# **XI CONGRESO LATINOAMERICANO DE BIOLOGÍA MATEMÁTICA**

**SoLaBiMa 2019**

**Universidad Católica de Maule**

 22-25 de octubre de 2019, Talca, Chile

# **Análisis Informático de la transcriptómica de cepas de *Plasmodium falciparum* resistentes a la Artemisinina y su relación con el estado de latencia de otras especies de *Plasmodium*.**

# **Alejandro Bonive**

# Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela

# **Resumen**

La malaria enfermedad que causa millones de muertes a nivel mundial, principalmente en los trópicos, siendo América un continente con una incidencia importante de esta enfermedad sobre todo en el caribe y en América del Sur. En Venezuela la situación respecto a la malaria ha empeorado en los últimos años, donde se ha observado un incremento preocupante de casos reportados, con un preocupante aumento en casos debido a *Plasmodium falciparum*, parasito responsable de la forma más mortífera de la enfermedad, siendo en África donde tiene una mayor incidencia con más de 400 mil muertes anuales. *P. falciparum* ha mostrado resistencia para muchas de las drogas usadas para su control, más recientemente se han reportado casos en el sudeste asiático de *P. falciparum* resistentes a las más efectivas drogas usadas basadas en artemisinina. La resistencia a la artemisinina se presenta en cepas del parásito con una alteración en la proteína Pfkelch, lo que lleva a que el parasito entre en un estado de latencia, enfocándose en revertir el daño causado por la acción de la droga. En el presente trabajo se busca identificar en las cepas de *P. falciparum* resistentes a artemisinina si los genes que se expresan en este estado se correlacionan con aquellos usados en otras especies de *Plasmodium* para entrar en periodos de latencia prolongados, a pesar que *P. falciparum* no entra en este periodo de latencia en su ciclo de vida. Esta comparación se hará comparando la transcriptómica de cepas de *P. falciparum* resistentes con la transcriptómica la de *P. vivax* y *P. cynomolgi* que sí presentan el estado de latencia llamado hipnozoito.

Equipo de trabajo:

**Ascanio Rojas**1, Centro Nacional de Cálculo Científico de la Universidad de Los Andes, CeCalCULA, Mérida, Venezuela.

**Héctor Acosta**2, Laboratorio de Enzimología de Parásitos, LEP, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.



1e-mail: ascanio@ula.ve

2e-mail: hectoracosta@ula.ve

**Introducción**

La malaria es una enfermedad causada por parásitos del género *Plasmodium (P. falciparum, P. vivax, P. malaria y p. ovale),* su distribución se centra principalmente en zonastropicalesde África, Asia y América Central y del Sur*.* Se estima que para el año 2017 hubo cerca de 400 mil nuevos casos de malaria sumando un total de 219 millones a nivel mundial, con cerca de 450 mil muertes asociadas a paludismo. Para la región de las Américas, se estima en uno 680 mil casos con un ligero aumento con respecto al año anterior (en 2016). En Venezuela los casos de malaria han ido en aumento acelerado desde 2006, para el año 2017 se estima en más de 450 mil casos reportados por la OMS (con un estimado de más de 1 millón de casos en 2018), siendo *Plasmodium vivax* el causante de la mayoría de los reportes con más del 80%. Sin embargo, en años recientes el número de casos reportados para *P. falciparum* ha ido en aumento (2% entre 2016 y 2017), inclusive en zonas donde antes no había sido reportado. Si bien los casos se registran en 17 de los 24 estados del país, el municipio Domingo Sifontes, en el estado Bolívar concentró la mayor cantidad de casos a nivel nacional (43% del total de casos notificados), con un comportamiento epidémico relacionado con el auge de explotación minera y la movilización de personas procedentes de otros estados y países, que se establecen en condiciones propicias para la transmisión de la malaria.

El control de la malaria ha sido una constante preocupación desde el siglo pasado hasta nuestros días, dicho control abarca distintos aspectos, que van desde el control del vector (mediante la fumigación y uso de mosquiteros impregnados con repelentes, entre otras estrategias), hasta la creación de nuevas drogas para tratar los síntomas, que pueden actuar en distintos estadios de vida del parasito. Sin embargo *P. falciparum* y en menor medida, *P. vivax* han generado resistencia a las drogas empleadas para su control en diferentes ocasiones. Las mayorías de las cepas actuales de P. *falciparum* distribuidas a nivel global son resistentes a Cloroquina, Proguanil, Mefloquina y la mayoría de drogas antimaláricas, siendo el tratamiento actual recomendado por la OMS el basado en Artemisinina en conjunto con otras drogas (denominado ACT), pero, a la fecha, se han reportados casos de disminución de la efectividad de los ACT contra *P. falciparum* en varias regiones del sudeste asiático. En Venezuela se ha reportado una disminución notable en las medidas para controlar la malaria, resaltando una reducción de más del 99% en el número de viviendas rociadas con insecticida (control del vector) y una reducción en la disponibilidad de las drogas para tratar la enfermedad, en general existe una reducción drástica en el financiamiento (se redujo en 9.8 millones de $, en 2016 con respecto a 2010). El tratamiento actual contra la malaria severa en Venezuela causada por *P. falciparum* incluye las drogas Artemeter (derivado de artemisinina), lumefrantina y primaquina (ACT), no existiendo otras alternativas (basadas en artemisinina o no) en el país.

En cepas resistentes a artemisinina de *P. falciparum* se ha determinado la asociación de la proteína Pfkelch, en el cromosoma 13, con dicha resistencia, lo que implica una extensión en la duración de la forma “anillo” del trofozoíto dentro del eritrocito, un estado de “latencia”, donde se activan varias rutas de reparación para remendar los efectos de la artemisinina. *P. vivax,* y otros parásitos del género,poseen un estado de latencia en forma de hypnozoito en las células hepáticas, ausente en *P. falciparum*, siendo posible que la resistencia de *P. falciparum* contra artemisinina implique la expresión de genes que están asociados con un estado de latencia en *P. falciparum.*

Hoy en día es posible analizar que genes específicos se están expresando en los parásitos mediante la transcriptómica, cuantificando la cantidad de ARNm producidos por el organismo en un estado especifico, actualmente están disponibles las transcriptómicas de *Plasmodium* en varias especies y en varios estadios, incluyendo la de cepas de *P. falciparum* resistentes a artemisinina.

El presente trabajo abordará la asociación de la resistencia de *P. falciparum* a la artemisinina con los genes expresados durante el estado de latencia de *P. vivax*, para ello se comparará la transcriptómica publicada de cepas de *P. falciparum* resistentes y no resistentes contra artemisinina, con la transcriptómica de *P. vivax* en el estado de latencia (hypnozoito) .Las comparaciones serán realizadas empleando herramientas bioinformáticas y estadísticas en busca de una posible asociación entre estos grupos de genes. La importancia de este enfoque yace en mejorar el conocimiento de la resistencia en *P. falciparum* (posiblemente asociándolo con un estado de latencia) contra los medicamentos usados actualmente (basados en artemisinina), siendo relevante el hecho de que *P. falciparum* produce la forma más mortífera de malaria y su presencia en territorio venezolano están en franco aumento y la droga más empleada para su control es la artemisinina.

**Diseño metodológico**

El presente trabajo se trata de una investigación en curso y a continuación se mostrará la metodología que se está llevando a cabo:

* Búsqueda e identificación de genes de interés

Se comenzará con los genes que poseen correlación positiva y negativa en cepas de *P. falciparum* resistentes a Artemisinina con respecto a cepas no resistentes, que ya han sido reportados[[1](#_ENREF_1)] . Se determinaran los ortólogos de dichos genes en *P. vivax* y *P. cynomolgi* en diferentes estadios [[2-7](#_ENREF_2)] y en lo posible se identificaran las posibles funciones de cada gen mediante herramientas bioinformáticas (Blastp, Hmmer, PSI-BLAST, entre otras). Para los genes identificados en *P. vivax* y *P. cynomolgi* se buscarán datos de transcriptómica en varios estadios, poniendo énfasis en el estadio de hypnozoito.

Una vez determinado los genes presentes en cepas resistentes de *P. falciparum* con su ortólogo en los hipnozoito de *P. vivax* y *P. cynomolgi* se realizarán pruebas estadísticas para evaluar una posible correlación entre el estado de “latencia” visto en las cepas de *P. falciparum* con la latencia de *P. vivax* y *P. cynomolgi*. Por último, se indagará en la posible importancia de esta correlación en dichos genes para hacer posible que *P. falciparum* resista la Artemisinina.

1. Mok, S., et al., *Population transcriptomics of human malaria parasites reveals the mechanism of artemisin resitance.* Sciencexpress, 2014.

2. Gural, N., et al., *In Vitro Culture, Drug Sensitivity, and Transcriptome of Plasmodium Vivax Hypnozoites.* Cell Host Microbe, 2018. **23**(3): p. 395-406 e4.

3. Roth, A., et al., *Unraveling the Plasmodium vivax sporozoite transcriptional journey from mosquito vector to human host.* Sci Rep, 2018. **8**(1): p. 12183.

4. Joyner, C., et al., *Plasmodium cynomolgi infections in rhesus macaques display clinical and parasitological features pertinent to modelling vivax malaria pathology and relapse infections.* Malar J, 2016. **15**(1): p. 451.

5. Cubi, R., et al., *Laser capture microdissection enables transcriptomic analysis of dividing and quiescent liver stages of Plasmodium relapsing species.* Cell Microbiol, 2017. **19**(8).

6. Zhu, L., et al., *New insights into the Plasmodium vivax transcriptome using RNA-Seq.* Sci Rep, 2016. **6**: p. 20498.

7. Bozdech, Z., et al., *The transcriptome of Plasmodium vivax reveals divergence and diversity of transcriptional regulation in malaria parasites.* Proc Natl Acad Sci U S A, 2008. **105**(42): p. 16290-5.