

Herrera Ortiz Antonia

## Función del óxido nítrico en el Paludismo

Role of nitric oxide (NO) in Malaria

Fecha de aceptación: septiembre 2010

### Resumen

El paludismo es una enfermedad causada por la infección del parásito del género *Plasmodium*, siendo 4 las especies que causan enfermedad en el humano: *P. vivax*, *P. falciparum*, *P. ovalae*, y *P. malariae*. Esta enfermedad es un problema muy importante de salud pública, que causa más mortalidad global que cualquier otra enfermedad parasitaria (aproximadamente 1,5 a 2,7 millones de muertes cada año). Los estudios de la infección con *Plasmodium* han proporcionado importante información sobre el papel del óxido nítrico (NO) en defensa contra el parásito. El NO es una molécula que tiene una función biológica compleja, participando en diversos fenómenos, incluidos aquellos involucrados en respuesta inmune. En el desarrollo del paludismo, el NO ha mostrado tener funciones importantes y se ha propuesto como una molécula crucial en la patogénesis del paludismo, pero su mecanismo de acción durante la enfermedad es controversial. Por una parte, existen evidencias de que ayuda en la muerte del parásito, mientras que otros estudios lo involucran en la patogénesis de la enfermedad. Además, el NO también está involucrado en la respuesta inmune del mosquito Anófeyes, transmisor del parásito. En el presente trabajo se presenta un panorama de la participación del NO en la respuesta inmune y patogénesis del paludismo en el humano, y de manera particular la función de esta molécula en la respuesta inmune de los mosquitos.

### Abstract

Malaria is a disease caused by infection of the parasite of the genus *Plasmodium*, with 4 species that cause disease in humans, *P. vivax*, *P. falciparum*, *P. ovalae*, and *P. malariae*. This disease is a major public health concern, causing more deaths than any other global parasitic disease, about 1.5 to 2.7 million deaths each year. Studies of *Plasmodium* infection have provided important information on the role of nitric oxide (NO) on defense against parasite. NO is a molecule that comprises a complex biological function, participating in various events, including those involved in immune response. In the development of malaria it has not been shown to have important functions and has been proposed as a crucial molecule in the malaria pathogenesis, but its mechanism of action for the disease is controversial. On the one hand, there is evidence that it aids in the death of the parasite, whereas other studies support its role in the pathogenesis of the disease. Furthermore, NO is also involved in the immune response of the Anopheles mosquito, transmitter of the parasite. This paper presents an overview of the involvement of NO in the immune response and pathogenesis of malaria in humans, and particularly the role of this molecule in the immune response of mosquitoes.

El paludismo representa un importante problema de salud pública en el nivel mundial. Se calcula que cada año se presentan de 300 a 500 millones de casos clínicos y más de un millón de personas mueren a causa de esta enfermedad.<sup>1</sup> La gran mayoría de estos casos son niños,

especialmente de zonas rurales con difícil acceso a centros de salud. La UNICEF reconoce que la malaria es una de las 5 principales causas de muerte en niños menores de 5 años.<sup>2</sup> El paludismo también es una causa importante de anemia infantil y de mujeres embarazadas, bajo peso al

Centro de Investigaciones sobre enfermedades infecciosas del Instituto Nacional de Salud Pública

Correspondencia: M. en C. Antonia Herrera Ortiz

Centro de Investigaciones sobre enfermedades infecciosas del

Instituto Nacional de Salud Pública.

Av. Universidad 655, Col. Santa María Ahuacatitlán, Cuernavaca, Morelos, México, CP 62100.

Correo electrónico: aherrera@insp.mx

nacer, partos prematuros y mortalidad infantil.<sup>1</sup> En México, en los últimos 50 años se ha pasado de 24 mil defunciones y 2.4 millones de casos, a menos de tres mil registros y ningún fallecimiento desde 1982 a la fecha.<sup>3,4</sup> Sin embargo, el riesgo es persistente, debido a la presencia de casos graves por *P. falciparum* en Centroamérica, por lo que es necesario continuar con los programas de control y vigilancia epidemiológica en todo el país.<sup>3</sup>

La enfermedad es causada por el parásito protozoario del género *Plasmodium*. De casi 150 especies clasificadas en este género, cuatro son los agentes causales de la enfermedad en el ser humano: *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae* y *P. ovale*.<sup>5</sup> Las formas intraeritrocíticas de estas especies tienen características morfológicas distintivas que permiten su identificación. Debido a que hay ciertas características biológicas clínicamente relevantes entre estas especies, es importante identificarlas al hacer el diagnóstico. Estas cuatro especies comparten la capacidad de generar –un signo clínico característico de la enfermedad– la aparición de una sucesión de paroxismos o crisis febriles elevadas, separadas entre sí por lapsos de horas siempre iguales.<sup>3</sup>

### Modo de transmisión

El paludismo se transmite por la picadura de un mosquito hembra infectante del género *Anopheles*. El lapso entre la picadura del mosquito infectante y la aparición de síntomas clínicos varía. Tanto la inyección o transfusión de sangre infectada como el empleo de agujas y jeringas contaminadas (en los usuarios de drogas inyectables, por ejemplo) también pueden transmitir el paludismo. La transmisión por transfusión puede producirse mientras circulen formas asexuales en la sangre (en el caso de *P. malariae*, hasta 40 años o más). La sangre almacenada puede ser infectante durante un mes, como mínimo. Rara vez hay transmisión congénita. Sin embargo, las mujeres embarazadas son más vulnerables que otras personas al paludismo por *P. falciparum* y quizás por otros plasmodios. En las zonas de transmisión intensa, *P. falciparum* puede infectar la placenta y ocasionar bajo peso al nacer, así como anemia en la mujer gestante, a veces grave. En las zonas de baja transmisión, las embarazadas se enfrentan con un alto riesgo de paludismo grave, aborto espontáneo o parto prematuro.<sup>3</sup>

### Cuadro clínico

El paludismo por *vivax*, *malariae* y *ovale*, salvo la periodicidad, tiene la misma expresión clínica: el acceso febril palúdico. El inicio es súbito, con escalofrío intenso de 30 a 60 minutos de duración, seguido de la fase febril con elevación rápida de temperatura hasta 40°C a 41°C; la cefalea es intensa, puede acompañarse de náuseas, vómitos y molestias epigástricas. En los niños es frecuente una fase de delirio aun cuando la fiebre haya remitido. A continuación aparece la fase de sudoración, la diaforesis es profusa y generalizada, puede prolongarse por dos o tres horas, al cabo de las cuales el paciente duerme. Cuando despierta, se siente cansado. En total, el acceso palúdico puede durar hasta 10 horas. En el acceso palúdico por *falciparum* el principio puede ser diferente del esperado, con cefalea y trastornos gastrointestinales; a veces el inicio es brusco, con sensación de frío más que escalofrío,

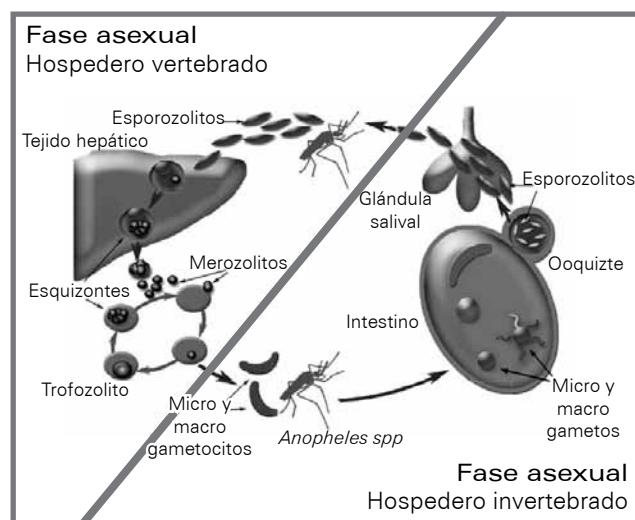
elevación gradual más prolongada, en ocasiones con dos picos; la sudoración no muy evidente y la sensación de bienestar posterior al acceso no es clara. La tendencia al delirio y el decaimiento subsecuente son síntomas evidentes. La periodicidad clásica es de 48 horas para *vivax* y *ovale*, de 72 horas para *malariae*, y variable en *falciparum* (casi siempre 48 horas). En *vivax*, las variaciones son más frecuentes durante la fase inicial, la fiebre puede ser diaria, debido a la existencia de dos ciclos simultáneos, uno de los cuales tiende a desaparecer y queda el ritmo de 48 horas. En *falciparum*, el acceso puede prolongarse por más de 24 horas y la fiebre adoptar un curso continuo o remitente en lugar de intermitente.

En malaria grave las principales complicaciones son: malaria cerebral, anemia grave, insuficiencia respiratoria, insuficiencia renal, hipoglucemia, colapso circulatorio, y alteraciones en la coagulación.

### Ciclo de vida del parásito

El ciclo de vida del parásito implica dos componentes: el agente vector (mosquitos del género *Anopheles*, siendo en México *Anopheles albimanus* y *Anopheles pseudopunctipennis* las principales especies transmisoras) y el hospedero vertebrado (mamíferos, aves y reptiles).<sup>6</sup> En el primero, se lleva a cabo la reproducción sexual del parásito, mientras que en el vertebrado se realiza la reproducción asexual.

**Figura 1**  
Ciclo de vida del parásito *Plasmodium spp.*  
(Adaptado de Winzeler, 2008).<sup>7</sup>



La infección por *Plasmodium* en el humano comienza cuando un mosquito *Anopheles* se alimenta e inyecta los esporozoítos infectantes en la sangre circulante (figura 1).<sup>7</sup> En minutos, los esporozoítos invaden las células hepáticas y, mediante multiplicación asexual, produce miles de merozoítos. Cuando los hepatocitos invadidos se rompen, los merozoítos son liberados a la circulación periférica. Los merozoítos invaden a los eritrocitos, donde nuevamente se multiplican produciendo

más merozoítos.<sup>8</sup> La duración del ciclo esquizogónico eritrocítico depende de la especie de plasmodio. *P. vivax* y *P. ovale* tienen ciclos de 48 horas; *P. malariae*, de 72 horas; y *P. falciparum*, de 36 a 48 horas. El tiempo requerido para el ciclo intraeritrocítico tiene significado clínico, porque la fiebre resulta a consecuencia de la ruptura de los eritrocitos parasitados y liberación de toxinas maláricas pirogénicas.<sup>3</sup>

Algunos merozoítos no se dividen, sino se diferencian en las formas sexuales, macrogametocitos (hembras) y microgametocitos (machos). Estas formas sexuales son tomadas por otro mosquito cuando éste se alimenta, de modo que en el intestino del mosquito se lleva a cabo el ciclo sexual o esporogónico del parásito.<sup>8</sup> En el intestino, los gametocitos intracelulares emergen de los eritrocitos infectados para formar gametos extracelulares. En los primeros minutos, el gameto masculino fertiliza al gameto femenino y forman un cigoto. En las siguientes 15 a 30 h, el cigoto (no móvil) se diferencia en oocineto. El oocineto presenta movilidad, lo que le permite llegar a la pared del intestino. Para continuar su desarrollo, el oocineto debe cruzar la membrana peritrófica y el epitelio intestinal. El oocineto penetra a través o entre las células epiteliales y se deposita entre las células epiteliales del intestino y la membrana basal. En este punto, el complejo apical, citoesqueleto y otras estructuras del oocineto son reabsorbidos y el parásito adquiere una forma esférica, transformándose en un ooquiste. El ooquiste crece rápidamente y se rodea por una pared de material extracelular compuesto de proteínas fibrosas, probablemente producidas y secretadas por el parásito. Un ooquiste maduro puede medir 80  $\mu\text{m}$ , siendo casi visible a simple vista. De cada ooquiste de *P. falciparum* se pueden desarrollar 1 000 esporozoítos. Después de 12 a 15 días postgestación, numerosos esporozoítos emergen del ooquiste maduro y son liberados al hemocele. Los esporozoítos migran hacia la glándula salival, pasan a través de las células secretoras, y se acumulan en los ductos salivares. Aquí permanecen hasta que son inyectados en un hospedero vertebrado durante la alimentación sanguínea.<sup>9</sup>

### Respuesta inmune a la malaria

Debido a la complejidad del ciclo de vida del parásito, la respuesta inmune contra *Plasmodium* también es compleja y el mecanismo de protección contra cada estadio de infección no se ha entendido completamente. Tanto la inmunidad específica como la no específica son importantes. La respuesta específica contra cada estadio suele ser de vida corta, y la protección es limitada debido a la enorme diversidad y variación en los antígenos presentados por *Plasmodium*, particularmente en los estadios sanguíneos. La respuesta inmune contra esporozoítos es mediada por anticuerpos. La protección contra los estadios hepáticos es mediada por células T, predominantemente CD8+, aunque también participan células CD4+.<sup>11</sup>

Dos formas de inmunidad a los estadios sanguíneos se desarrollan después de repetidas exposiciones al parásito en áreas endémicas: "inmunidad clínica" (también conocida como antienfermedad/inmunidad antitóxica o tolerancia), la cual aminora la enfermedad a pesar de la persistencia de fases sanguíneas del parásito circulante; y la "inmunidad antiparásito", en la cual el parásito es elimi-

nado o se reduce en número. Estudios epidemiológicos sugieren que la inmunidad clínica se desarrolla más temprano en áreas endémicas que la inmunidad anti-parásito, con alto índice de parasitemia asintomática en niños, disminuyendo con un incremento en la edad. Existen evidencias de que la inmunidad clínica es mediada por anticuerpos antitoxina, aunque la expresión crónica de la enzima óxido nítrico sintasa inducible (iNOS) de leucocitos y producción de óxido nítrico (NO) pueden estar involucrados. En la inmunidad antiparásito están involucrados mecanismos tanto de la inmunidad humorar como de la mediada por células contra parásitos de estadios sanguíneos. La protección humorar parece ocurrir a través de fagocitosis dependiente de anticuerpos de merozoítos y parásitos intraeritrocíticos por monocitos y neutrófilos. La inmunidad celular independiente de anticuerpos involucra células T CD4+, células NK citolíticas, y células T  $\gamma\delta$ . Recientemente, se ha incrementado el interés por el papel del NO en la respuesta inmune no específica contra ambos estadios del parásito, sanguíneos y hepáticos, y en protección contra la patología de paludismo severo. El NO es un mediador "río abajo" de la actividad de citocinas, con expresión de iNOS y producción de NO regulada positivamente por citocinas Th1 y negativamente por citocinas Th2. El NO desregula la producción de TNF $\alpha$  y también tiene un efecto importante en la expresión endotelial de receptores usados por los eritrocitos parasitados para adherirse al endotelio vascular.<sup>11</sup>

### Papel del óxido nítrico en la respuesta inmune contra malaria en el humano

El óxido nítrico es una molécula que ha sido propuesta como crucial en la patogénesis del paludismo, pero su mecanismo de acción durante la enfermedad es controversial (cuadro 1). Por una parte, se ha propuesto que el NO es producido en exceso y mata al parásito *Plasmodium*, con los desafortunados efectos por daño oxidativo o señalización aberrante en el cerebro y contribución en anemia. En este caso, inhibidores de la enzima óxido nítrico sintasa (como el L-NAME [NG-nitro-L-arginine methyl ester]) o 'limpiadores' de NO ("NO scavengers" como compuestos de rutenio) podrían funcionar como adyuvantes en la terapia para paludismo severo causado por *P. falciparum*.<sup>20</sup> Por otra parte, existen datos que indican que la biodisponibilidad del NO es baja en la vasculatura durante la malaria, debido a que los niveles de producción de NO son bajos por hipoargininemia, y por el aumento en la desaparición del NO libre por su interacción con hemoglobina superóxido. El NO tiene una función importante en el mantenimiento de la homeostasis vascular, la cual se rompe durante la patogénesis de la malaria. Por lo tanto, la restauración de la biodisponibilidad del NO, por disminución de la desaparición del NO, suministrando NO exógeno o restableciendo los niveles de arginina, podría ser un medio eficaz en la terapia contra la enfermedad.<sup>20,21</sup>

El NO parece ser un importante mediador de la respuesta inmune protectora durante todos los estadios de la infección por *Plasmodium*. La actividad relacionada con NO contra los estadios hepáticos y sexuales sanguíneos es antiparásitico. La disminución de la enfermedad asociada a la producción de NO en fases asexuales sanguíneas en

infecciones *in vivo*, al menos en malaria murina, parece deberse más a efectos protectores hacia el hospedero que con un efecto antiparásito. Asimismo, la asociación entre la producción de NO y la protección contra la enfermedad

mostrada en niños africanos puede ser mediada por la habilidad del NO de inhibir o desregular la expresión de receptores utilizados por eritrocitos parasitados, para adherirse al endotelio vascular.<sup>22</sup>

**Cuadro 1**  
**Efecto del NO en el parásito y su efecto en la patogénesis del paludismo**

Parásito	Efecto del NO en el parásito	Efecto del NO en la patogénesis	Referencias
<i>P. falciparum</i>	No mata al parásito ni <i>in vitro</i> ni <i>in vivo</i>	<b>El NO es benéfico</b> (los niveles de mRNA y proteína de iNOS correlaciona inversamente con la enfermedad; hiparginemia correlaciona con la severidad de la enfermedad).  <b>El NO es perjudicial</b> (elevados niveles de iNOS en cerebro se asocian con malaria cerebral; elevados niveles de NO correlacionan con muerte).  <b>Controversial</b> (papel de mutaciones en el promotor de NOS).	12, 13, 14, 15   16, 17
<i>P. berghei</i>	No mata al parásito. <i>In vitro</i> , mata al parásito.	Deficiencia o inhibición de NOS no tiene efecto	18
<i>P. chabaudi</i>	Mata al parásito	Deficiencia o inhibición de NOS incrementa el índice de mortalidad	19
<i>P. yoelii</i>	No mata al parásito	Inhibición de NOS incrementa el índice de mortalidad	

**Cuadro 2**  
**Óxido Nítrico en mosquitos**

Organismo	Función	Referencias
<i>An. stephensi</i>	La enzima NOS se expresa en el mosquito durante la infección con <i>P. berghei</i> y el NO limita el desarrollo del parásito de la malaria	23, 25
<i>An. gambiae</i>	La expresión de la enzima NOS se induce en respuesta a la infección con <i>Plasmodium</i>	24
<i>An. pseudopunctipennis</i>	El intestino del mosquito genera NO en respuesta al parásito <i>P. berghei</i> y otros microorganismos	17

## Papel del óxido nítrico en la respuesta inmune del mosquito

Existen numerosos estudios donde se muestra que el NO también juega un papel importante durante el desarrollo del parásito en su hospedero invertebrado (cuadro 2). Durante la infección con *Plasmodium*, el intestino de *Anopheles* produce NO.<sup>17,23,24</sup> La expresión de la enzima óxido nítrico sintasa (NOS) se induce por la infección con *P. berghei* en *A. gambiae*, *A. stephensi* y *A. pseudopunctipennis*<sup>17,24,25</sup> y la producción de NO y sus metabolitos limitan el desarrollo del parásito.<sup>23,26</sup> Además, en *A. stephensi* se ha observado que la producción de NO induce apoptosis en células epiteliales.<sup>25</sup> Asimismo, se ha observado que la inducción en la producción óxido nítrico por el intestino de los mosquitos puede presentarse en respuesta a diferentes microorganismos, incluyendo bacterias y levaduras, como se demostró en el mosquito *A. pseudopunctipennis*.<sup>17</sup> En *Drosophila* se encontró que el óxido nítrico es capaz de regular la expresión de péptidos antimicrobianos como diptericina.<sup>27,28</sup>

Nappi y colaboradores<sup>27</sup> observaron un incremento en la producción de NO durante la encapsulación melanótica mediada por hemocitos, y encontraron que el NO exógeno es capaz de inducir la expresión del péptido antimicrobiano diptericina. Por otra parte, la infección con bacterias Gram-negativas induce la expresión de la enzima NOS y la inhibición de ésta incrementa la sensibilidad de *Drosophila* a la infección con bacterias Gram-negativas y evita la inducción en la expresión de diptericina.<sup>20</sup> Utilizando reporteros para los péptidos antimicrobianos se observó que el NO es capaz de activar la respuesta inmune en larvas no infectadas.<sup>28</sup> En el gusano de la seda *Bombyx mori* se observó que la inyección de un donador de NO induce la expresión del gen que codifica para cecropina B.<sup>29</sup> Todos estos datos sugieren que el óxido nítrico producido por los insectos durante la infección está involucrado en la transducción de señales como una molécula de señalización para la expresión de genes de respuesta inmune.

## Bioquímica del óxido nítrico

El óxido nítrico es producido por la actividad de la óxido nítrico sintasa (NOS), a través de dos reacciones consecutivas. En la primera, una molécula de L-arginina es oxidada para producir N<sup>ω</sup>-OH-L-arginina como molécula intermedia y ésta, a su vez, se oxida en una segunda reacción para dar lugar a la formación de NO y L-citrulina. En total, 1.5 moléculas de NADPH y 2 moléculas de O<sub>2</sub>, ambas sirviendo como sustratos, son convertidas en 1.5 moléculas de NADP<sup>+</sup> y 2 moléculas de agua como coproductos.<sup>30</sup>

En mamíferos, la NOS se presenta en varias isofomas y han sido clasificadas en dos categorías: constitutiva (dependiente de Ca<sup>2+</sup>/calmodulina, NOS endotelial y NOS neuronal) e inducible (independiente de Ca<sup>2+</sup>/calmodulina).<sup>30</sup> Las isoenzimas de NOS difieren en tamaño (130 a 160 kDa), en secuencia de aminoácidos (50 a 60% de identidad), distribución en tejidos, regulación transcripcional, y activación por calcio intracelular.<sup>31</sup> Sin embargo, comparten componentes estructurales y presentan dos dominios: un dominio de oxigenasa en la región amino-terminal, donde tiene sitios de unión a grupo hemo, a tetrahidropterina (H<sub>4</sub>B), y al sustrato L-arginina (ARG); y un dominio de reductasa en

el extremo carboxilo, que une flavin mononucleótido (FMN), flavin adenin dinucleótido (FAD), y dinucleótido de nicotinadenina-fosfato reducido (NADPH). Además, en su región intermedia presenta un sitio de unión a calmodulina que regula la comunicación electrónica entre ambos dominios. Asimismo, es importante para la dimerización de la enzima.

## Mecanismos de acción del óxido nítrico

El principal blanco del NO sintetizado por las isoformas NOS endotelial y neuronal es la guanilato ciclase soluble. Esta enzima cataliza la formación de guanosin monofosfato cíclico (cGMP). El NO interactúa con el motivo heme de esta enzima para activarla, y el incremento en la concentración de cGMP provoca cambios en la función celular, afectando frecuentemente las concentraciones intracelulares de calcio.<sup>32</sup> Los efectos del NO pueden mediar importantes eventos fisiológicos en regulación celular, comunicación célula a célula, y señalización. El NO puede funcionar como un mensajero intracelular, neurotransmisor y hormonal.<sup>32</sup>

El NO sintetizado por la isoforma inducible también activa la guanilato ciclase, pero su principal efecto es tóxico, debido a las altas concentraciones en que se produce. Altas concentraciones de NO inactivan enzimas con metales de transición, incluidas ciertas enzimas mitocondriales. El NO sintetizado por iNOS (NOS inducible) de macrófagos murinos activados es un mecanismo importante de defensa del huésped. Este es capaz de matar patógenos incluidos: *Leishmania*, *Mycobacterium tuberculosis*, el parásito de la malaria, y ciertos hongos. También media la inmunidad "no-específica" y es tóxico para células tumorales.<sup>30</sup> El NO, y particularmente su derivado, el peroxinitrito (ONOO<sup>-</sup>), causa daño en el ADN patogénico e inhibe la respiración (inhibiendo la producción metabólica de energía necesaria para la división celular).<sup>33</sup> Asimismo, puede interrumpir la replicación del ADN y la síntesis de proteínas de ciertos virus, posiblemente bloqueando la actividad de la ribonucleótido reductasa y la generación de intermediarios del ciclo del ácido tricarboxílico.<sup>34,35,36</sup>

El NO también regula la función de linfocitos y puede participar en la inhibición de algunas células T ayudadoras (Th). El NO producido por macrófagos de ratón reduce la expresión de genes dependientes de NF-κB por S-nitrosilación de p50. Igualmente, inhibe la liberación de IL-1β e IL-18. También se puede inhibir la proliferación celular con la presencia de donadores de NO.<sup>33</sup> En linfocitos, el peroxinitrito (ONOO<sup>-</sup>) puede incrementar la expresión de IL-8 en respuesta a LPS.<sup>37</sup>

Existen evidencias recientes que indican que el NO regula varios procesos biológicos por modificación directa de proteínas. El óxido nítrico y especies relacionadas pueden oxidar, nitrar o nitrosilar proteínas. La nitración se refiere a la adición de un grupo NO<sub>2</sub> a un residuo de tirosina o triptófano, mientras que la nitrosilación se refiere a la unión de un grupo NO a un metal de transición o a un residuo de cisteína (u otro tiol). La nitración de tirosinas es una modificación irreversible que puede ser responsable de algunos efectos tóxicos del NO. En contraste, la nitrosilación es una modificación reversible que juega un papel central en la señalización mediada por óxido nítrico. Se ha propuesto que la nitrosilación/desnitrosilación de proteínas

puede funcionar como un "switch off/on" para la función de las proteínas, tal como lo hace la fosforilación.<sup>38</sup>

## Discusión

La información presentada en este trabajo indica que el NO juega un papel importante en la patogénesis del paludismo. Si su papel es benéfico o perjudicial depende de muchos factores, incluidas la calidad de la respuesta inmune del paciente, la producción de otras citocinas y mediadores de la respuesta inmune, y de los órganos blancos de la infección. Un incremento en la producción del NO puede limitar exitosamente el número de parásitos, pero al mismo tiempo este incremento puede afectar la función normal del NO y ser responsable de patologías mediadas por la inmunidad.<sup>22</sup>

Asimismo, se requieren más estudios para explorar los mecanismos de actividad antiplasmoidal y de protección mediada por el NO. Debido a que la respuesta inmune del hospedero y la expresión de la enfermedad en humanos son influenciados por muchas variables, es importante validar las asociaciones entre la producción de NO y la protección de la enfermedad a través de estudios epidemiológicos, considerando diferentes grupos de edades así como áreas con diferente epidemiología del paludismo. Se requieren más estudios en humanos para aclarar el papel del NO (si lo hay) en la patogénesis de la enfermedad, particularmente en enfermedad órgano-específica, inmunosupresión y anemia.

## Referencias

1. WHO. *World Malaria Report*. 2008.
2. Phillips RS. "Current status of malaria and potential for control". *Clin Microbiol Rev* 2001; 14(1): 208-226.
3. Rodríguez DJ. "Las enfermedades transmitidas por vector en México". *Rev Fac Med UNAM* 2002; 45 (3): 126-141.
4. SSA (2009) Cuadro 7. Vigilancia Epidemiológica Semana 53.
5. Hoffman SL, Bancroft WH, Gottlieb M, James SL, Burroughs EC, et al. "Funding for the malaria genome sequencing project". *Nature* 1997; 387: 647.
6. Chan AS, Rodríguez MH, Torres JA, Rodríguez MD, Villareal C. "Susceptibility of three laboratory strains of *Anopheles albimanus* (Diptera: Culicidae) to coindigenous *Plasmodium vivax* in southern Mexico". *J Med Entomol* 1994; 31: 400-403.
7. Winzeler EA. "Malaria research in the post-genomic era". *Nature* 2008; 455: 751-756.
8. Miller LH, Baruc DL, Marsh K, Doumbo O. "The pathogenic basis of malaria". *Nature* 2002; 415: 673-679.
9. Beier JC. "Malaria parasite development in mosquitoes". *Annu Rev Entomol* 1998; 43: 519-543.
10. Shahabuddin M, Kaslow DC. "Biology of the development of *Plasmodium* in mosquito midgut: a molecular and cellular view". *Bulletin de l' Institut Pasteur* 1994; 92: 119.
11. Malaguarnera L, Musumeci S. "The immune response to *Plasmodium falciparum* malaria". *The Lancet Infect Diss* 2002; 2: 472-478.
12. Rockett KA, Awburn MM, Cowden WB, Clark IA. "Killing of *Plasmodium falciparum* in vitro by nitric oxide derivatives". *Infect Immun* 1991; 59: 3280-3283.
13. Hobbs MR, Udhayakumar V, Levesque MC, et al. "A new NOS2 promoter polymorphism associated with increased nitric oxide production and protection from severe malaria in Tanzanian and Kenyan children". *Lancet* 2002; 360: 1468-1475.
14. Boutlis CS, Weinberg JB, Baker J, et al. "Nitric oxide production and nitric oxide synthase activity in malaria-exposed Papua New Guinean children and adults show longitudinal stability and no association with parasitemia". *Infect Immun* 2004; 72: 6932-6938.
15. Anstey NM, Granger DL, Weinberg JB. "Nitrate levels in malaria". *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1997; 91: 238-240.
16. Favre N, et al. "Parasite killing in murine malaria does not require nitric oxide production". *Parasitology* 1999; 118: 139-143.
17. Herrera Ortiz A, Lanz Mendoza H, Martínez Barnetche J, Hernández Martínez S, Villarreal-Treviño C, et al. "Plasmodium berghei ookinetes induce nitric oxide production in *Anopheles pseudopunctipennis* midguts cultured in vitro". *Insect Biochem Mol Biol* 2004; 34(9): 893-901.
18. Jacobs P, et al. "Nitric oxide expression in the spleen,

- but not in the liver, correlates with resistance to blood-stage malaria in mice". *J Immunol* 1995; 155: 5306-5313.
19. Amante, FH, Good MF. "Prolonged Th1-like response generated by a *Plasmodium yoelii*-specific T cell clone allows complete clearance of infection in reconstituted mice". *Parasite Immunol* 1997; 19, 111-126.
20. Sbolewski P, Gramaglia I, Frangos J, Intaglietta M, van der Heyde HC. "Nitric Oxide bioavailability in malaria". *Trends in Parasitol* 2005; 21 (9): 415-422.
21. Nahrevanian H. "Immune effector mechanisms of the Nitric Oxide pathway in malaria: Cytotoxicity versus Cytoprotection". *The Brazilian Journal of Infectious Diseases* 2006; 10 (4): 283-292.
22. Brunet LR. "Nitric oxide in parasitic infections". *International Immunopharmacology* 2001; 1: 1457-1467.
23. Luckhart S, Vodovotz Y, Cui L, Rosenberg R. "The mosquito *Anopheles stephensi* limits malaria parasite development with inducible synthesis of nitric oxide". *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 5700-5705.
24. Dimopoulos G, Seeley D, Wolf A, Kafatos FC. "Malaria infection of the mosquito *Anopheles gambiae* activates immune-responsive genes during critical transition stages of the parasites life cycle". *EMBO J* 1998; 17(21): 6115-6123.
25. Han YS, Thompson J, Kafatos FC, Barillas-Mury C. "Molecular interactions between *Anopheles stephensi* midgut cells and *Plasmodium berghei*: the time bomb theory of ookinete invasion of mosquitoes". *EMBO J* 2000; 19 (22): 6030-6040.
26. Peterson TML, Grow AJ, Luckhart S. "Nitric oxide metabolites induced in *Anopheles stephensi* control malaria parasite infection". *Free Radical Biology and Medicin* 2007; 42: 132-142.
27. Nappi AJ, Vass E, Frey F, Carton Y. "Nitric oxide involvement in *Drosophila* immunity". *Nitric Oxide* 2000; 4 (4): 423-430.
28. Foley E, O'Frell PH. "Nitric oxide contributes to induction of innate immune responses to gram-negative bacteria in *Drosophila*". *Genes Dev* 2003; 17: 115-125.
29. Imamura M, Yang J, Yamakawa M. "cDNA cloning, characterization and gene expression of nitric oxide synthase from the silkworm, *Bombyx mori*". *Insect Mol Biol* 2002; 11(3): 257-265.
30. MacMicking J, Xie QW, Nathan C. "Nitric oxide and Macrophage function". *Ann Rev Immunol* 1997; 15: 323-350.
31. Crane BR, Arvi AS, Gachhui R, Wu C, Ghosh DK, et al. "The structure of nitric oxide synthase oxygenase domain and inhibitor complexes". *Science* 1997; 278: 425-431.
32. Murad F. "Cellular signaling with nitric oxide and cycling GMP". *Braz J Med Biol Res* 1999; 32 (11): 1317-1327.
33. Bogdan C, Röllinghoff M, Diefenbach A. "Reactive oxygen and reactive nitrogen intermediates en innate and specific immunity". *Curr Opin Immunol* 2000; 12: 64-76.
34. Melkova Z, Esteban M. "Inhibition of vaccinia virus DNA replication by inducible expression of nitric oxide synthase". *J Immunol* 1995; 155: 5711-5718.
35. Karupiah G, Harris N. "Inhibition of viral replication by nitric oxide and its reversal ferrous sulfate and tricarboxylic acid cycle metabolites". *J Exp Med* 1995; 181: 2171-2179.
36. Groves JT. "Peroxynitrite: reactive, invasive and enigmatic". *Curr Opin Chem Biol* 1999; 3: 226-235.
37. Filep JG, Beauchamp M, Baron Ch, Paquette Y. "Peroxynitrite mediates IL-8 gene expression and production en lipopolysaccharide-stimulated human whole blood". *J Immunol* 1998; 161: 5656-5662.
38. Mannick JB, Schonhoff CM. "Nitrosylation: the next phosphorylation?". *Archives of Biochemistry and Biophysics* 2002; 408: 1-6.
39. Rivero A. "Nitric oxide: an antiparasitic molecule of invertebrates". *TRENDS in Parasitology* 2006; 22 (5): 219-225.