

Emmanuele Venanzi
Rogelio López-Vélez

Resistencia a los antimaláricos

Unidad de Referencia Nacional para Enfermedades Tropicales. Servicio de Enfermedades Infecciosas. Hospital Universitario Ramón y Cajal, IRYCIS, Madrid.

RESUMEN

La malaria es una de las enfermedades infecciosas más extendida en todo el mundo con unos 214 millones de casos y 438 000 fallecidos en el año 2015. Al principio del siglo XX se describió por primera vez la resistencia a la quinina y desde entonces la fármaco-resistencia a los antimaláricos se ha ido extendiendo hasta representar un problema mundial en la lucha y en el control de la malaria. Comprender los mecanismos, la geografía y las herramientas de control que pueden actuar frente a la resistencia a los antimaláricos es de fundamental importancia para prevenir su expansión.

Palabras clave: malaria, fármaco-resistencia, antimaláricos

Resistance to the antimalarial drugs

ABSTRACT

Malaria is one of the most widespread infectious diseases around the world with 214 million cases and 438,000 deaths in 2015. In the early twentieth century it was described for the first time the resistance to quinine and, since then, drug resistance to antimalarial drugs has spread up to represent a global challenge in the fight and control of malaria. Understanding the mechanisms, geography and monitoring tools that we can act against resistance to antimalarial drugs is critical to prevent its expansion.

Key words: malaria, drug-resistance, antimalarial drugs

INTRODUCCIÓN

La malaria es una de las enfermedades infecciosas más extendida en todo el mundo con unos 214 millones de casos y 438.000 fallecidos en el año 2015¹. Desde los años 70 se ha constatado una progresión y generalización de las resistencias de *Plasmodium falciparum* a los distintos antimaláricos. La OMS tiene recogidos más de 1.130 estudios sobre la eficacia terapéutica de los antimaláricos realizados en 62 países endémicos desde el año 2000 y que son de acceso libre (http://www.who.int/malaria/areas/drug_resistance/maps/en). La contención de la resistencia a los antimaláricos es de extrema importancia ya que se ha asociado a un aumento de las tasas de transmisión, de ingresos, de mortalidad por malaria, anemia y bajo peso al nacer².

DEFINICIÓN DE RESISTENCIA

La persistencia o recurrencia de parásitos en sangre periférica no es sinónimo de resistencia. Es importante resaltar que el seguimiento/control parasitológico tras el inicio de un tratamiento ha de hacerse con técnicas microscópicas (frotis y gota gruesa) y no con técnicas antigénicas (técnicas de diagnóstico rápido) ni con técnicas moleculares (PCR), ya que ambas pueden seguir siendo positivas después de la curación, debido a la presencia de gametocitos³. Se recomienda la realización de frotis y gota gruesa a diario durante los primeros 3 días, en el día 7 (que tiene que ser negativa tras cualquier fármaco que se haya utilizado y tras cualquier grado de parasitemia inicial) y, en el día 28 para detectar fracasos terapéuticos tardíos.

La persistencia o recurrencia parasitaria puede deberse a:

-Recidiva: reactivación de los hipnozoítos de *P. vivax* o *P. ovale* y que suele ocurrir a los 3-6 meses del primer episodio. En ciertos casos, también puede deberse a una infección mixta que ha pasado desapercibida y mal tratada.

-Reinfección: solo en zona endémica y suele ocurrir más

Correspondencia:
Rogelio López-Vélez
Unidad de Referencia Nacional para Enfermedades Tropicales. Servicio de Enfermedades Infecciosas. Hospital Universitario Ramón y Cajal, IRYCIS, Madrid
E-mail: rogelio.lopezvelez@salud.madrid.org

allá de las 4-6 semanas. Se confirma mediante secuenciación molecular, al demostrar que la cepa responsable es diferente de la cepa del episodio anterior.

-Recrudescencia: verdadero fracaso terapéutico que puede deberse a:

i) Tratamiento subóptimo debido a una mala calidad del fármaco, o a una dosis o duración del tratamiento insuficientes, o a una mala adherencia, o a una absorción disminuida por vómitos o diarreas, o a un metabolismo aumentado por otros fármacos concomitantes entre otras causas.

ii) Resistencia verdadera. Esto ha de confirmarse con tests de susceptibilidad *in vitro* o mediante marcadores genéticos (aparición de mutaciones en el genoma parasitario). La OMS define la fármaco-resistencia verdadera a los antimaláricos como "la habilidad de una cepa de *Plasmodium* de sobrevivir o multiplicarse tras una exposición adecuada a un determinado fármaco (adecuada administración y absorción de un antimalárico dado en dosis iguales o superiores a las recomendadas y durante el tiempo necesario para su acción normal). Es por tanto imprescindible suministrar la dosis oral correcta por peso, que sea con alimentos (excepto dihidroartemisinina-piperquina que se ha de tomar en ayunas), que no se vomite y que complete el número total de dosis en el tiempo establecido. La OMS propone una clasificación para la evaluación de la respuesta terapéutica y la eficacia de los fármacos antimaláricos (tabla 1).

En este artículo vamos a revisar los mecanismos de resistencia verdadera sin tratar la reinfección, ni la recidiva (*P. ovale* y *P. vivax*) ni otras causas de recrudescencia.

RESISTENCIA A LAS 4-AMINOQUINOLINAS

Desde los años '40, la **cloroquina** ha sido el fármaco más utilizado para la profilaxis y el tratamiento de la malaria. Su mal uso como la administración incontrolada⁴ llevó al cabo de los años a la resistencia generalizada. Desde su primera aparición en los años '50 en América latina y Sudeste asiático se extendió al subcontinente indio en los '70 y luego a África en los

'80⁵. La resistencia viene determinada por una baja concentración del fármaco en las vacuolas digestivas parasitarias, (40-50 veces más bajas que en los parásitos sensibles) tanto por una disminución del influjo como por un aumento del eflujo del fármaco. La mutación del gen *pfctr* sintetiza un transportador que expelle la cloroquina de las vacuolas digestivas del parásito hacia el exterior. La mutación del gen *pfctr* K76T es responsable de esta resistencia pero precisa de otras mutaciones del *pfctr*. Las mutaciones del gen *pfmdr1* N86Y y D1246Y disminuyen la sensibilidad a cloroquina y amodiaquina pero sin embargo aumentan la sensibilidad a lumefantrina, mefloquina y artemisininas⁶. Hoy día, cloroquina para el tratamiento de *P. falciparum* se utiliza solo en Haití y República Dominicana y en el tratamiento de malaria por *P. vivax* (en algunas zonas del mundo), *P. ovale* y *P. malariae*. La sensibilidad a cloroquina puede recuperarse tras años de aflojar la presión farmacológica en una zona⁷. La resistencia a amodiaquina no está bien estudiada, y parece deberse a los mismos mecanismos anteriores, aun así mantiene cierta actividad en zonas con tasas muy altas de cloroquino-resistencia⁸.

La resistencia a **quinina**, parece deberse a la mutación del gen *pfmdr* y, sobre todo a la sobre-expresión de su homólogo, el *pdfmdr1*. Mutaciones puntuales del *pfct* y *pfmrp1* también están implicadas en la disminución de la sensibilidad a la quinina. Este gen codifica una proteína reguladora de la membrana de las vacuolas digestivas del parásito. Todavía en estudio el papel que juega *pfmhe1* en disminuir la sensibilidad a quinina. Aunque la resistencia a este fármaco esté descrita desde hace mucho tiempo (en Brasil a principios de siglo XX)⁹, su diseminación parece limitada, probablemente debido a su semivida muy breve y su alta eficacia. Incluso en las zonas donde la resistencia es presente (en particular sureste asiático), la resistencia es de bajo grado y el fármaco permanece activo aunque su actividad sea retardada o disminuida¹⁰.

La resistencia a **mefloquina** fue descrita por primera vez en el Sudeste asiático después de su uso masivo en Tailandia en los años '90¹¹. El mecanismo más estudiado es la mutación del gen *pfmdr1* (polimorfismos 1034C y 1042D) asociados a la resistencia a lumefantrina, mefloquina y artemisininas.

Tabla 1	Sistema de clasificación OMS para la evaluación de la respuesta terapéutica y la eficacia de los fármacos antimaláricos en zona no endémica.
Definición	Cualquiera de los criterios siguientes
Fracaso terapéutico precoz (FTP)	Aparición de signos de malaria severa en día 1-3, en presencia de parasitemia Parasitemia en día 2 > que en día 0 Parasitemia en día 3 ≥ al 25% del día 0 Parasitemia sintomática en día 3
Fracaso terapéutico tardío (FTT)	Aparición de signos de malaria severa después del día 3, en presencia de parasitemia Parasitemia sintomática después del día 3 Parasitemia (forma asexual) después del día 7
Respuesta clínica y parasitológica adecuada (RCPA)	Ausencia de parasitemia (forma asexual) en el día 28 independientemente de la fiebre sin cumplir los criterios de FTP o FTT

Adaptado de "Assessment and monitoring of antimalarial drug efficacy for the treatment of uncomplicated falciparum malaria. Geneva: World Health Organization, 2003."

RESISTENCIA A LOS ANTIFOLATOS

La resistencia a **sulfadoxina-pirimetamina** (Fansidar) fue descrita por primera vez en los años '70 en Asia y América del sur^{12,13} y extendida a África en los años '80. Se debe a mutaciones de los genes *dhfr* y *dhps* que codifican los enzimas DHFR y DHPS, implicados en la síntesis de los folatos parasitarios. Existen varias mutaciones de estos genes y sus combinaciones y número de copias confieren resistencia "parcial", "plena" o "súper-resistencia"¹⁴. Una triple mutación del alelo *dhfr* (N51I, C59R, S108N) conlleva un marcado fracaso terapéutico. En África del oeste prevalece una cepa "parcialmente resistente" secundaria a la combinación de un triple mutante *dhfr* (N51I, C59R, S108N) con una mutación *dhps* (A437G); en África del este una mutación añadida en *dhps* (A437G, K540E) conlleva una "resistencia plena" con focos de "súper-resistencia" debida a otra mutación en *dhps* (581G) y/o en *dhf* (164L). A causa de las tasas de resistencia a nivel mundial de *P. falciparum* y *P. vivax*, la sulfadoxina-pirimetamina no se considera una estrategia de primera línea para el tratamiento de la malaria ya que ambos fármacos actúan sobre la misma vía enzimática.

La resistencia a **atovaquona-proguanil** (Malarone) es causada por la mutación del gen *pfcytb* que sintetiza el citocromo b. Las más estudiadas son la 268S y 268N pero no las únicas, ya que se ha descrito resistencias en ausencia de estas mutaciones. La combinación de los dos fármacos permanece activa y es una estrategia de primera línea para la quimioprofilaxis.

RESISTENCIA A ARTEMISININAS

Las artemisininas son los fármacos más potentes frente a todas las especies de *Plasmodium* y son consideradas como la piedra angular del tratamiento de la malaria. Se administran en combinación con un segundo fármaco (ACTs: artemisinina combinación terapias): dihidroartemisinina/piperaquina, artemeter/lumefantrina y artesunato/mefloquina entre otros. La principal ventaja de estas combinaciones sería la acción de un fármaco (las artemisininas) potente que consigue una rápida disminución de la biomasa parasitaria pero que tiene una breve semivida plasmática; con otro fármaco (piperaquina, lumefantrina, mefloquina) de larga semivida que consigue un definitivo aclaramiento parasitario al eliminar la parasitemia residual y evitar una recrudescencia. En el año 2008 se describe por primera vez en Camboya y Tailandia una disminución de la eficacia de estos fármacos¹⁵, y desde entonces existe una gran preocupación mundial de que se extienda al continente africano. Es importante recordar que todavía no se ha descrito una resistencia total a las artemisininas y que sus pautas de combinaciones, bien utilizadas, siguen siendo activas incluso en zonas donde hay mutantes resistentes. Se habla de "sensibilidad disminuida" o "resistencia parcial" a las artemisininas como un retraso en el aclaramiento parasitario en sangre periférica que no se traduce por sí mismo en un fracaso terapéutico.

La OMS ha establecido los siguientes parámetros para definir una sospecha de resistencia a las artemisininas:

- Semivida de aclaramiento parasitario ≥ 5 horas tras iniciar un tratamiento con ACTs o artemisininas en monoterapia. Se determina cuando la carga parasitaria en la sangre del paciente no baja del 50% a las ≥ 5 horas de iniciado el tratamiento¹⁶. Sin embargo esto ha de interpretarse con cautela, ya que la semivida del aclaramiento parasitario difiere si se utiliza un ACT o artesunato en monoterapia; un aclaramiento más lento se puede presentar en pacientes no inmunes, o esplenectomizados, o inmunodeprimidos, o si embarazo, o cuando los niveles del fármaco en la sangre son insuficientes.

- Parasitemia persistente en el día >3 después de tratamiento con ACTs o artemisininas en monoterapia. Aunque hoy día ya no se emplea, también se puede determinar *in vitro* cuando sobreviven $>1\%$ de los parásitos tras 6 horas de exposición a dosis terapéuticas de dihidroartemisinina y 66 horas de cultivo¹⁷.

- Presencia de marcadores genéticos parasitarios. Se determina cuando se encuentran mutaciones en el gen PF3D7_1343700 del cromosoma 13 de *P. falciparum* y que codifica la proteína *kelch13*. No se conoce con exactitud la función biológica de esta proteína, pero se ha demostrado que parásitos con estas mutaciones tienden a crecer lentamente en la primera parte de la fase eritrocitaria y que producen una respuesta aumentada de proteína desplegada que podría proteger al parásito frente a la actividad oxidativa de las artemisininas durante la fase de trofozoito joven¹⁸. Es interesante notar como la mutación *K13* es responsable del retraso del aclaramiento parasitario en el curso de un tratamiento con artemisininas, pero no del aumento de su IC_{50} en test efectuados *in vitro*. La primera mutación descrita fue la sustitución nucleotídica en posición M476I¹⁹ y desde entonces se han descrito más de otras 20 mutaciones asociadas al retraso del aclaramiento parasitario *in vitro*, siendo las de mayor relevancia las mutaciones C580Y, Y493H, R539T, I543T y F446I. Las mutaciones de *pfmdr1* (polimorfismos 1034C y 1042D) descritas para otros fármacos parecen ser menos importantes en el caso de las artemisininas.

PREVENCIÓN DE LAS RESISTENCIAS

Cuando se utiliza un fármaco antimalárico de forma masiva se favorece la selección de mutantes resistentes y son varios los factores que favorecen esta selección: elevada carga parasitaria en el paciente, larga semivida del aclaramiento parasitario o monoterapias. El Sudeste asiático ha sido el útero donde se han gestado las resistencias a los antimaláricos. Las industrias mineras de Pailin (provincia de Camboya) han atraído desde hace años a trabajadores de otras provincias de Camboya y de Vietnam, Tailandia, Myanmar y Bangladesh. Muchos de ellos eran no inmunes ya que el 80% procedían de zonas no endémicas. La actividad minera necesita grandes volúmenes de agua y ofrece un nicho ecológico perfecto para el desarrollo de un vector muy efectivo, *Anopheles dirus*, muy resistente al control con DDT. Los mineros se quedan alrededor de las minas durante 3-4 meses trabajando cerca de las pozas artificiales y durmiendo en refugios rudimentarios. La suma de población

no inmune, condiciones ambientales perfectas por un vector muy efectivo y condiciones de vida precarias favorecieron la transmisión de la enfermedad de manera tan importante que las autoridades intervinieron para favorecer la actividad minera. Desafortunadamente las medidas no fueron las mejores: La distribución de fármacos de dudosa calidad o en pautas subóptimas y sin un control directo favorecieron la selección de cepas resistentes. Además los mineros no son trabajadores fijos, por lo cual nuevas oleadas de trabajadores van llegando e infectándose con cepas cada vez menos sensibles y regresando a sus casas portando parásitos resistentes. Las condiciones de trabajo no han mejorado mucho y la disponibilidad de pautas orales de artemisininas de baja calidad y sin control sanitario está recreando las mismas condiciones que llevaron a la difusión de la cloroquino-resistencia. Para prevenir todo esto se han tomado medidas de política sanitaria: tratar solo a los pacientes con diagnóstico parasitológico confirmado, administrar pautas completas de tratamiento combinado (ACTs durante 3 días), vigilar la calidad de los fármacos antimaláricos, facilitar el acceso a los sistemas sanitarios, mejorar las condiciones de vida y aplicar medidas de control vectorial eficaz.

BIBLIOGRAFÍA

- World Health Organization. World malaria report 2015. <http://www.who.int/malaria/publications/world-malaria-report-report-2015>;:1-280.
- World Health Organization. Global report on antimalarial efficacy and drug resistance: 2000-2010. <http://whqlibdoc.who.int/publications/2010/11/9789241500000.pdf>;:1-121.
- Phuong M, Lau R, Ralevski F, Boggild AK. Survival analysis of diagnostic assays in *Plasmodium falciparum* malaria. *Malar J* 2015;:1-6.
- Hall SA, Wilks NE. A trial of chloroquine-medicated salt for malaria suppression in Uganda. *Am J Trop Med Hyg* 1967;16(4):429-42.
- Wellems TE, Plowe CV. Chloroquine-resistant malaria. *J Infect Dis* 2001;184(6):770-6.
- Reed MB, Saliba KJ, Caruana SR, Kirk K, Cowman AF. Pgh1 modulates sensitivity and resistance to multiple antimalarials in *Plasmodium falciparum*. *Nature* 2000;403(6772):906-9.
- Frosch AEP, Laufer MK, Plowe CV. Return of Widespread Chloroquine-Sensitive *Plasmodium falciparum* to Malawi. *J Infect Dis* 2014;210:1110-4.
- Olliaro P, Mussano P. Amodiaquine for treating malaria. *Cochrane Database Syst Rev* 2003;(2):CD000016.
- da Silva AFC, Benchimol JL. Malaria and Quinine Resistance: A Medical and Scientific Issue between Brazil and Germany (1907-19). *Med Hist* 2013;58(01):1-26.
- Pukrittayakamee S, Supanaranond W, Looareesuwan S, Vanijanonta S, White NJ. Quinine in severe falciparum malaria: evidence of declining efficacy in Thailand. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 1994;88(3):324-7.
- Nosten F, Kuile ter F, Chongsuphajaisiddhi T, et al. Mefloquine-resistant falciparum malaria on the Thai-Burmese border. *Lancet* 1991;337(8750):1140-3.
- Ferraroni JJ, Hayes J. Drug-resistant falciparum malaria among the Mayongong Indians in the Brazilian Amazon. *Am J Trop Med Hyg* 1979;28(5):909-11.
- Rumans LW, Dennis DT, Atmosoedjono S. Fansidar resistant falciparum malaria in Indonesia. *Lancet* 1979;2(8142):580-1.
- Naidoo I, Roper C. Mapping 'partially resistant', 'fully resistant', and "super resistant" malaria. *Trends Parasitol* 2013;29(10):505-15.
- Noedl H, Se Y, Schaefer K, et al. Evidence of artemisinin-resistant malaria in western Cambodia. *N Engl J Med* 2008;359(24):2619-20.
- Ashley EA, Dhorda M, Fairhurst RM, et al. Spread of artemisinin resistance in *Plasmodium falciparum* malaria. *N Engl J Med* 2014;371(5):411-23.
- PhD BW, PhD CA, MSc NK, et al. Novel phenotypic assays for the detection of artemisinin-resistant *Plasmodium falciparum* malaria in Cambodia: in-vitro and ex-vivo drug-response studies. *Lancet Infect Dis* 2013;13(12):1043-9.
- Dogovski C, Xie SC, Burgio G, et al. Targeting the cell stress response of *Plasmodium falciparum* to overcome artemisinin resistance. *PLoS Biol* 2015;13(4):e1002132.
- Ariey F, Witkowski B, Amaratunga C, et al. A molecular marker of artemisinin-resistant *Plasmodium falciparum* malaria. *Nature* 2013;505(7481):50-5.