

EDITORIAL

MALÁRIA E ANEMIA

Desde o século passado sabe-se que a malária habitualmente produz anemia²⁰. A explicação original e óbvia - destruição das hemácias na esquizogonia - é evidentemente o mecanismo mais importante, e até recentemente a malária foi amplamente considerada simplesmente como uma anemia hemolítica. Na década de 60 a validade deste conceito foi pela primeira vez seriamente questionada. Desde então, estudos em malária humana e animal têm identificado outros mecanismos contribuidores, mas ainda não há uma explicação satisfatória para todos os aspectos observados na anemia da malária.

Se a malária fosse uma anemia hemolítica devido somente à destruição acelerada de hemácias parasitadas, então os fenômenos associados às anemias hemolíticas, em geral, assim ocorreriam: 1. uma queda na hemoglobina proporcional ao número de eritrócitos parasitados; 2. um aumento compensatório na produção de hemácias pela medula óssea, manifestado por uma hiperplasia eritróide ao exame da medula óssea, e uma reticulocitose proporcional à severidade da anemia, no sangue periférico; 3. nenhuma queda na hemoglobina após o desaparecimento de parasitas no sangue por tratamento eficiente; 4. rápida correção da anemia.

Na prática, nenhum destes achados é invariável, e as razões para algumas das discrepâncias são agora claras²⁰.

Na década de 60 Zuckerman²² estabeleceu que a destruição das hemácias na malária aguda é maior do que pode ser explicada pelo grau de parasitemia, e sugeriu um componente auto-imune para justificar a discrepância. Subsequentemente o papel dos anticorpos dos eritrócitos e/ou complemento tem sido periodicamente supervalorizado²¹ ou rejeitado¹⁶. O significado dos estudos mais antigos apoiando ou negando este mecanismo precisa ser reavaliado em função da limitada especificidade e sensibilidade dos reagentes de Coombs então disponíveis. A obtenção de reativos confiáveis e sensíveis, altamente específicos para as classes ou subclasses individuais de imunoglobinas

MALARIA AND ANAEMIA

It has been recognized for the past century that malaria commonly causes anaemia²⁰. The original and obvious explanation - destruction of parasitized red cells at schizogony - is clearly the major single mechanism, and until recently malaria was widely regarded as a simple haemolytic anaemia. In the 1960s the adequacy of this concept was first seriously questioned. Studies since then in both human and experimental malaria have identified a number of other contributing mechanisms, but there is still no comprehensive explanation for all the observed facets of malarial anaemia.

If malaria was a haemolytic anaemia due solely to accelerated destruction of parasitized red cells, then the phenomena associated with haemolytic anaemias in general¹⁷ should occur, viz.: 1. a fall in haemoglobin commensurate with the number of parasitized cells; 2. a compensatory increase in red cell production by the bone marrow, manifest as erythroid hyperplasia on marrow examination, and as a reticulocytosis, proportional to the severity of the anaemia, in the peripheral blood; 3. no further fall in haemoglobin after effective treatment had cleared the blood of parasites; 4. rapid correction of the anaemia.

In practice, none of these findings is invariable, and reasons for some of the discrepancies are now clear²⁰.

In the 1960s Zuckerman²² established that red cell destruction in acute malaria is greater than can be explained by the degree of parasitaemia, and suggested an autoimmune component to account for the discrepancy. Subsequently the role of red cell antibodies and/or complement has periodically been promoted²¹ and dismissed¹⁶. The significance of older studies either supporting or denying this mechanism must be qualified by the limited specificity and sensitivity of the Coombs' reagents then available. The development of reliable and sensitive reagents, highly specific for individual immunoglobulin classes or subclasses and for individual components of complement, has permitted

Address for correspondence: Dr. G.G.Crane, Director, Department of Haematology, Concord Hospital, Concord, N.S.W. 2139, Australia.

Recebido para publicação em 18/07/91

e para componentes individuais do complemento, tem permitido resolver numerosas dúvidas anteriores. Embora seja clara a importância da raça, intensidade da exposição e idade na determinação dos padrões de reatividade, em alguns grupos populacionais há forte associação entre malária aguda ou recorrente e testes de Coombs direto positivo^{2 9}. A maioria é devido à presença de C3d sozinho, o qual não contribui *per se* para a destruição das hemácias, ou à IgG2 ou IgG4, nenhuma das quais é efetiva em ativar o complemento ou promover a fagocitose pelos macrófagos esplênicos⁷. Somente em pequena proporção de casos tem sido demonstrada a presença de substâncias hemolíticas ativas - IgG1 ou IgG3, ou quantidade de componentes do complemento (C3b, C3d, C4d) cuja presença junta implica que a ativação do complemento ocorreu na superfície da hemácia, com provável facilitação da eritrofagocitose⁷. Em acréscimo, IgG eluída tem mostrado capacidade de ativar anticorpo antimalárico⁹. Isto sugere que complexos imunes preformados, consistindo de antígenos e anticorpos maláricos circulantes com ou sem complemento, mais do que auto-anticorpos específicos para antígenos eritrocitários, são frequentemente a causa dos testes de Coombs positivos. Assim, embora em uma pequena proporção de casos a hemólise mediada por anticorpo e complemento possa contribuir para a destruição das células vermelhas, este mecanismo não está envolvido em muitos indivíduos infectados¹⁵.

A destruição desproporcional das hemácias tem sido confirmada amplamente na malária experimental e humana, a despeito da dificuldade de se determinar o número de parasitas circulantes. Além da rotura das hemácias pelos esquizontes maduros, as células contendo trofozoitos maduros têm sua capacidade de deformação reduzida, facilitando sua apreensão e destruição no baço⁵. Uma exceção é o *P. falciparum*, sendo a ligação das hemácias parasitadas às células endoteliais nos capilares viscerais um mecanismo de evasão do baço, e assim contribuindo para a virulência desta espécie⁶.

A destruição acelerada das hemácias não parasitadas também contribui para a queda da hemoglobina, conforme mostra a diminuição de sobrevivência das mesmas quando transfundidas a pacientes com malária¹⁵. A causa é a combinação da esplenomegalia (as hemácias sendo metabolicamente superpressionadas em uma polpa vermelha expandida) e acentuação da fagocitose pelos

resolution of a number of previous inconsistencies.

While it is clear that racial origins, intensity of exposure and age all play a part in determining patterns of reactivity, in some population groups there is a strong association between acute or recurrent malaria and positive direct Coombs' tests^{2 9}. The majority are due the presence of C3d alone, which does not *per se* contribute to red cell destruction, or to IgG2 or IgG4, neither of which is effective in activating complement or in promoting phagocytosis by splenic macrophages⁷. In only a small proportion of cases has the presence of actively haemolytic substances been demonstrated - IgG1 or IgG3, or the cluster of complement components (C3b, C3d, C4d) whose presence together implies that complement activation has occurred on the red cell surface, with probable facilitation of erythrophagocytosis⁷. In addition, eluted IgG has been shown to have antimalarial antibody activity⁷. This suggests that pre-formed immune complexes, consisting of circulating malarial antigen and antibody with or without complement, rather than specific autoantibodies to red cell antigens, are frequently the cause of the positive Coombs' tests¹². Thus, while in a small proportion of cases antibody- and complement-mediated haemolysis may contribute to red cell destruction, this mechanism is not involved in most infected subjects¹⁶.

Disproportionate red cell destruction has been amply confirmed in both experimental and human malaria, despite the difficulty of determining circulating parasite numbers. In addition to red cell rupture by mature schizonts, cells containing mature trophozoites have reduced deformability, causing them to be trapped and destroyed in the spleen⁵. An exception is *P. falciparum*, where the attachment of parasitized red cells to endothelial cells in visceral capillaries provides a mechanism for evading the spleen, and so contributes to the virulence of this species⁶.

Accelerated destruction of non-parasitized red cells also contributes to the fall in haemoglobin, as is shown by the shortened survival of normal red cells

macrófagos esplênicos²⁰. A demonstração da existência de células de barreira no baço, e de sua importância modulando a capacidade de filtração deste órgão, acentuou e esclareceu o papel central do baço na destruição das hemácias que ocorre na malária¹⁹. Os fibroblastos na polpa esplênica são transformados em células de barreira pela endotoxina, fator de necrose tumoral (FNT) ou IL-1. Elas formam uma rede sincicial na qual as hemácias e os macrófagos entram em íntima associação antes da fagocitose. Elas formam também uma barreira perivascular ao redor dos seios esplênicos a qual aumenta a dificuldade das hemácias escaparem da polpa vermelha, causando a sua expansão e acentuando a pressão metabólica a que as hemácias estão expostas neste ambiente¹⁸. Assim elas desempenham um papel maior na acentuação da destruição eritrocitária na malária, como em muitos outros estados hemolíticos¹⁹.

A atividade compensadora da modulação óssea está frequentemente prejudicada tanto nos simples ataques agudos como nas infecções recorrentes. As contagens de reticulócitos podem não estar elevadas, e podem até estar diminuídas; frequentemente a hemoglobina continua caindo por vários dias, após o tratamento específico ter produzido o desaparecimento dos parasitas circulantes; e a melhora subsequente da anemia pode não ocorrer por algumas semanas²⁰. O exame da medula óssea durante o ataque agudo normalmente mostra hiperplasia, mas isto envolve mais os precursores dos leucócitos do que as séries vermelhas¹⁶. Hipoplasia eritróide tem sido descrita, mas mais frequente é o achado de displasia eritróide durante o ataque agudo, frequentemente continuando por semanas após a terapêutica³. Esta displasia não é devido ao parasitismo dos precursores das hemácias ou à deficiência concomitante de ferro, folato ou vitamina B₁₂¹⁶. Evidência recente sugere que tanto a hipoplasia como a displasia podem ser devido ao efeito sobre os precursores eritróides do FNT produzido durante a infecção aguda em resposta à liberação de endotoxina ou antígenos maláricos solúveis^{4 13}. Assim o FNT tem um papel central na aceleração da hemólise e na depressão da eritropoiese.

Complicações devido a deficiências hematínicas

Ferro. A maior causa da anemia da malária

transfused into a malarious recipient¹⁵. The cause is a combination of splenomegaly (red cells being over-stressed metabolically in an expanded red pulp), and enhanced phagocytosis by splenic macrophages²⁰. Demonstration of the existence of barrier cells in the spleen, and of their role in modulating that organ's filtration capacity, has emphasised and clarified the central role of the spleen in the red cell destruction that accompanies malaria¹⁹. Fibroblasts in the splenic pulp are transformed into barrier cells by endotoxin, tumour necrosis factor (TNF) or IL-1. They form a syncitial framework upon which red cells and macrophages come into intimate association prior to phagocytosis. They also form a perivascular barrier around the splenic sinuses which increases the difficulty experienced by blood cells in escaping from the red pulp, leading to its expansion and accentuating the metabolic stresses to which red cells are exposed in this environment¹⁸. Thus they play a major role in enhancing red cell destruction in malaria, as in many other haemolytic states¹⁹.

Compensatory bone marrow activity is frequently impaired in both single acute attacks and recurrent infections. Reticulocyte counts may not be raised, and may even be depressed; the haemoglobin often continues to fall for several days after effective treatment has cleared circulating parasites; and subsequent recovery from the anaemia may not occur for some weeks²⁰. Bone marrow examination during the acute attack normally shows hyperplasia, but this involves leucocyte precursors rather than the red cell series¹⁶. Erythroid hypoplasia has been described, but even more frequent is the finding of erythroid dysplasia during the acute attack, often continuing for some weeks after therapy³. This dysplasia is not due to parasitization of red cell precursors or to concomitant iron, folate or vitamin B₁₂ deficiency¹⁶. Recent evidence suggests that both red cell hypoplasia and dysplasia may be due to the effect on erythroid precursors of TNF produced during the acute infection in response to release of endotoxin or soluble malarial antigens^{4 13}. Thus TNF has a central role in both the accelerated haemolysis and the depressed erythropoiesis.

Complicating haematinic deficiencies

Iron. The major single cause of the

é a destruição das hemácias parasitadas, a qual é predominantemente intravascular. Como é usual com a hemólise intravascular de qualquer causa, a liberação de hemoglobina livre na circulação rapidamente satura os limitados mecanismos disponíveis para prevenir a perda de ferro desta fonte (complexos de hemoglobina com haptoglobinas e hemopexina, e formação de metahemalbumina). Consequentemente o ferro de qualquer adicional hemoglobina livre ou circulante será perdido pelo corpo, ou como hemoglobinúria durante o episódio agudo ou, mais comumente, como hemosiderinúria em mais longo período¹⁷. Assim surgirá um balanço negativo de ferro. A situação agrava-se pela diminuição de absorção de ferro, que pode ocorrer durante a malária aguda¹⁴. A dificuldade de liberação de ferro dos macrófagos (presente após a decomposição da hemoglobina, ou como hemozoína), pode criar dificuldades adicionais na síntese da hemoglobina durante o ataque agudo, mas usualmente não é o fator limitante na eritropoiese²¹. Ele não contribuirá para a deficiência do ferro, pois este ferro não é perdido pelo corpo, mas eventualmente será liberado para o conjunto circulante.

Parece que o grau de ferro perdido, mesmo nos ataques recorrentes de malária, é insuficiente para tornar manifestamente deficiente em ferro um indivíduo com reservas repletas anteriormente. Contudo, quando o estado do ferro esteja no limite, ou já haja deficiência latente de ferro, as perdas adicionais produzidas pela malária podem ser suficientes para ultrapassar os limites de uma manifesta anemia por deficiência de ferro¹¹.

Folate. Quando a destruição das hemácias na malária produz hiperplasia medular compensadora, as exigências de folato aumentam. Se as reservas de folato são adequadas e o episódio de hiperplasia eritróide é breve, não se desenvolve manifesta deficiência de folato, a despeito do transitório balanço negativo de folato. Contudo, se as reservas de folato já são deficientes em consequência de ingestão dietética inadequada, mal absorção ou concomitante aumento de demandas, ou se a hiperplasia medular persiste devido aos ataques de malária prolongados ou repetidos, ocorrerá declarada deficiência de folato¹⁰.

Portanto, a frequência de deficiência de folato devido à malária em um dado grupo populacional dependerá parcialmente da sobrecarga da malária, mas principalmente da ingestão dietética

anaemia of malaria is destruction of parasitized red cells, which is predominantly intravascular. As is usual with intravascular haemolysis of any cause, release of free haemoglobin into the circulation rapidly saturates the limited mechanisms available for preventing iron loss from this source (complexing of haemoglobin with haptoglobins and hemopexin, and formation of methaemalbumin). Thereafter the iron in any additional free circulating haemoglobin will be lost to the body, either as haemoglobinuria during the acute episode or, more commonly, as hemosiderinuria over a longer period¹⁷. Thus negative iron balance will develop. Impaired iron absorption, which may occur during acute malaria¹⁴, aggravates the situation. Failure of release of iron from macrophages (whether present following breakdown of haemoglobin, or as haemozoin), may create further difficulties with haemoglobin synthesis during the acute attack, but is not usually the limiting factor in erythropoiesis²¹. It will not contribute to iron deficiency, since this iron not lost to the body, but will eventually be released into the circulating pool.

It appears that the degree of iron loss from even recurrent attacks of malaria is insufficient to render a previously iron-replete individual overtly iron deficient. However, where iron status is already marginal, or latent iron deficiency is already present, the additional losses produced by malaria may be sufficient to tip the scales towards overt iron deficiency anaemia¹¹.

Folate. When malarial destruction of red cells produces compensatory marrow hyperplasia, folate requirements will be increased. If folate stores are adequate and the episode of erythroid hyperplasia is brief, overt folate deficiency will not develop, despite transient negative folate balance. However, if folate stores are already depleted through insufficient dietary folate intake, malabsorption or concurrently increased demands, or if the marrow hyperplasia persists because of prolonged or repeated attacks of malaria, overt folate deficiency will occur¹⁰.

The frequency of malaria-related folate deficiency in a given population group will therefore

de folato pela comunidade. Semelhantemente, a importância da malária em produzir deficiência de ferro depende do estado do ferro pré-existente, o qual é função da ingestão, aproveitamento e perdas por outras causas. Assim a presença de manifesta deficiência de ferro em um paciente com malária aguda e anemia desproporcional, implica em anterior deficiência de ferro.

Implicações clínicas

É evidente que há numerosos mecanismos responsáveis pela anemia da malária. Há também numerosas condições que devem ser consideradas quando a anemia parece ser desproporcional à duração e severidade da parasitemia. A possibilidade de complicações existentes ou anteriores de deficiência de ferro ou ácido fólico deve sempre ser tida em mente porque ambas são comuns e sensíveis ao tratamento por meio de medidas simples. Contudo, elas não são tão comuns a ponto de que o tratamento profilático com ferro e ácido fólico seja universalmente recomendado, exceto naturalmente, na gravidez. Se tais deficiências são excluídas, o tratamento imediato e adequado da infecção é tudo o que se exige na maioria dos casos; mas a anemia severa ameaça a vida, e requer correção urgente com transfusão de sangue, complementada em algumas circunstâncias por outras medidas, tais como corticoesteróides¹⁰.

depend partly on the malaria burden, but mainly on communal dietary folate intake. Similarly, the importance of malaria in producing iron deficiency depends on the pre-existing iron status, which is a function of intake, bio-availability, and losses from other causes. Thus the presence of overt iron deficiency in a patient with acute malaria and disproportionate anaemia implies pre-existing iron deficiency.

Clinical Implications

It is apparent that there are a number of mechanisms responsible for the anaemia of malaria. There are also a number of conditions which should be excluded in a patient whose anaemia appears to be disproportionate to the duration and severity of the parasitaemia. The possibility of pre-existing or complicating deficiencies of iron or folic acid should always be kept in mind because both are common and amenable to treatment by simple means. They are not so common however, that prophylactic iron or folic acid should be recommended universally, except of course, in pregnancy. If such deficiencies are excluded, prompt, effective treatment of the infection is all that will be required in the majority of cases; but severe anaemia is life-threatening, and requires urgent correction with blood transfusion, supplemented by other measures such as corticosteroids in some circumstances¹⁰.

REFERENCES

1. Abdalla SM. Iron and folate status in Gambian children with malaria. *Annals of Tropical Paediatrics* 10: 265-272, 1990.
2. Abdalla SM, Weatherall DJ. The direct antiglobulin test in *P. falciparum* malaria. *British Journal of Haematology* 51: 415-425, 1982.
3. Abdalla SM, Weatherall DJ, Wickramasinghe SN, Hughes M. The anaemia of *P. falciparum* malaria. *British Journal of Haematology* 46: 171-183, 1980.
4. Clark IA, Chaudhuri G, Cowden WB. Roles of tumour necrosis factor in the illness and pathology of malaria. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 83: 436-440, 1989.
5. Cranston HA, Boylan CW, Carrol GL, Sutera SP, Williamson JR, Gluzman IY, Krogstad DJ. *Plasmodium falciparum* maturation abolishes physiologic red cell deformability. *Science* 223: 400-403, 1984.
6. Edington GM. Cerebral malaria in the Gold Coast African. Four autopsy reports. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* 48: 300-306, 1954.
7. Facer CA. Direct Coombs antiglobulin reactions in Gambian children with *Plasmodium falciparum* malaria. II. Specificity of erythrocyte-bound IgG. *Clinical and Experimental Immunology* 39: 279-288, 1980.
8. Facer CA. Direct Coombs antiglobulin reactions in Gambian children with *Plasmodium falciparum* malaria III. Expression of IgG subclass determinants

- and genetic markers and associations with anaemia. *Clinical and Experimental Immunology* 41: 81-90, 1980.
9. Facer CA, Bray RS, Brown J. Direct Coombs antiglobulin reactions in Gambian children with *Plasmodium falciparum* malaria I. Incidence and class specificity. *Clinical and Experimental Immunology* 35: 119-127, 1979.
 10. Fleming AF. Anaemia in pregnancy in tropical Africa. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 83: 441-448, 1989.
 11. Kariks J. Iron deficiency - a widespread cause of anaemia in coastal areas of New Guinea. *Medical Journal of Australia* 2: 1289-1295, 1969.
 12. Marsh K, Greenwood BM. The immunopathology of malaria. *Clinics in Tropical Medicine and Communicable Diseases* 1: 91-126, 1986.
 13. Miller KL, Silverman PH, Kullgrew J, Mahlmann LJ. Tumour necrosis factor and the anaemia associated with murine malaria. *Infection and Immunity* 57: 1542-1546, 1989.
 14. Molyneux M, Looareesuwan S, Menzies IS, Grainger SL, Phillips RE, Wattanagoon Y, Thompson RPH, Warrel DA. Reduced hepatic blood flow and intestinal malabsorption in severe falciparum malaria. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 40: 470-476, 1989.
 15. Rosenberg EB, Strickland GT, Yang S-L, Whalen GE. IgM antibodies to red cells and autoimmune anemia in patients with malaria. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 22: 146-152, 1973.
 16. Weatherall DJ, Abdalla S. The anaemia of *Plasmodium falciparum* malaria. *British Medical Bulletin* 38: 147-151, 1982.
 17. Weatherall DJ, Gordon-Smith EC. Haemolytic anaemia. In: Weatherall DJ, Ledingham JGG, Warrell DA (eds) *Oxford Textbook of Medicine*, 2nd edition Oxford University Press, Oxford p.19.134-19.136, 1987.
 18. Weiss L. Mechanisms of splenic control of murine malaria: cellular reactions of the spleen in Lethal (Strain 17XL) *Plasmodium yoelli* malaria in Balb/c mice, and the consequences of pre-infective splenectomy. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 41: 144-160, 1989.
 19. Weiss L. Barrier cells in the spleen. *Immunology Today* 12: 24-29, 1991.
 20. White NJ. Pathophysiology. *Clinics in Tropical Medicine and Communicable Diseases* 1: 55-90, 1986.
 21. Woodruff AW, Ansdell VE, Pettitt LE. Cause of anaemia in malaria. *The Lancet* I: 1055-1057, 1979.
 22. Zuckerman A. Recent studies on factors involved in malarial anaemia. *Military Medicine* 131 (suppl): 1201-1216, 1966.

G.G Crane