
Aktuella utmaningar i kampen mot malaria – komplement-systemets roll vid svår malaria

VILLE HOLMBERG

Malaria är fortfarande en av de sjukdomar som orsakar störst dödlighet och mänskligt lidande. Speciellt svårt drabbade är barnen i de fattigaste länderna i Afrika. För att minska malariabördan krävs ett systematiskt arbete med flera olika preventionsmetoder och effektivare diagnostik och vård. För att minska dödligheten i malaria krävs också bättre vårdmetoder för fall av svår malaria och dess livshotande komplikationer. Överdriven komplementaktivering har förmodligen en central roll i patogenesen av cerebral malaria. Därför är specifika komplementinhibitorer ett intressant alternativ som immunomodulerande tilläggsterapi i kombination med effektiv antimalaria medicinering.

Malaria ett stort globalt problem

Trots märkbart ökade ekonomiska satsningar på effektivare prevention och vård av malaria-sjuka under de senaste 10 åren har resultaten än så länge varit anspråkslösa (1). WHO uppskattar att det år 2009 inträffade 225 miljoner kliniska malariainfektioner, vilka ledde till 781 000 dödsfall (2). Av jordens befolkning lever över 40 procent i de 106 länder där malarian är endemisk. Värst drabbade är barn i Afrika söder om Sahara, där fattigdomen hindrar effektiv malariabekämpning.

Människans erythrocyter kan infekteras av fem olika arter av *Plasmodium protozoa* (*P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae* och *P. knowlesi*). Falciparum är den allmänaste och allvarligaste formen av malaria, och den här artikeln kommer nu att fokusera enbart på den formen.

För att bekämpa malaria finns ingen enkel lösning, utan i stället behövs en rad olika åtgärder: miljösanering för att minska Anopheles-myggornas förökning, prevention genom sängnät och insekticider, preventiv medicinering för barn och gravida, effektiv diagnostik och behandling samt förhoppningsvis i framtiden vaccinering.

Effektivare diagnostik och vård

Effektiv diagnostik och vård är naturligtvis viktigt för att hjälpa malariapatienterna, men har också en viktig förebyggande roll genom att minska risken för att de infekterade sprider smittan vidare.

Symtomen vid *P. falciparum* malaria är ofta ospecifika och den parasitologiska diagnostiken bristfällig, vilket leder till att många malariapatienter blir utan rätt behandling. Ett stort problem är också behandlingen med malariamediciner av övriga febersjukdomar, som därmed blir feldiagnostiserade. Överanvändningen av malariamediciner har redan lett till ökade resistensproblem på många håll i världen, speciellt i Asien. WHO rekommenderar nu att alla fall av misstänkt malaria bör vara diagnostiskt konfirmerade innan medi-

FÖRFATTAREN

MD **Ville Holmberg** är malariaforskare vid Haartman-institutet i Helsingfors och läkare under specialistutbildning i invärtesmedicin vid Mejlans sjukhus (HNS). Han har varit postdoktoral forskare vid Institut für Tropenmedizin-Charité i Berlin samt gjort fältarbete i Sudan och Ghana.

cinering påbörjas. Andelen fall i Afrika som diagnostiserats adekvat har under de senaste 10 åren ökat från 5 procent till 35 procent (2).

Mikroskopi är fortfarande den gyllene standarden för malariadiagnostik, och till metodens fördelar hör möjligheten till kvantifikation och definition av plasmodiearten. Problemet är att resultatets tillförlitlighet är mycket beroende av kvaliteten på mikroskopet och reagenserna samt mikroskopistens erfarenhet och kompetens.

Immunokromatografiska snabbtester är ett nytt alternativ till mikroskopi. Fördelen är att de är snabba, enkla och relativt billiga att använda. Sensitiviteten varierar dock stort och en del av testerna tål dåligt förvaring i varma förhållanden.

Inom malariaforskning är PCR en tillförlitlig metod med bättre sensitivitet än mikroskopi. Den kräver dock dyra apparater och reagenser och är inte ett realistiskt alternativ för diagnostik utanför universitetssjukhusen.

För att utveckla en snabb, billig, enkel och tillförlitlig diagnosmetod har man efterlyst innovationer. Vid FIMM i Helsingfors pågår ett projekt som försöker evaluera möjligheten att använda mobiltelefoners kamera som mikroskop, överföring av bilderna via mobilnäten och automatiserad mönsterigenkänning.

Under de senaste åren har vården av malaria-patienter blivit klart effektivare i och med att artemisinbaserad kombinationsterapi (ACT) i praktiken har blivit förstahandsalternativet i hela Afrika. Det har bidragit till att minska antalet komplikationer och recidiv efter behandling. Hittills har resistensproblem inte uppstått för artemisin, men för att undvika resistens i fortsättningen är det ytterst viktigt att förhindra användningen av artemisin som monoterapi.

Myggnät och preventiv medicinering

En rad olika preventiva åtgärder har prövats med varierande framgång under årens lopp. Den viktigaste preventiva åtgärden i områden med hög malariaincidens är insekticidbehandlade sängnät. Myggnäten minskar fallen av klinisk malaria med mer än 50 procent och totala mortaliteten hos barn med 17 procent (3). Detta är förmodligen en av de allra mest kostnadseffektiva preventiva medicinska interventioner som finns. De senaste åren har stora satsningar gjorts för att distribuera sängnät i Afrika och i dag uppskattas 35 procent av barnen i Afrika söder om Sahara sova under myggnät. Stora utmaningar återstår dock för

att effektivera distributionen, eftersom nästens livslängd är beräknad till tre år.

Preventiv malariamedicinering under graviditeten minskar risken för placental malaria, anemi hos modern och låg födelsevikt (4). Denna preventiva behandling rekommenderas av WHO och är redan i bruk i stora delar av Afrika, oftast i form av tre doser av sulfadoxin-pyrimetamin. Motsvarande preventiva medicinering av små barn, t.ex. integrerat i vaccinationsprogrammet, är mer kontroversiellt och har ännu inte tagits allmänt i bruk trots lovande resultat (5). Risken med preventiv medicinering är ökad resistens för de använda medicinerna.

Eliminering genom vaccin?

Under den senaste dekaderna har flera länder i Asien och Sydamerika lyckats eliminera malaria, och också i flera afrikanska länder har transmissionen klart minskat. Framgången tyder på att kombinationen av flera olika metoder för att begränsa malaria fungerar. Men samtidigt har man märkt att nuvarande metoder inte kommer att räcka till för att eliminera malaria från de allra värst drabbade länderna. Därför har hoppet riktats mot att ett vaccin mot malaria kunde bli räddningen (6).

Hittills har flera olika vaccinkandidater utvecklats mot olika stadier i parasitens livscykel. Det mest lovande vaccinet är RTS,S, som riktar sig mot parasitens pre-erytrocytstadium. Det här vaccinet har i fältstudier i Moçambique gett ett 30-procentigt skydd mot kliniska malariainfektioner och 58-procentigt skydd mot svår malaria (7). Ett vaccin med så här låg effekt är naturligtvis inte ensamt lösningen på malariaproblemet, men det kunde i bästa fall ha en synergisk effekt med övriga kontrollmetoder och därmed väsentligt minska dödligheten i länder med svår malarisituation och bidra till elimineringen av malaria i länder med låg transmission.

Behandling av svår malaria

Möjliga komplikationer av falciparum malaria är cerebral malaria, svår anemi och placental malaria under graviditeten. För att minska dödligheten och bestående neurologiska skador orsakade av malaria är det viktigt att hitta bättre vårdmetoder för dessa livshotande komplikationer (Bild 1). Effektiv behandling av malaria med kinin och/eller artemisin samt adekvat intensivvård är det centrala i



Bild 1.

En femårig pojke i Tamale i norra Ghana med cerebral malaria orsakad av *P. falciparum*. Han var medvetslös och hade också svår anemi, hemoglobinkoncentrationen i blodet var 34 mg/l. Som tecken på upprepade malaria-infektioner syns tydlig splenomegali.

behandlingen av de mest allvarliga fallen av malaria. Av de talrika adjuvanta terapier som prövats, har ingen visat sig minska mortaliteten signifikant och utgör därmed inte heller (en del av) rekommenderad behandling.

Terapier som evaluerats är bl.a. blodbyte, kortikosteroider, albumin och mannitol (8). Också olika mediciner som inhiberar TNF-aktivering har prövats utan önskat resultat. Erythropoietin (EPO) är en ny intressant kandidat för neuroprotektiv behandling vid cerebral malaria. Djurmodeller tyder på att EPO ökar överlevnaden och minskar inflammationen i hjärnan och den neuronala apoptosen (9).

Komplementsystemets roll vid malaria

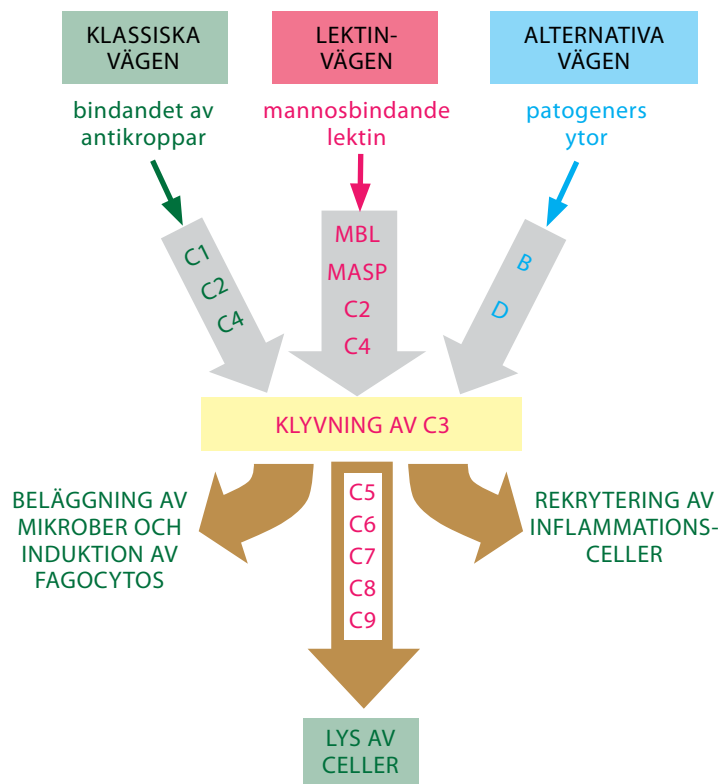
Det medfödda immunförsvaret (innate immunity) spelar en central roll i malaria och påverkar sjukdomsförloppet och svårighetsgraden av infektionen (10). Komplementsystemet är ett nätverk av ca 40 plasmaproteiner och membranproteiner som har en viktig funktion i initierandet och reglerandet av det ospeci-

fika immunförsvaret. Nuvarande teorier om patogenesen vid komplicerad *P. falciparum* malaria inkluderar en häftig och felreglerad inflammationsprocess och en överaktivering av endotelet och dess adhesionsmolekyler. Därtill bidrar en aktivering av koagulations-systemet och de infekterade erythrocyterna till mekanisk mikrovaskulär blockad, ett fenomen som kallas för "rosetting" (10).

Komplementsystemet består av den klassiska vägen, den alternativa vägen och lektinvägen (Figur 1), vilka alla konvergerar vid C3 och resulterar i produktion av aktiveringsprodukterna C3a, C3b och C5a. Slutligen leder aktiveringen via C5-C9 till bildandet av membranattackkomplex (MAC). Det är sannolikt att alla tre aktiveringsvägarna är involverade i malaria, men vi har i våra studier fokuserat speciellt på lektinvägens roll.

Lektinvägen och C5

Lektinvägen aktiveras genom att mannosbindande lektin (MBL) eller fikoliner (Ficolin-1, Ficolin-2 och Ficolin-3) binder till



Figur 1.

Komplementsystemets lektinväg aktiveras då MBL binder till sockerstrukturer på ytan av olika mikrober, t.ex. *P. falciparum*. Detta leder till klyvning av C3 och aktivering av C5, som verkar ha en viktig roll i patogenesen av svår malaria och dess komplikationer.

sockerstrukturer på olika mikrobers yta (11). MBL och fikolinerna kan därefter bilda ett komplex med MASP2 som sedan initierar komplementaktiveringen.

En allmän mutation i *MBL2*-genen har visat sig öka risken för malariainfektion hos barn i Afrika. I vår studie med 870 barn från Ghana fanns denna mutation hos 35 procent av friska kontrollpersoner och hos 46 procent av barn med allvarlig malaria ($p = 0,007$) (12).

I en färsk studie som inkluderade 264 kvinnor i Ghana som kommit till sjukhuset i Agogo för att föda, analyserade vi 76 singelnukleotid polymorfismer (SNP) från 17 gener i komplementsystemet (13). Samma *MBL2*-mutation var också här associerad med malaria. Allelfrekvensen var 26 procent hos kontrollpersoner och 36 procent hos mödrar med placental malaria ($p = 0,01$). En ny mutation i *MASP2*-genen var också signifikant associerad med placental malaria ($p = 0,01$).

Lektinvägens betydelse i malaria är antagligen kopplad till aktiveringen av C5a längre ner i komplementkaskaden (10). C5a fungerar som en pro-inflammatorisk mediator genom

ett ökat cytokinuttryck- och lockar därmed monocyter, neutrofiler och aktiverade lymfocyter till området med vävnadsskada.

Aktiveringen av komplementsystemet har alltså en viktig funktion för att neutralisera falciparumparasiter och därmed hindra en klinisk malariainfektion från att bryta ut. Speciellt viktigt är detta hos individer som saknar adaptiv immunitet mot malaria, t.ex. små barn, gravida, turister och hivinfekterade. Å andra sidan kan en överaktivering av komplementsystemet bidra till ett svårare sjukdomsförlopp och allvarliga komplikationer.

Komplementinhibitorer som blockerar C3 eller C5 är intressanta nya alternativ som tilläggsterapi t.ex. vid cerebral malaria. Flera olika komplementinhibitorer, både korta peptider och rekombinanta monoklonala antikroppar är redan tillgängliga och testas både *in vitro* och *in vivo* mot olika sjukdomar. Randomiserade kliniska interventionsstudier behövs för att klarlägga deras potentiella effekt i behandling av malaria.

Framtida utmaningar

En total utrotning av malaria ser inte ut att vara ett realistiskt mål i en nära framtid, men de senaste årtiondenas forskningsrön har gett nya och effektivare redskap för att begränsa transmissionen och effektivare vård av patienterna. De stora ekonomiska satsningarna som framförallt Bill & Melinda Gates Foundation har gjort börjar nu bära frukt i form av minskad malariadödlighet i stora delar av Afrika. Positivt är att de länder som bundit sig till målmedvetet, systematiskt och långsiktigt arbete med alla tillgängliga metoder nu visar klara framsteg.

I de länder som är värst drabbade av malaria är fattigdomen en stor bidragande orsak till att man inte fått malariasituationen under kontroll. Svår resursbrist gör att hälsovårdens infrastruktur är svag och att patienterna själva måste betala för vården, vilket många inte har råd med. I dessa länder finns dessutom samtidigt många andra svåra hälsoutmaningar, inte minst hiv och tuberkulos. Därför skulle det vara viktigt att hitta finansiering för att integrera arbetet mot malaria till en del av ett offentligt hälsovårdssystem med välfungerande lokala hälsostationer och sjukhus. Samtidigt behövs universitetssjukhus med högklassig utbildning och forskning för att stödja och koordinera folkhälsoarbetet.

Ville Holmberg

Avdelningen för bakteriologi och immunologi

Haartman-institutet

Haartmansgatan 3

00014 Helsingfors universitet

ville.holmberg@helsinki.fi

Avdelningen för infektionssjukdomar

Medicinska resultatenheten

Helsingfors universitets centralsjukhus

PB 340

00029 HNS

Referenser

1. Crawley J, Chu C, Mtove G, Nosten F. Malaria in children. *Lancet*. 2010 Apr 24;375(9724):1468-81.
2. WHO World Malaria Report 2010.
3. Lengeler C. Insecticide-treated bed nets and curtains for preventing malaria. *Cochrane Database Syst Rev*. 2004(2):CD000363.
4. Hommerich L, von Oertzen C, Bedu-Addo G, Holmberg V, Acquah PA, Eggelte TA, Bienzle U, Mockenhaupt FP. Decline of placental malaria in southern Ghana after the implementation of intermittent preventive treatment in pregnancy. *Malar J*. 2007;6:144.
5. Aponte JJ, Schellenberg D, Egan A, Breckenridge A, Carneiro I, Critchley J, et al. Efficacy and safety of intermittent preventive treatment with sulfadoxine-pyrimethamine for malaria in African infants: a pooled analysis of six randomised, placebo-controlled trials. *Lancet*. 2009 Oct 31;374(9700):1533-42.
6. Chilengi R, Gitaka J. Is vaccine the magic bullet for malaria elimination? A reality check. *Malar J*. 2010;9 Suppl 3:S1.
7. Alonso PL, Sacarlal J, Aponte JJ, Leach A, Macete E, Milman J, et al. Efficacy of the RTS,S/AS02A vaccine against *Plasmodium falciparum* infection and disease in young African children: randomised controlled trial. *Lancet*. 2004 Oct 16-22;364(9443):1411-20.
8. Mishra SK, Newton CR. Diagnosis and management of the neurological complications of falciparum malaria. *Nat Rev Neurol*. 2009 Apr;5(4):189-198.
9. Casals-Pascual C, Idro R, Picot S, Roberts DJ, Newton CR. Can erythropoietin be used to prevent brain damage in cerebral malaria? *Trends Parasitol*. 2009 Jan;25(1):30-36.
10. Silver KL, Higgins SJ, McDonald CR, Kain KC. Complement driven innate immune response to malaria: fuelling severe malarial diseases. *Cell Microbiol*. 2010 Aug;12(8):1036-45.
11. Garred P, Honore C, Ma YJ, Munthe-Fog L, Hummelshoj T. MBL2, FCN1, FCN2 and FCN3-The genes behind the initiation of the lectin pathway of complement. *Mol Immunol*. 2009 Sep;46(14):2737-44.
12. Holmberg V, Schuster F, Dietz E, Sagarriga Visconti JC, Anemana SD, Bienzle U, Mockenhaupt FP. Mannose-binding lectin variant associated with severe malaria in young African children. *Microbes Infect*. 2008 Apr;10(4):342-348.
13. Holmberg V, Onkamo P, Lahtela E, Lahermo P, Bedu-Addo G, Mockenhaupt FP, Meri S. Complement lectin pathway genotypes associated with placental malaria. XXIII International Complement Workshop. 2010;Meeting abstract.

Summary

The fight against malaria – the role of the complement system

Malaria is still one of the most severe, often fatal diseases, especially for children in the poorest countries of Africa. To reduce this burden, disease prevention, diagnostics, and treatment must be improved. For lower mortality, better treatment modalities are necessary. As increased complement activation is probably central in the pathogenesis of cerebral malaria, specific complement inhibitors provide an interesting alternative for adjunctive therapy when combined with anti-malarial medication.