

Respuesta inmune celular contra el *Plasmodium falciparum*

Fabiola Toro

Se presenta una revisión sobre el papel de las células del sistema inmune contra el *Plasmodium falciparum*. Parece ser que los polimorfonucleares ejercen una acción importante en el control de los parásitos al inicio de la infección; después las células importantes son los linfocitos T que a través de linfoquinas pueden activar otras células que en última instancia son las efectoras contra los glóbulos rojos y muy posiblemente las células hepáticas infectadas con el parásito. Estas células efectoras pueden ser linfocitos T citotóxicos, células NK y células del sistema monocito-macrófago, siendo tal vez estas últimas las más involucradas en la destrucción del parásito; pero, al mismo tiempo, participando en la patogénesis de la enfermedad sobre todo en malaria cerebral, a través de mediadores como el factor de necrosis tumoral y los radicales del oxígeno.

La malaria producida por el *Plasmodium falciparum* es una entidad que se caracteriza por serias complicaciones en varios órganos y sistemas, principalmente el sistema nervioso central, que en muchos casos lleva a la muerte si no se aplica oportunamente el tratamiento adecuado.

El parásito desarrolla un ciclo sexual en el vector, en el cual los gametocitos obtenidos de un individuo infectado, forman un ooquiste que pasa por diferentes estadios de maduración, hasta los esporozoítos, que son las formas infectantes para un nuevo huésped. En el humano tiene lugar el

ciclo asexual que se inicia con el ingreso de los esporozoítos al torrente circulatorio, del cual pasan al hígado para transformarse en esquizontes y éstos al madurar liberan merozoítos, que son la forma infectante para los glóbulos rojos. Aquí, los merozoítos se transforman primero en trofozoítos y luego en esquizontes; estos últimos al madurar liberan merozoítos, los cuales invaden nuevos glóbulos rojos para continuar el mismo ciclo o se transforman en gametocitos para infectar nuevos vectores (1).

El estudio de la respuesta inmune en esta entidad ha sido difícil debido a la existencia de diferentes cepas del parásito (2), a los distintos estadios, con antígenos diferentes (3), y además a la variación antigénica que se presenta posiblemente por recombinación genética durante el estadio sexual que se desarrolla en el vector (4) o por presión inmunológica durante el curso de una infección, la cual parece inducir mutaciones puntuales o delección de genes (5).

La primera línea de defensa celular del huésped contra cualquier agente infeccioso son los polimorfonucleares neutrófilos (PMN), por lo tanto es interesante conocer su papel contra el *P. falciparum*. Se ha utilizado un sistema *in vitro*, en el cual se colocan PMN de individuos normales, en presencia de glóbulos rojos infectados con formas asexuales del parásito (trofozoítos y esquizontes), empleando como fuente de opsoninas tres tipos de suero: suero inmune de individuos que viven en zonas endémicas, suero de pacientes convalecientes y una mezcla de sueros humanos normales. Se observa que los PMN normales pueden fagocitar glóbulos rojos infectados por *P. falciparum* en presencia de suero normal y de

Dra. Fabiola Toro Castaño: Profesora Sección de Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia.

Solicitud de separatas a la Dra. Toro.

convaleciente. Pero la actividad fagocítica se incrementa al utilizar suero inmune. El factor responsable en este suero es la inmunoglobulina G, ya que si el suero se libera de este anticuerpo, la actividad opsonizante desaparece (6). También se han estudiado PMN de pacientes con infección aguda en presencia de formas asexuales del parásito y se ha encontrado que son capaces de inhibir el crecimiento del *Plasmodium*. Se postula un control de la infección por los PMN antes de que se activen los mecanismos de defensa específicos, como son la inmunidad celular y la humoral (7).

Un primer parámetro analizado en la respuesta inmune celular específica, es el papel de los linfocitos T frente a antígenos del parásito. D. J. Yler y colaboradores, en 1979 (8), cultivaron estas células con un antígeno obtenido de glóbulos rojos infectados y lisados con saponina, encontrando que los linfocitos T no inmunes pueden proliferar en respuesta a una concentración de antígeno de 20 µg/ml, lo cual demuestra un papel mitogénico para las células T. Cuando utilizaron linfocitos T de individuos inmunes, la respuesta fue mucho mejor y se presentó aun con bajas concentraciones del antígeno (2µg/ml).

Sin embargo, cuando se estudia la respuesta proliferativa de los linfocitos T de pacientes en fase aguda de la infección, contra antígenos de *P. falciparum* o contra antígenos no relacionados, se encuentra una inhibición y una hiporrespuesta, respectivamente. La inhibición en la respuesta T correlaciona con una falla de estas células para producir interleuquina 2 (IL2) y para expresar el receptor para la linfoquina en su membrana celular. Al mismo tiempo se encuentran en el plasma concentraciones elevadas del receptor en una forma soluble. El significado de esto último se desconoce, pero lo que sí está claro es la inmunosupresión que se presenta en la fase aguda de la enfermedad en lo que respecta a la funcionalidad de la célula T. La hiporrespuesta frente a antígenos no relacionados con el parásito, también se asocia con una disminución en la producción de IL2. La célula o producto involucrado en la inmunosupresión no se ha definido; al parecer no se relaciona con células adherentes o con

prostanglandinas, ya que la remoción de las primeras o el tratamiento con indometacina no corrigen el defecto (9).

A pesar de que durante la fase aguda de la infección la respuesta de las células T se encuentra alterada, se generan células de memoria que responden específicamente a antígenos del parásito, como se mencionó anteriormente con las células de individuos inmunes (8). Se espera que las células T que responden al parásito, activen células efectoras para la destrucción del mismo. Por ello, se analizará a continuación el papel de tres tipos de células citotóxicas contra el *P. falciparum*: la célula T con fenotipo CD8, las asesinas naturales (NK) y las del sistema monocito-macrófago.

En 1988, T.G. Theander y col. (10) enfrentaron células mononucleares de individuos inmunes, a glóbulos rojos infectados con esquizontes de *P. falciparum*, marcados con Cr⁵¹ y encontraron que estas células no ejercían actividad citotóxica contra los glóbulos rojos infectados, lo cual llevó a estos autores a suponer que en el paludismo no se generan células T citotóxicas. Sin embargo, por la misma época, otros autores lograron obtener clonas de células T citotóxicas con fenotipo CD8, de ratones inmunizados con esporozoítos de *P. falciparum*. Estas clonas reconocían una proteína del circunsporozoíto y eran capaces de lisar fibroblastos de ratón transfectados con el gen para esa proteína (11).

Ya que las células T citotóxicas CD8 + reconocen antígenos de plasmodio en el contexto de moléculas de histocompatibilidad clase I (12), se puede explicar la discrepancia en los resultados de estos dos trabajos. En el primer caso se emplearon, como células blanco, glóbulos rojos infectados, los cuales no expresan antígenos de histocompatibilidad. Sería interesante realizar estudios con reticulocitos infectados, como células blanco, ya que estas células pueden expresar gran cantidad de moléculas de histocompatibilidad clase I durante la infección por ciertos tipos de plasmodio (*P. yoelli*) (13). Otras células blanco importantes además de los reticulocitos, pueden ser los hepatocitos infectados, ya que estas células

expresan en la membrana proteínas codificadas por el *P. falciparum*, entre ellas una proteína del shock térmico conocida como HSP-70, la cual es inmunogénica (14).

Aunque en el humano no se han identificado células T citotóxicas CD8+ contra *P. falciparum*, se han detectado niveles altos de moléculas CD8 solubles, en el suero de los pacientes con infección aguda, lo cual puede indicar una gran actividad de células con este fenotipo (15).

Cuando se investiga el papel de las células NK, se encuentra que no tienen actividad citotóxica contra los glóbulos rojos infectados con formas asexuales del parásito (10). A pesar de esto, la actividad NK contra células K562, es mayor en pacientes con una infección aguda si se compara con células de individuos sanos. Además la actividad NK en los pacientes en fase aguda correlaciona con el grado de parasitemia: a mayor parasitemia mayor es la actividad NK. Al parecer las células NK se encuentran activas *in vivo* por la presencia de altos niveles de interferón alfa, circulante (16).

Si las células NK no destruyen los glóbulos rojos infectados por el parásito, ¿entonces qué significado biológico tiene un aumento de su actividad? ¿Acaso pueden actuar sobre hepatocitos infectados?

Si el papel de las células T citotóxicas y el de las células NK parece incierto, los monocitos y macrófagos son considerados como células efectoras claves, contra el parásito. Estas células pueden ser activadas directamente por el parásito o por productos derivados de los linfocitos T activados (17). Cuando estas células fagocíticas mononucleares se activan, hay un incremento en su explosión respiratoria, generando altas concentraciones de metabolitos del oxígeno como anión superóxido (O_2^-), peróxido de hidrógeno (H_2O_2), radical hidroxilo (OH) y oxígeno simple (1O_2), los cuales son potentes agentes oxidantes.

Se ha estudiado *in vitro* el efecto de los metabolitos del oxígeno contra el *P. falciparum*, utilizando sistemas libres de células, como el sistema glucosa-glucosa oxidasa, que genera principalmente H_2O_2 y el sistema xantina-xantina oxidasa

que produce H_2O_2 , O_2^- , OH $^-$ y 1O_2 . Cuando se colocan glóbulos rojos infectados en presencia de estas sustancias, se encuentra que sólo el H_2O_2 inhibe el crecimiento del parásito y lo hace en forma muy efectiva. El efecto inhibitor se aumenta al agrupar una peroxidasa y un halógeno. Se postula que el efecto del H_2O_2 puede ser directamente sobre el parásito después de penetrar la membrana del eritrocito o ser indirecto provocado por el daño que esta sustancia puede causar en la membrana del glóbulo rojo (17).

Para estudiar el papel de las células del sistema fagocito mononuclear, se han utilizado monocitos de individuos sanos y de pacientes con enfermedad granulomatosa crónica, que se sabe son defectuosos en la producción de metabolitos del oxígeno. Cuando estos dos tipos de células se ponen en contacto con glóbulos rojos infectados, se encuentra que ambas pueden inhibir la multiplicación del *P. falciparum*, pero con una mayor efectividad los monocitos de los individuos sanos. El efecto inhibitor en estos experimentos es mediado por el H_2O_2 . Cuando se utilizan macrófagos activados con linfoquinas o con interferón gama la respuesta es mucho mejor y nuevamente correlaciona con la producción de H_2O_2 en niveles considerables (14).

Que las células de los pacientes con enfermedad granulomatosa crónica tengan algún efecto sobre el parásito, significa que los macrófagos y monocitos contienen otros mecanismos antiparasitarios independientes del sistema oxidasa que genera anión superóxido. Dos de ellos pueden ser: el óxido nítrico y el factor de necrosis tumoral (TNF). El óxido nítrico es un compuesto producido por las células fagocíticas mononucleares estimuladas con interferón gama conjuntamente con otras citoquinas, entre ellas el factor de necrosis tumoral alfa y la interleuquina 1. Su mecanismo de acción se desconoce, pero se postula que el óxido nítrico puede reaccionar con grupos que contengan hierro y azufre (Fe-S) para formar complejos de hierro-nitrosil que pueden inactivar funciones a nivel de la mitocondria. Por otro lado, el óxido nítrico puede reaccionar con anión superóxido para formar anión peroxinitrito, el cual se transforma en radical hidroxilo, un agente altamente oxidante. No

existen estudios sobre el papel del óxido nítrico en malaria, pero se ha demostrado su actividad contra otro tipo de parásitos (18).

La otra sustancia producida por los monocitos y los macrófagos que puede estar involucrada en la actividad antimalárica, es el TNF. En 1983, C. G. Haidaris y col. (15) estudiaron el efecto directo de este factor sobre glóbulos rojos parasitados, utilizando como fuente de TNF suero de ratón infectado con BCG y luego tratado con LPS. Lo que estos investigadores encontraron fue una disminución de la viabilidad de los parásitos con una inhibición total del crecimiento en dosis de 6 a 12% de suero dependiendo de la cepa de *P. falciparum*. El efecto antiparasitario fue mediado por TNF, porque el tratamiento con un anticuerpo dirigido contra este factor protegió a los parásitos del efecto del suero de ratón. Estudios posteriores utilizando otras fuentes de TNF como sobrenadantes de macrófagos de ratón y monocitos humanos estimulados con endotoxina, mostraron igualmente disminución de la viabilidad del parásito, siendo más efectivo el sobrenadante de los monocitos humanos (20). Pero, aunque el TNF tiene un efecto aparentemente antiparasitario, su producción exagerada puede estar involucrada en la patogénesis de la malaria.

En los pacientes con infección aguda por *P. falciparum* se encuentran a nivel circulante, altas concentraciones del factor (21), al igual que un aumento en su producción por parte de las células mononucleares (22). Los estudios *in vitro* demuestran que el *P. falciparum* estimula estas células para producir TNF. Su liberación coincide con la ruptura de esquizontes eritrocitarios y por lo tanto se cree que es el factor mediador de la fiebre durante esta fase de la enfermedad (22).

Por otro lado, el TNF puede inducir daño del endotelio vascular con edemas y aumento de permeabilidad, como sucede a nivel pulmonar en animales de experimentación a los cuales se inyecta citoquina intravenosa (23). Se piensa que el daño celular provocado por esta sustancia está mediado por otros factores como el activador plaquetario, las prostaglandinas, los tromboxanos y los metabolitos del oxígeno (24). Esto último es posi-

ble, ya que el TNF aumenta la adherencia de los granulocitos al endotelio (25), posiblemente aumentando la expresión de moléculas de adherencia en las células endoteliales de la microvasculatura cerebral. Los granulocitos al ser activados por cualquier estímulo pueden liberar radicales del oxígeno, altamente oxidantes, que producen daño tisular (26). El estímulo pueden ser los eritrocitos infectados por el *P. falciparum*, en los cuales se forman unas protuberancias que expresan proteínas de superficie capaces de interactuar también con las moléculas de adherencia en las células endoteliales (27). Este fenómeno puede llevar a la obstrucción de pequeños vasos a nivel cerebral.

Como en todas las enfermedades infecciosas, se espera que estos estudios sobre inmunidad e inmunopatogénesis en malaria contribuyan al desarrollo de esquemas inmunopreventivos y terapéuticos efectivos contra el *Plasmodium*, sin el riesgo de activar mecanismos inmunopatogénicos.

ABSTRACT

The role of the cellular immune response against *Plasmodium falciparum* is discussed in this review. During the early stages of the infection, polymorphonuclear cells are the main barrier against the parasite. As the infection progresses, T lymphocytes and its lymphokines take up the main role. The effector cells seem to be cytotoxic T cells, NK cells, and monocytes. Monocytes appear to be the most effective; however, they also participate significantly in the pathogenesis of the disease, particularly in cerebral malaria where monocyte products, like tumor necrosis factor and oxygen radicals, are responsible for the tissue injury.

AGRADECIMIENTOS

Al doctor Jorge Ossa L. por su colaboración en la revisión del manuscrito.

REFERENCIAS

1. **Garnham PCC.** Malaria parasites of man: life cycles and morphology (excluding ultrastructure). In: Wemsdorfer WH, eds McGregor SI. Malaria. Principles and practice of malariology. Edinburgh: Churchill Livingstone 1988; 1: 61-96.
2. **Brown KN, Berzins K, Jarra W, Schetters T.** Immune responses to erythrocytic malaria. *Clin Immunol Allergy* 1986; 6: 227-249.
3. World Health Organization. Exoerythrocytic and asexual blood stage

- antigens of human malaria parasites: report of the tenth meeting of the scientific working group on the immunology of malaria. *Geneva* 1988; 1-77.
4. **Day KP, Marsh K.** Naturally acquired immunity to *Plasmodium falciparum*. *Immunoparasitol Today* 1991; **1**: A68-A70.
 5. **Mendis KN, David PH, Carter R.** Antigenic polymorphism in malaria: Is it an important mechanism for immune evasion? *Immunoparasitol Today* 1991; **1**: A34-A37.
 6. **Celada A, Cruchand A, Perrin LH.** Phagocytosis of *Plasmodium falciparum* parasitized erythrocytes by human polymorphonuclear leukocytes. *J Parasitol* 1983; **69**: 49-53.
 7. **Brown J, Smalley ME.** Inhibition of the *in vitro* growth of *Plasmodium falciparum* by human polymorphonuclear neutrophil leukocytes. *Clin Exp Immunol* 1981; **46**: 106-109.
 8. **Yler DJ, Herrod HG, Weinbaum F.** Responses of sensitized and insensitized human lymphocyte subpopulations to *Plasmodium falciparum* antigens. *Infect Immun* 1979; **24**: 106-110.
 9. **Ho M, Webster HK, Green B.** Defective production of and responses to IL2 in acute human falciparum malaria. *J Immunol* 1988; **141**: 2755-2759.
 10. **Theander TG, Anderson BJ, Pedersen BK, et al.** Cell mediated immunity to *Plasmodium falciparum* infection. Evidence against the involvement of cytotoxic lymphocytes. *J Immunol* 1988; **28**: 105-111.
 11. **Kumar S, Miller LH, Quakyi IA, Keister DB, Houghten RA.** Cytotoxic T cells specific for the circumsporozoite protein of *Plasmodium falciparum*. *Nature* 1988; **334**: 258-260.
 12. **Romero P, Maryanski JL, Corradin G, Nussenzweig RS, et al.** Cloned cytotoxic T cells recognize an epitope in the circumsporozoite protein and protect against malaria. *Nature* 1989; **341**: 323-326.
 13. **Jayawardan AN, Mogil R, Murphy DB, et al.** Enhanced expression of H-2K and H-2D antigens on reticulocytes with *Plasmodium yelli*. *Nature* 1983; **302**: 623-626.
 14. **Polla BS.** Heat shock proteins in host-parasite interactions. *Immunoparasitol Today* 1991; **1**: A38-A41.
 15. **Kremsner PG, Bienzle U.** Soluble CD8 antigens in *Plasmodium falciparum* malaria. *J Infect Dis* 1989; **160**: 357-358.
 16. **Ojo-Amaize EA, Salimonu LS, Williams AIO et al.** Positive correlation between degree of parasitemia, interferon titers and natural killer cell activity in *Plasmodium falciparum* infected children. *J Immunol* 1981; **127**: 2296-2300.
 17. **Ockenhouse CF, Schulman S, Shear HL.** Induction of crisis forms in the human malaria parasite *Plasmodium falciparum* activated monocyte derived macrophages. *J Immunol* 1984; **133**: 1601-1608.
 18. **Liew FY, Cox FEG.** Nonspecific defense mechanism: The role of nitric oxide. *Immunoparasitol Today* 1991; **1**: A17-A21.
 19. **Haidaris CG, Haynes JD, Meitzer MS, Allison AC.** Serum containing tumor necrosis factor is cytotoxic for the human malaria parasite *Plasmodium falciparum*. *Infect Human* 1983; **42**: 385-393.
 20. **Wozencraft AO, Dockrell HM, Taverne J, et al.** Killing of human malaria parasites by macrophages secretory products. *Infect Immun* 1984; **43**: 664-669.
 21. **Gran GE, Taylor TE, Moyneux ME, et al.** Tumor necrosis factor and disease severity in children with *falciparum* malaria. *N England J Med* 1989; **320**: 1586-1591.
 22. **Kwiatkowsky D, Cannon JG, Manogue KR, et al.** Tumor necrosis factor production in *falciparum* malaria its association with schizont rupture. *Clin Exp Immunol* 1989; **77**: 361-366.
 23. **Goldblum SE, Hennig B, Jay M, et al.** Tumor necrosis factor alfa induced pulmonary vascular endothelial injury. *Infect Immun* 1989; **57**: 1218-1226.
 24. **Clark IA.** Cell mediated immunity in protection and pathology of malaria. *Parasitol Today* 1987; **3**: 300-305.
 25. **Gamble JR, Harlan JM, Klebanoff SJ, Vadas MA.** Stimulation of the adherence of neutrophils to umbilical vein endothelium by human recombinant tumor necrosis factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985; **82**: 8667-8671.
 26. **Weiss SJ.** Tissue destruction by neutrophils. *N Engl J Med* 1989; **320**: 365-376.
 27. **Alkawa M, Iseki M, Barnwell JW, Taylor D, et al.** The pathology of human cerebral malaria. *Am J Trop Med Hyg* 1990; **43 (Suppl)**: 30-37.