

EXAMEN DE LAS INVESTIGACIONES MUNDIALES DE LA MALARIA¹

Dr. Tibor Lepes²

Se da cuenta de las investigaciones realizadas sobre la quimioterapia de la malaria y el progreso alcanzado en el campo de la inmunología.

En los últimos 10 ó 15 años se han intensificado las investigaciones sobre la malaria, en parte como consecuencia de los progresos realizados sobre técnicas aplicables a la investigación bioquímica, y en parte debido a las dificultades que han surgido en los programas de lucha antimalárica durante los últimos siete u ocho años. Los hallazgos de estas investigaciones se han presentado y examinado en diversos simposios, reuniones técnicas y grupos de trabajo y se han publicado en números especiales de revistas. Además de la labor emprendida por las asociaciones nacionales de medicina tropical, los Institutos Nacionales de Salud (E.U.A.) y los seminarios sobre investigaciones de la malaria del Centro Médico Walter Reed del Ejército de E.U.A., la OMS, con la colaboración de la OPS y el Centro para el Control de Enfermedades (Atlanta) y de los Gobiernos de El Salvador y Marruecos, ha organizado dos simposios, uno en San Salvador en 1971 y el otro en Rabat en 1974. En esos dos simposios, así como en las publicaciones al respecto, se hizo un amplio análisis de las investigaciones efectuadas sobre el parásito de la malaria, su vector y la reacción inmunitaria del huésped humano. Por consiguiente, no se mencionará ahora la copiosa información reunida en los últimos 20 años mediante investigaciones y observaciones sobre el terreno, sino que se señalarán datos más recientes que destacan ciertos aspectos que requieren mucha aten-

ción y se espera que en el futuro contribuyan a dominar la malaria en las zonas en que esta todavía prevalece.

Cuando se trata de una enfermedad como la malaria, que se viene investigando sin cesar desde hace casi un siglo, no cabe esperar que un milagro repentino resuelva el problema. Las complicaciones que entraña el desarrollo del parásito, en el huésped humano o en el vector, son múltiples, como lo es la reacción del huésped humano, y más aun, los tejidos y células directamente parasitados por plasmodios. A las dificultades de seleccionar el procedimiento apropiado para combatir el vector—como especie o con la finalidad de reducir su longevidad—se unen no solo los complicados mecanismos que utiliza el plasmodio para sobrevivir en el huésped humano sino también las bionomías a menudo complejas de un mosquito vector y de una selección genética con la población de la misma especie. No cabe duda que en años recientes se han incrementado enormemente los conocimientos en cuanto a la fisiología del plasmodio en relación con su metabolismo, el intercambio de enzimas con células huésped y las necesidades metabólicas generales del parásito. Por ejemplo, hace unos años el único medio para distinguir las diferentes cepas de una especie de plasmodio era su reacción a la quimioterapia antimalárica. Hoy, en cambio, es posible diferenciar las cepas genéticamente por medio de la síntesis de enzimas específicas e incluso efectuar la recombinación genética, hecho que reviste suma importancia para estudiar la respuesta del

¹ Trabajo presentado en la II Reunión de Directores de los Servicios Nacionales de Erradicación de la Malaria de las Américas, celebrada en Quito, Ecuador, del 21 al 26 de abril de 1975.

² Director, División de Paludismo y Otras Enfermedades Parasitarias, OMS.

plasmodio a los medicamentos antimaláricos. Además del método mencionado para distinguir las diferentes cepas de parásitos, se han emprendido otros estudios puramente experimentales con objeto de caracterizar las cepas en lo que se refiere a su período de incubación, tales como el realizado sobre la cepa Corea del Norte de *P. vivax*.

Durante varios años la cuestión referente a si los plasmidios son parásitos intracelulares o endocitóticos era puramente académica y en parte filosófica. Sin embargo, ahora se sabe que el eritrocito del huésped humano posee un receptor del parásito malarico y que la membrana protoplasmática de los glóbulos rojos de individuos infectados es frágil y permite la penetración de parásitos y el intercambio de metabolitos a través de la membrana celular.

El simple hecho de que el parásito de la malaria pase por dos fases evolutivas en el huésped humano, durante las cuales experimenta diferentes cambios morfológicos y se presenta en distintas estructuras moleculares, crea dificultades considerables a las células del mecanismo de defensa del huésped humano al reconocer al parásito y desarrollar anticuerpos contra el mismo. Resulta difícil concebir que en la actualidad no se conozca plenamente la función de la inmunidad celular en la infección malarica, cuando Golgi en 1886 y Metchnikoff en 1887 observaron la fagocitosis de los parásitos de la malaria por macrófagos. Habría que añadir que no se trata solo de las diferencias morfológicas del parásito en diferentes fases evolutivas sino de la selección genética congénita de variantes con la misma cepa de parásito que asegura la supervivencia de este último en su huésped y, naturalmente, requiere anticuerpos específicos para bloquear su desarrollo. Se puede afirmar con razón que, hasta donde llegan las investigaciones malaricas, el progreso alcanzado en el campo de la inmunología es más evidente, lo que ha infundido la esperanza de que se elaborará un agente inmunizante. En

años recientes se han destacado dos aspectos de la inmunidad a la malaria. Uno consiste en la medición de la respuesta inmunitaria mediante pruebas serológicas y el otro en la elaboración de un agente inmunizante contra dicha enfermedad.

La medición de la respuesta inmunitaria mediante distintas pruebas serológicas permite conocer la reacción total del huésped humano a la infección malarica. Se han llevado a cabo numerosos estudios transversales y longitudinales que indican que si bien ninguna de las técnicas—la prueba indirecta de anticuerpos fluorescentes (PIAF), la prueba indirecta de hemaglutinación (PIH) o la prueba de Ochterlony (precipitina)—miden los anticuerpos protectores circulantes en la sangre, tampoco ofrecen, particularmente para fines epidemiológicos, instrumentos útiles para evaluar los progresos de una campaña antimalárica o aseguran la intensidad de la prevalencia en zonas en que la enfermedad no está controlada. Ciertos estudios longitudinales emprendidos mediante la aplicación simultánea de esas pruebas han demostrado que en casos en que se administra la quimioterapia en masa a la población, los anticuerpos precipitantes son los primeros en disminuir casi inmediatamente después de la administración de medicamentos antimaláricos. La disminución va seguida más tarde de anticuerpos fluorescentes y solo después de un tiempo considerable, de anticuerpos aglutinantes medidos mediante la PIH. Esta observación indujo a muchos científicos a creer que los anticuerpos precipitantes estaban más relacionados que otros con los anticuerpos protectores. La reacción no específica del huésped humano, manifestada a través de una síntesis aumentada de algunas clases de inmunoglobulina, indican claramente que la IgG y la IgM están muy sintetizadas y, en medida mucho menor, la inmunoglobulina A. Conviene advertir que, en cuanto a la serología de la malaria, si bien se trata de un método útil, no puede sustituir a los méto-

dos de detección de casos y, por consiguiente, sigue siendo el único método válido para diagnosticar la malaria en el examen microscópico individual de sangre.

En relación con el aumento de la síntesis de clases específicas de inmunoglobulina, se ha observado que la IgM fluctúa de manera considerable, al paso que la IgG aumenta constantemente en los grupos más jóvenes, alcanzando el nivel máximo a la edad de 14 años en zonas holoendémicas y de ahí en adelante permanece más o menos estable. Esta observación llevó a la conclusión provisional de que el nivel de la síntesis de IgM podría utilizarse en relación con la intensidad del estímulo antigénico y, por consiguiente, podría indicar nuevas infecciones. Sin embargo, los estudios emprendidos para confirmar dicha conclusión no lograron demostrar que esta era totalmente cierta.

Se ha tratado con gran empeño de elaborar una vacuna y, con este fin, se han explorado todas las fases evolutivas de los parásitos. Desde el punto de vista epidemiológico sería preferible un agente inmunizante preparado a partir de los esporozoitos, ya que una vacuna de este tipo protegería a las personas inmunizadas contra la infección. Las formas eritrocíticas de plasmodios podrían, por la misma razón, proteger al individuo contra la manifestación clínica de la enfermedad pero, por lo menos en teoría, no podría detenerse totalmente la transmisión. No obstante, se realizó un gran esfuerzo utilizando formas eritrocíticas como material biológico, con resultados alentadores, por lo menos en parte.

Los estudios *in vitro* del efecto de los sueros hiperinmunes sobre el crecimiento y multiplicación de parásitos maláricos en cultivos sirven de base para conocer la inmunidad humoral en la infección malárica. Como muestran Cohen y colaboradores, el suero inmune aglutina los merozoitos en el momento en que el esquizonte maduro se rompe y los merozoitos quedan en libertad.

Los merozoitos que no están aglutinados llegan a los eritrocitos no infectados donde pueden desarrollar la esquizogonia en forma total. Esta aclaración sobre la inmunidad humoral revistió suma importancia para la futura elaboración de una vacuna antimalárica. Sin embargo, siguiendo un orden cronológico habría que hacer referencia en primer lugar a la inmunización mediante esporozoitos irradiados. Este estudio se ha proseguido durante varios años y ha demostrado claramente que en un modelo de malaria de los roedores, los esporozoitos irradiados utilizados como agentes inmunizantes podrían conferir protección hasta en un 80% de los animales inmunizados y que, en lo que se refiere a los plasmodios de los roedores, son específicos de grupo. Los resultados de estas investigaciones indican también que la protección conferida por los esporozoitos irradiados es total o nula.

Además de las investigaciones para las que se utilizaron como modelo plasmodios de los roedores, se emprendieron otros estudios en modelos de malaria de los simios y con especies de parásitos humanos. Las amplias investigaciones en este campo han demostrado que la inoculación con jeringa de esporozoitos irradiados es tan eficaz como la producida por las picaduras de mosquito. Si bien los resultados obtenidos con especies símicas son en cierto modo contradictorios, la inmunización de voluntarios humanos por la picadura de mosquitos irradiados que han desarrollado esporozoitos de *P. falciparum*, ha confirmado los primeros resultados de estudios sobre plasmodios de los roedores. Por el momento solo se conocen los resultados obtenidos en unos cuantos voluntarios humanos los que indican que la protección eficaz exige la inoculación de un considerable número de esporozoitos irradiados. En el caso de un voluntario, la protección estimulada de esta manera duró varios meses y fallaron todas las tentativas de confrontar al sujeto con esporozoitos viables.

A pesar de los resultados alentadores que se obtuvieron con los esporozoitos irradiados, la provisión de material biológico suficiente, es decir de esporozoitos de *P. falciparum*, ha sido y sigue siendo el obstáculo principal del desarrollo de esta clase de inmunización. No cabe duda que la producción en masa de esporozoitos por medios naturales requeriría una cantidad enorme de vectores muy eficaces y un número considerable de fuentes de gametocitos en el huésped humano o primates subhumanos, lo que desde el punto de vista logístico es bastante difícil.

Por esta razón se ha tratado con gran empeño de establecer un sistema para el cultivo de esporozoitos *in vitro*. A este respecto se han logrado resultados prometedores en estos dos últimos años, si bien el sistema establecido no permite la evolución de los esporozoitos de la fase de cigoto a la forma glandular de esporozoitos maduros. Puesto que han surgido dificultades en la mitad del proceso evolutivo de los esporozoitos, se espera que se prosiga con las investigaciones que permitan llenar ese vacío en el desarrollo completo de esporozoitos. En vista de todos estos resultados alentadores, y a pesar de las dificultades técnicas y logísticas, se debería estimular la elaboración de una vacuna antimalárica de esporozoitos irradiados.

Las numerosas tentativas para lograr una vacuna antimalárica a partir de formas eritrocíticas, con o sin adyuvantes, obtuvieron resultados moderados diversos. Sin embargo, cuando se utilizaron merozoitos en *P. knowlesi*—modelo rhesus—los resultados fueron mucho más prometedores. En efecto, en ese modelo la vacuna preparada con *P. knowlesi* protegió a la mayoría de los animales de la confrontación, no solo contra la variante homóloga del parásito con el que se preparó el agente inmunizante, sino también contra otras variantes. La ventaja que ofrece esta técnica es emplear parásitos cultivados *in vitro* y por consiguiente su logística es mu-

cho más fácil. Naturalmente, hay que comprender que, si bien el cultivo *in vitro* de parásitos de malaria es relativamente fácil cuando se trata de una especie de un ciclo de 24 horas, el cultivo de una especie de plasmodio con un ciclo de 48 horas o mayor no produce una tasa de multiplicación para recolectar un número suficiente de merozoitos. No obstante, se debe advertir que los merozoitos y esporozoitos demostraron ser las fases de desarrollo más indefensas del parásito, las cuales se identifican fácilmente por el mecanismo de defensa del huésped humano; por consiguiente, deberían ser las formas preferidas para elaborar un agente inmunizante, y se espera que en un futuro próximo se convierta en realidad.

En los últimos 10 años se han realizado considerables investigaciones en materia de quimioterapia de la malaria en relación con el mecanismo de acción de medicamentos antimaláricos conocidos o para esclarecer el modo de resistencia a los medicamentos y, en particular, en la elaboración de nuevos medicamentos de esta naturaleza. Al mismo tiempo, se emprendieron numerosos ensayos clínicos y sobre el terreno con antibióticos y sulfonamidas de acción prolongada, principalmente en combinación con pirimetamina para el tratamiento o la profilaxis de infecciones por cepas de *P. falciparum* resistentes a la cloroquina.

Las investigaciones intensivas encaminadas a obtener nuevos medicamentos son bien conocidas, y solo en Estados Unidos se han seleccionado y ensayado más de 215,000 compuestos. Aunque no se ha introducido en el mercado ninguno de los compuestos elaborados hasta la fecha, los datos experimentales revelan que algunos de ellos son muy activos contra la infección por *P. falciparum* y *P. vivax*, y uno de ellos promete ser muy activo contra el esquizonte tisular. Los productos más prometedores hasta ahora son los derivados de 9-hidroxi-metilfenantreno, 2,4-diamino-6-sulfoquinazoleínas, las 4-hidroxi-metilquinoleínas y las 1-benzoxi-

alcoxi-4,6-diamino-s-triazinas. Naturalmente, en ciertos casos no se ha obtenido lo que se esperaba, por ejemplo con las 6-aminoquinoleínas o amodinoureas. No obstante, cabe señalar que la importante inversión en la elaboración de nuevos medicamentos antimaláricos ha aportado información sustancial, y es de esperar que los compuestos obtenidos hasta la fecha se ensayarán sobre el terreno y podrán emplearse en un futuro próximo.

En este breve examen no se han mencionado muchos otros aspectos de las investigaciones de la malaria. En cierto modo se trata de estudios afines que contribuyen al conocimiento de la supervivencia de los parásitos en el huésped humano o que desempeñan una función importante en el ciclo de la transmisión. La OMS ha realizado un esfuerzo considerable al estimular las investigaciones básicas en los países en desarrollo aun cuando esta labor sigue siendo todavía un privilegio de instituciones y laboratorios muy desarrollados.

No obstante, hay un aspecto de la investigación que está al alcance de todos los malariólogos, es decir, la investigación operativa en condiciones ecológicas locales específicas. En este campo se han llevado a cabo ciertas investigaciones muy elaboradas para desarrollar un modelo matemático que ya puede utilizarse. Este modelo requiere nuevos ensayos antes de que pueda emplearse como instrumento de planificación, lo que se logrará en los tres o cuatro años próximos. De todas maneras, aun en ausencia de modelos matemáticos refinados, existen amplias posibilidades para el estudio de la epidemiología local y la aplicación racional de los métodos y medios disponibles. En el pasado, la ejecución de programas de erradicación de la malaria ha sido en muchos casos muy rígida y, de manera excesiva, ha estado basada exclusivamente en el rociamiento de acción residual de las viviendas. Las investigaciones operativas deberán abarcar todos los aspectos relacionados con el

rociamiento, la vigilancia y las bionomías y ecología de los vectores.

Los resultados prometedores obtenidos en las investigaciones de la malaria indican que la inversión estuvo bien justificada. Pero estas investigaciones deben estar más relacionadas con el desarrollo de programas operativos y los problemas técnicos planteados. La OMS continuará estimulando a los investigadores en este sentido. Se espera también que se intensifiquen las investigaciones sobre la malaria dentro del programa especial de la OMS sobre investigaciones biomédicas de enfermedades parasitarias tropicales, entre las cuales la malaria recibe especial atención.

Igual importancia reviste la ejecución de investigaciones operativas que faciliten la aplicación racional de los medios disponibles. Se espera que la situación mundial de la malaria estimule a graduados jóvenes e investigadores para que dediquen sus actividades profesionales a esta enfermedad y para que, con las nuevas investigaciones, se logre combatir la malaria de una manera más eficaz que hasta el presente.

Resumen

En la última década se han realizado innumerables investigaciones respecto de la quimioterapia de la malaria. Es indudable, por ejemplo, que se han incrementado en forma considerable los conocimientos de la fisiología del plasmodio en relación con su metabolismo, intercambio de enzimas con células huésped y las necesidades metabólicas generales del parásito.

Hasta hace poco el único medio para distinguir las diferentes cepas de una especie de plasmodio era su reacción a la quimioterapia antimalárica. Hoy, en cambio, es posible diferenciar las cepas genéticamente mediante la síntesis de enzimas específicas e incluso lograr la recombinación genética.

Asimismo se han emprendido otros estudios puramente experimentales con miras a

caracterizar las cepas en lo que se refiere a su período de incubación.

Se puede afirmar que, hasta donde llegan las investigaciones maláricas, el progreso alcanzado en el campo de la inmunología es

más evidente. Cabe destacar dos aspectos de la inmunidad a la malaria: la medición de la reacción inmunitaria mediante pruebas serológicas y la elaboración de un agente inmunizante contra dicho mal. □

Review of malaria research in the world (Summary)

Much research has been done on malaria chemotherapy in the last decade. Substantial new knowledge has been gained, for instance, about the physiology of the plasmodium parasite—its metabolism, exchange of enzymes with host cells, and general metabolic requirements.

Until recently the only means of differentiating among the various strains of a *Plasmodium sp.* was their reaction to antimalaria drugs. Today it is possible to identify the strains genetically by observing the synthesis of specific

enzymes and even to bring about genetic recombination.

In addition, purely experimental studies have been made to identify strains by the length of their incubation period.

Considerable progress has been achieved in malaria immunology. Two aspects of immunity to malaria should be given particular attention: serologic tests to measure immunity levels, and development of an immunizing agent.

Exame das pesquisas mundiais de malária (Resumo)

Realizaram-se na última década incontáveis pesquisas sobre a quimioterapia da malária. Não há dúvida, por exemplo, que aumentaram consideravelmente os conhecimentos da fisiologia do plasmódio em relação ao seu metabolismo, ao intercâmbio de enzimas com células hóspedes e às necessidades metabólicas gerais do parasito.

Até recentemente, o único meio de distinguir as diferentes raças de uma espécie de plasmódio consistia em sua reação à quimioterapia anti-malárica. Hoje, porém, é possível diferenciar geneticamente as raças mediante a síntese de

enzimas específicas, e mesmo conseguir a recombinação genética.

Também se empreenderam outros estudos inteiramente experimentais com vistas a caracterizar as raças em função de seu período de incubação.

Pode-se afirmar que, até o ponto a que chegaram as pesquisas da malária, o progresso mais evidente foi alcançado no campo da imunologia. Cumpre destacar dois aspectos da imunidade à malária: a aferição da resposta imunitária mediante provas serológicas e a elaboração de um agente imunizante contra esse mal.

Etude des enquêtes mondiales sur le paludisme (Résumé)

La dernière décennie a été marquée par de nombreuses enquêtes sur la chimiothérapie du paludisme. Il ne fait aucun doute par exemple qu'ont été sensiblement approfondies les connaissances sur la physiologie du plasmodium quant à son métabolisme, l'échange des enzymes avec les cellules hôtes et les besoins métaboliques généraux du parasite.

Il n'y a pas longtemps encore, le seul moyen de distinguer les différentes souches d'une espèce de plasmodium résidait dans sa réaction à la chimiothérapie antipaludique. Aujourd'hui par contre, il est possible de le faire génétiquement par le jeu d'une synthèse des enzymes

spécifiques et de procéder même à une recombinaison génétique.

Par ailleurs, on a entrepris d'autres études purement expérimentales pour identifier la période d'incubation des souches.

On peut affirmer qu'en matière d'enquêtes sur le paludisme, ce sont les progrès accomplis dans le domaine de l'immunologie qui sont les plus évidents. A cet égard, il y a lieu de souligner deux aspects de l'immunité au paludisme: la mesure de la réaction immunitaire au moyen d'épreuves sérologiques et l'élaboration d'un agent immunisant contre ce mal.