

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

Centro Nacional de Cálculo Científico de la Universidad de Los Andes, CeCaCULA/Universidad de Los Andes (ULA)
Mérida /Venezuela
aleetkalex@gmail.com

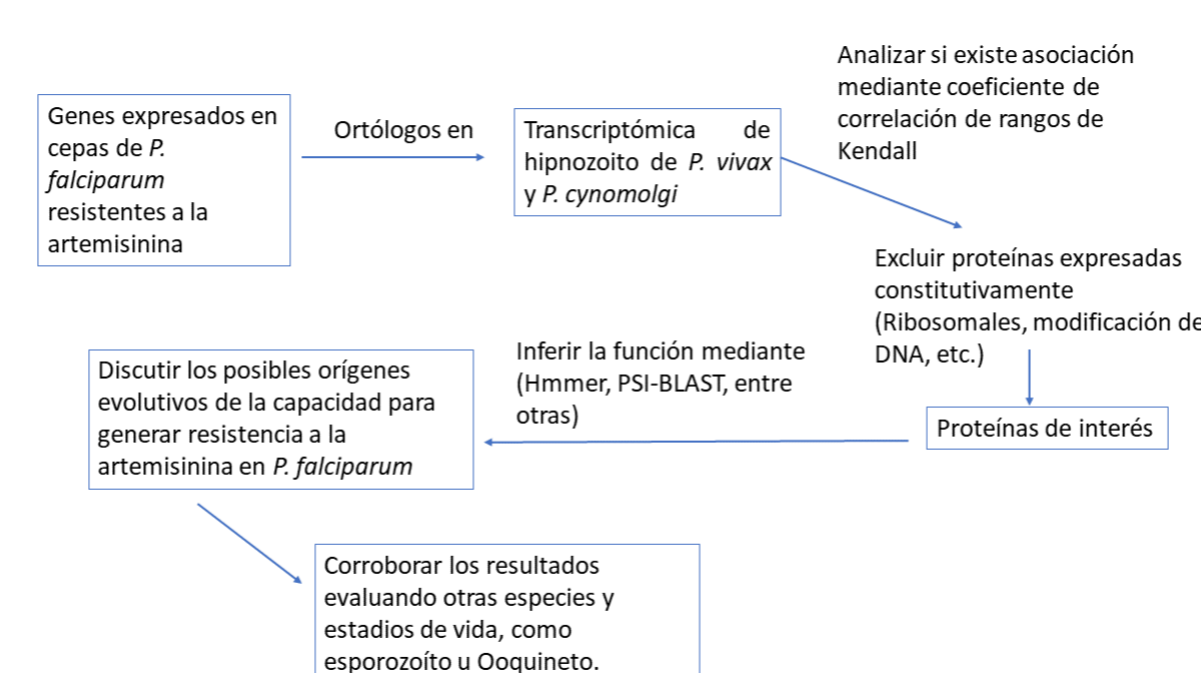
1. Introducción

La malaria es una enfermedad causada por parásitos del género *Plasmodium* (*P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae* y *P. ovale*) transmitida a los seres humanos a través de mosquitos del género *Anopheles*, la enfermedad produce fiebre, escalofríos y otros síntomas, y puede complicarse produciendo la muerte. Se estima que en 2016 hubo 216 millones de casos de malaria y unas 445000 muertes atribuidas a ella. Este género de parásitos se encuentra en el filo apicomplexa del reino protista. Su distribución abarca el trópico[1, 2] siendo estas áreas las que poseen mayor incidencia de la enfermedad, pero las áreas templadas también son propensas sobre todo durante el verano cuando la temperatura permite la multiplicación del vector, más aún muchos viajeros pueden movilizarse desde zonas tropicales de alta incidencia en la malaria hacia zonas templadas y portar el parásito, esto es especialmente cierto para infecciones con *P. vivax*, que posee un periodo de latencia[3]. 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. 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 parásito. Sin embargo *P. falciparum* y en menor medida, *P. vivax* han generado resistencia a las drogas empleadas 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 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 trofozoito 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 hipozoito 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 no expresado actualmente 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 específico, actualmente están disponibles las transcriptómicas de *Plasmodium* en varias especies y en varios estadios, incluyendo la de cepas de *P. falciparum* resistentes a artemisinina.

2. Metodología

Se usaran con los genes cuya expresión se encuentra aumentada o disminuida en cepas de *P. falciparum* resistentes a Artemisinina con respecto a cepas no resistentes, que fueron obtenidos de 1043 aislados sanguíneos de pacientes que presentaban resistencia por Mok y colaboradores[4]. Se determinaran los ortólogos de dichos genes en *P. vivax* y *P. cynomolgi* en diferentes estadios [5-10] enfocándose en el estado de latencia hipozoito y en lo posible se identificarán las posibles funciones de cada gen mediante herramientas bioinformáticas (Blastp, Hmmer, PSI-BLAST, entre otras). Se excluirán genes expresados constitutivamente, como lo son las proteínas ribosomales. Una vez determinado los genes presentes en cepas resistentes de *P. falciparum* con sus ortólogos en los hipozoitos de *P. vivax* y *P. cynomolgi*, se usará 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* para lo cual se plantea usar el coeficiente de correlación de Kendall el cual permite evaluar el grado de similaridad entre 2 conjuntos de datos con sus rangos [11], se tomarán los valores >0.5 como una correlación positiva, esta prueba ya ha sido empleada para comparar datos de transcriptómica entre diferentes especies de *Plasmodium* obtenidos por diferentes metodologías [6].



poster.png

Figura 2: Método experimental propuesto

3. Resultados Preliminares

Se han analizado 360 genes sobre expresados en la resistencia a la artemisinina, 88 se sobre expresan en el estado hipozoito de *P. vivax* y 14 en el de *P. cynomolgi* habiendo solo 3 en común. Las proteínas con mayor expresión se encuentran implicadas en la modificación del DNA o son proteínas ribosomales siendo estas expresadas en todos los estadios del parásito. Por otro lado, se encontró una sobreexpresión de genes implicados en la síntesis de proteína como lo son PVP01_1006900 una proteína transmembranal posiblemente implicada en el tráfico vesicular y la ruta secretora, PVP01_1118100 un receptor en el aparato de Golgi posiblemente implicado en el reconocimiento del tetrapeptido KDEL para el paso de proteínas del retículo endoplasmático al aparato de Golgi. Por otro lado, algunas proteínas se encuentran más asociadas con el estado de Ooquiste-Ooquinetos de *P. falciparum* como lo son PF3D7_1252200 un quitinasa y PF3D7_0108700 una proteína secretada por el Ooquinetos.

Referencias

- [1] OMS, W.H., World Malaria Report 2018. 2018.
- [2] OMS, Control y eliminación del paludismo por plasmodium vivax: informe técnico. 2016. p. 64
- [3] White, N.J., Determinants of relapse periodicity in Plasmodium vivax malaria. *Malaria Journal*, 2011. 10: p. 35.
- [4] OMS, Situación de la Malaria en la Región de las Américas, 2000-2016. 2016, Organización Mundial de la Salud
- [5] OMS and OPS, Actualización Epidemiológica Aumento de malaria en las Américas. 2018, Organización Mundial de la Salud Organización Panamericana de la Salud.
- [6] Bruzual, A. D., et al., Pronunciamento Ante la Grave Epidemia de Malaria en Venezuela. 18 de enero de 2018. 2016.
- [7] Mok, S., et al., Population transcriptomics of human malaria parasites reveals the mechanism of artemisin resistance. *Scienceexpress*, 2014.
- [8] Gurali, N., et al., In Vitro Culture, Drug Sensitivity, and Transcriptome of Plasmodium Vivax Hypozoites. *Cell Host Microbe*, 2018. 23(3): p. 395-406 e4.
- [9] Roth, A., et al., Unraveling the Plasmodium vivax sporozoite transcriptional journey from mosquito vector to human host. *Sci Rep*, 2018. 8(1): p. 12183.
- [10] 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
- [11] 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).
- [12] Zhu, L., et al., New insights into the Plasmodium vivax transcriptome using RNA-Seq. *Sci Rep*, 2016. 6: p. 20498
- [13] 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.
- [14] Abdi, H., The Kendall Rank Correlation Coefficient, in *Encyclopedia of Measurement and Statistics*, N. Salkind, Editor. 2007, Thousand Oaks (CA): Sage.