient Red Cells: Resistance to Infection by Malarial Parasites. *Science*. 1969; 164 (3881): 839-842.
- Mayne B. Note on Experimental Infection of *Anopheles punctipennis* with Quartan Malaria. *Public Health Reports*. 1932; 47 (35): 1771-1773.
- Mercereau-Puijalon O, Ménard D. *Plasmodium vivax* and the Duffy antigen: A paradigm revisited. *Transfusion Clinique et Biologique*. 2010; 17(3): 176-183.
- Miller L, Mason S, Dvorak J, McGinniss M, Rothman I. Erythrocyte receptors for (*Plasmodium knowlesi*) malaria: Duffy blood group determinants. *Science*. 1975; 189 (4202): 561–563.
- Morales-Indiano C. Diagnóstico diferencial de las hemoglobinopatías. *Ed Cont Lab Clín (SEQCML)*. 2017; 28: 53-71.
- Organización Mundial de la Salud (OMS). La OMS recomienda una innovadora vacuna antipalúdica para los niños en riesgo [en línea]. Ginebra: 2021a. [Consultado en mayo de 2022]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news/item/06-10-2021-who-recommends-groundbreaking-malaria-vaccine-for-children-at-risk>
- Organización Mundial de la Salud (OMS). World Malaria Report 2021. Ginebra: OMS; 2021b.
- OSF Health Care. Helping kids with sickle cell disease live their healthiest lives [en línea]. 2017. [Consultado en mayo de 2022]. Disponible en: <https://www.osfhealthcare.org/blog/helping-children-sickle-cell-disease-live-healthiest-lives/>
- Pasternak N, Dzikowski R. PfEMP1: An antigen that plays a key role in the pathogenicity and immune evasion of the malaria parasite *Plasmodium falciparum*. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. 2009; 41(7): 1463-1466.
- Peters AL, Van Noorden CJF. Glucose-6-phosphate Dehydrogenase Deficiency and Malaria: Cytochemical Detection of Heterozygous G6PD Deficiency in Women. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*. 2009; 57 (11): 1003-1011.
- Piomelli S, Corash LM, Davenport DD, Miraglia J, Amorosi EL. In vivo lability of glucose-6-phosphate dehydrogenase in GdA- and Gd Mediterranean deficiency. *J. Clin. Invest.* 1968; 47: 940-948.

- Prats Pastor G. Microbiología y parasitología médicas. 1ª ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana; 2012.
- Puente S, García-Benayas T, Seseña G, González-Lahoz J. Malaria: Conceptos clínicos y terapéuticos. Enfermedades Emergentes. 2005; 7(1): 34-39.
- Roldan-Isaza M, Herrera-Almanza L, Hernández-Martinez A, Martínez-Sánchez LM. Anemia falciforme y resistencia a la malaria. Revisión narrativa. Revista de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad del Cauca. 2020; 22 (2):34-42.
- Romero Cabello R, Romero Feregrino R. Microbiología y Parasitología Humana: Bases Etiológicas de las Enfermedades Infecciosas y Parasitarias. 4ª ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana; 2018.
- Roth E, Schulman JR.S. The adaptation of *Plasmodium falciparum* to oxidative stress in G6PD deficient human erythrocytes. British Journal of Haematology. 1988; 70: 363-367.
- Vásquez A, Tobón A. Mecanismos de patogenia en la malaria por *Plasmodium falciparum*. Biomedica. 2012; 32(1): 106-120.
- Wajcman H, Galactéros F. Le déficit en glucose-6 phosphate déshydrogénase: protection contre le paludisme et risque d'accidents hémolytiques. C. R. Biologies. 2004; 327 (8): 711-720.
- Young MD, Ellis JM, Stubbs TH. Transmission of Foreign *Plasmodium vivax* by Anopheles Quadrimaculatus. ASTMH. 1946; s1-26 (4): 477-482.