

## Polimorfismos del gen CYP2D6 y su relación con las recurrencias de *Plasmodium vivax* después del tratamiento con cloroquina-primaquina en Turbo, Colombia

Verónica Sierra-Cifuentes<sup>1\*</sup>

La malaria por *Plasmodium vivax* es una de las principales causas de morbilidad y mortalidad a nivel mundial, a pesar del importante progreso hacia la eliminación, su frecuencia en Colombia fue de 49.4% en el 2018.

Una característica de *P. vivax*, es la generación de hipnozoítos, un estadio latente en el hígado, capaz reactivarse luego de semanas o meses, causando recaídas. La primaquina (PQ) es el único fármaco capaz de eliminar hipnozoítos, el monitoreo de su eficacia terapéutica, es complejo por los prolongados seguimientos y por la dificultad de identificar si el origen de la recurrencia es dado por una recaída o una reinfección. Sin embargo, en zonas endémicas para malaria por *P. vivax* en Colombia se han presentado recurrencias del 17,6% y 24,1% en 6 meses de seguimiento.

La PQ requiere una biotransformación en su metabolito activo, mediada por la isoenzima 2D6 de la superfamilia citocromo P450 (CYP). Se ha demostrado que existe variabilidad genética y fenotípica en la expresión de esta enzima en humanos. En poblaciones de zonas endémicas expuestas a *P. vivax*, se han identificado los alelos CYP2D6\*17, \*10, \*41, \*4 asociados con función disminuida o nula de la enzima. Se ha propuesto que esta variación en la actividad enzimática podría relacionarse con la disminución de las concentraciones terapéuticas de los metabolitos activos de la PQ, de su eficacia y aumento de las recurrencias. En Colombia la frecuencia de recurrencias para el esquema vigente de PQ es cercana al 25% y hasta la fecha no se ha estudiado la asociación entre la recurrencia

y los polimorfismos del CYP2D6. De acuerdo con esto cabe destacar la necesidad de conocer las características genotípicas y fenotípicas de la población que habita en zonas endémicas para malaria en Colombia y contribuir a la comprensión de las causas de la recurrencias y al mejoramiento de los esquemas de tratamiento para *P. vivax*.

Teniendo en cuenta lo anterior se plantea un estudio retrospectivo observacional, donde se incluirá una cohorte de pacientes con diagnóstico de malaria por *P. vivax* de Turbo, Colombia, allí se evaluó las recurrencias por *P. vivax*, posterior al tratamiento CQ-PQ durante los años 2012 -2013. Este proyecto pretende determinar la frecuencia de 8 polimorfismos (SNP) (G-1584C, C100T, C1022T, G1847A, G2851T, G2989A, G3184A y G4181C) de variantes alélicas del CYP2D6 que confieren actividad enzimática nula y disminuida y su asociación con la recurrencia de malaria por *P. vivax* en 6 meses de seguimiento. Además, se evaluará su asociación con niveles plasmáticos de PQ en los días 2 y 13 postratamiento. Así mismo se realizará docking molecular de la estructura CYP2D6 silvestre y mutada con la PQ, para analizar las alteraciones en el momento de la interacción fármaco-receptor.

Los participantes que se incluirán en este estudio, fueron captados en Turbo, Antioquia. Se incluirán 87 participantes con infección por *P. vivax*, (66 sin recurrencia y 21 con recurrencia) para la determinación genotípica y fenotípica y la asociación con recurrencia. Para la medición de los niveles plasmáticos de PQ y la asociación con el fenotipo metabolizador, se incluirán 31 participantes (18 sin recurrencias y 13 con recurrencia).

La caracterización genotípica será a partir de sangre total contenida en papel filtro, se realizará la extracción del DNA con el kit marca Qiagen, se identificará los polimorfismos utilizando sondas *TaqMan@SNP* específicas para cada polimorfismo CYP2D6 mediante qPCR. La predicción del fenotípica, estará basada en el estudio Gaedigk y col.2008, permitiendo la clasificación de individuos como metabolizador pobre, intermedio, normal y ultrarrápido.

Los datos serán analizados por el software SPSS 25.0/GraphPad Prism 5, determinando frecuencias

<sup>1</sup> Microbióloga y bioanalista, estudiante de maestría en Ciencias Básicas Biomédicas, Grupo Malaria, Universidad de Antioquia

Financiado por el proyecto "Evaluación del desempeño de los analizadores hematológicos Sysmex XN-30, XN-20 y XN-450 en el diagnóstico de malaria"

\*Contacto: veronica.sierra@udea.edu.co

de genotipos y fenotipos identificados. Se estimarán Odds ratio (OR) con intervalos de confianza del 95% para la asociación entre recurrencia y fenotipos. Se compararán las medianas de los niveles plasmáticos de PQ en los días 2 y 13 entre los fenotipos de CYP2D6.

De acuerdo con estudios previos se espera una alta variabilidad en las frecuencias alélicas en la población colombiana, para las variantes \*4, \*5, \*6, \*35 y \*41 que confieren actividad enzimática nula y disminuida, se esperan frecuencias entre 0,69% y 17%. Con relación a las medidas de asociación, se esperan OR entre 2,2 y 3,3 para las variantes \*4, \*17 y \*10 con la recurrencia de infección por *P. vivax* en 6 meses(16) Con respecto a la farmacocinética se esperan concentraciones máximas de PQ en el día 2 y 13 más altas en los participantes con fenotipos metabolizadores pobres e intermedios comparado con los de fenotipo normal.

**Palabras clave:** malaria, *Plasmodium vivax*, primaquina, recurrencias, Cytochrome P-450, polimorfismos CYP 2D6.

## REFERENCIAS

- OMS | El Informe mundial sobre el paludismo 2019 de un vistazo [Internet]. WHO. World Health Organization; [citado 20 de abril de 2020]. Disponible en: <http://www.who.int/malaria/media/world-malaria-report-2019/es/>
- Instituto Nacional de Salud. Boletín epidemiológico semanal [Internet]. 2019 ene p. 27. Report No.: Semana 4. Disponible en: <https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/BoletinEpidemiologico/2019%20Bolet%C3%ADn%20epidemiol%C3%B3gico%20semana%204.pdf>
- Rishikesh K, Saravu K. Primaquine treatment and relapse in *Plasmodium vivax* malaria. *Pathogens and Global Health*. 2 de enero de 2016;110(1):1-8.
- Organización Mundial de la Salud. Directrices para el tratamiento de la malaria . Organización Mundial de la Salud, Ginebra, Suiza [Internet]. 2015. Disponible en: [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/162441/1/9789241549127\\_eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/162441/1/9789241549127_eng.pdf)
- Mikolajczak SA, Vaughan AM, Kangwanransan N, Roobsoong W, Fishbaugher M, Yimamnuaychok N, et al. *Plasmodium vivax* liver stage development and hypnozoite persistence in human liver-chimeric mice. *Cell Host Microbe*. 8 de abril de 2015;17(4):526-35.
- Mesa-Echeverry E, Niebles-Bolívar M, Tobón-Castaño A. Chloroquine-Primaquine Therapeutic Efficacy, Safety, and Plasma Levels in Patients with Uncomplicated *Plasmodium vivax* Malaria in a Colombian Pacific Region. *Am J Trop Med Hyg*. enero de 2019;100(1):72-7.
- Betuela I, Rosanas-Urgell A, Kiniboro B, Stanisic DI, Samol L, de Lazzari E, et al. Relapses contribute significantly to the risk of *Plasmodium vivax* infection and disease in Papua New Guinean children 1-5 years of age. *J Infect Dis*. 1 de diciembre de 2012;206(11):1771-80.
- Zuluaga-Idárraga L, Blair S, Akinyi Okoth S, Udhayakumar V, Marcet PL, Escalante AA, et al. Prospective Study of *Plasmodium vivax* Malaria Recurrence after Radical Treatment with a Chloroquine-Primaquine Standard Regimen in Turbo, Colombia. *Antimicrob Agents Chemother*. agosto de 2016;60(8):4610-9.
- Baird JK, Battle KE, Howes RE. Primaquine ineligibility in anti-relapse therapy of *Plasmodium vivax* malaria: the problem of G6PD deficiency and cytochrome P-450 2D6 polymorphisms. *Malar J*. diciembre de 2018;17(1):42. s12936-018-2190-z.
- Alvarez G, Piñeros J-G, Tobón A, Ríos A, Maestre A, Blair S, et al. Efficacy of three chloroquine-primaquine regimens for treatment of *Plasmodium vivax* malaria in Colombia. *Am J Trop Med Hyg*. octubre de 2006;75(4):605-9.
- Cowell AN, Winzeler EA. The genomic architecture of antimalarial drug resistance. *Brief Funct Genomics*. 23 de mayo de 2019;18(5):314-28.
- Pybus BS, Sousa JC, Jin X, Ferguson JA, Christian RE, Barnhart R, et al. CYP450 phenotyping and accurate mass identification of metabolites of the 8-aminoquinoline, anti-malarial drug primaquine. *Malaria Journal*. 2 de agosto de 2012;11(1):259.
- Vale N, Moreira R, Gomes P. Primaquine revisited six decades after its discovery. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 1 de marzo de 2009;44(3):937-53.
- Crews KR, Gaedigk A, Dunnenberger HM, Leeder JS, Klein TE, Caudle KE, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium guidelines for cytochrome P450 2D6 genotype and codeine therapy. 25 de enero de 2014;

15. Baird JK, Louisa M, Noviyanti R, Ekawati L, Elyazar I, Subekti D, et al. Association of Impaired Cytochrome P450 2D6 Activity Genotype and Phenotype With Therapeutic Efficacy of Primaquine Treatment for Latent *Plasmodium vivax* Malaria. *JAMA Netw Open*. 31 de agosto de 2018;1(4):e181449.
16. Silvino ACR, Costa GL, Araújo FCF de, Ascher DB, Pires DEV, Fontes CJF, et al. Variation in Human Cytochrome P-450 Drug-Metabolism Genes: A Gateway to the Understanding of *Plasmodium vivax* Relapses. Renia L, editor. *PLoS ONE*. 28 de julio de 2016;11(7):e0160172.
17. Bennett JW, Pybus BS, Yadava A, Tosh D, Sousa JC, McCarthy WF, et al. Primaquine failure and cytochrome P-450 2D6 in *Plasmodium vivax* malaria. *N Engl J Med*. 3 de octubre de 2013;369(14):1381-2.
18. Chen N, Dowd S, Gatton ML, Auliff A, Edstein MD, Cheng Q. Cytochrome P450 2D6 profiles and their relationship with outcomes of primaquine anti-relapse therapy in Australian Defence Force personnel deployed to Papua New Guinea and East Timor. *Malar J*. diciembre de 2019;18(1):140.
19. Brasil LW, Rodrigues-Soares F, Santoro AB, Almeida ACG, Kühn A, Ramasawmy R, et al. CYP2D6 activity and the risk of recurrence of *Plasmodium vivax* malaria in the Brazilian Amazon: a prospective cohort study. *Malar J*. diciembre de 2018;17(1):57.
20. Gaedigk A, Simon SD, Pearce RE, Bradford LD, Kennedy MJ, Leeder JS. The CYP2D6 activity score: translating genotype information into a qualitative measure of phenotype. *Clin Pharmacol Ther*. febrero de 2008;83(2):234-42.
21. Isaza CA, Henao J, López AM, Cacabelos R. Isolation, sequence and genotyping of the drug metabolizer CYP2D6 gene in the Colombian population. *Methods Find Exp Clin Pharmacol*. noviembre de 2000;22(9):695-705.
22. Alba Piedad Sarmiento Sanchez. FARMACOGENÉTICA DEL CYP2D6 EN LA POBLACION COLOMBIANA EN RELACION CON LAS AMERICAS [Internet] [TESIS DOCTORAL]. [Departamento de Terapéutica Médico-Quirúrgica. Facultad de Medicina]: UNIVERSIDAD DE EXTREMADURA; 2015. Disponible en: [http://dehesa.unex.es/bitstream/handle/10662/3382/TDUEX\\_2015\\_Sarmiento\\_Sanchez.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://dehesa.unex.es/bitstream/handle/10662/3382/TDUEX_2015_Sarmiento_Sanchez.pdf?sequence=1&isAllowed=y)