

## Retinol, estado del hierro, malaria y parásitos intestinales: relación por medio de las citocinas TH1/TH2

VIVIANA TAYLOR, BACTERIOL<sup>1</sup>, CLAUDIA VELÁSQUEZ, MSc<sup>2</sup>, LUIS C. BURGOS, MSc<sup>3</sup>,  
JAIME CARMONA, MSc<sup>4</sup>, ADRIANA CORREA, MSc<sup>5</sup>, AMANDA MAESTRE, PhD<sup>6</sup>, ROSA USCÁTEGUI, MSc<sup>7</sup>

### RESUMEN

**Introducción:** La malaria, la anemia y la parasitosis intestinal coexisten y constituyen problemas de salud pública en Colombia. Datos disponibles en la literatura biomédica llevan a pensar que estos problemas no son aislados sino que están interrelacionados. Por otra parte, los suplementos de retinol han sido efectivos para reducir la mortalidad infantil, con disminución de complicaciones en niños palúdicos, posiblemente por efectos del retinol sobre la función inmune, desviando la respuesta de citocinas hacia un patrón TH2, que también protege de desarrollar anemia grave. Esta revisión tiene como objetivo describir parte de las relaciones vistas en la literatura biomédica mundial, entre retinol y malaria, retinol y anemia, retinol, malaria y parasitosis intestinal, anemia y malaria y mostrar la mediación de estas interrelaciones por el patrón de citocinas TH1/TH2 en sujetos con malaria.

**Metodología:** Se consultaron las siguientes bases de literatura biomédica: Medline, Lilacs, Spingerlik, Md Consultant, Web of Science, Ovid, Scient Direct, Ebsco y Cochrane. También se buscó información para documentar la prevalencia de desnutrición, deficiencia subclínica de retinol, anemia y malaria en niños colombianos, lo mismo que sobre el papel antiféccioso del retinol.

**Resultados:** Existe asociación entre parasitosis intestinal y malaria; algunos estudios indican que los helmintos predisponen a contraer malaria en niños. De otro lado, los parásitos mencionados, también se han relacionado con anemia y bajas concentraciones plasmáticas de retinol, que a la vez se asocian con malaria. Sin embargo, no se encontró información que relacione simultáneamente todos estos tópicos y que muestre la respuesta de citocinas TH1/TH2 como la articulación de todos ellos.

**Conclusiones:** Aclarar las múltiples interacciones entre malaria, anemia, parasitosis intestinal y deficiencia subclínica de retinol, teniendo como eje central la respuesta de citocinas TH1/TH2, es crítico para orientar acciones tendientes a su prevención y manejo.

*Palabras clave:* Retinol; Malaria; Anemia; Hierro; Helmintos; Citocinas.

*Retinol levels, iron status, malaria and intestinal parasites: TH1/TH2 cytokines relationship*

### SUMMARY

**Introduction:** Malaria infection, anaemia and intestinal parasitism, are important public health problems in Colombia. Available data suggests that these are not separate conditions, but interrelated. On the other hand, retinol supplementation

1. Estudiante de Maestría, Grupo de Alimentación y Nutrición Humana y Grupo Malaria, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. e-mail: vivianataylor@gmail.com
2. Profesora Titular, Escuela de Nutrición y Dietética y Grupo de Investigación en Alimentación y Nutrición Humana, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. e-mail: claver@pijaos.udea.edu.co
3. Profesor Titular, Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. e-mail: lcburgos@gmail.com
4. Profesor Titular, Departamento de Microbiología y Parasitología y Grupo Malaria, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. e-mail: jaimecarmonaf@hotmail.com
5. Investigadora Asociada, Grupo Malaria, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. e-mail: adcorrea@quimbaya.udea.edu.co
6. Profesora Asociada, Departamento de Microbiología y Parasitología y Grupo Malaria, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. e-mail: aemaestre@quimbaya.udea.edu.co
7. Profesora Titular, Escuela de Nutrición y Dietética y Grupo de Investigación en Alimentación y Nutrición Humana, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. e-mail: rosauscategui@gmail.com

Recibido para publicación octubre 24, 2007 Aceptado para publicación junio 26, 2008

successfully decreases mortality in children. In malaria endemic areas, this supplement reduces severe malaria in children, due to immune modulation by retinol. For example, retinoic acid induced a bias towards a TH2 immune response, an event that is associated with protection against severe anaemia. This review aimed at describing some relationships, reported in global biomedical literature, between retinol and malaria; retinol and anaemia; retinol, malaria and intestinal parasites; anaemia and malaria; and to how the TH1/TH2 cytokine pattern in individuals with malaria changes according to retinol supplementation.

**Methods:** The following biomedical literature databases were consulted: Medline, Lilacs, Springerlik, Md. Consultant, Web of Science, Ovid, Scient Direct, Ebsco and Cochrane. Information documenting prevalence of malnutrition, subclinical retinol deficiency, anaemia and malaria in Colombian children, as well as papers on the anti-infectious role of retinol were also.

**Results:** A relationship between malaria and intestinal parasitic infections was reported. Some studies indicate that helminth infection predispose children to suffer malaria. On the other hand, these intestinal parasites have also been associated with anaemia and low retinol plasma concentrations, which in turn are associated with malaria. No correlation regarding a simultaneous link between all these conditions, and the TH1/TH2 balance was observed.

**Conclusions:** The study of associations between malaria, anaemia, intestinal parasite infections and low retinol level, with the TH1/TH2 cytokine response as centerpiece is essential to prevent or provide early treatment.

**Keywords:** *Retinol; Malaria; Anaemia; Iron; Helminth; Cytokines.*

La malaria, las bajas concentraciones plasmáticas de retinol, la anemia y la parasitosis intestinal coexisten entre los habitantes de las regiones tropicales del mundo. Aunque la mayoría de estos constituyen problemas de salud pública en Colombia, sus prevalencias son inferiores a las observadas en algunas zonas de África y Asia. Los datos señalan que estos problemas no son independientes o excluyentes sino que, por el contrario, entre ellos existen interrelaciones, que deben entenderse para orientar acciones dirigidas a la solución de los mismos. Una mirada somera a la situación colombiana indica lo siguiente:

1. **Malaria.** En Colombia, durante el año 2006, se presentaron en total 120,107 casos de malaria, 46,147 de estos, ocasionados por *Plasmodium falciparum*, 73,949 por *P. vivax* y los 11 casos restantes por *P. malariae*.

Durante el mismo año, la mortalidad por malaria en toda América fue de 101 personas, de las cuales 53 (52%) residían en Colombia<sup>1</sup>.

2. **Desnutrición.** Los habitantes de zonas maláricas también están afectados por desnutrición; de acuerdo con la Encuesta Nacional de Demografía y Salud del año 2005, se encontró prevalencia de desnutrición entre moderada y grave (<2 desviaciones estándar) en los niños menores de 5 años, entre quienes 12% tuvieron desnutrición crónica y 7% la presentaron de tipo global. Por otra parte, en el grupo de 5 a 9 años, 13% desnutrición crónica, 5% global y 1% aguda<sup>2</sup>. El estudio del perfil alimentario y nutricional de la población antioqueña revela que las regiones del bajo Cauca y el Urabá, zonas con alta prevalencia de malaria, son las que presentan los mayores índices de desnutrición. En el Urabá antioqueño, 53.3% de los niños menores de 10 años tenían riesgo de desnutrición crónica (puntaje Z <-1) y 14.9% riesgo de desnutrición aguda, en tanto que 33.8% de los adolescentes presentaba déficit de peso según el indicador de índice de masa corporal<sup>3,4</sup>. Según estudios anteriores en niños maláricos de 3 a 11 años, residentes en El Bagre y Zaragoza (zona del Bajo Cauca) y Turbo (zona de Urabá), 33% presentó riesgo de desnutrición aguda; 52% de desnutrición crónica y 56% de desnutrición global. Del total de niños estudiados 67% mostró riesgo de algún tipo de desnutrición, 54% de ellos pertenecientes a Turbo<sup>5</sup>.

3. **Deficiencia subclínica de retinol.** Semejante a la relación anemia-malaria, se ha encontrado asociación entre valores bajos de retinol plasmático y malaria. En niños colombianos con esta enfermedad, se han encontrado valores bajos de retinol<sup>6</sup>, básicamente explicables por la reacción inflamatoria de fase aguda, pero otros datos en esos niños indican que, tras pasar la malaria, ellos apenas tienen valores de retinol en el límite inferior del intervalo de normalidad<sup>7</sup>. La última encuesta nacional de la situación nutricional en Colombia informa que sólo 5.9% de la población entre 1 y 4 años presenta deficiencia subclínica de retinol, pero la prevalencia es mayor entre la población rural y en los más pobres. Precisamente las zonas maláricas reúnen las condiciones de pobreza, situación social adversa, bajos ingresos, parasitosis intestinal y hacinamiento, que son factores de riesgo para deficiencia de retinol<sup>2</sup>. Por el contrario, es poco frecuente entre los habitantes de zonas maláricas<sup>8</sup> el uso de suplementos de retinol que eleva los

depósitos hepáticos.

4. **Parásitos intestinales.** A la malaria y a la desnutrición de los habitantes de estas zonas se suma la alta prevalencia de parásitos intestinales. En niños de 4 a 10 años residentes en los municipios de El Bagre y Turbo, se encontró que 85% tenían parásitos intestinales<sup>7</sup>. Algunas publicaciones asocian concentraciones bajas de retinol y anemia, con la presencia de parasitosis intestinal<sup>9</sup>. Además, los modelos animales indican que las coinfecciones con helmintos y protozoos generan en el hospedero múltiples interacciones sinérgicas y antagonistas. Según los estudios de Nacher<sup>10</sup> interacciones similares tienen lugar entre helmintos y *P. falciparum* en humanos.

5. **Anemia.** En las áreas con desnutrición, deficiencia de retinol, parasitosis intestinal y malaria, contribuyen al desarrollo de anemia, no sólo durante la infección, sino después de la misma. En El Bagre, la prevalencia de anemia en los menores de 15 años con malaria fue el triple de la que presentaron quienes no tenían la enfermedad<sup>11</sup>. En los niños de 4 a 10 años de El Bagre y Turbo se encontró anemia en 85% de los niños con malaria aguda<sup>7</sup>. La prevalencia nacional de anemia en niños colombianos de 5 a 12 años, habitantes de la región central donde está ubicada Antioquia, fue 33.2%, según la última Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Colombia<sup>2</sup>, lo que de acuerdo con la OMS corresponde a un problema grave de salud pública<sup>12</sup>.

6. **La inmunidad.** En el interesante centro de las relaciones entre malaria, parasitosis intestinal y deficiencia de micronutrientes (hierro y retinol) se presume que la respuesta inmune puede ser el elemento que articula dicha relación, en especial la modulación que realiza el retinol sobre la respuesta TH1/TH2, donde una deficiencia de la vitamina aumenta la respuesta TH1<sup>13</sup>, que a su vez se relaciona con anemia y parasitosis. Las células TH1 son responsables de la producción de citocinas proinflamatorias que participan en la respuesta inmune mediada por células y dirigida contra infecciones intracelulares y las células TH2 se caracterizan por la producción de citocinas que intervienen en la inmunidad dependiente de anticuerpos y dirigida contra agentes extracelulares, incluyendo los nemátodos gastrointestinales<sup>9</sup>.

Esta revisión tiene dos objetivos, el primero es describir las relaciones publicadas en la literatura biomédica mundial entre retinol y morbi-mortalidad

infantil, retinol y anemia, retinol y malaria, parasitosis intestinal y concentraciones plasmáticas de retinol, anemia y malaria. El segundo objetivo es mostrar cómo estas interrelaciones podrían estar mediadas por el patrón de citocinas TH1/TH2 durante la malaria aguda en niños.

## METODOLOGÍA

Se usaron fuentes secundarias de información disponible en Internet y en las bibliotecas de la ciudad de Medellín. Se consultaron las siguientes bases de literatura científica biomédica: Medline, Lilacs, Springerlink, Md Consultant, Web of Science, Ovid, Scient Direct, Ebsco y Cochrane. La búsqueda se realizó durante el período comprendido entre marzo de 2006 y agosto de 2007 y se incluyeron los trabajos publicados en los últimos diez años. Sin embargo, ante la carencia de datos recientes en algunos aspectos a revisar, fue necesario incluir artículos publicados desde 1982. La exploración se hizo con las palabras clave malaria, retinol, intestinal parasites, anaemia, cytokine y children, todas simultáneamente asociadas con relations o relationship, con el fin de encontrar literatura que relacionara estos 6 temas. Sin embargo, las búsquedas no arrojaron ningún resultado; lo mismo sucedió cuando se excluía alguna o algunas de las palabras o se modificaba el orden. Tampoco se encontraron resultados cuando se cambió intestinal parasites por helminths o nematode, retinol por vitamin A, malaria por *P. falciparum* o *P. vivax* y cytokine por nombres específicos de las citocinas de interés, tales como interleucina 10 (IL-10), factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) entre otros. La búsqueda sólo fue exitosa cuando se hizo por parejas o tríos de las palabras clave referidas. Por otra parte, se buscó información para documentar la magnitud de la prevalencia de desnutrición, deficiencia subclínica de retinol, anemia y malaria en niños colombianos, lo mismo que sobre el papel antifeccioso de la vitamina A. En las bases de datos se hizo la búsqueda con las palabras clave en inglés, se aceptó literatura en inglés o en español y sólo se revisaron artículos completos.

## RETINOL Y MORBI-MORTALIDAD INFANTIL

El término vitamina A es descriptivo genérico para designar compuestos que muestran las propiedades

biológicas del retinol o de sus ésteres. Retinoide se refiere a la sustancia química retinol u otros derivados estrechamente relacionados que ocurren de manera natural. Los retinoides también incluyen análogos sintéticos con relación estructural que no necesariamente tienen actividad similar a la del retinol. El retinol es un alcohol primario que existe en forma esterificada en los tejidos animales. El ácido retinoico (vitamina A ácida) comparte algunos efectos biológicos del retinol. Existen en la naturaleza cerca de 600 carotenos, que son pigmentos rojos o amarillos, sintetizados por una amplia variedad de plantas, de los cuales al menos 10% se pueden convertir en retinol en los humanos<sup>14</sup>.

El retinol modula una gran diversidad de procesos biológicos y participa en la diferenciación de células especializadas del sistema inmune en diferentes tejidos. Su deficiencia daña la integridad de los epitelios y altera la inmunidad sistémica, lo cual aumenta la incidencia y la gravedad de las infecciones durante la niñez<sup>14</sup>. El efecto antiinfeccioso del retinol encontrado en las investigaciones en animales, alentó a algunos investigadores a promover los suplementos del mismo y estudiar su efecto sobre la mortalidad infantil<sup>15</sup>.

Dar 200.000 UI de retinol, cada 6 meses, a niños preescolares de Indonesia hizo que la mortalidad se redujera en 34%<sup>16</sup> y la administración de esta misma dosis, cada 4 meses, se asoció con 30% de reducción de la mortalidad en Nepal<sup>17</sup>. El análisis de los datos de ocho estudios sobre suplemento con retinol reveló que la mortalidad total se redujo en 30%. Cuando se usaron dosis pequeñas y frecuentes la reducción fue de 42%, mientras que con dosis grandes y espaciadas sólo disminuyó 19%, con mejor efecto en los niños menores de un año<sup>18</sup>.

## RETINOL, MALARIA Y RESPUESTA INMUNE

Algunas investigaciones indican que el retinol juega un papel en la susceptibilidad para contraer malaria y desarrollar sus complicaciones<sup>19,20</sup>. En animales, la deficiencia de retinol exacerba la malaria o aumenta la susceptibilidad a la misma, situación que se revierte al dar suplemento de retinol<sup>21</sup>.

En un estudio aleatorio doble ciego, con control de placebo, se administraron suplementos de retinol a niños menores de 5 años residentes en Papua, Nueva Guinea, área endémica de *P. falciparum*; en el grupo con

suplemento se redujeron en 30% los episodios febriles por *P. falciparum*, en 36% la parasitemia y en 11% la esplenomegalia<sup>22</sup>. Aunque los autores de un estudio de niños preescolares en Ghana afirman no haber encontrado ninguna relación entre la administración de suplementos poblacionales de retinol y morbilidad y mortalidad por *P. falciparum*<sup>23</sup>, otro investigador cuestiona estos resultados, porque en este estudio se asumió que los episodios febriles presentados durante el seguimiento eran por malaria, sin confirmación por gota gruesa, y este autor encontró en una submuestra del mismo estudio, a la que se le hizo seguimiento epidemiológico y confirmación de malaria por gota gruesa, tasas de reducción en la prevalencia de malaria entre 20% y 30% en los que recibieron suplemento de vitamina A en relación con el grupo control<sup>22</sup>.

En Colombia no existen hasta el momento informes o datos publicados sobre los efectos de los suplementos de retinol en poblaciones palúdicas. Sin embargo, los grupos de Alimentación y Nutrición Humana y Malaria, ambos de la Universidad de Antioquia, se encuentran adelantando algunas investigaciones de este tipo y cuyos resultados se espera, sean informados próximamente.

Aún se desconoce el mecanismo exacto por el cual el suplemento con retinol potencia la resistencia a la malaria, pero se ha encontrado que el principal receptor que media la fagocitosis del eritrocito parasitado por parte de los macrófagos es el CD36 y que el ácido 9-cis-retinoico, un metabolito del retinol, estimula la expresión de CD36 y aumenta la fagocitosis de los eritrocitos infectados con *P. falciparum*, al mismo tiempo que reduce la producción exagerada de citocinas proinflamatorias<sup>24</sup>.

Se han documentando los posibles mecanismos mediante los cuales el retinol modula la función inmune y, entre ellos, se destaca su efecto sobre el patrón de citocinas TH1/TH2. Algunos estudios en ratones, demostraron que la deficiencia de retinol aumenta, durante la infección, la producción de las citocinas que favorecen la respuesta TH1, reflejada en una sobreproducción de interferón gamma (IFN- $\alpha$ ) y una débil respuesta de anticuerpos, a diferencia de los ratones sin deficiencia en quienes prima la respuesta TH2. Los resultados obtenidos en ratones deficientes de esta vitamina y estudios *in vitro* con leucocitos de los mismos, revelaron que hay por lo menos tres efectos del retinol sobre el

balance TH1/TH2 durante la infección: 1) regula directamente la secreción de IFN- $\gamma$  por las células TH1. 2) Disminuye la actividad de las células presentadoras de antígeno. 3) Promueve el crecimiento o la diferenciación de células TH2, con mayor producción de interleucina 5 (IL-5) e IL-10<sup>25</sup>.

Hasta el momento no hay estudios que determinen el papel del retinol sobre la producción de citocinas en humanos o animales con malaria, pero sí estudios en animales en los que se evalúa el efecto de esta vitamina sobre la producción de citocinas en enfermedades inflamatorias. En una investigación en la microglia y astrocitos de ratones, células implicadas en el desarrollo de las enfermedades inflamatorias, esclerosis múltiple y encefalomiелitis autoinmune, se observó que cuando la microglia tratada previamente con ácido retinoico se estimulaba con lipopolisacárido para desencadenar una respuesta inflamatoria, se reducía la producción de óxido nítrico y las citocinas proinflamatorias: TNF- $\alpha$ , interleucina 1 beta (IL-1 $\beta$ ) e interleucina 12 (IL-12), en comparación con las células no tratadas. En los astrocitos sometidos a condiciones similares se observó efecto supresor en la producción de óxido nítrico y TNF- $\alpha$ , sin efecto sobre las demás citocinas estudiadas<sup>26</sup>.

Algunos estudios *in vitro* han demostrado que los receptores para el ácido retinoico (RAR) o para el retinol (RXR) son importantes en la diferenciación de las células TH indiferenciadas (células TH0) hacia TH2, que intervienen en la producción de citocinas antiinflamatorias<sup>27</sup>. Esos resultados se confirmaron *in vivo* y se demostró que ratones mutados carentes del receptor de retinol (RXR) presentaron una respuesta inmune TH1 con producción exagerada de citocinas proinflamatorias, que se atribuyó a las alteraciones en las células presentadoras de antígenos y en la función de las células TCD4+<sup>28</sup>. El efecto estimulador del ácido retinoico sobre la respuesta TH2 también se ha encontrado en esplenocitos de ratones<sup>29</sup>. Los estudios mencionados confirman que el ácido retinoico requiere tener el receptor RXR o RAR funcional e interviene en la proliferación y diferenciación de una variedad de líneas celulares del sistema inmune, con una función estimuladora de la respuesta TH2.

En conclusión, el retinol parece estar involucrado en el proceso de modulación y regulación de la respuesta TH1/TH2, bien sea en la activación de la respuesta TH2 o inhibición de los factores activadores de la respuesta

TH1. Es claro que el retinol es fundamental en el ser humano y que su deficiencia tiene consecuencias sobre el estado nutricional y funcional. La relación entre este nutriente y la malaria ha sido estudiada por algunos autores<sup>22,23</sup> quienes se basan más en análisis poblacionales que en evidencias experimentales, por lo que se requieren más estudios que aclaren el papel del retinol en la reducción de la morbilidad por malaria en la población infantil y que permitan establecer si el suplemento de este micronutriente es benéfico o no en la prevención y tratamiento de esta enfermedad, pues los resultados en este aspecto son controversiales, teniendo en cuenta que las investigaciones se han realizado en poblaciones con características y comportamientos diferentes (desde el punto de vista geográfico, ambiental, cultural y socioeconómico), situación que refuerza la necesidad de proponer estudios experimentales relacionándolos con los de tipo poblacional que permitan establecer análisis comparativos concluyentes.

## RETINOL Y ANEMIA

La anemia es un problema de salud pública en muchas regiones del mundo, con alta prevalencia en los países económicamente dependientes, sobre todo entre la población infantil y que resulta de la interacción entre factores biológicos, nutricionales, culturales y ambientales<sup>18</sup>. La anemia grave es una complicación frecuente de la malaria, en países endémicos, que además cuentan con pobreza y alta prevalencia de deficiencia de micronutrientes, que aumenta la gravedad de las manifestaciones clínicas de la malaria, el riesgo de complicaciones y la mortalidad en la población<sup>30</sup>.

Durante los últimos 20 años se viene estudiando la relación entre el metabolismo del hierro y el retinol plasmático. En países económicamente dependientes se ha encontrado fuerte correlación positiva entre los valores de hemoglobina y los de retinol plasmático; en niños anémicos de Tanzania<sup>31</sup>, los suplementos de retinol incrementaron significativamente las concentraciones de hemoglobina y, como era de esperarse, los que recibieron retinol acompañada de hierro, aumentaron casi el doble los valores de hemoglobina, en comparación con quienes únicamente recibieron el suplemento de retinol. En niños mexicanos, de 6 a 36 meses, que recibieron suplementos con una dosis única de retinol según edad (100,000 UI para los de 6 a 12 meses de edad y 200,000

para los de 12 a 36 meses), los resultados, tres meses después, mostraron un incremento significativo en las concentraciones de ferritina. Esto indica que uno de los efectos de los suplementos de retinol, sería mantener los depósitos adecuados de hierro, para soportar la eritropoyesis<sup>32</sup>.

En un estudio en niños escolares marroquíes<sup>33</sup>, de los cuales 54% tenía anemia y 77% retinol plasmático bajo, después de recibir suplementos de retinol (200,000 UI) cada 5 meses durante 3 ocasiones, se observó disminución de la prevalencia de anemia (38%), aumento del volumen corpuscular medio, disminución de los receptores de transferrina y de ferritina sérica, cambios que indicaron movilización de los depósitos de hierro para elevar la eritropoyesis.

Se ha encontrado relación entre el uso de suplementos de retinol y las concentraciones de ferritina durante la infección por *P. falciparum*. En niños con malaria aguda residentes en Zanzíbar y que recibieron suplementos de retinol sin tratamiento antipalúdico, se observó reducción de la concentración de ferritina y proteína C reactiva, con aumento en la producción de reticulocitos, lo que sugirió que la movilización de los depósitos de hierro para aumentar la eritropoyesis se acompañó de un efecto antiinflamatorio<sup>34</sup>.

En conclusión, el retinol tiene un efecto directo sobre los mecanismos que promueven el restablecimiento de los valores normales de hemoglobina y otros indicadores del estado del hierro en el organismo. Las bajas concentraciones plasmáticas de la vitamina A coexisten con la deficiencia de hierro, que a su vez es la causa más frecuente de anemia en la población infantil. Sin embargo, aún son objeto de estudio los mecanismos que expliquen los efectos y relaciones que giran en torno al retinol y la anemia.

## ANEMIA Y SU RELACIÓN CON CITOCINAS TH1 Y TH2, EN SUJETOS CON MALARIA

La anemia es una complicación frecuente en la malaria y los mecanismos involucrados en su origen aún no se han sino definidos. La causa es multifactorial e incluye aspectos relacionados con el incremento de la destrucción de glóbulos parasitados y no parasitados y otros factores que condicionan la disminución en la producción de eritrocitos, por alteración en la maduración de los precursores eritroides o la falta de respuesta

de la médula ósea a la eritropoyetina (EPO). Adicionalmente, existen otros agentes condicionantes de la anemia que se relacionan con las características del parásito y del huésped, como la resistencia de *Plasmodium* a algunos antipalúdicos o enfermedades en el huésped, como talasemias o anemia falciforme, las cuales potencian la gravedad de la anemia, lo mismo que las deficiencias de hierro y otros micronutrientes<sup>30</sup>.

En Uganda, en niños de 1 a 10 años, quienes tenían malaria aguda no complicada, se encontró que la edad, las concentraciones altas de eritropoyetina, bajas de a-1 glicoproteína, y la proporción IL-10/TNF- $\alpha$  alta, se asociaron significativamente con mayores concentraciones de hemoglobina. Los datos indican que los niños más jóvenes no mantienen la producción de IL-10 en respuesta al proceso inflamatorio, mecanismo que puede contribuir con la gravedad de la anemia<sup>35</sup>.

El balance entre citocinas TH1 (TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$ ) y citocinas TH2 (IL-4 e IL-10) puede ser crítico en el desarrollo de malaria por *P. falciparum*<sup>36</sup>. En niños colombianos con malaria aguda no complicada, con edades entre 4 y 9 años, 67% infectados por *P. vivax*, 29% por *P. falciparum* y 4% con infección mixta, quienes residían en el municipio de El Bagre, se encontró un valor promedio de IL-10 de 266.18 $\pm$ 47.9 pg/ml, altamente significativo y superior al de los niños de igual edad, pero sin malaria, que fue de 8.52 $\pm$ 1.17 pg/ml ( $p < 0.001$ ); los valores de IL-10 en los niños con malaria se correlacionaron con la parasitemia y la temperatura corporal. Por el contrario, el TNF- $\alpha$  sólo se halló en 12% de los sujetos del estudio, sin diferencias significativas entre los promedios de los niños con malaria y los que no tenían esta enfermedad. En los niños con moderada o alta parasitemia, pero sin anemia, la proporción de IL-10/TNF- $\alpha$  fue significativamente mayor, en comparación con los que sí tenían anemia, lo cual indica que altos valores en esta proporción pueden prevenir el desarrollo de anemia por controlar la excesiva actividad inflamatoria del TNF- $\alpha$ <sup>37</sup>.

Las evidencias presentadas indican que valores altos en la proporción de citocinas TH2/TH1 (IL-10/TNF- $\alpha$ ) protegen los niños con malaria para no desarrollar anemia grave. Se ha propuesto que las vías por las cuales la IL-10 ejerce sus efectos benéficos en malaria, pueden ser: 1) activando los linfocitos T citotóxicos con la eliminación de las células infectadas; 2) estimulando la producción de anticuerpos dirigidos contra el parásito

y 3) inhibiendo o bloqueando la acción de las citocinas proinflamatorias, características de la respuesta TH1<sup>37</sup>.

De acuerdo con los estudios presentados, es claro que en niños con malaria aguda, la gravedad de la anemia está determinada por el balance en la producción de citocinas anti y proinflamatorias como IL-10 y TNF- $\alpha$  respectivamente, las cuales a su vez se relacionan con la modificación en parámetros hematológicos y pueden contribuir o no al incremento de los valores de hemoglobina o eritropoyetina.

Aunque se carece de información que relacione simultáneamente el papel modulador de la respuesta TH1/TH2 de los suplementos de vitamina A, con los valores hematológicos en niños con paludismo, es posible que exista esa interrelación, pues es claro que los suplementos con vitamina A mejoran los valores de hemoglobina y eritropoyetina y favorecen la movilización de los depósitos de hierro, e igualmente es conocido su papel inmunomodulador, que se manifiesta por la reducción de citocinas proinflamatorias, las cuales a su vez se asocian con la gravedad de la anemia, que cursa durante la malaria aguda. Por esta razón, se requieren más investigaciones que permitan aclarar la relación simultánea entre el retinol, la respuesta inmune y el metabolismo del hierro en la población infantil con malaria aguda, en especial la producida por *P. vivax*, de mayor prevalencia en Colombia.

### RELACIÓN DE LAS PARASITOSIS INTESTINALES CON RETINOL, ANEMIA, MALARIA Y RESPUESTA TH1/TH2

Las parasitosis intestinales hacen parte de las infecciones más comunes en la población mundial, sobre todo aquella vulnerable por las deficientes condiciones sanitarias, socioeconómicas y educativas, que facilitan el establecimiento de estas infecciones y aumentan los índices de morbi-mortalidad.

Los helmintos modulan o evaden las defensas del hospedero, creando una interacción dinámica entre el sistema inmune humano y la población de parásitos<sup>9,38</sup>. En las nematodosis, según los estudios experimentales, la inmunidad funcional contra estos parásitos incluye citocinas y efectores sistémicos de tipo TH2 y, con raras excepciones, la IL-4 es necesaria para la respuesta celular TH2.

Los eosinófilos tienen un papel en la eliminación de

los estadios larvarios infectivos, pero no de las formas adultas de la mayoría de los parásitos helmintos<sup>39</sup>. Las pruebas actuales muestran que el sistema inmune, durante las infecciones en hospederos con desnutrición proteico-calórica o con deficiencia de micronutrientes (vitamina A o cinc), se caracteriza por la declinación de varios efectores TH2, tales como inmunoglobulina E (IgE), inmunoglobulina G (IgG) específica antiparásito y eosinófilos<sup>9</sup>.

Algunos estudios en seres humanos han comprobado que la cantidad de IgE e IgG1 es directamente proporcional con la cantidad de IL-4 inducida por el parásito e inversamente proporcional a la producción de IFN- $\gamma$ <sup>9</sup>. En ratones se comprobó que la IL-10 es crítica para polarizar la respuesta inmune hacia un patrón TH2, que permite limitar la infección por *Trichuris muris* y mantener la función de barrera del colon<sup>40</sup>.

La presencia de *Ascaris* se ha asociado con bajas concentraciones plasmáticas de retinol lo que llevó a pensar que estos parásitos producían mala absorción del mismo<sup>41</sup>. Sin embargo, todavía está por aclarar si las bajas concentraciones de retinol se deben al efecto inflamatorio de la infección producida por los parásitos gastrointestinales, pues el retinol disminuye durante la fase aguda<sup>42</sup>. Paradójicamente, en niños de Indonesia entre 6 meses y 6.6 años, el tratamiento para *Ascaris* solo o combinado con un suplemento de vitamina A, fue ineficaz para mejorar las concentraciones plasmáticas de retinol, contrario a lo que sucedió cuando se administró sólo retinol<sup>43</sup>, hallazgo que podría denotar un efecto antagonista del antiparasitario sobre el suplemento farmacológico. La situación es diferente cuando se utilizan alimentos naturales, fuentes de caroteno, en lugar de suplementos farmacológicos; la administración de estos alimentos conjuntamente con grasa y tratamiento antihelmíntico en niños preescolares, mejoró significativamente las concentraciones de retinol<sup>44</sup>, situación que podría explicarse por el efecto directo del antihelmíntico sobre la parasitosis, bien sea porque se redujo la respuesta inflamatoria o se evitó la interferencia de los parásitos con la absorción de los carotenos, al mismo tiempo que se mejoró la biodisponibilidad de los mismos al ser administrados conjuntamente con grasa.

La deficiencia de hierro y la anemia coexisten con los parásitos gastrointestinales en niños de países económicamente dependientes. Aunque algunos autores proponen que los gusanos por alimentarse de sangre podrían

producir pérdidas de hierro importantes por el tracto gastrointestinal<sup>45</sup>, no todos los estudios apoyan esa hipótesis<sup>46</sup>.

Las interacciones heterólogas agonistas (a veces, además, sinérgicas) y antagonistas entre agentes infecciosos varían en magnitud desde reducir/aumentar el crecimiento y la fecundidad hasta bloquear/aumentar el establecimiento y la expulsión de ellos. Las coinfecciones son comunes en la naturaleza y ahora es posible explicar muchas de las interacciones en términos de los efectos parasitarios sobre el sistema inmune<sup>47</sup>.

La respuesta inmune en el paludismo y en las nematodosis es compleja e insuficientemente comprendida. En la malaria, predomina una respuesta inmune de tipo TH2 cuando no está complicada la enfermedad, pero es de tipo TH1 en los estadios complicados<sup>9</sup>. Se ha visto, que la selección de las más exitosas respuestas inmunes contra la malaria han ocurrido en poblaciones concomitantemente infectadas con parásitos intestinales y los modelos animales indican que tales coinfecciones con helmintos y protozoos generan en el hospedero un rango de interacciones sinérgicas y antagonistas. Estudios indican que interacciones similares tienen lugar entre helmintos, *P. falciparum* y seres humanos<sup>9</sup>. En los últimos años han aparecido varios e importantes escritos que informan sobre relaciones entre helmintos intestinales y malaria. Se sabe que las infecciones por helmintos intestinales aumentan el riesgo de desarrollar infección malárica pero reducen el de hacer malaria cerebral; también la infección por *Necator americanus* y la desnutrición protegen de la malaria cerebral. La frecuencia de helmintiasis es mayor en las personas que tienen en sangre gametocitos de *Plasmodium*. Hay menos hemoglobina y más reticulocitos en los pacientes con helmintiasis<sup>9,10,48</sup>.

En cuanto a los estudios sobre las interacciones de *Plasmodium* y protozoos intestinales en seres humanos son más escasos; hay algunos informes en modelos animales. En ratones coinfectados con el flagelado intestinal *Giardia muris* y con *P. yoelii*, hay una disminución temporal en la producción de quistes de *Giardia*, que coincide con el pico máximo de parasitemia por *P. yoelii*, lo cual se debe probablemente a cambios ocurridos a nivel del intestino delgado por factores inmunológicos específicos y no específicos. Sin embargo, se ha observado que el *Plasmodium* no tiene efectos sobre la duración total de la infección por protozoos intestina-

les y que estos tampoco influyen sobre el grado de parasitemia<sup>49</sup>.

Se ha visto que la malaria en niños con frecuencia cursa asociada con infecciones por parásitos intestinales, porque ambas enfermedades comparten condiciones similares en cuanto a la vulnerabilidad de la población infantil y la inadecuada situación socioeconómica, que condiciona la presencia de factores ambientales y nutricionales adversos, caracterizados por la deficiencia de retinol y/o de hierro<sup>50</sup>, que potencian la permanencia de infecciones y complicaciones de las mismas.

## CONCLUSIONES

En la actualidad no se han informado estudios que relacionen de manera simultánea las interacciones existentes entre retinol, malaria, anemia, parásitos intestinales y respuesta inmune. Tampoco se cuenta con publicaciones que describan el efecto antiinflamatorio de la vitamina A en sujetos con malaria aguda; en otras enfermedades se ha demostrado que algunos metabolitos de la vitamina A tienen un papel importante en el control de la respuesta inflamatoria por su efecto directo sobre la relación de citocinas TH1/TH2, que potencia la expresión de factores anti-inflamatorios tales como IL-10, IL-2 e IL-4, dependientes de la respuesta tipo 2 de las células T, a la vez que inhibe la acción de citocinas proinflamatorias propias de la respuesta TH1, como TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  e IL-12.

La deficiencia de retinol cursa generalmente con deficiencia de hierro y potencia la respuesta de tipo TH1, que a la vez se ha relacionado con anemia grave en niños maláricos.

Algunas investigaciones describen que existe relación inversa entre bajas concentraciones de retinol plasmático y la presencia de parásitos intestinales, problemas que coexisten con la deficiencia de hierro y la anemia. Las bajas concentraciones de retinol podrían ser el resultado de que los parásitos gastrointestinales patógenos desarrollen infección aguda, que se acompaña de inflamación y como se sabe, la proteína ligadora de retinol es un reactante negativo de fase aguda. Otros estudios plantean la posibilidad de que en niños con deficiencias nutricionales, tales como deficiencia de hierro y retinol, se presenta un aumento en la respuesta TH1 con una disminución en la de tipo TH2, lo cual se relaciona directamente con una deficiente respuesta

inmunológica en el tracto gastrointestinal frente a parásitos intestinales, promoviendo la infestación por estos y potenciándose el efecto inflamatorio por la infección, que a su vez se relaciona con complicaciones, como la anemia.

Se han realizado pocas investigaciones que demuestran el efecto benéfico de los suplementos poblacionales de vitamina A en niños residentes en zonas maláricas. Estos estudios afirman que dichos suplementos potencian la resistencia a la malaria y disminuyen las complicaciones asociadas con esta enfermedad, como la anemia, y aunque el mecanismo no está descrito es posible que el efecto inmunomodulador que tiene el retinol esté relacionado con estos beneficios.

En Colombia se consideran problemas de salud pública la anemia, la malaria, la desnutrición y la parasitosis intestinal. Existen diversos factores asociados que influyen notoriamente en la persistencia de esta problemática, como las condiciones ambientales, geográficas, las características culturales y la situación socioeconómica, que implica crear nuevas estrategias dirigidas a contrarrestar dichos factores y disminuir la incidencia de este tipo de enfermedades y deficiencias en la población colombiana.

Por todo lo planteado antes sería interesante explorar en niños colombianos, la relación simultánea que hay entre malaria, desnutrición (deficiencia de hierro y retinol), parasitosis intestinal, anemia y respuesta de citocinas TH1/TH2. Por las condiciones socioeconómicas que comparten estas enfermedades esto se podría hacer evaluando el efecto de suplementos de retinol sobre el patrón de citocinas TH1/TH2, concentraciones de inmunoglobulinas, variables bioquímicas nutricionales, prevalencia de parásitos intestinales e indicadores inflamatorios, en poblaciones de niños palúdicos y que simultáneamente presentan alta prevalencia de desnutrición y parasitosis intestinal.

Este tipo de investigaciones permitiría aclarar si existe o no interrelación entre todos los aspectos mencionados antes y la pertinencia de suministrar suplementos de retinol en poblaciones de niños palúdicos, como parte de una estrategia dirigida a la prevención y control de la malaria, la desnutrición y la parasitosis intestinal.

## AGRADECIMIENTOS

Al Comité para el Desarrollo de la Investigación de

la Universidad de Antioquia (CODI), al Instituto Colombiano para el Desarrollo de la Ciencia y la Tecnología (COLCIENCIAS) Cod 1115-04-16388, Contrato 339-2004 y a la Dirección Seccional de Salud de Antioquia (DSSA) Convenio administrativo CI-021-2004, entes financiadores del presente estudio.

## REFERENCIAS

1. Pan American Health Organization. *Annual malaria cases and deaths in the Americas, 1998-2006*. [Fecha de acceso enero 17 de 2007]. Disponible en: <http://www.paho.org/English/AD/DPC/CD/mal-cases-deaths-1998-2006.pdf>
2. Álvarez MC, Correa JM, Deossa GC, Estrada A, Forero Y, Gómez LF, et al. *Encuesta nacional de la situación nutricional en Colombia*. Bogotá: ICBF, Profamilia, Instituto Nacional de Salud, Universidad de Antioquia, OPS; 2005.
3. Álvarez MC, Benjumea MV, Roldán P, Maya M, Montoya EC. *Perfil alimentario y nutricional de los hogares de la región del Bajo Cauca antioqueño*. Medellín: Gobernación de Antioquia y Universidad de Antioquia; 2005.
4. Álvarez MC, Benjumea MV, Roldán P, Maya M, Montoya EC. *Perfil alimentario y nutricional de los hogares de la región del Urabá antioqueño*. Medellín: Gobernación de Antioquia y Universidad de Antioquia; 2005.
5. Blair S, Álvarez G, Villa A, Carmona-Fonseca J, Ríos L. Estado nutricional y niveles de inmunoglobulinas y citocinas en niños con malaria. *An Pediatr*. 2003; 58 Supl 5: 418-24.
6. Blair S, Carmona J, Correa AM. Malaria en niños: relaciones entre nutrición e inmunidad. *Pan Am J Public Health*. 2002; 11: 5-14.
7. Uscátegui RM, Correa AM, Carmona J. *Efecto de los suplementos de retinol y antiparasitarios intestinales, sobre valores sanguíneos de retinol, hemoglobina, proteína C reactiva y ferritina en niños maláricos y su relación con estado nutricional e inflamación*. Memorias Quinto Premio Fundación Éxito por la Nutrición Infantil. Bogotá: Fundación Éxito; 2008.
8. Stephensen CB, Gildengorin G. Serum retinol, the acute phase response, and the apparent misclassification of vitamin A status in the third National Health and Nutrition Examination Survey. *Am J Clin Nutr*. 2000; 72: 1170-8.
9. Kosky KG, Scott ME. Gastrointestinal nematodes, nutrition and immunity: Breaking the negative spiral. *Annu Rev Nutr*. 2001; 21: 297-321.
10. Nacher M. Worms and malaria: noisy nuisances and silent benefits. *Parasite Immunol*. 2002; 24: 391-3.
11. Blair S, Álvarez G, Campuzano G. Relación entre anemia y malaria en una población rural de Colombia. *Bol Dir Malariol San Amb*. 1997; 32: 7-13.
12. World Health Organization. *Iron deficiency anaemia, assessment, prevention, and control a guide for programme managers*. United Nations Children's Fund, United Nations University, World Health Organization; 2001. Informe técnico N° 01.3 I.
13. Jason J, Archibald LK, Nwanyanwu OC, Sowell AL, Buchanan

- I. Vitamin A levels and immunity in humans. *Clin Diag Lab Immunol.* 2002; 9: 616-21.
14. Marcus R, Coulson AM. Vitaminas A, K y E. En: Hardman JG, Limbird LE, Molinoff PB, Ruddon RW, editores. *Las bases farmacológicas de la terapéutica.* 9ª ed. México: McGraw-Hill Interamericana; 1996. p. 1675-85.
  15. Fawzi WW. The benefits and concerns related to vitamin A supplementation. *J Infect Dis.* 2006; 193: 756-9.
  16. Sommer A, Tarwotjo I, Djunaedi E. Impact of vitamin A supplementation on childhood mortality. A randomized controlled community trial. *Lancet.* 1986; 1: 1169-73.
  17. West KP Jr, Pokhrel RP, Katz J, LeClerq SC, Khatri SK, Shrestha SR, et al. Efficacy of vitamin A in reducing preschool child mortality in Nepal. *Lancet.* 1991; 338: 67-71.
  18. Villamor E, Fawzi WW. Vitamin A supplementation: Implications for morbidity and mortality in children. *J Infect Dis.* 2000; 182: 122-33.
  19. Hamzah J, Davis TM, Skinner-Adams TS, Beilby J. Characterization of the effect of retinol on *Plasmodium falciparum* in vitro. *Exp Parasitol.* 2004; 107: 136-44.
  20. Davis TM, Skinner-Adams TS, Beilby J. In vitro growth inhibition of *Plasmodium falciparum* by retinol at concentrations present in normal human serum. *Acta Trop.* 1998; 69: 111-9.
  21. Stoltzfus RJ, Jalal F, Harvey PW, Nesheim MC. Interactions between vitamin A deficiency and *Plasmodium berghei* infection in the rat. *J Nutr.* 1989; 119: 2030-7.
  22. Shankar AH, Genton B, Semba RD, Avizor M, Paino J, Tamja S, et al. Effect of vitamin A supplementation on morbidity due to *Plasmodium falciparum* in young children in Papua New Guinea: a randomized trial. *Lancet.* 1999; 354: 203-9.
  23. Binka FN, Ross DA, Morris SS, Kirkwood BR, Arthur P, Dollimore N, et al. Vitamin A supplementation and childhood malaria in northern Ghana. *Am J Clin Nutr.* 1995; 61: 853-9.
  24. Serghides L, Kain KC. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma-retinoid X receptor agonists increase CD36-dependent phagocytosis of *Plasmodium falciparum*-parasitized erythrocytes and decrease malaria-induced TNF-alpha secretion by monocytes/macrophages. *J Immunol.* 2001; 166: 6742-8.
  25. Cantorna MT, Nashold FE, Hayes CE. In vitamin A deficiency multiple mechanisms establish a regulatory T helper cell imbalance with excess TH1 and insufficient TH2 function. *J Immunol.* 1994; 152: 1515-22.
  26. Xu J, Drew PD. 9-Cis-retinoic acid suppresses inflammatory responses of microglia and astrocytes. *J Neuroimmunol.* 2006; 171: 135-44.
  27. Stephensen ChB, Rasooly R, Jiang X, Ceddia MA, Weaver CT, Chandraratna R, et al. Vitamin A enhances in vitro Th2 development via retinoid X receptor pathway. *J Immunol.* 2002; 168: 4495-503.
  28. Spilianakis ChG, Lee GR, Flavell RA. Twisting the TH1/TH2 immune response via the retinoid X receptor: Lessons from a genetic approach. *Eur J Immunol.* 2005; 35: 3400-4.
  29. Hoag KA., Nashold FE, Gorman J, Hayes CE. Retinoic acid enhances the T helper cell development that is essential for robust antibody responses through its action on antigen-presenting cells. *Nutr Immunol.* 2002; 132: 3736-9.
  30. Llanos C, Flórez ME, Herrera M, Herrera S. Mecanismos de generación de anemia en malaria. *Colomb Med.* 2004; 35: 205-14.
  31. Mwanri L, Worsley A, Ryan P, Masika J. Supplemental vitamin A improves anemia and growth in anemic school children in Tanzania. *J Nutr.* 2000; 130: 2691-6.
  32. Robles-Sardin AE, Astiazarán-García H, Dávalos-Navarro R, Quihui-Cota L, Cabrera-Pacheco RM, Valencia ME. Efecto de la suplementación con una dosis masiva de retinol en niños de 6 a 36 meses de edad. *Salud Publica Mex.* 1998; 40: 309-15.
  33. Zimmermann MB, Biebinger R, Rohner F, Dib A, Zeder C, Hurrell RF, et al. Vitamin A supplementation in children with poor vitamin A and iron status increases erythropoietin and hemoglobin concentrations without changing total body iron. *Am J Clin Nutr.* 2006; 84 Suppl 3: 580-6.
  34. Cusick SE, Tielsh JM, Ramsam M, Jape JK, Stoltzfus R. Short-term effects of vitamin A and antimalarial treatment on erythropoiesis in severely anemic Zanzibari preschool children. *Is J Clin Nutr.* 2005; 82: 406-12.
  35. Nussenblatt V, Mukasa G, Metzger A, Ndeezi G, Garrett E, Semba RD. Anemia and interleukin-10, tumor necrosis factor alpha, and erythropoietin levels among children with acute, uncomplicated *Plasmodium falciparum* malaria. *Clin Diag Lab Immunol.* 2001; 8: 1164-70.
  36. Doodoo D, Omer FM, Todd J, Akanmori BD. Absolute levels and ratios of proinflammatory and anti-inflammatory cytokine production in vitro predict clinical immunity to *Plasmodium falciparum* malaria. *J Infect Dis.* 2002; 185: 971-9.
  37. Blair S, Toro MF, Correa AM, Carmona J. Niveles séricos elevados de interleuquina -10 en pacientes con malaria aguda. *Acta Med Colomb.* 1999; 24: 15-8.
  38. Maizels RM, Bundy DA, Selkirk ME, Smith DF, Anderson RM. Immunological modulation and evasion by helminth parasites in human populations. *Nature.* 1993; 365: 797-805.
  39. Ferreira MB, da Silva SL, Carlos AG. Atopy and helminths. *Allerg Immunol.* 2002; 34: 10-2.
  40. Schopf LR, Hoffmann KF, Cheever AW, Urban JF Jr, Wynn TA. IL-10 is critical for host resistance and survival during gastrointestinal helminth infection. *J Immunol.* 2002; 168: 2383-92.
  41. Ahmed F, Mohiduzzaman M, Jackson AA. Vitamin A absorption in children with ascaris. *Br J Nutr.* 1993; 69: 817-25.
  42. Tomkins A. Assessing micronutrient status in the presence of inflammation. *J Nutr.* 2003; 133: 1649-55.
  43. Tanumihardjo S. A Vitamin A and iron status are improved by vitamin A and iron supplementation in pregnant Indonesian women. *J Nutr.* 2002; 132: 1909-12.
  44. Jalal F, Nesheim MC, Agus Z, Sanjur D, Habicht JP. Serum retinol concentrations in children are affected by food sources of beta-carotene, fat intake, and anthelmintic drug treatment. *Am J Clin Nutr.* 1998; 68: 623-9.
  45. Albonico M, Stoltzfus RJ, Savioli L, Tielsch JM, Chawaya HM, Ercole E, et al. Epidemiological evidence for a differential effect of hookworm species, *Ancylostoma duodenale* or *Necator americanus*, on iron status of children. *Int J Epidemiol.* 1998; 27: 530-7.

46. Agudelo GM, Cardona OL, Posada M, Montoya MN, Ocampo NE, Marín CM, *et al.* Prevalence of iron-deficiency anemia in schoolchildren and adolescents, Medellín, Colombia, 1999. *Rev Panam Salud Publica.* 2003; 13: 376-86.
47. Cox FE. Concomitant infections, parasites and immune responses. *Parasitology.* 2001; 122: 23-38.
48. Nacher M, Singhasivanon P, Traore B, Dejvorakul S, Phumratanaprapin W, Looareesuwan S, *et al.* Short report: Hookworm infection is associated with decreased body temperature during mild *Plasmodium falciparum* malaria. *Am J Trop Med Hyg.* 2001; 65: 136-7.
49. Brett SJ, Cox FE. Interactions between the intestinal flagellates *Giardia muris* and *Spiroplasma muris* and the blood parasites *Babesia microti*, *Plasmodium yoelii* and *Plasmodium berghei* in mice. *Parasitology.* 1982; 85: 101-10.
50. Khieu V, Odermatt P, Mel Y, Keluangkhon V, Strobel M. Anaemia in a school of rural Cambodia: detection, prevalence, and links with intestinal worms and malnutrition. *Bull Soc Pathol Exot.* 2006; 99: 115-8.