



# DIVERSIDAD GENÉTICA DE *PLASMODIUM FALCIPARUM* EN AISLADOS DE CAMPO PROVENIENTES DE REGIONES ENDÉMICAS DE LA REPÚBLICA DE PANAMÁ.

Santamaría A.<sup>1</sup>, Samudio F.<sup>1</sup>, Justo C.<sup>1</sup>, Saldaña A.<sup>1,2</sup>, Calzada J.E.<sup>1,2</sup>

Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud <sup>1</sup>, Universidad Nacional de Panamá<sup>2</sup>

## Introducción:

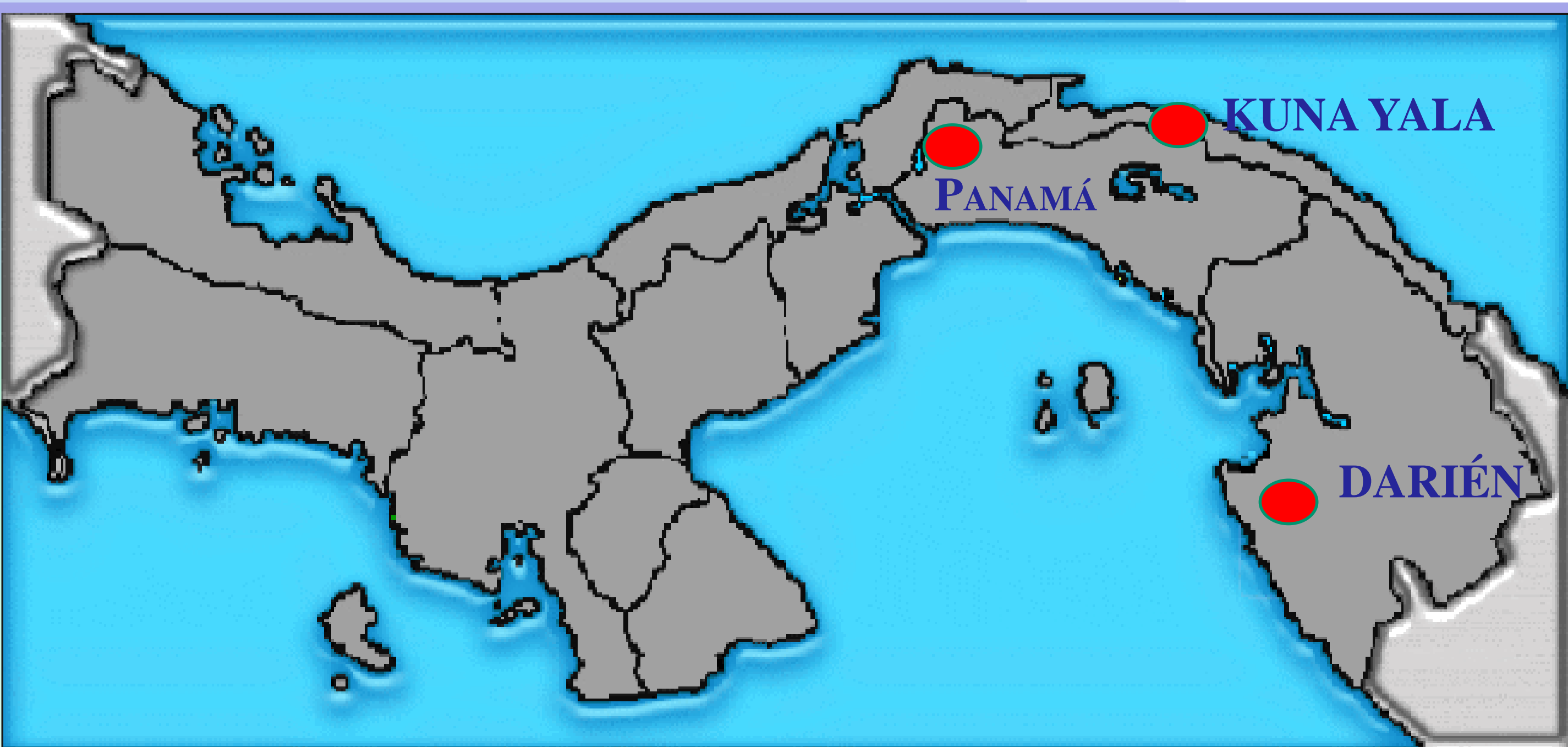
La malaria es causada por parásitos del género *Plasmodium*, siendo *Plasmodium vivax* y *Plasmodium falciparum* las especies prevalentes en Panamá. De estas dos especies, la infección por *P. falciparum* es más severa, ocasionando en algunos pacientes malaria cerebral e incluso la muerte si no es tratada oportunamente.

Este parásito se caracteriza por su alta diversidad genética. Varios marcadores genéticos han sido descritos para evaluar la variabilidad genética del *P. falciparum*, logrando asociar esta variabilidad con la patogénesis y el grado de transmisión de la enfermedad en zonas endémicas. Los marcadores genéticos más polimórficos y más estudiados de *P. falciparum* son los genes GLURP, MSP-1 y MSP-2 (Figuras 2, 3 y 4).

## Objetivos:

En Panamá no se han hecho estudios para determinar la biodiversidad genética de las cepas de malaria aisladas de campo. Para conocer la composición genética del *P. falciparum* que circula en el país, y así establecer el origen, comportamiento y dispersión de esta enfermedad; nos hemos planteado el siguiente objetivo:

- Determinar la variabilidad genética del *P. falciparum* en aislados de campos provenientes de áreas endémicas de Panamá mediante el análisis de los polimorfismos de los genes GLURP, MSP-1 y MSP-2.



● Regiones endémicas a *Plasmodium falciparum*

## Materiales y Metodología:

Desde el 2007 al 2008 se han analizado 120 muestras provenientes de pacientes con sospecha a malaria, procedentes de distintas áreas endémicas en Panamá. De las cuales 46 muestras fueron positivas por gota gruesa a *P. falciparum*, procedentes de: Darién, Kuna Yala y Panamá Este (Figura 1). Las muestras de sangre se tomaron en papel filtro, y el ADN del parásito se purificó con un kit Comercial (Quiagen, USA). Inicialmente la infección por malaria se confirmó mediante PCR (Kho y col., 2003). Las muestras positivas *P. falciparum* por PCR fueron posteriormente genotipadas. Los polimorfismos de los siguientes genes GLURP, MSP-1 y MSP-2 fueron analizados mediante las técnicas de PCR anidado o PCR-RFLP. (Figura 2 y 3).



Figura 2. Diversidad genética del *P. falciparum* Proteínas de superficie del merozoito 1 y 2 (MSP-1) (MSP-2).

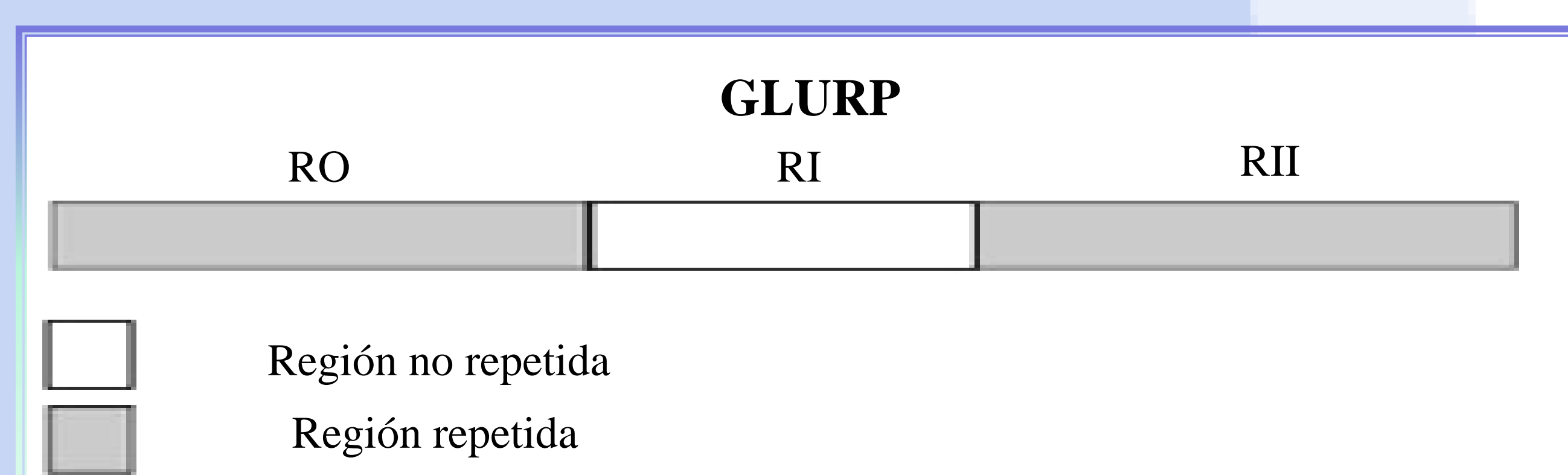


Figura 3. Representación gráfica del gen GLURP (Proteína Rica en Glutamato) La región RII es la más polimórfica y por ello se utiliza para evaluar la variabilidad genética de *P. falciparum*.

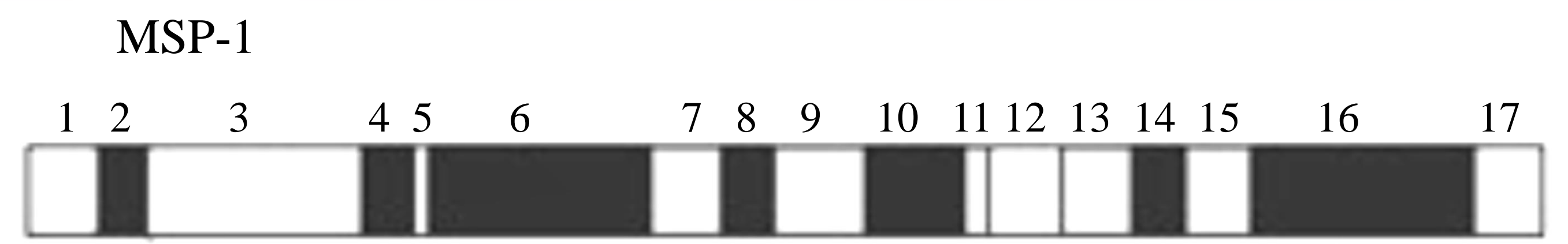


Figura 4. Representación gráfica del gen MSP-1.

El gen MSP-1 de copia única, localizado en el cromosoma 9 del *P. falciparum*. Se han identificado 17 bloques en este gen, siendo el bloque 2 es el más utilizado en estudios de diversidad genética.

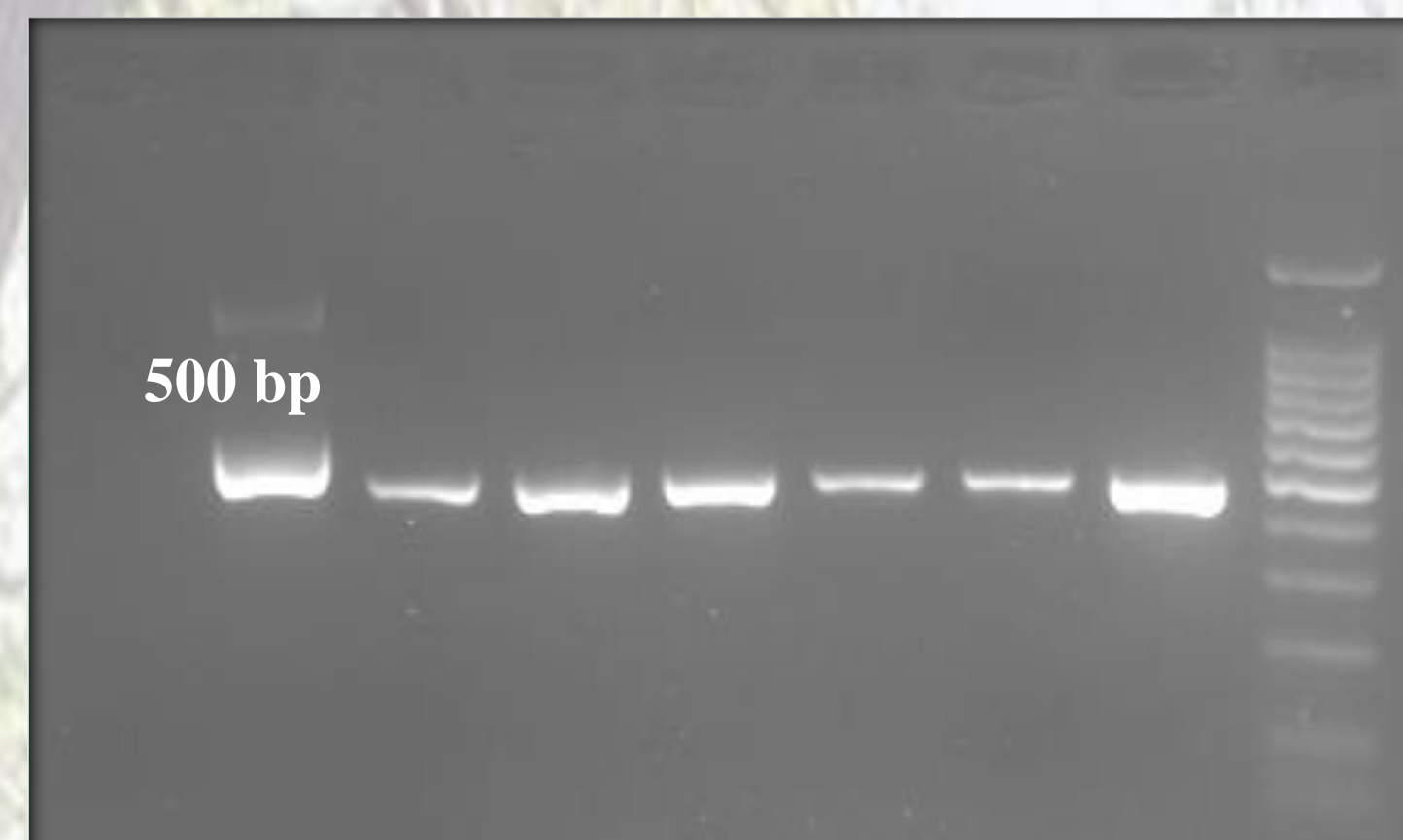


Figura 5. PCR Nested para el gen MSP-1 El producto amplificado para el gen MSP-1 en todas las muestras colectadas, fue de 500 bp.

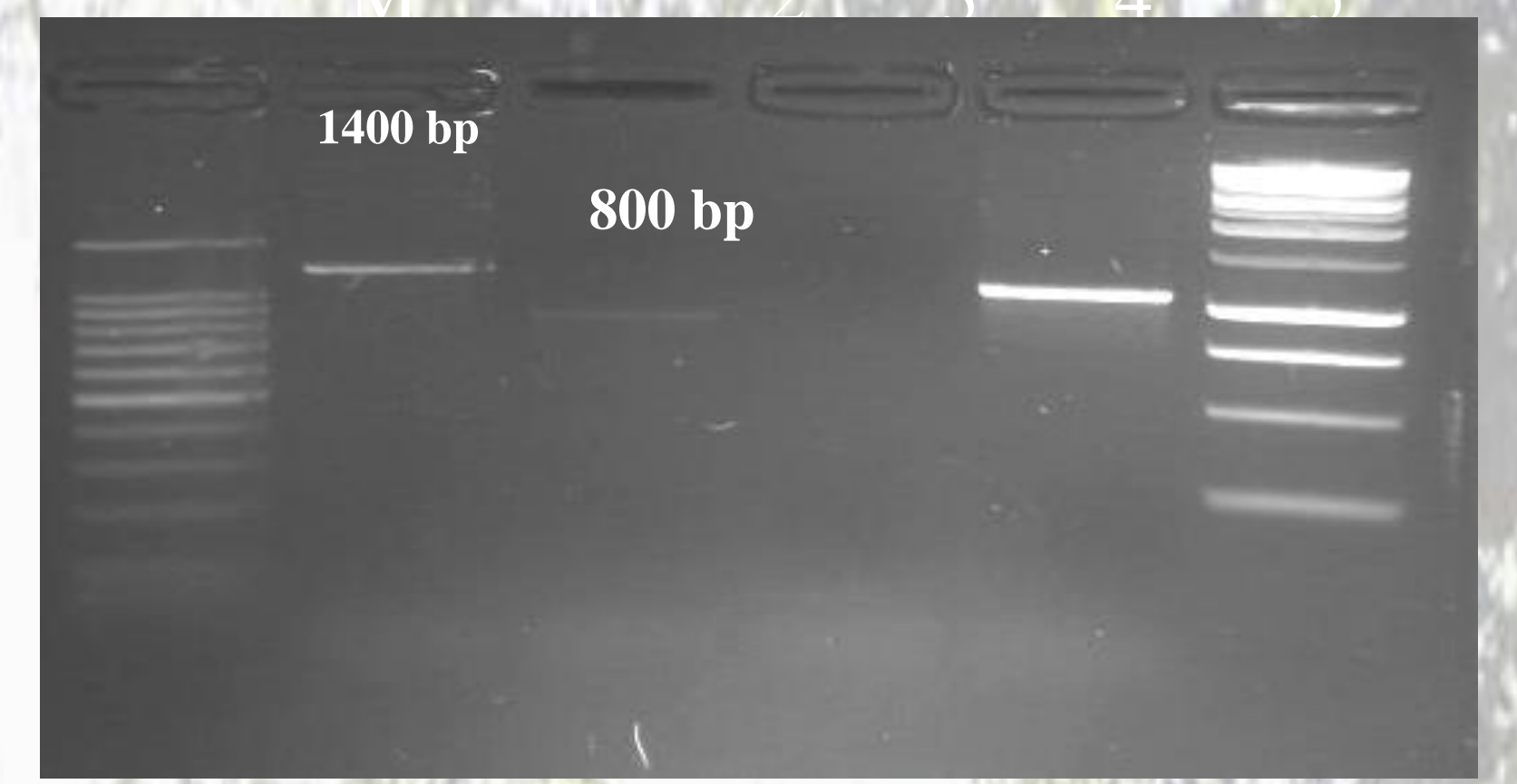


Figura 6. PCR Nested para el gen GLURP El carril 1 representa el marcador molecular, los carriles 2 y 3 son muestras del estudio, el carril 4 es el control negativo y el carril 5 es el control positivo.

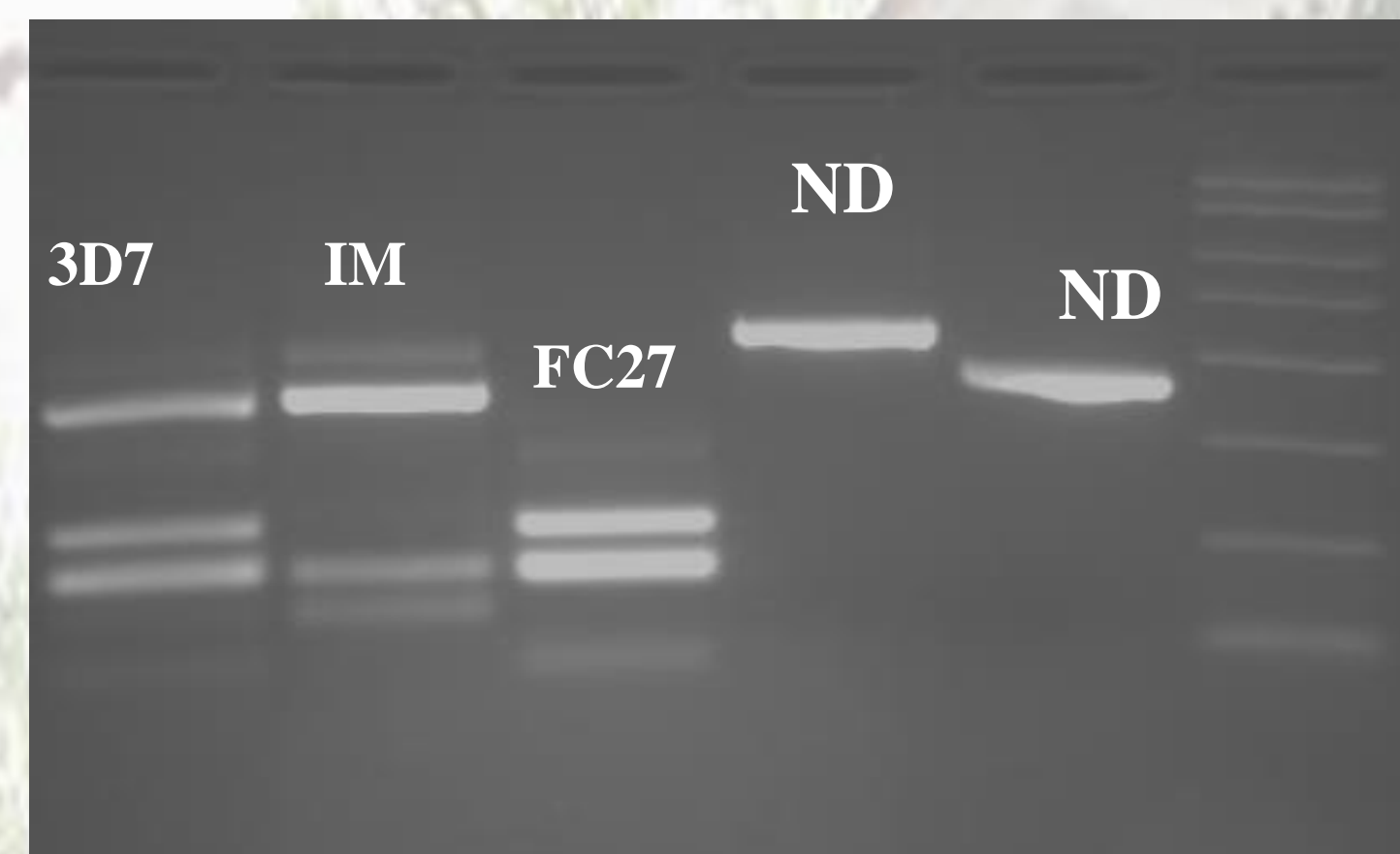


Figura 7. PCR RFLP para el gen MSP-2 Los carriles 1,2,3 son muestras digeridas con la enzima Hinf I y los carriles 4 y 5 son producto sin digerir y el carril 6 es el marcador molecular.

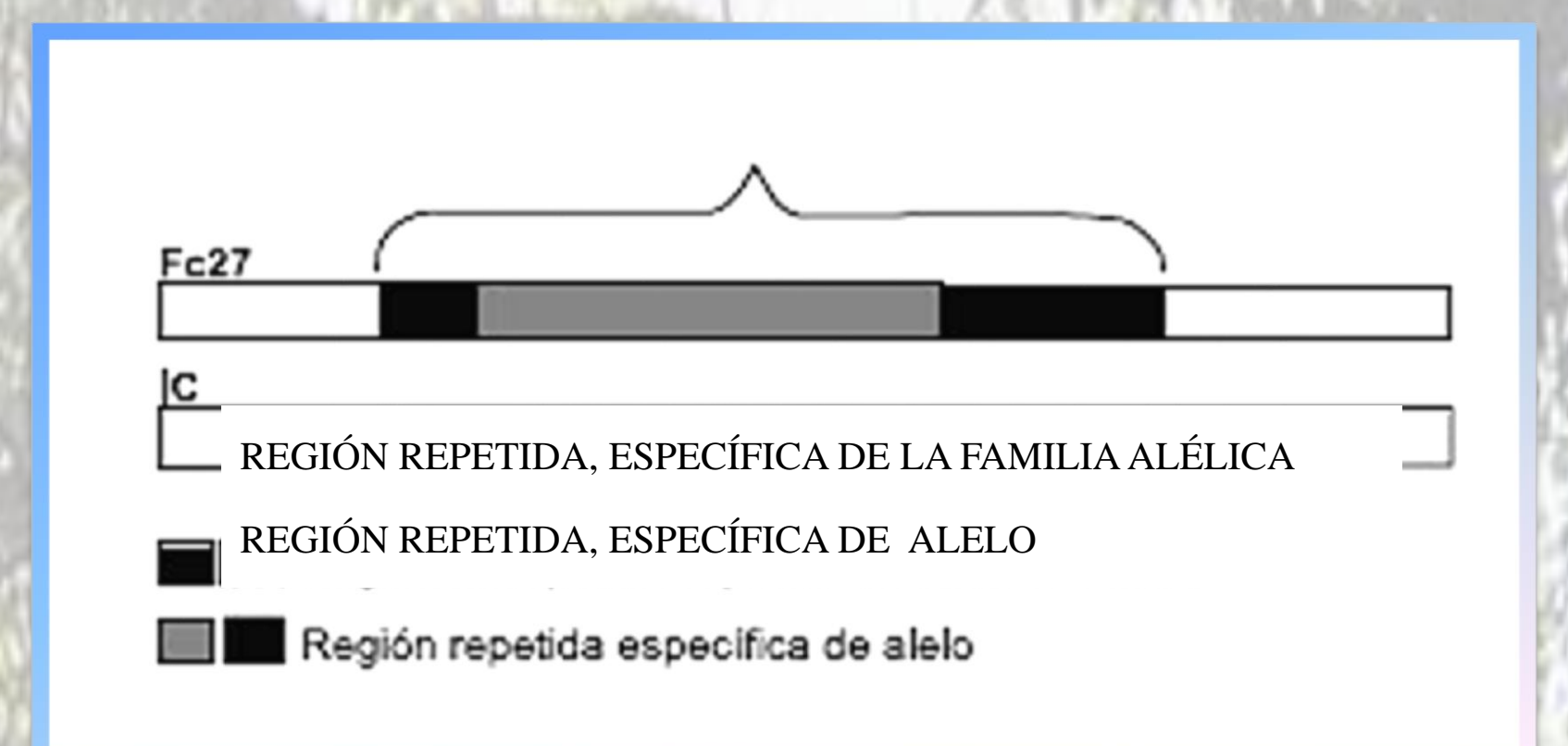


Figura 8. Representación esquemática del gen MSP-2

El bloque central es la secuencia polimórfica más utilizada para estudios de variabilidad genética en el *P. falciparum*.

## Resultados

**MSP-1:** Todas las muestras analizadas amplificaron un banda de 500 pb indicando que no existe variabilidad genética en los aislados de campo evaluados (Figura 5).

**GLURP:** Solamente se encontraron dos genotipos. El genotipo I (tamaño aproximado de 1400 bp) se observó en 19 muestras (15 muestras de Panamá Este, 3 de Darién y una de la Ciudad de Panamá). El genotipo II (800 pb) se observó en 25 muestras de la Comarca de Kuna Yala y una de la Ciudad de Panamá (Figura 6).

**MSP-2:** Se lograron obtener 3 genotipos diferentes. En Kuna Yala 23 muestras pertenecían a la familia alélica 3D7 y 1 muestra de la familia FC27. Se encontró una infección mixta con ambas familias alélicas (Figura 7). En Panamá Este las 16 muestras pertenecían al grupo 3D7. En Darién las 3 muestras analizadas mostraron el patrón alélico 3D7. En la Ciudad de Panamá se evaluaron dos muestras (1FC27 y 1 3D7).

## Conclusiones

- De acuerdo a los marcadores genéticos analizados y a las muestras evaluadas en este estudio, podemos concluir que el *P. falciparum* que circula en Panamá presenta una limitada variabilidad genética.
- La mayor diversidad genética se observó con el marcador genético MSP-2 con el cual se detectaron tres alelos diferentes. Pudimos observar que los genotipos estaban asociados a una área endémica particular.
- La escasa variabilidad genética observada en Panamá, es similar a las descrita en otros países latinoamericanos como: Colombia y Brasil pero, diferente a la del Continente Africano donde se reportan varios genotipos para cada marcador genético. Estos resultados tienen importantes implicaciones para la vigilancia epidemiológica de la resistencia del parásito a los medicamentos antimaláricos utilizados.
- Es necesario analizar mayor cantidad de muestras de diferentes regiones endémicas para determinar con precisión la variabilidad genética del *P. falciparum* en la república de Panamá.

