

El Modelo Animal de Primates No-Humanos (Monos) en el Estudio de la Malaria

Frank Cogswell, PhD*

INTRODUCCION

En la actualidad se cuenta con buenos modelos de estudio de la malaria en los primates no-humanos (monos). La analogía del comportamiento de la enfermedad permite utilizar este modelo para estudios de patología y terapéutica. En general, podemos usar malaria de humanos adaptada a monos cuando estamos interesados en la respuesta del parásito a drogas. Si estamos más interesados en conocer la patología del hospedero o la respuesta del hospedero al parásito, entonces es mejor usar malaria de monos en un mono.¹ Hay dos ventajas principales de usar el modelo de monos: control de los parámetros de la infección y los aspectos éticos. Se puede controlar el tiempo de la infección, las especies que producen la infección y la re-infección a partir de mosquitos. También se pueden eliminar otros factores tales como nutrición y otras enfermedades que podrían contribuir a la patología. Además, en los monos es posible retrasar el inicio del tratamiento, lo cual sería éticamente imposible en humanos. Podemos permitir que ellos se enfermen severamente, podemos tomar múltiples muestras para estudio, y podemos hacer autopsias inmediatamente cuando ellos mueren. Todo esto es difícil, si no imposible

de hacer en humanos. El mejor modelo de *Plasmodium vivax* es *P. cynomolgi* en el mono rhesus (*Macaca mulatta*). Se usa *P. knowlesi*, *P. coatneyi* y *P. fragile* en el mono rhesus como modelos de *P. falciparum*. Hay dos especies de monos del Nuevo Mundo que pueden ser inoculados con parásitos de malaria humana (*P. falciparum* y *P. vivax*), los monos Ardilla (*Samiri sciureus*) y Búho (*Aotus*).

La malaria es un grave problema en todo el mundo. Los estimados de la Organización Mundial de la Salud son 300 millones de casos agudos anuales con más de un millón de muertes.² Sin embargo, estas cifras pueden representar subestimados debido a que están basadas en mortalidad infantil debido principalmente a malaria cerebral, sin incluir otras complicaciones de la malaria como anemia e hipoglicemia. En vista de que no se dispone de una vacuna eficaz hasta el momento y que la resistencia a drogas (cloroquina y otras) continua aumentando, el modelo animal representa un instrumento muy útil en el desarrollo de nuevas herramientas para la lucha contra la malaria.

CENTRO REGIONAL DE PRIMATES, UNIVERSIDAD DE TULANE

En el Centro Regional de Tulane, hay principalmente tres especies de monos. El primero es un mono del Viejo

* Centro Regional de Primates, Universidad de Tulane, Covington, Louisiana, Estados Unidos de América. El Dr. Cogswell es colaborador del Proyecto Malaria Recurrente en Honduras (OMS/TDR/PNUD/Banco Mundial ID 970757), Servicio de Parasitología, Departamento de Laboratorio Clínico, Hospital Escuela, Tegucigalpa.

Dirigir correspondencia a: Dr. Frank Cogswell, cogswell@tpc.tulane.edu

Mundo, el mono rhesus (*Macaca mulatta*). Hay casi 5,000 ejemplares de estos animales. Ellos pueden ser infectados con *P. cynomolgi*, *P. knowlesi*, y *P. simiovale*. Desafortunadamente, ellos no pueden ser infectados con parásitos de humanos. El mono del Nuevo Mundo que se utiliza más es el mono Ardilla (*Samiri sciureus*). Puede ser inoculado con *P. falciparum*, pero sólo con sangre (estadios asexuales sanguíneos) no con esporozoitos (estadio infectante del mosquito al vertebrado) y no producen gametocitos (estadios sexuales sanguíneos). Pueden ser inoculados con ambos, esporozoitos y estadios asexuales sanguíneos de *P. vivax* y producen gametocitos para infectar mosquitos. Otro mono del Nuevo Mundo es *Aotus*, o el mono Búho. Puede ser infectado con sangre o esporozoitos de ambos *P. vivax* y *P. falciparum*. También produce gametocitos para infectar mosquitos. La desventaja de este animal es que es nocturno y muy frágil. En el Centro también esta disponible una colonia de una especie del insecto vector de la malaria, *Anopheles dirus*. Este es un mosquito robusto y se alimenta bien de los monos. La gran desventaja de estos mosquitos es que no se cruzan en cautiverio.

MODELO DE MONOS PARA LA MALARIA HUMANA

Hay cuatro especies principales de *Plasmodium* que infectan al humano: *falciparum* (el más peligroso), *vivax*, *ovale* y *malariae*. En Honduras existe *P. falciparum* y *P. vivax*; la transmisión de *P. malariae* no se ha documentado como en otros países latinoamericanos. El mejor modelo de *P. vivax* es *P. cynomolgi*. Morfológicamente y evolutivamente el parásito es muy similar a *P. vivax* y presenta verdaderas recaídas a partir de estadios hepáticos latentes (hipnozoitos).³ El hipnozoito fue actualmente visto primero en monos rhesus infectados experimentalmente con *P. cynomolgi*. En el Centro se utilizó este modelo para desarrollar marcadores moleculares de recaídas en malaria vivax.^{4,5} El Proyecto Malaria Recurrente en Honduras representa una combinación de este trabajo.

Plasmodium knowlesi se utiliza como un modelo de la patología de *P. falciparum*. Es un parásito único porque tiene un ciclo de 24 horas e induce alta mortalidad en los monos rhesus. Se secuestra, así como lo hace *P. falciparum*, en la microvasculatura. También, igual que *P. fal-*

ciparum, tiene genes var que codifican para proteínas en la superficie del glóbulo rojo.⁶ Es muy patogénico para el mono rhesus (*Macaca mulata*) pero no para el mono *Macaca fascicularis*. Un proyecto que está en curso en la actualidad en el Centro pretende desarrollar un modelo de la malaria cerebral en monos infectados con *P. knowlesi*. Para estudiar la contribución de la citoadherencia (secuestro) a la malaria cerebral, nosotros primero aislamos células endoteliales cerebrales de mono rhesus y las cultivamos *in vitro*. Después cultivamos parásitos los cuales se adherían a las células endoteliales y también parásitos que no se adherían. Luego se inocularon de regreso los parásitos en monos para buscar signos de malaria cerebral.⁷ De manera preliminar, no se encontraron diferencias entre los animales experimentales (inoculados con parásitos citoadherentes) y los animales controles (inoculados con parásitos no citoadherentes).

También hemos utilizado *P. coatneyi* como un modelo de la malaria en el embarazo.⁸ Este es un problema grave en Africa y tiene la potencialidad de ser también un problema en Honduras si el número de casos de *P. falciparum* continua aumentando. *Plasmodium coatneyi* tiene una alta mortalidad para los monos rhesus y se sabe que se secuestra en la microcirculación. Una desventaja de usar este parásito es que no puede ser cultivado *in vitro*. En el mono rhesus hemos encontrado que el parásito va rápidamente de la circulación materna a la fetal y algunos de los bebés nacidos de madres infectadas están infectados congénitamente. Esta infección aparece hasta 8-10 semanas después del nacimiento y podría ser considerada como una infección primaria en un área endémica. Sin embargo, en el Centro no tenemos mosquitos infectados así que sabemos que la infección del bebé viene de la madre. Esta es otra ventaja de usar el modelo animal. Adicionalmente, hemos encontrado que la consecuencia más importante de la malaria en el embarazo es la anemia. Seguimos semanalmente al feto a través de ultrasonido para determinar la tasa de crecimiento. Los bebés nacidos de madres infectadas a menudo tienen retardo en el crecimiento y no ganan estatura, ya sea antes o después del nacimiento, tan rápido como los controles. Este es uno de los factores escondidos en los niños africanos que nosotros podemos seccionar usando un modelo animal.

Plasmodium simiovale es un buen modelo de *P. ovale*. Tiene hipnozoitos en el hígado y es morfológicamente muy similar a *P. ovale*.⁹ Otro parásito de monos es *P.*

brasilianum que se encuentra en monos aulladores (*Alouatta sp.*). Este es equivalente a *P. malariae* en el humano y la transmisión de mono a humano es sospechada en Guyana Francesa.¹⁰

Otras investigaciones de malaria en la Universidad de Tulane incluyen evaluaciones terapéuticas de drogas anti-maláricas, para compañías de drogas y para nuestros colegas. En el caso de los antimaláricos desarrollados por el Dr. Donald J. Krogstad (Departamento de Medicina Tropical, Escuela de Salud Pública y Medicina Tropical New Orleans), las drogas son hechas en Tulane, probadas *in vitro*, luego probadas en el modelo de monos. En estos momentos hay un compuesto que está siendo probado en humanos en el Hospital de Caridad, después de lo cual será llevado a Mali, Africa Occidental, para ser probado en humanos que viven en áreas endémicas.¹¹ Recientemente se comenzó una investigación utilizando el virus de inmunodeficiencia de simio, el equivalente en mono del VIH, para estudiar la interacción de este virus con la malaria.

Por otro lado, las especies de malaria de monos que infectan a los humanos incluye *P. cynomolgi* (accidental y experimental), *P. knowlesi* (natural y terapéutico), *P. brasilianum* (experimental y natural), *P. simium* (natural) *P. inui* (experimental) y *P. schwetzi* (experimental). Hay una relación cercana entre las especies de *Plasmodium* de primates, ambas las que infectan monos y las que infectan humanos,¹² lo cual nos permite utilizar el modelo animal de monos para el estudio de la malaria humana.

AGRADECIMIENTO. Agradezco a la Dra. Jackeline Alger por su asistencia en la traducción y revisión crítica del manuscrito.

REFERENCIAS

1. Collins WE. Major animal models in malaria research simian. EN: *Malaria: Principles and Practice of Malariology*. Wersdorfer, WH and McGregor, I A eds. Churchill Livingstone, UK Limited; 1988.
2. World Health Organization. World Health Report 1999.
3. Cogswell FB. The hypnozoite and relapse in primate malaria. *Clin Microbiol Reviews* 1992; 5: 26-35.
4. Alger J, FB Cogswell, RC Jr Lowrie, MC Acosta, NG Saravia and DJ Krogstad. Clonal nature of relapse in malaria: *Plasmodium cynomolgi* as a model of human *Plasmodium vivax* infection. 43rd Annual Meeting American Society Tropical Medicine and Hygiene 1994; pp. 108.
5. Alger J, MC Acosta, NG Saravia and DJ Krogstad. PCR-based markers for genetic variability in *Plasmodium vivax*. 45th Annual Meeting American Society Tropical Medicine and Hygiene 1996; pp. 219.
6. Al-Kehdry B, JW Bamwell, MR Galinski. Antigenic variation in malaria: a 3' genomic alteration associated with the expression of a *P. knowlesi* variant antigen. *Mol Cell* 1999; 2: 131-141.
7. Handali S, FB Cogswell, FM Krogstad, J Phillips, PJ Didier, and DJ Krogstad. Cytoadherence of *Plasmodium knowlesi*-infected red blood cells (RBC's) to rhesus monkey brain endothelial cells in vitro. Abstract. 48th Annual Meeting American Society Tropical Medicine and Hygiene, 1999.
8. Davison BB, FB Cogswell, a: GB Baskin, KP Falkenstein, EW Henson, AF Tarantal, and DJ Krogstad. *Plasmodium coatneyi* in the rhesus monkey (*Macaca mulatta*) as a model of malaria in pregnancy. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 1998; 59:189-201.
9. Cogswell FB, WE Collins, WA Krotoski and RC Jr Lowrie. Hypnozoites of *Plasmodium simiovale*. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 1991; 45:211-213.
10. Fandeur T, B Volney, C Peneau, and B DeThoisy. Monkeys of the rainforest in french Guiana are natural reservoirs for *P. brasilianum*/*P. malariae* infection. *Parasitology* 2000; 120 (Pt 1): 11-21.
11. Cogswell FB, C Litterst, ES Riccio, JC Mirsalis, De, FM Krogstad, and D Krogstad. Pre-clinical studies of amino-quinolines active against chloroquine- and mefloquine-resistant *Plasmodium falciparum*. Abstract 46th Annual Meeting American Society Tropical Medicine and Hygiene, 1997.
12. Coatneyi. GR, Collins. WE, Warren. M and Contacos. PG. *The Primate Malariae*. US Government Printing Office, Washington DC, 1971 .