

2.2.2.2. Origen de los *Plasmodium* humanos

El reconocido malariólogo de origen polaco Leonard Jan Bruce-Chwatt, director del Ross Institut entre 1969-1974, apuntaba sobre la evolución del plasmodio, como parásito, que “*los Haemosporidia, que comprenden los parásitos de la malaria, han evolucionado probablemente a partir de los coccidios del epitelio intestinal de los huéspedes vertebrados que se adaptaron primero a los tejidos de los órganos internos y después pasaron a vivir en las células que circulan en la sangre*”. En el proceso de adaptación, los hematosporidios adquirieron un segundo huésped, invertebrado, cuyos restos fósiles encontrados pertenecen a insectos de dos alas que tienen una antigüedad de unos 150 millones de años¹. La línea más antigua de los parásitos del paludismo vivió en reptiles y aves, y las más recientes demuestran que evolucionaron en mamíferos, incluidos primates y hombres.

Llegado a este punto, sería necesario preguntarse sobre el espinoso debate acerca de la antigüedad de la malaria humana, teniendo en cuenta que está extensamente aceptado que uno de los principios de la ecología y la epidemiología es que los parásitos tienden a buscar la simbiosis o el comensalismo con sus huéspedes, y no estarían interesados en matarlo pues morirían ellos también. Por esta razón se cree que *P. falciparum*, el parásito humano que provoca una malaria extremadamente violenta, debería haber afectado al hombre recientemente, hace unos pocos miles de años.

Hasta fechas muy recientes existieron dos teorías sobre su origen muy diferenciadas: por un lado, a principios de la década de 1990, Andrew P. Waters², junto a un grupo de colaboradores del Departamento de Parasitología de la Universidad de Leiden, pensaban que *P. falciparum* era un parásito humano que había sido adquirido de forma reciente, a través de aves domésticas, quizás en el mismo momento en que surgió la agricultura, entre 5.000-10.000 años atrás. Este equipo analizó pequeñas subunidades (18S) de secuencias de ARN ribosomal (ARN_r) y sugirieron que *P. falciparum* era filogenéticamente más cercano a los *Plasmodium* que parasitan las aves, y que se había producido una transferencia lateral entre huéspedes aviares y humanos. Sin embargo, estos resultados fueron rápidamente cuestionados, pues el número de taxones considerados en los análisis filogenéticos eran muy escasos. Además, el uso de secuencias de ARN_r resultaron ser ineficaces a la hora de estudiar la filogenia de los Haemasporidia.

El otro grupo, encabezado por el investigador venezolano Ananías Alberto Escalante y el estadounidense de origen español Francisco José Ayala³, del Departamento de Ecología y Biología Evolutiva de la Universidad de California, no opinaba lo mismo: analizaron pequeñas subunidades de los genes del ARN ribosomal de once especies de *Plasmodium*, pero esta vez incluyeron *P. reichenowi*⁴, un parásito del chimpancé que no había sido incluido por Waters en su análisis anterior.

¹ Los mosquitos *Anopheles* no aparecen en el registro fósil hasta el Oligoceno (26-38 millones de años atrás), pero estudios sobre evolución molecular sugieren que la familia a la que pertenecen estos insectos es mucho más antigua.

² *Plasmodium falciparum* appears to have arisen as a result of lateral transfer between avian and human hosts (1991) / *Evolutionary relatedness of some primate models of Plasmodium* (1993).

³ *Evolutionary origin of human and primate malaria: evidence from the circumsporozoite protein gene* (1995).

⁴ *P. reichenowi* fue aislado de un chimpancé capturado cerca del lago Eduardo (antiguo lago Idi Amin), en la República Democrática del Congo, probablemente perteneciente a la especie *Pan troglodytes schweinfurthii*.

Estos investigadores llegaron a la conclusión que el ancestro de *P. falciparum* era precisamente *P. reichenowi*, y los dos siguieron siendo considerados como un linaje hermano de los plasmodios de aves y lagartos⁵. Además, Escalante y Ayala afirmaron que el clado formado por estas dos especies está relacionado, pero de forma remota, con otros *Plasmodium*, entre los cuales se encuentran los parásitos de las aves y otros dos parásitos humanos, *P. vivax* y *P. malariae*. En un segundo estudio en el que analizaron el gen que codifica la proteína circumsporozoito en doce especies de *Plasmodium*, llegaron a la misma conclusión: *P. falciparum* y *P. reichenowi* son filogenéticamente muy cercanos y su relación con otras especies de *Plasmodium* es muy lejana. El tiempo estimado de divergencia entre estos dos plasmodios sería de 8-9 millones de años, lo cual coincidiría aproximadamente con la fecha aceptada como el momento de divergencia entre los linajes de chimpancés y humanos, hace 6,8 millones de años.

Desde finales del siglo pasado quedó bastante aceptada la teoría de Escalante y Ayala, pero en los últimos años se han producido nuevos descubrimientos que aportan elementos a favor de una transferencia a través de los grandes simios, aunque se desconoce aún cuando empezaron estas asociaciones y de dónde provienen. El origen de *P. falciparum*, el más mortífero de los parásitos humanos de la malaria, continúa siendo muy debatido⁶.

En febrero de 2011, en la revista científica *PLoS Pathogens*, editada por la *Public Library of Science*, apareció un trabajo firmado por diversos investigadores⁷ titulado *A Fresh Look at the Origin of Plasmodium falciparum, the Most Malignant Malaria Agent*, en el cual se resumían de forma cronológica los últimos descubrimientos en esta materia, que no han cesado de aumentar desde el año 2007.

A mediados de aquel año, Ellen S. Martinsen *et al.*⁸, del Departamento de Biología de la Universidad de Vermont, realizaron un profundo estudio en el que analizaron numerosas muestras e hicieron servir técnicas más adecuadas que las anteriores, determinando con seguridad que *P. falciparum* debía incluirse junto al resto de los *Plasmodium* que parasitan mamíferos. Hasta principios de 2009, únicamente *P. reichenowi* era conocido por ser filogenéticamente hermano de linaje de *P. falciparum*⁹; pero desde entonces se han descubierto nuevos plasmodios que parasitan grandes simios y son muy próximos entre sí.

En mayo de 2009 Benjamin Ollomo *et al.*¹⁰, de la Unité des Maladies Virales Emergentes (Franceville, Gabón), publicaron un trabajo en el que se presentaba el genoma mitocondrial completo de una nueva y aún no descrita especie de *Plasmodium*,

⁵ Hubo autores que concluyeron que el clado *P. falciparum* / *P. reichenowi* debía estar incluido en el grupo de mamíferos y era cercano a los *Plasmodium* de roedores y primates; sin embargo, otros autores siguieron pensando que estaban más emparentados con los pájaros.

⁶ Se ha sugerido que los limitados niveles de diversidad genética observados en el *P. falciparum* humano reflejaría una adquisición relativamente reciente, pero es difícil evaluar el momento aproximado en que esto se produjo, pues no se disponen hasta el momento de fechas fiables para calibrar el árbol filogenético completo de los *Plasmodium*.

⁷ Frank Prugnolle, Patrick Durand, Benjamin Ollomo, Linda Duval, Frédéric Ariey, Céline Arnathau, Jean-Paul Gonzalez, Eric Leroy y François Renaud.

⁸ *A three-genome phylogeny of malaria parasites (Plasmodium and closely related genera): Evolution of life-history traits and host switches* (August, 2007).

⁹ Actualmente, la mayoría de científicos piensa que *P. reichenowi*, y *P. falciparum* han existido de forma separada en chimpancés y humanos al menos desde hace cinco millones de años.

¹⁰ *A New Malaria Agent in African Hominids* (May, 2009).

la cual parasitaba grandes simios y cuyo linaje era muy próximo a *P. falciparum* y *P. reichenowi*. Esta especie, determinada como *P. gaboni*, fue descubierta en dos chimpancés capturados en dos aldeas de la selva de Gabón que vivían como animales de compañía. Basándose en la hipótesis que *P. falciparum* y *P. reichenowi* divergieron hace unos 6 millones de años, los autores sugirieron que *P. gaboni* se habría separado del linaje *P. falciparum* / *P. reichenowi* alrededor de 21 millones de años atrás, y concluyeron que el ancestro del clado de estos parásitos de grandes simios y humanos, que se clasifican dentro del subgénero *Laverania*, podrían haber estado presentes en los ancestros de los homínidos.

Tres meses después, Stephen M. Rich *et al.*¹¹, del Laboratory of Medical Zoology, Division of Entomology (PSIS) de la Universidad de Massachusetts, describieron la diversidad de especies de *Plasmodium* que circulaban entre chimpancés silvestres de Costa de Marfil y Camerún. A través de muestras de sangre, usando secuencias parciales del gen Citocromo B (*CytB*), pero también algunas secuencias apicoplásticas y nucleolares¹², los autores identificaron ocho *Plasmodium* que describieron como *P. reichenowi*. Sin embargo, las secuencias de *CytB* mostraron un elevado polimorfismo y algunas de ellas se encontraban muy próximas genéticamente a las secuencias previamente descritas de *P. gaboni*. Los análisis filogenéticos sugirieron que *P. falciparum* surgió de una reciente transferencia de chimpancés a humanos, que podría haber ocurrido entre 5.000-50.000 años atrás. Estos hallazgos desafiaron la creencia convencional de que *P. falciparum* y *P. reichenowi* divergieron al mismo tiempo que sus respectivos huéspedes humanos y chimpancés.

En enero de 2010, Franck Prugnolle *et al.*¹³, del Laboratoire Génétique et Evolution des Maladies Infectieuses de la Universidad de Montpellier, publicaron un trabajo en el que usaron un método nuevo no invasivo basado en el análisis de muestras fecales de gorilas, y describieron las diversas especies de *Plasmodium* que circulan en los chimpancés silvestres del oeste de África¹⁴. Por primera vez, también comprobaron su presencia en los llamados gorilas occidentales, de las subespecies *Gorilla gorilla gorilla* (gorila de llanura) y *G. g. diehli* (gorila del río Cross). Su estudio confirmó la presencia de *P. gaboni* y *P. reichenowi* en chimpancés selváticos comunes de las subespecies *Pan troglodytes troglodytes* y *P. t. vellerosus*, y se reportó la existencia de un linaje genético de *Plasmodium* en gorilas selváticos.

Uno de los linajes filogenéticos, emparentado con *P. reichenowi* y *P. falciparum*, fue llamado *P. GorB*. El otro, emparentado con *P. gaboni*, se llamó *P. GorA*. Sus resultados confirman que los chimpancés estaban infectados por diversos *Plasmodium*, de los cuales parecía ser originario el *P. falciparum*. Además, los autores que identificaron el plasmodio en gorilas selváticos se sorprendieron del resultado, pues se consideraba que este era estrictamente humano, y no encontraron ninguna diferencia genética entre el que circula en humanos y el que se desarrolla en gorilas, lo cual sugería la posibilidad de una reciente transferencia de humanos a primates.

¹¹ *The origin of malignant malaria* (June, 2009).

¹² El ARN nucleolar (ARN_n) es una pequeña molécula de ácido ribonucleico, sintetizado y localizado en el nucléolo de las células eucariotas a partir de la transcripción del ADN, formado por una corta secuencia de 100-300 nucleótidos, el precursor indispensable para la síntesis de parte del ARN ribosómico.

¹³ *African great apes are natural hosts of multiple related malaria species, including Plasmodium falciparum* (January, 2010).

¹⁴ En total, fueron analizados 125 chimpancés y 84 gorilas procedentes de Camerún.

En febrero de 2010, Sabrina Krief *et al.*¹⁵, del Departamento de Eco-Anthropologie et Ethnobiologie del Muséum National d'Histoire Naturelle de Paris, confirmaron la gran diversidad de especies de *Plasmodium* que infectaban a los grandes simios del centro de África. La originalidad de su trabajo radicaba en la presencia de aislamientos de chimpancés del este de África (subespecie *Pan troglodytes schweinfurthii*) y de bonobos, *Pan paniscus*, conocidos como “chimpancés pigmeos”. Secuenciando de forma completa el genoma mitocondrial de los *Plasmodium*, igual que algunos genes apicoplásticos y nucleolares, pudieron identificarse dos linajes de parásitos distintos en chimpancés. Uno está localizado a medio camino entre *P. falciparum* y *P. reichenowi*, y fue llamado *P. billcollinsi*. El otro fue determinado como *P. billbrayi*, filogenéticamente muy próximo a *P. gaboni*.

En este estudio también fue descubierto *P. falciparum* en bonobos, y se comprobó que la diversidad genética del genoma mitocondrial es mayor que la que se encuentra en el *P. falciparum* humano. Esto sugería que *P. falciparum* debería haberse originado en los bonobos y habría sido transferido a los humanos hace unos 30.000 años. Esta interpretación modificaba las hipótesis de Rich *et al.* y Prugnolle *et al.*, según las cuales *P. falciparum* se habría originado a través de una transferencia con chimpancés.

Tres meses después, Linda Duval *et al.*¹⁶, del Laboratoire de Biologie Fonctionnelle des Protozoaires del Muséum d'Histoire Naturelle de Paris, investigaron la diversidad de las especies de *Plasmodium* en chimpancés y gorilas del Camerún y secuenciaron dos genes mitocondriales, *CytB* y *Cox1*. Su estudio confirmó la existencia del linaje *P. GorB* en gorilas occidentales de llanura, y *P. gaboni* y *P. reichenowi* en chimpancés. Estos investigadores también confirmaron la presencia de parásitos de *P. falciparum* en gorilas y demostraron por primera vez su misma presencia en muestras de sangre de dos subespecies de chimpancés, *Pan troglodytes vellerosus* y *P. t. troglodytes*.

Ya muy recientemente, en septiembre de 2010, Weimin Liu *et al.*¹⁷, del Department of Medicine de la Universidad de Alabama, publicaron un estudio sobre la diversidad de las especies de *Plasmodium* en los grandes simios africanos, basándose en una amplia muestra de heces de tres subespecies de chimpancés, *P. t. troglodytes*, *P. t. verus* y *P. t. schweinfurthii*, bonobos, y dos subespecies de gorilas, *G. gorilla gorilla* y *G. beringei graueri* (gorila oriental de llanura), utilizando un método de amplificación singular que les permitió secuenciar los genes mitocondriales, apicoplásticos y nucleolares de *Plasmodium* aislados de infecciones mixtas.

De sus resultados concluyeron la existencia de seis especies de *Plasmodium* pertenecientes al subgénero *Laverania*, tres en chimpancés, que llamaron C1–C3, y tres en gorilas, G1–G3. Estas especies fueron descritas previamente, pero por la mayor profundidad del muestreo, el estudio ofreció una imagen más precisa de las distintas especies del subgénero *Laverania* que infecta a los grandes simios. En particular, este análisis confirmó la existencia de una gran diversidad de parásitos relacionados con *P. falciparum* en gorilas, pero no encontró ninguna en poblaciones naturales de chimpancés o bonobos. Este último descubrimiento sugiere un posible origen del *P. falciparum* humano en gorilas, en oposición a las teorías propuestas anteriormente.

¹⁵ *On the diversity of malaria parasites in African apes and the origin of Plasmodium falciparum from Bonobos* (February, 2010).

¹⁶ *African apes as reservoirs of Plasmodium falciparum and the origin and diversification of the Laverania subgenus* (May, 2010).

¹⁷ *Origin of the human malaria parasite Plasmodium falciparum in gorillas* (September, 2010).

Como se ha reportado en las páginas precedentes, los escenarios propuestos para explicar el origen de *P. falciparum* ha cambiado en diversas ocasiones en los últimos años: chimpancés, bonobos o gorilas, dependiendo de las especies huéspedes estudiadas, de los linajes descubiertos de *Plasmodium* o de la manera como los datos fueron analizados. Ahora parece seguro, según todos estos análisis, que *P. falciparum* no tuvo su origen en una transferencia de aves, reptiles o roedores, sino que deriva de algún linaje de *Plasmodium* que evolucionó en los homínidos africanos, aunque los orígenes del subgénero *Laverania* sigue siendo un enigma. El estudio de Liu *et al.* sugería firmemente que *P. falciparum* tendría su origen en el gorila, que sería su reservorio natural, y que todas las cepas que circulan actualmente en humanos serían el resultado de un único caso de transmisión cruzada de gorila a humano.

Sin embargo, esta teoría tampoco puede considerarse definitiva, sobre todo teniendo en cuenta un último descubrimiento sorprendente, publicado en julio de 2011 por la revista científica PNAS (*Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*). En ella se reportaban las investigaciones llevadas a cabo por científicos de la CNRS¹⁸, encabezados por Franck Prugnolle y François Renaud, y en asociación con otras organizaciones¹⁹, en las cuales se daba a conocer que el agente de la malaria grave se había encontrado también en *Cercopithecus nictitans*, conocido como mono de nariz blanca, un pequeño primate de una línea diferente a la de humanos, gorilas y chimpancés²⁰.

Este descubrimiento desafía el pensamiento actual sobre el origen del parásito, que posiblemente sea anterior al de los homínidos²¹ africanos. Por tanto, la presencia del *P. falciparum* en este pequeño mono del Viejo Mundo abre la vía para el análisis del genoma del parásito encontrado en esta especie. Comparando sus secuencias con las ya conocidas del *P. falciparum* en humanos, quizás será posible a los investigadores descubrir los rastros moleculares del parásito humano y encontrar la manera como se adaptó a él. Pero el enigma persiste y habrá que esperar nuevos descubrimientos.

¹⁸ Laboratoire MIVEGEC (CNRS/IRD/Université Montpellier 1) y el Centre International de Recherches Médicales de Franceville, Gabón.

¹⁹ Université de la Méditerranée, Université de Toulouse, University of California y Université de Brazzaville.

²⁰ En mayo de 2012 fue publicado el trabajo titulado *Ubiquitous Hepatocystis infections, but no evidence of Plasmodium falciparum-like malaria parasites in wild greater spot-nosed monkeys (Cercopithecus nictitans)*, firmado Ahidjo Ayoubá *et al.*, del Institut de Recherche pour le Développement, de la Universidad de Montpellier, en el cual se reportaba que se habían analizado muestras de sangre en 292 de estos primates de nariz blanca y se encontraron secuencias de diversos plasmidios, pero ninguna de *P. falciparum*, por lo que el hallazgo de julio de 2011 quizás podría considerarse como un hecho puntual.

²¹ La línea de los homínidos comprende dos ramas, los humanos y los grandes simios, chimpancés, gorilas y orangutanes.

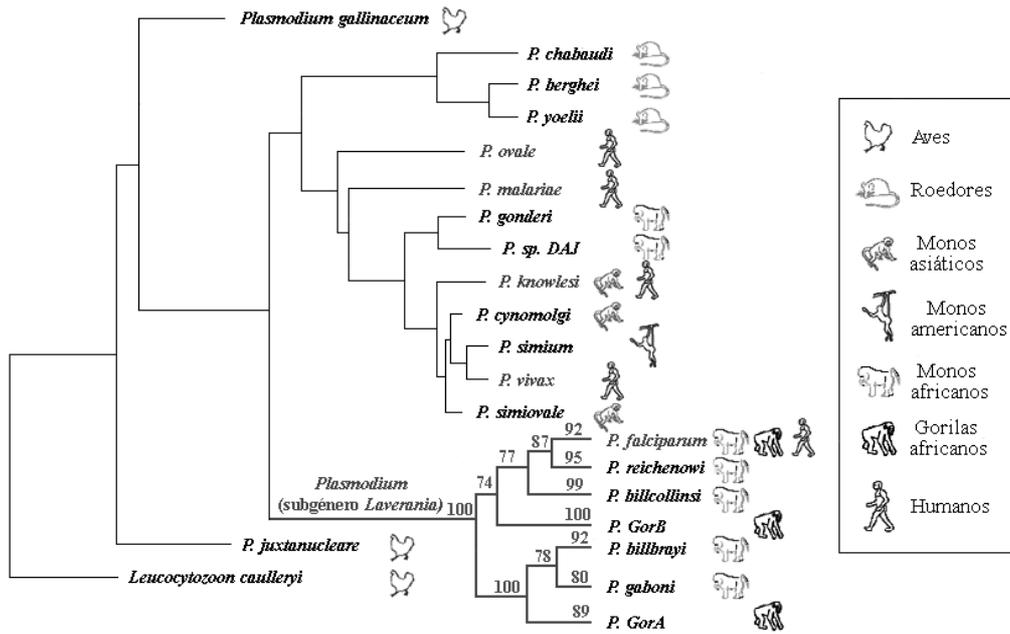


Imagen n° 1. Filogenia basada en las secuencias del gen Citocromo B de diversas especies del género *Plasmodium* y muy especialmente del subgénero *Laverania*, según los últimos descubrimientos.

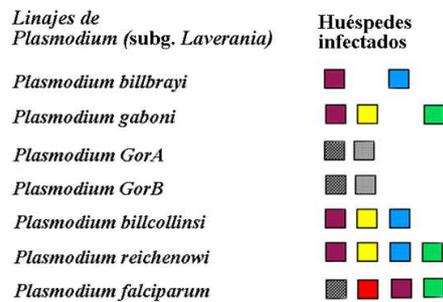
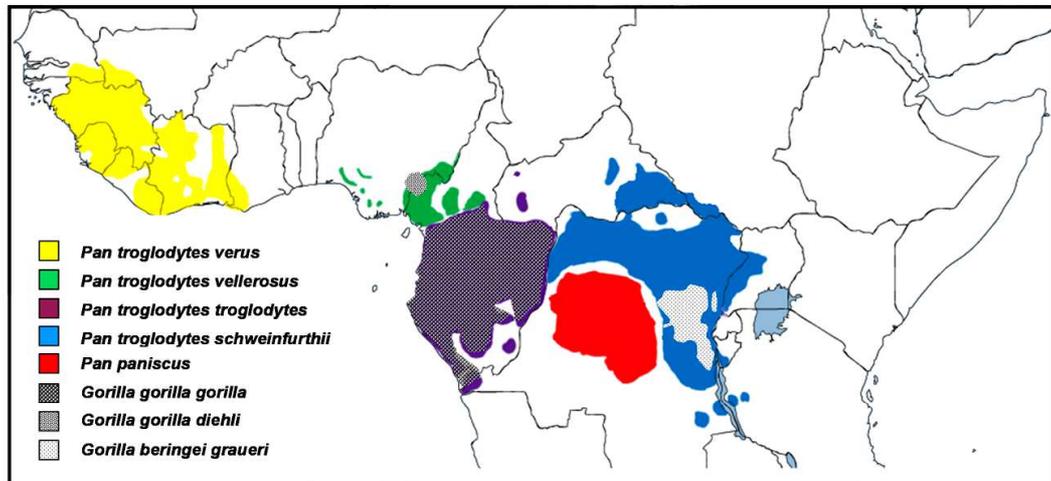


Imagen n° 2. Distribución de las diferentes especies de chimpancés, bonobos y gorilas en África y representación de la extensión de las diferentes especies de *Plasmodium* en estas subespecies.

En el caso de *P. malariae* y *P. vivax*, los investigadores Ananías Escalante y Francisco José Ayala²² reportaban que estos dos plasmodios no pueden distinguirse genéticamente de otras especies que parasitan monos, de manera que sería posible concluir que estos dos patógenos fueron adquiridos como parásitos humanos, en un tiempo reciente, por transferencia lateral²³. *P. vivax* y *P. malariae* no fueron, en su origen, enfermedades humanas, y probablemente contactaron primero con homínidos evolucionados cuando los *Homo erectus* se extendieron a lo largo de Asia procedentes de África, hace aproximadamente entre uno y dos millones de años.

En general, se cree que *P. vivax* se originó como resultado de un cambio de huésped desde un parásito de primate no humano, probablemente un macaco²⁴, a un homínido, y se tiene la certeza que las cepas del sudeste asiático son las más antiguas de todo el mundo. Por tanto, diversos autores han propuesto que África quizás no habría sido el lugar original de la evolución de las primeras malarías, sino las selvas asiáticas donde los ancestros de los homínidos adquirieron los parásitos de los primates arbóreos no humanos. Algunos trabajos sugieren incluso que los específicos *P. malariae* y *P. vivax* proceden de un área original del sudeste de Asia. Siguiendo esta teoría, el hombre primitivo habría introducido su nuevo parásito adquirido a su propio grupo y posteriormente también a los gorilas y monos africanos.

En los últimos años han sido publicados dos análisis basados en genomas mitocondriales, con la intención de estimar el llamado TMRA (*time to the most recent common ancestor*), la antigüedad del más reciente ancestro común del *P. vivax*. El estudio realizado por Jianbing Mu *et al.*²⁵, del Laboratory of Malaria and Vector Research del National Institute of Health (Rockville, Maryland, USA), incluía 176 secuencias, y 106 el estudio de Somchai Jongwutiwes *et al.*²⁶, del Department of Molecular Epidemiology de la Universidad de Nagasaki (Japón). En ambos trabajos se reportan unas fechas similares, estimándose que el origen de *P. vivax* se habría producido entre 280.000-360.000 años atrás. Sin embargo, estos estudios están limitados por unas muestras relativamente escasas de parásitos maláricos de primates; y diversas especies que parasitan gibones y orangutanes no han sido incluidas aún en los análisis filogenéticos moleculares²⁷, con lo cual se incrementaría el conocimiento sobre el origen de *P. vivax*.

P. ovale es un parásito estrictamente de climas cálidos y en principio no existen razones para pensar que no tuviera su origen en África, donde es relativamente frecuente, aunque también está presente, de forma limitada, en la India, Nueva Guinea y Filipinas.

²² Evolutionary origin of human and primate malaria: evidence from the circumsporozoite protein gene (1995).

²³ El parásito introduce modificaciones individuales en el genoma del huésped.

²⁴ El análisis mitocondrial completo de *Plasmodium cynomolgi*, parásito de macacos asiáticos, demuestra que es la especie más cercana a *P. vivax*. En el caso de *P. simium*, plasmodio sudamericano, la cercanía con *P. vivax* es total pues los dos plasmodios no pueden distinguirse uno del otro, lo cual sugiere que especies sudamericanas se originaron de un cruce de huéspedes entre humanos y monos (ver artículo dedicado a la cronología de malaria en América).

²⁵ Mu J, *et al.* Host switch leads to emergence of *Plasmodium vivax* malaria in humans (2007).

²⁶ Jongwutiwes S, *et al.* Mitochondrial genome sequences support ancient population expansion in *Plasmodium vivax* (2005).

²⁷ En primates no humanos del sudeste de Asia se han identificado 13 especies de *Plasmodium*, 7 en macacos, 4 en gibones y 2 en orangutanes.