



**FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

TRABAJO FIN DE GRADO

**RESISTENCIA AL TRATAMIENTO
COMBINADO CON ARTEMISINA (TCA) EN**

Plasmodium falciparum

Autor: ROMÁN CORDERO APARICIO

Tutor: JOSÉ ANTONIO ESCARIO GARCÍA-TREVIJANO

Convocatoria: JUNIO 2018

RESUMEN:

En la lucha contra la malaria causada por *Plasmodium falciparum*, los avances conseguidos por los derivados de artemisina, se ven ahora amenazados por la aparición de resistencias en el sudeste asiático. En este trabajo abordaremos las posibles causas de la aparición, así como los mecanismos moleculares que hay detrás de ellas; y las posibles medidas que se han estudiado y se están aplicando para combatirlas.

- Palabras clave: Artemisina, resistencia, *P. falciparum*, Pfk13, PfPI3K

INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

La artemisina es un compuesto natural que se encuentra en plantas de la especie *Artemisia annua*, usada desde la antigüedad como remedio para un amplio abanico de enfermedades en la medicina tradicional China. No fue sin embargo hasta 1971 cuando científicos chinos demostraron que los extractos de la planta presentaban actividad antimalárica en primates. Esto supuso un punto de inflexión en el tratamiento de la malaria; tanto, que hoy en día es considerado el tratamiento de primera línea en la lucha contra el paludismo no complicado por *falciparum*, y el paludismo resistente a los tratamientos clásicos. ⁽¹⁾

Pero todo este optimismo se vio truncado en 2002, cuando datos de un ensayo clínico revelaron que existía una reducción significativa de la sensibilidad a artesunato en países del sudeste asiático (más en concreto en la región del Mekong). ⁽²⁾

Esto supuso una situación de alarma inicial que hoy en día ha sido medianamente apaciguada tras la controversia en cuanto a la todavía, no consensuada, definición de resistencia. En un principio, ésta se definía como el aumento del tiempo de eliminación del parásito en sangre. Pero hoy en día se ha visto que aunque dicha afirmación sea correcta, no equivale ni se relaciona con la insensibilidad del parásito al fármaco. ⁽³⁾

Para contextualizar la situación de la malaria actualmente, algunos datos epidemiológicos revelan que en 2016 hubo 216 millones de casos de paludismo en 91 países, un aumento de aproximadamente 5 millones de casos con respecto a 2015. Y aunque el total de muertes a nivel global en 2016 sea similar a la cifra de 2015 (445.000) y la incidencia de casos lleve bajando desde 2010; la tasa de disminución se ha estancado e incluso revertido en algunas regiones desde 2014; estancamiento que en parte tiene que ver con el incumplimiento de los objetivos de financiación que la OMS propuso para 2030.

Aun así, gracias a las pruebas diagnósticas rápidas de buena calidad implantadas en las comunidades endémicas, ya no es correcto ni frecuente dar por sentado que toda persona con fiebre elevada padece paludismo y necesita tratamiento antipalúdico. Esta aplicación ha reducido la prescripción excesiva de los TCA (tratamiento combinado con artemisina) y previene la aparición de resistencias. Otro factor importante ha sido el cambio de mentalidad en el uso de la monoterapia artemisinina, que ponía directamente en peligro la propagación de la resistencia a este medicamento (dada la menor semivida que presenta en comparación con el resto del arsenal terapéutico).

Este TCA por tanto, ha conseguido aumentar considerablemente la tasa de curación de la malaria, y ante un horizonte inmediato en el que no encontramos medicamentos capaces de sustituirlo, consideramos más que necesario cuidar, prevenir y mantener en constante vigilancia el tratamiento con estos medicamentos. Más aún en un panorama incierto, donde en los dos últimos años se ha estancado el avance en la lucha mundial contra el paludismo. ⁽⁴⁾

OBJETIVOS:

Realizar un análisis crítico de la situación del TCA (hoy por hoy tratamiento de primera elección contra el paludismo causado por *P. falciparum*) en cuanto a la aparición de nuevas resistencias a artemisina en el sudeste asiático y analizar las medidas que se están considerando en el panorama científico para abordar dicha resistencia.

METODOLOGÍA:

Para la realización del presente trabajo basado en una revisión bibliográfica, se ha acudido a numerosos artículos, ensayos y revistas de actualidad. Para ello me he servido de algunos buscadores de internet como Science Direct, PubMed, Google académico, y el buscador propio de la UCM. Dentro del perfil de búsqueda he utilizado comandos como malaria, tratamiento, artemisina, resistencia, *Plasmodium falciparum*, prevención y mecanismo de acción. Y en cuanto al dataje de los artículos y publicaciones revisadas he acotado la búsqueda a los últimos 5 años, permitiéndome excepciones en la búsqueda de algunas definiciones.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN:

¿QUÉ ES LA TERAPIA COMBINADA CON ARTEMISINA O TCA?

El TCA es hoy en día el tratamiento de primera elección contra el paludismo no complicado por *Plasmodium falciparum*, y contra las formas de malaria resistentes a los tratamientos convencionales como cloroquina, mefloquina o primaquina.

Se trata de la combinación de dos tipos de fármacos: un derivado de la artemisina con una potencia elevada y una semivida baja; y un segundo compuesto con una vida media superior.

El derivado de la artemisina presenta una rápida y potente eliminación de la carga parasitaria, reduciendo en 10.000 el número de formas asexuales intraeritrocitarias cada ciclo de 48 horas; siendo activo también contra las formas sexuales. En combinación, se utiliza un agente de larga duración que se encarga de: eliminar los parásitos remanentes, proporcionar protección contra el desarrollo de resistencias, y proveer un periodo de profilaxis post-tratamiento.

Los 5 TCA recomendados por la OMS son:

- Artemeter + Lumefantrina
- Artesunato + Amodiaquina
- Artesunato + Mefloquina
- Artesunato + Sulfadoxina/Pirimetamina
- Dihidroartemisina + Piperaquina

La duración recomendada del tratamiento es de 3 días, y la elección de uno u otro depende de la normativa de cada país; atendiendo siempre a la predisposición del paciente y a la ventana de eficacia de cada territorio. ⁽⁵⁾

MECANISMO DE ACCIÓN DE LOS DERIVADOS ARTEMISÍNICOS:

Para acercarnos más aun al conocimiento y explicación de la aparición de resistencias es fundamental comprender los mecanismos moleculares de acción de los derivados artemisínicos; fármacos en los cuales vamos a centrar nuestra atención.

La artemisina y sus derivados semisintéticos son un grupo de lactonas sesquiterpénicas, en cuya estructura, todas ellas, presentan un puente endoperóxido donde radica su actividad (Imagen 1). Aunque se conoce con total certeza que es necesaria la escisión del puente para la

producción de radicales libres que produzcan la acción antiparasitaria; se desconoce con exactitud el mecanismo por el cual se generan estos radicales. Aun así existen varias hipótesis que están ampliamente contrastadas. ⁽¹⁾

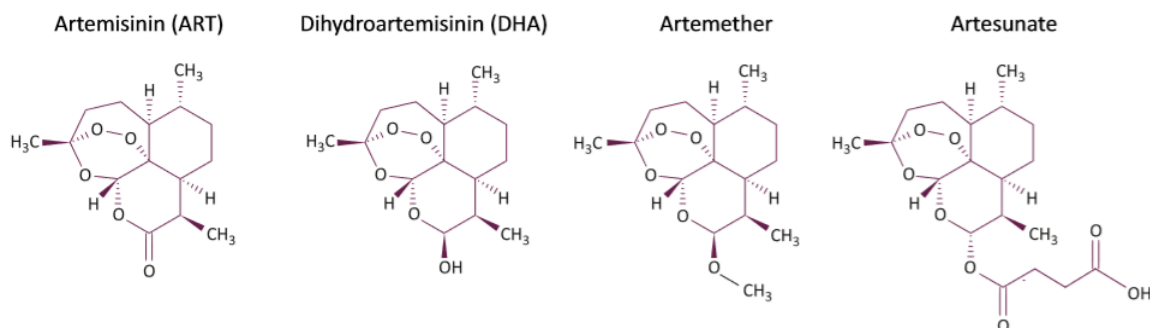


Imagen 1. Principales fármacos derivados de la artemisina y su estructura característica con el puente endoperóxido.

Una de ellas es la escisión reductora por medio del hierro unido al grupo hemo (Imagen 2).

La mayor fuente de hierro en los parásitos se genera dentro de unas vacuolas digestivas que se forman en el interior de los eritrocitos infectados. Este hierro procede de la proteólisis de la hemoglobina del hospedador una vez que el plasmodio lo ha internalizado en la vacuola. La mayoría de esta proteólisis ocurre durante el estado de trofozoito, que es cuando el parásito lleva a cabo una mayor endocitosis de hemoglobina. Es por este motivo que los derivados de la artemisina son menos efectivos contra los estadios inmaduros o tempranos de los trofozoitos, y prácticamente inactivos contra las formas gametocíticas y hepáticas; en las que se ve reducido el consumo de hemoglobina. ⁽⁶⁾

Aun así, estudios recientes, han demostrado que los estadios más iniciales de las formas asexuales intraeritrocitarias son vulnerables al tratamiento. Esto, se ha relacionado con la posible actuación de una cistein proteasa localizada en la superficie del parásito, conocida como plasmepsina; que escinde la hemoglobina, dejando accesible el hierro unido al grupo hemo necesario para la activación del fármaco. ⁽⁷⁾

La segunda hipótesis en cambio sugiere, que es el Fe^{2+} libre (no unido a hemoglobina), el que produce la escisión del puente endoperóxido. Esta reserva de hierro libre es generada en muy baja proporción por otras vías metabólicas alternativas; pero se encuentra en cantidad suficiente para producir la activación del fármaco. Aunque esto solo ocurre en estadios

tempranos donde todavía no predomina la masiva degradación de hemoglobina que se lleva a cabo en el estado trofozitario (Imagen 2).⁽⁶⁾

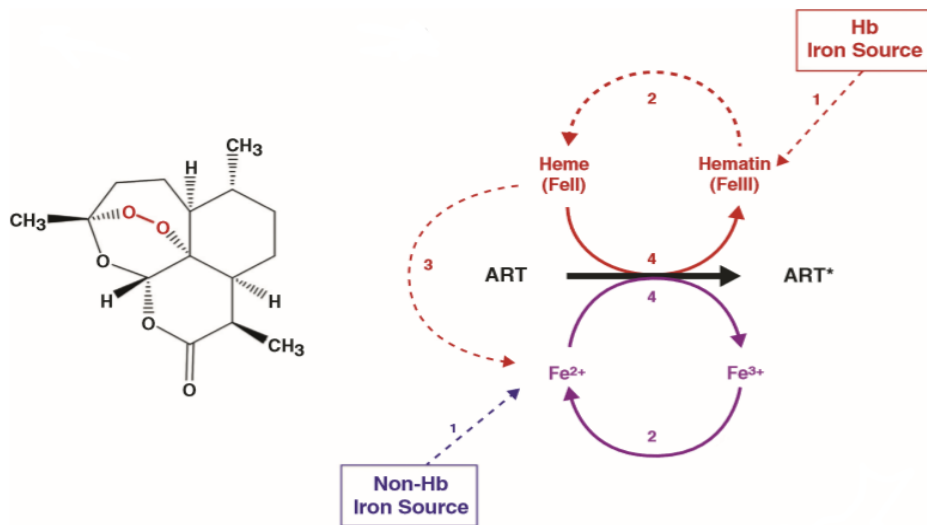


Imagen 2. Vías de activación de los derivados de artemisina.

Por tanto, el nivel de potencia de los tratamientos con artemisina está directamente relacionado con la fase del ciclo de vida en la que se encuentre el parásito; algo muy a tener en cuenta conociendo la escasa semivida que alcanza el fármaco en sangre.

DIANAS DE LOS DERIVADOS DE ARTEMISINA ACTIVADOS:

Gracias a los avances tecnológicos, estudios recientes han permitido acercarnos aun más al amplio espectro de dianas farmacológicas de los derivados de artemisina. Esto nos ha proporcionado una visión más amplia de cómo se comporta y afecta al desarrollo del parásito, y nos abre una ventana para el estudio de las posibles mutaciones que han asentado la aparición de resistencias.

Uno de estos estudios utilizó una sonda de actividad basada en artemisina, para ayudarnos a revelar las proteínas del parásito que se unían con mayor afinidad.⁽⁸⁾

Pero no fue el único; en total, 124 dianas proteicas fueron identificadas repetidamente en diferentes sets experimentales; de las cuales la contribución individual de cada una de ellas a la muerte del parásito está todavía por determinar. Se llegó a la conclusión por tanto de que, los derivados de artemisina conseguían matar al parásito por la alta contribución al daño celular en diversas funciones proteicas, destacando la interferencia en la actividad enzimática, el daño proteico, y la disrupción de funciones celulares esenciales.^(3,8)

Pero esta amplia gama de dianas farmacológicas era un obstáculo en la búsqueda de relaciones directas entre posibles dianas del fármaco y la aparición de resistencias a este; hasta que un estudio en 2015 demostró que la enzima PI3K (fosfatidil inositol-3-quinasa) de *Plasmodium falciparum* (PfPI3K) podía ser una de las dianas moleculares de artemisina relacionadas con la aparición de resistencias. ⁽⁹⁾

Esta enzima se ha visto que tiene una acción muy importante durante los estadíos tempranos de la forma intraeritrocitaria, ya que es la encargada de fosforilar PI (fosfatidil inositol) hasta PI3P (fosfatidil inositol-3-fosfato). Esta molécula lipídica es la encargada de facilitar la retención de las proteínas junto con el retículo endoplasmático, requisito imprescindible en el correcto funcionamiento celular. Pero inhibiciones de PfPI3K conducen a descensos en los niveles de PI3P y en consecuencia a una mayor exportación de proteínas del parásito. Esta inhibición se ha comprobado que la produce la dihidroartemisina o DHA (metabolito activo de todos los derivados de artemisina), siendo clave en la destrucción del parásito. ⁽¹⁰⁾

¿Pero que relación tiene esta importante enzima con la aparición de resistencias?

El estudio de asociación del genoma completo (GWAS) fue capaz de encontrar varios componentes de la dotación genética de *Plasmodium falciparum* que condujeron al descubrimiento de la proteína Kelch13 (PfKelch13), codificada por el dominio en hélice Kelch. Esta proteína ha demostrado ser un marcador genético de resistencia a artemisina de alta confianza; tanto in vivo (determinado por la tasa de eliminación del parásito), como in vitro (medida por ensayos de supervivencia en el estadio de anillo). Y aunque todavía se desconoce como los 36 SNPs (polimorfismos de un solo nucleótido) afectan a la función de la proteína y al funcionamiento fisiológico del parásito en general, dos de los más prevalentes SNP en PfKelch13 (C580Y, R539T) **desencadenan un incremento de hasta 2 y 3 veces la concentración normal de la enzima PfPI3K**. Este aumento es causado presumiblemente por una menor tasa de renovación de PfPI3K como resultado de su **reducida ubiquitinación**; de la cual se cree culpable a la forma mutada de PfKelch13; encargada del reclutamiento de una ubiquitina ligasa. ^(10,11)

MUTACIONES EN EL GEN “PfKelch13” COMO MARCADOR PRINCIPAL DE RESISTENCIA A ARTEMISINA:

Manteniendo por tanto nuestro punto de mira en el gen Pfkclch13; estudios realizados con parásitos aislados de localidades implicadas en la resistencia, han identificado regiones en el

cromosoma 13 que fueron asociadas con incrementos en la semivida de eliminación del parásito.

Pero como anteriormente hemos citado, no todos los casos ni todos los estudios encuentran un polimorfismo en común que defina la resistencia. Tres de estas subpoblaciones (localizadas en el Oeste de Camboia) que presentaron altos niveles de diferenciación genética, fueron asociadas también con un incremento en el tiempo de eliminación del parásito.⁽¹²⁾

Otro estudio de selección, contrastó el genoma de dos cepas PF3D7; una primera resistente a artemisina, seleccionada mediante el cultivo con artemisina durante 5 años en un régimen de escalamiento de la dosis; y otra segunda de control, cultivada en las mismas condiciones pero sin artemisina (*wild type*). Se comprobó que la línea resistente presentaba una mayor supervivencia cuando se la exponía a dihidroartemisina (Imagen 3 derecha). Además de ello, el análisis reveló la presencia de varias mutaciones en el dominio en hélice K13, las cuales fueran asociadas también con aumentos en el tiempo de eliminación del parásito (Imagen 3 izquierda).^(12,13)

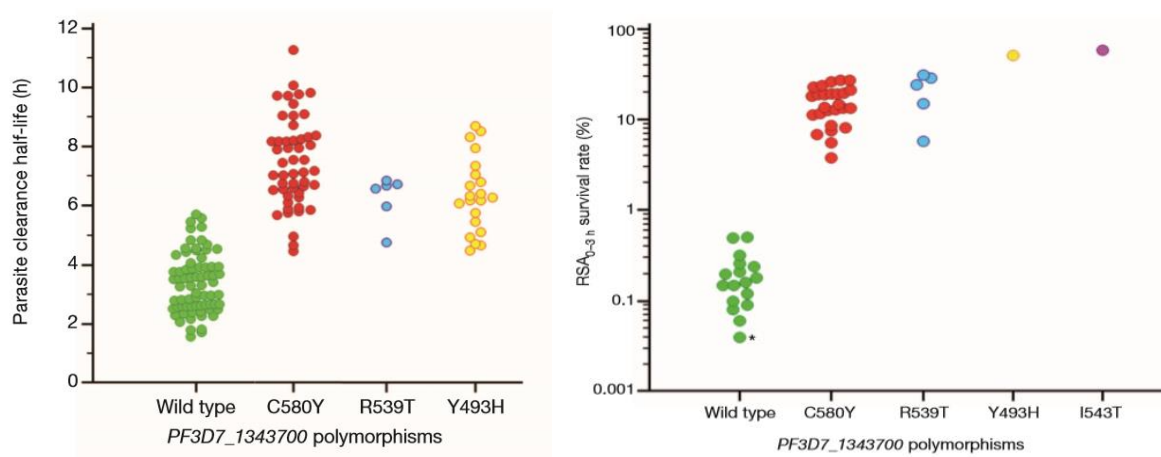


Imagen 3. Comparación de las tasas de eliminación y supervivencia del parásito en 2 cepas de *Plasmodium falciparum*. La de color verde, sensible a artemisina. Los otros tres colores hacen referencia a la cepa resistente; separados según la mutación predominante.

Pero por si había alguna duda de que mutaciones en el dominio en hélice de K13 se pueden considerar un formidable marcador de resistencia a artemisina, estudios altamente innovadores de edición del genoma basados en el sistema CRISPR/Cas9 y las nucleasas del tipo 'zinc-finger' demostraron que la forma asexual intraeritrocitaria de los parásitos que albergaban mutaciones en alelos del PfKelch13 eran menos susceptibles a artemisina.⁽¹²⁾

MUTANTES K13 PRESENTAN SENSIBILIDAD DISMINUIDA DURANTE UN TERCIO DEL CICLO SANGUÍNEO:

Un ensayo clínico llevado a cabo en el hospital de referencia de Pailín, Camboya; usó muestras de pacientes adultos infectados con *Plasmodium falciparum* para analizar la viabilidad (fracción de parásitos que sobrevive a la exposición del fármaco y puede proseguir con su ciclo de vida) y la dosis letal 50 o DL50 (dosis a la cual el 50% de los parásitos han sido eliminados) en cuatro cepas bien diferenciadas: una sensible al tratamiento con artemisina y otras tres resistentes, cada una con un polimorfismo destacado entre los más prevalentes (Y493H, C580Y, R539T).

Se observó que la forma temprana de anillo (1-2h post-invasión) presentaba una DL50 setenta veces mayor en las cepas R539T en comparación con la sensible; mientras que a las 8h post-invasión, las DL50 en ambas cepas prácticamente se igualaban.⁽¹⁴⁾

Esto ha desvelado la importancia que tiene la etapa del ciclo en la que se encuentra el parásito sobre la efectividad del tratamiento. Aunque este efecto sea más pronunciado en esa etapa prematura cercana a la invasión, la disminución a la sensibilidad se puede observar las primeras 12h post-invasión, así como las últimas 4 horas de la fase de esquizonte.

El modelado predijo que esta resistencia surgía de un incremento en el t_{50} (el tiempo requerido para convertir el 50% de los parásitos en inviables) en lugar de un cambio en la sensibilidad intrínseca a ser eliminados. Esto abrió la puerta a una nueva hipótesis: la posible relación entre el estrés celular como una respuesta del parásito para ‘evadir’ la acción de la artemisina.⁽¹²⁾

ESTRÉS CELULAR COMO ESTRATEGIA DEFENSIVA EN LA EVASIÓN DEL TRATAMIENTO CON ARTEMISINA:

La respuesta de estrés celular que genera el parásito como mecanismo de defensa frente a la artemisina, ha sido contrastada por estudios que señalan que los parásitos que sobreviven a una exposición corta de concentraciones subletales del fármaco, presentan un retraso en su crecimiento a lo largo del ciclo intra-eritrocitario; observación que se ha comprado en otros muchos organismos. Esta situación de estrés, conduce a la respuesta de proteína desplegada ó UPR; por la cual se produce el bloqueo de la traducción proteica y otras vías metabólicas.⁽¹²⁾

Un estudio con 1043 muestras de pacientes con malaria aguda por *P. falciparum* ha demostrado que la resistencia a artemisina está asociada con una mayor expresión de las vías de respuesta de proteína desplegada (UPR) que implican a los principales complejos de chaperona; concretamente el ER-located PROSC (*Plasmodium* Reactive Oxidative Stress Complex) y el TRiC (T-complex protein-1 Ring Complex). Además parásitos resistentes a artemisina exhiben una progresión disminuida durante la primera parte de su forma intraeritrocitaria asexual, la cual analizaremos más adelante.

Estos descubrimientos sugieren que los parásitos resistentes permanecen en un estado de desarrollo ralentizado en la forma prematura de anillo, mientras que sus vías UPR hiperreguladas mitigan el daño proteico causado por artemisina, produciendo un aumento en la semivida de eliminación del parásito (Imagen 4).⁽¹⁵⁾

Si a esto además se le añaden los hallazgos que relacionaban niveles menores de ubiquitinación en parásitos con mutaciones en PfKelch13; y los estudios que demostraron que el uso de inhibidores del proteasoma, como Epoxomicina, ejercen un efecto sinérgico sobre la acción de la artemisina tanto en líneas sensibles como resistentes; la evidencia de que la resistencia surge de una mejorada capacidad citoprotectora se hace aún más grande.^(10,12,14)

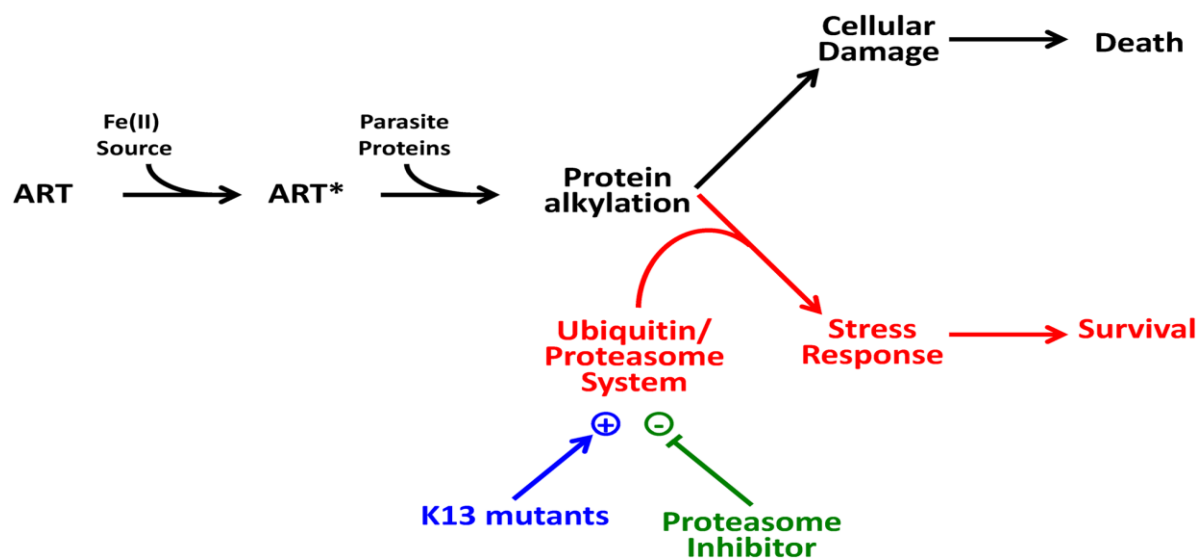


Imagen 4. Diagrama de acción de la artemisina en parásitos sensibles, y vía alternativa de supervivencia en parásitos resistentes.

Además, como anticipaba anteriormente, otros estudios in vitro han demostrado que cepas resistentes a artemisina son capaces de pausar o ralentizar el desarrollo de la forma intraeritrocitaria de anillo durante días o semanas, manteniendo un estado inactivo, pero capaz

de recuperar o reiniciar su crecimiento pasado ese periodo. Esto hace que la etapa de trofozoito (la más susceptible al tratamiento), se vea acortada, suponiendo un problema adicional.⁽¹⁶⁾

ROLES DE OTRAS PROTEÍNAS EN LA APARICION DE RESISTENCIAS:

La secuenciación genética de cepas de parásitos llevada a cabo por el estudio TRAC de seguimiento de resistencias, reveló que, algunos polimorfismos no sinónimos específicos de una serie de proteínas, suponían una buena base genética para la adquisición o aparición de mutaciones en K13. Entre estas proteínas se encuentran la proteína ribosómica del apicoplasto S10, la proteína de resistencia a múltiples fármacos-2 ó pfmdr2, la ferredoxina y el transportador de resistencia a cloroquina (pfcr1).

Además se observó, que algunas líneas in vitro, en contacto con concentraciones elevadas de fármaco, presentaban alteraciones en el número de copias de otras proteínas como pfmdr1, que se podían asociar también con la resistencia a artemisina.

Otro caso que también contribuye a la generación de resistencias, es la sub-regulación de las hemoglobinas; enzimas encargadas de producir hemo como principal activador de la artemisina. Por tanto, niveles bajos de estas cisteín proteasas conocidas también como falcipains, llevan a una menor activación de artemisina y a una menor eficacia del tratamiento. Aún así, esto se ha visto que ocurre en la etapa prematura de anillo de las formas intraeritrocitarias asexuales, pero está todavía por descubrir si afecta de alguna manera a la etapa trofozitaria, que es sobre el papel la que presenta un mayor consumo de hemoglobina.

Lo que si se ha comprobado en trofozoitos es, que alteraciones en los niveles de expresión de los transportadores PfCRT y PfMDR1 (ambos situados en la membrana de la vacuola digestiva) modifican la potencia in vitro de artemisina.⁽¹²⁾

EPIDEMIOLOGÍA DE LA PROPAGACIÓN DE “MUTANTES K13”:

Una vez conocidos los posibles mecanismos de generación y actuación de la resistencia, vamos a conocer la situación actual de los lugares con más prevalencia, y si realmente ésta supone un riesgo para los objetivos de la OMS para 2030.⁽¹⁷⁾

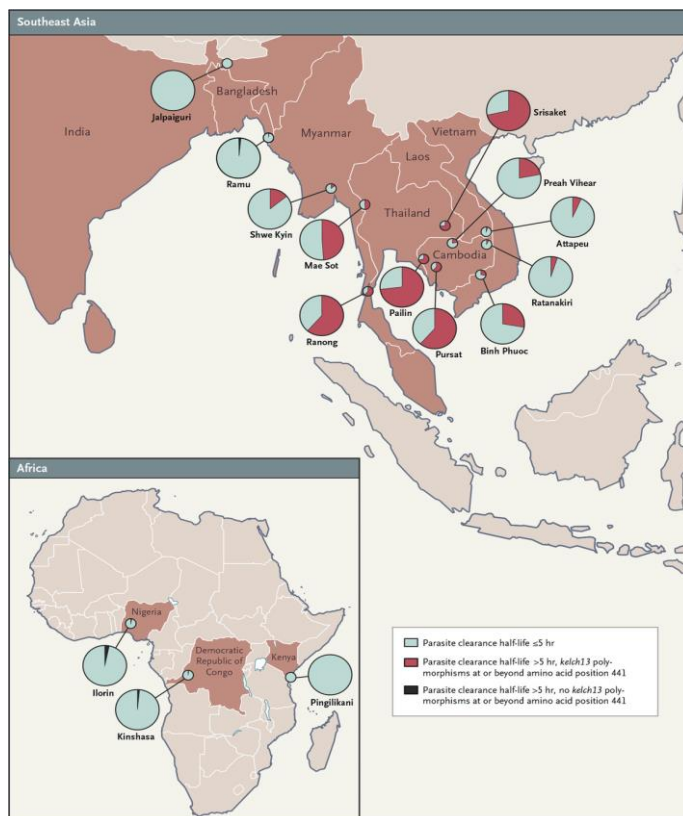
Un estudio llevado a cabo en 7 países de Asia y 3 de África, donde la malaria es una enfermedad endémica, reveló que la media de la semivida de eliminación del parásito en pacientes con malaria aguda no complicada por *P. falciparum* rondaba entre: 1,9 horas en la

República Democrática del Congo hasta 7 horas en la frontera entre Camboya y Tailandia. Aunque esto era un rango muy amplio, todos los casos de eliminación lenta (semividas de eliminación mayores de 5 horas) estaban fuertemente asociados con mutaciones puntuales en la región en hélice de la proteína kelch. Y la mayoría de ellas fueron detectadas en todo el sudeste asiático, desde el sur de Vietnam, hasta el centro de Myanmar.

A su vez, se detectó que la incidencia de gametocitemia pre-tratamiento y post-tratamiento fue mayor entre los pacientes con eliminación lenta del parásito, lo que sugiere un mayor potencial de transmisión.⁽¹⁸⁾

Otro estudio de vigilancia dirigido por el KARMA (K13 Artemisinin Resistance Multicenter Assesment) y llevado a cabo en más de 50 países, identificó 103 mutaciones no sinónimas, con un 37% de prevalencia en el Sudeste de Asia, y de las cuales se mostraba una distribución con fuertes diferencias regionales. Por ejemplo, en la zona de Camboya, Vietnam y Laos la mutación mas prevalente era C580Y (con un 50% de prevalencia), mientras que en las muestras procedentes de Tailandia, Myanmar y China fue F446I.

Reconociendo la baja proporción de mutaciones encontradas en África; A5786 resultó ser la más prevalente. Aun así, experimentos posteriores de edición genética demostraron que no era responsable de ningún tipo de resistencia *in vitro* (Imagen 5).



Otra observación que demuestra las diferencias entre los dos continentes, es la relación entre las mutaciones sinónimas y las no sinónimas. En Asia como ya hemos explicado, hay una mayor proporción de las no sinónimas, mientras que en África existe un equilibrio entre los dos tipos de mutaciones.

Imagen 5. Semivida de eliminación del parásito, atendiendo a su situación geográfica, y a la presencia de polimorfismos en kelch 13 o no.

Estudios no dirigidos por el KARMA han demostrado también, que los pacientes en África que albergan parásitos -con o sin mutaciones en los alelos K13-, presentan tasas de eliminación parecidas.

Todos estos datos por tanto sugieren que en África mutaciones en los alelos K13 no tienen un impacto real sobre la eficacia del tratamiento con artemisina. Ahora bien, ¿qué explicaciones se le pueden atribuir a ello?

Una posibilidad es que los efectos combinados de: los altos niveles de inmunidad de las poblaciones africanas, y la aparición frecuente de infecciones policlonales; sean suficientes para evitar que los niveles relativamente leves de la resistencia mediada por K13 alteren la eficacia clínica y se extiendan en barridos selectivos.

Se puede predecir que esta situación cambiará si los medicamentos asociados utilizados en África (principalmente lumefantrina y, en menor medida, amodiaquina) comienzan a sucumbir a la resistencia.⁽¹²⁾

MEDIDAS DE CONTENCIÓN Y ERRADICACIÓN DE LA RESISTENCIA:

Incluso ahora que los TCA comienzan a fallar cada vez más, transmitir el mensaje de que la resistencia a la artemisina es una emergencia sanitaria, sigue resultando difícil. Esto, puede ser debido en parte, al insuficiente aumento de la transmisión y la mortalidad en áreas no perjudicadas por la resistencia a artemisina.

La viabilidad para contener la resistencia, se ha visto cuestionada por la observación de que el marcador molecular Pfkclh13 parece tener múltiples orígenes; tanto geográficos, como los propiamente intrínsecos dentro del gen. Ante esta encrucijada, las autoridades han puesto en marcha una agenda regional para la eliminación de la malaria basada principalmente en la eliminación de la resistencia.

La urgencia de una contención rápida se vuelve más prominente ahora que observaciones recientes muestran que, con el tiempo, las diferentes mutaciones de Pfkclh13 están convergiendo entre Camboya y la frontera entre Tailandia y Myanmar hacia una única mutación: C580Y; la cual presenta un potencial de propagación mucho mayor.

Su diseminación por tanto es una amenaza para el control y la eliminación de la malaria en toda la región. Si estas cepas de parásitos, o los determinantes genéticos que portan dicha

resistencia llegan y se establecen en el continente africano (donde se producen la mayoría de los casos mundiales de malaria), se vaticinaría una catástrofe sanitaria mundial. ⁽¹⁹⁾

En general, estos esfuerzos, han resultado en una reducción sustancial de la transmisión de la malaria en todos los países de la subregión del Gran Mekong; aunque ésto no se haya traducido en una menor incidencia de casos de resistencia; como podemos observar en: los datos de tratamientos fallidos en pacientes con TCA y las tasas de eliminación del parásito; donde además de un aumento de casos, se esta dando una mayor amplitud geográfica (Imagen 6).

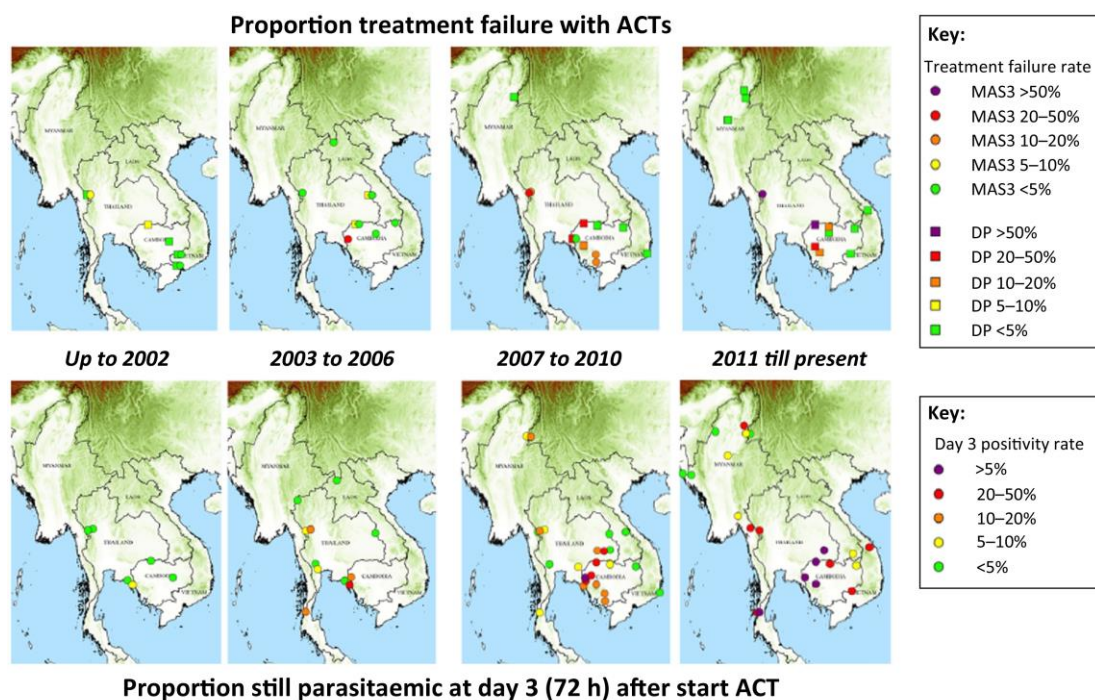


Imagen 6. Resistencia a Artemisina en la Subregión del Gran Mekong. El panel superior muestra la proporción de tratamientos fallidos después de la administración de dos tipos de TCA diferentes. El panel inferior muestra un mapa actual de la resistencia a artemisina por *P. falciparum*, definida como la persistencia de parasitema 3 días después del inicio del TCA.

Se han observado brotes de malaria falciparum en áreas de resistencia a la artemisina. La situación es cada vez más urgente; y la aceleración de la eliminación del paludismo por *P.falciparum* es crucial antes de que la infección se vuelva intratable; lo que podría provocar el resurgimiento del paludismo a niveles observados a finales del siglo pasado, donde los casos de malaria por *P. falciparum* resistente a cloroquina (con origen también en el Gran Mekong) se convirtieron en un problema local muy grave. ⁽¹⁹⁾

Por tanto la OMS y los organismos competentes, se han puesto de acuerdo en la elaboración de una nueva premisa en común: Para la eliminación de la resistencia a la artemisina, es necesaria la eliminación del paludismo por *P.falciparum* en las áreas afectadas.

Para ello, los esfuerzos de las agendas de contención y eliminación deberán superponerse en gran medida. Desde este trabajo resumiremos algunos de los elementos centrales necesarios para el cumplimiento de dichos objetivos.

Servicios comunitarios: La base para cualquier éxito en el control y eliminación de la malaria es un sistema de atención primaria que funcione correctamente. Las redes de trabajadores en las aldeas y los profesionales comunitarios de salud, han demostrado ser una piedra angular para la ejecución de todas las intervenciones relacionadas con la malaria y la vigilancia en el sector público. Pero para que ésto funcione correctamente, es fundamental la correcta capacitación de los trabajadores, así como una correcta e ininterrumpida cadena de suministro para evitar desabastecimientos tanto en tareas de diagnóstico como en los propios medicamentos. ⁽¹⁹⁾

ARMS: Vigilancia molecular de la resistencia a antimaláricos: La vigilancia molecular de los marcadores de resistencia a los medicamentos antipalúdicos se ha convertido en una parte importante de la detección y contención de la resistencia. Para que funcione, es importante concienciar a todos los implicados en el proceso; desde pacientes, cuidadores, hasta el personal médico y los futuros analistas; así como saber detectar si la infección ha sido adquirida localmente o ha sido importada (lo que ayudará enormemente a desvanecer posibles alarmismos). Para que todo esto funcione será clave el esfuerzo económico que realicen los países implicados, abasteciendo correctamente con las herramientas de detección más certeras. ^(19,20)

Alternativas farmacológicas en pacientes con problemas de resistencia: 4 casos posibles:

- Rotación con otros medicamentos de segunda línea: Se ha visto que en regiones de Camboya con resistencias a piperaquina y otros fármacos clásicos, se ha recuperado la susceptibilidad a mefloquina en algunos pacientes. Otra opción es el uso de otras combinaciones como artesunato-pyronaridina. Pero ambas han demostrados no tener suficiente eficacia como para ser realmente un alternativa sólida para el abordaje de las resistencias. ⁽¹⁹⁾

- Uso de combinaciones triples (en vez de dobles), como la dada por dihidroartemisinina-piperaquina y mefloquina (actualmente probándose en ensayos clínicos) ^(19,21)
- Extender la duración de los TCA actuales de 3 días, a 5 ó 7; o bien tratamiento secuencial con dos asociaciones de TCA diferentes. Es algo sobre lo que actualmente se está haciendo mucho hincapié debido a las observaciones favorables reveladas por algunos estudios. El único inconveniente de esta alternativa es el mayor coste de los tratamientos, así como un obstáculo más en la adherencia de los pacientes a este. ^(14,19,21)
- Uso de arterolano-piperaquina, una combinación registrada en India y otros países, pero de la cual se necesita una evaluación más exhaustiva de la eficacia en pacientes con fallos en el tratamiento, por resistencia a artemisinina. ⁽¹⁹⁾

Control de vectores: En África (a pesar de los recientes casos de resistencias) las mosquiteras tratadas con insecticidas y la fumigación de interiores han supuesto una gran herramienta en la lucha contra la malaria. Sin embargo, en las regiones endémicas de Asia, el carácter de los vectores a ser más propensos a morder al aire libre y mayoritariamente antes de las horas de sueño, ha provocado que no sean un arma tan útil como lo son en el continente africano, ni que sean por tanto una herramienta eficaz en la contención de la resistencia. ⁽¹⁹⁾

Administración masiva de medicamentos: Esta estrategia consiste en la administración del tratamiento al mayor porcentaje de población de un territorio en concreto. Con esto lo que se busca conseguir es la eliminación del reservorio de parásitos en la población portadora asintomática, e interrumpir la transmisión a un ritmo acelerado. Aunque esta metodología requiere un control y una vigilancia bastante rigurosa; y su implementación debe realizarse exclusivamente sobre poblaciones endémicas, y no en sitios concurridos por malaria de casos importados. Esta estrategia ha resultado satisfactoria en alguna localidad endémica por malaria, así como en otras enfermedades infecciosas.

Aunque aún no se encuentra en el mercado y todavía se halla en fase de experimentación, las técnicas de diagnóstico masivas (que no sean la PCR o las pruebas lentas convencionales), podrían optimizar esta administración masiva de medicamentos, al dirigir específicamente el tratamiento a la población portadora, y hacerlo de una manera prácticamente instantánea. Esto se está investigando con la prueba basada en la proteína PfHRP2 con una sensibilidad comparable a la PCR. ⁽¹⁹⁾

Vacunación: Aunque el candidato RTS,S/AS01 ha sido reconocido y aprobado por la Autoridad Médica Europea; su limitado periodo de protección ha sido un argumento importante en contra de su implementación. Aunque dicha vacuna necesita todavía de una mayor evaluación, es posible que constituya un buen instrumento en combinación con las medidas que hemos citado anteriormente (como la administración masiva de medicamentos), ya que aunque sea por un periodo finito de tiempo, se podría conseguir frenar la transmisión de casos en poblaciones reducidas.⁽¹⁹⁾

CONCLUSIONES:

La artemisina es un fármaco de acción rápida y su efectividad máxima aparece sobre las formas de trofozoito. Por tanto, tras la aparición de parásitos con el estadio de anillo prolongado y la etapa de trofozoito disminuída, la ventana de exposición al fármaco se ha visto bastante reducida.

Para superar esto, se han sugerido algunas estrategias, pero sin duda la más coherente ha sido la de ampliar la duración del tratamiento actual con artemisina de 3 a 6 días, aumentando la probabilidad de exponer la etapa de trofozoito al fármaco.

Y aunque se necesitan más estudios para determinar si la eficacia de los TCA actuales aumenta cuando se administran periodos más largos de tratamiento; creemos que la artemisina y sus derivados continuarán sirviendo como potentes medicamentos para salvar vidas si se administran de forma racional. Mientras tanto, las cepas que han sido etiquetadas como resistentes deberán redefinirse como “tolerantes”; ya que la artemisina, administrada en un régimen diferente, puede seguir ostentando en el tratamiento de la malaria, el papel principal.

BIBLIOGRAFÍA:

1. Liu C. Discovery and Development of Artemisinin and Related Compounds. Chin Herb Med. abril de 2017;9(2):101-14.
2. Dondorp AM, Nosten F, Yi P, Das D, Phyto AP, Tarning J, et al. Artemisinin Resistance in *Plasmodium falciparum* Malaria. N Engl J Med. 30 de julio de 2009;361(5):455-67.
3. Wang J, Xu C, Lun Z-R, Meshnick SR. Unpacking ‘Artemisinin Resistance’. Trends Pharmacol Sci. 1 de junio de 2017;38(6):506-11.
4. World Health Organization. World Malaria Report 2017. S.L.: World Health Organization; 2018.

5. World Health Organization, Global Malaria Programme. Guidelines for the treatment of malaria. [Internet]. 2015 [citado 24 de abril de 2018]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK294440/>
6. Klonis N, Creek DJ, Tilley L. Iron and heme metabolism in *Plasmodium falciparum* and the mechanism of action of artemisinins. *Curr Opin Microbiol*. 1 de diciembre de 2013;16(6):722-7.
7. Xie SC, Dogovski C, Hanssen E, Chiu F, Yang T, Crespo MP, et al. Haemoglobin degradation underpins the sensitivity of early ring stage *Plasmodium falciparum* to artemisinins. *J Cell Sci*. 15 de enero de 2016;129(2):406-16.
8. Wang J, Zhang C-J, Chia WN, Loh CCY, Li Z, Lee YM, et al. Haem-activated promiscuous targeting of artemisinin in *Plasmodium falciparum*. *Nat Commun*. 22 de diciembre de 2015;6:10111.
9. Mbengue A, Bhattacharjee S, Pandharkar T, Liu H, Estiu G, Stahelin RV, et al. A molecular mechanism of artemisinin resistance in *Plasmodium falciparum* malaria. *Nature*. abril de 2015;520(7549):683-7.
10. Bozdech Z, Ferreira PE, Mok S. A crucial piece in the puzzle of the artemisinin resistance mechanism in *Plasmodium falciparum*. *Trends Parasitol*. 1 de agosto de 2015;31(8):345-6.
11. Singh GP, Goel P, Sharma A. Structural mapping of Kelch13 mutations associated with artemisinin resistance in malaria. *J Struct Funct Genomics*. 1 de septiembre de 2016;17(2-3):51-6.
12. Tilley L, Straimer J, Gnädig NF, Ralph SA, Fidock DA. Artemisinin Action and Resistance in *Plasmodium falciparum*. *Trends Parasitol*. septiembre de 2016;32(9):682-96.
13. Ariey F, Witkowski B, Amaratunga C, Beghain J, Langlois A-C, Khim N, et al. A molecular marker of artemisinin-resistant *Plasmodium falciparum* malaria. *Nature*. enero de 2014;505(7481):50-5.
14. Dogovski C, Xie SC, Burgio G, Bridgford J, Mok S, McCaw JM, et al. Targeting the Cell Stress Response of *Plasmodium falciparum* to Overcome Artemisinin Resistance. *PLOS Biol*. 22 de abril de 2015;13(4):e1002132.
15. Mok S, Ashley EA, Ferreira PE, Zhu L, Lin Z, Yeo T, et al. Population transcriptomics of human malaria parasites reveals the mechanism of artemisinin resistance. *Science*. 11 de diciembre de 2014;1260403.
16. Hott A, Casandra D, Sparks KN, Morton LC, Castanares G-G, Rutter A, et al. Artemisinin-Resistant *Plasmodium falciparum* Parasites Exhibit Altered Patterns of Development in Infected Erythrocytes. *Antimicrob Agents Chemother*. 6 de enero de 2015;59(6):3156-67.
17. Estrategia técnica mundial contra la malaria 2016-2030/ Requesting malaria strategy 2016-2030. World Health Organization; 2016.

18. Ashley EA, Dhorda M, Fairhurst RM, Amaratunga C, Lim P, Suon S, et al. Spread of Artemisinin Resistance in *Plasmodium falciparum* Malaria. N Engl J Med. 31 de julio de 2014;371(5):411-23.
19. Dondorp AM, Smithuis FM, Woodrow C, Seidlein L von. How to Contain Artemisinin- and Multidrug-Resistant Falciparum Malaria. Trends Parasitol. 1 de mayo de 2017;33(5):353-63.
20. Prosser C, Meyer W, Ellis J, Lee R. Evolutionary ARMS Race: Antimalarial Resistance Molecular Surveillance. Trends Parasitol. 1 de abril de 2018;34(4):322-34.
21. White NJ. Can new treatment developments combat resistance in malaria? Expert Opin Pharmacother. 2 de julio de 2016;17(10):1303-7.