



UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE BIOLOGÍA

**DETECCIÓN DEL POLIMORFISMO Y976F EN EL GEN *PVMDR1*
ASOCIADO CON LA FARMACORRESISTENCIA DE *Plasmodium*
vivax EN EL ESTADO BOLÍVAR-VENEZUELA**

TRABAJO ESPECIAL DE GRADO
Presentado ante la Ilustre
Universidad Central de Venezuela,
por la bachiller Keeyna Z. Urbano V.
como requisito parcial para optar al
título de Licenciada en Biología

Tutor (a): Prof. Albina Wide
Asesor (a) Académico (a): Prof.
Elizabeth Valdivieso

CARACAS, VENEZUELA
OCTUBRE-2015

ACTA

Nosotros, los abajo firmantes, designados por la Universidad Central de Venezuela como integrantes del Jurado Examinador del Trabajo Especial de Grado titulado “**Detección del Polimorfismo Y976F en el gen *Pvmdr1* Asociado a la Farmacorresistencia de *Plasmodium vivax* en aislados en el Edo. Bolívar-Venezuela**”, presentado por la bachiller **Keeyna Z. Urbano Vivas**, titular de la Cédula de Identidad 20.493.594, certificamos que este trabajo cumple con los requisitos por nuestra Magna Casa de Estudios para optar al título de Licenciada en Biología.

Tutor (a):
MSc. Albina Wide

Asesor (a) Académico (a):
Dra. Elizabeth Valdivieso

Jurado I:
Dra. Guillermina Alonso

Jurado II:
Dra. Mariana Hidalgo

ÍNDICE

| | Pág. |
|---|------|
| RESUMEN..... | |
| INTRODUCCIÓN..... | 1 |
| Ciclo de Vida de <i>Plasmodium spp</i> | 2 |
| Manifestaciones Clínicas de la malaria..... | 4 |
| Diagnóstico y Tratamiento de la malaria..... | 4 |
| Las quinolinas como tratamiento para la malaria causada por <i>P. vivax</i> | 6 |
| Mecanismo de Acción de la cloroquina..... | 6 |
| Resistencia a los antimaláricos..... | 8 |
| Mecanismo de Resistencia de los Antimaláricos..... | 9 |
| Características del gen <i>Pvmdr1</i> | 12 |
| ANTECEDENTES..... | 16 |
| OBJETIVOS..... | 31 |
| METODOLOGÍA..... | 31 |
| RESULTADOS..... | 46 |
| DISCUSIÓN..... | 55 |

| | |
|----------------------|----|
| CONCLUSIONES..... | 62 |
| RECOMENDACIONES..... | 63 |
| BIBLIOGRAFÍA..... | |
| ANEXOS..... | |

AGRADECIMIENTOS

A Dios por darme la vida, la salud y el arrojo para continuar adelante y alcanzar todas mis metas.

A mis padres por darme la vida y las herramientas para hacer de mi camino el mejor con cada día. Son mi ejemplo.

A mis abuelos, tías y tíos por siempre apoyarme y animarme incondicionalmente con el mayor de los afectos.

A mis hermanos gracias por ser los mejores compañeros de vida. Gracias César por sacarme una sonrisa con cada sátira alejándome de la rutina. Gracias Zarays por ser la oyente más paciente, atenta y crítica.

A mi novio, José E. Rojas por ser cómplice en mi felicidad y tenderme su mano en todo.

A la Universidad Central de Venezuela y la Facultad de Ciencias por abrirme los ojos a un mundo en donde el conocimiento es la premisa y en donde una variable puede tomar más de un significado.

A la Prof. Albina Wide por la paciencia y todo el esfuerzo invertido. Gracias por la oportunidad.

A la Profas. Jacinta, Rosa, Ana C., Raiza y a Luis por brindarme su hospitalidad en un gran grupo de trabajo.

A las Licenciadas María de los Angeles y Marilyn por brindarme su amistad y ayuda durante todo este tiempo.

A Yiruhanny y Daniela por ser mi grandes amigas y apoyarme inclusive en la distancia.

Al Instituto de Medicina Tropical, especialmente al Laboratorio de Biotecnología por abrirme sus puertas y brindarme todas las condiciones para la realización de este trabajo.

Al Centro de Estudios sobre Malaria-IAE “Dr. Arnoldo Gabaldon” por las muestras proporcionadas.

Al Laboratorio de Inmunogenética-IVIC y al Servicio Autónomo Centro Amazónico para Investigación y Control de Enfermedades Tropicales (SACAICET) por colaborar con el grupo de trabajo.

DEDICATORIA

A mi Familia, quienes sin duda son la luz y guía de mi vida. El camino se hace al andar, de su mano ha sido maravilloso. K.U.

RESUMEN

La malaria causada por *Plasmodium vivax*, es tratada con cloroquina y primaquina. La resistencia a los antimaláricos es uno de los principales factores que contribuyen al resurgimiento de la malaria. A principios de 1950 la cloroquina, se convirtió en la mejor droga antimalárica contra todas las especies de *Plasmodium*, una década después surgió resistencia a la misma, desde entonces esta ha sido estudiada en *Plasmodium falciparum*, mientras que para *P. vivax* se comienza a estudiar desde 1989. Los mecanismos de la resistencia a cloroquina en *P. vivax* no están completamente dilucidados y se han identificado como posibles marcadores moleculares de la resistencia a cloroquina polimorfismos en dos genes, *Pvcrt* y *Pvmdr1*, homologos a los encontrados en *P. falciparum*. La amplificación del gen *Pvmdr1* y los SNP's en algunos nucleótidos se correlacionan con la sensibilidad de *P. vivax* a los antimalaricos. Por ello se planteó iniciar la búsqueda de un marcador genético validado, asociado a la farmacorresistencia, en esta oportunidad se propuso detectar la mutación Y976F en el gen *Pvmdr1* de *P. vivax*. Esto se llevó a cabo de manera retrospectiva con aislados de parásitos provenientes de comunidades endémicas del Estado Bolívar y utilizando un PCR alelo-específico para la posición polimórfica (Y976F) en la secuencia del gen *Pvmdr1*. Se evaluaron 83 pacientes diagnosticados positivos a *P. vivax* mediante el método parasitológico de elección y confirmados por las prueba inmunocromatográfica SD BIOLINE y PCR. Sin embargo, al emplear la PCR se detectaron cinco infecciones mixtas (*P.v.* + *P.f.*). En la detección del polimorfismo se encontró que la prevalencia de aislados silvestres (Y976) fue de 96,39 % mientras que los mutantes (976F) representan un 3,61 % de los aislados. Estos resultados podrían servir como línea de base para implementar una vigilancia molecular que

representaría una estrategia complementaria importante en la predicción de la sensibilidad a los medicamentos antimaláricos y en consecuencia cuándo cambiar los esquemas terapéuticos en el programa de control de la malaria.

Palabras claves: Malaria, *Plasmodium vivax*, Cloroquina, farmacorresistencia, *Pvmdr1*, polimorfismo Y976F, “*mismatch primer*”.