

TRABAJO DE FIN DE GRADO:

“ASPECTOS FARMACOGENÉTICOS DEL
TRATAMIENTO DE LA MALARIA”



Autora: Lourdes Judit De Paz Paz

Tutores: Rosa Irene Fregel Lorenzo y Luis Fabián Lorenzo Díaz

Grado en Farmacia

La Laguna, Julio de 2017

ÍNDICE

Abstract.....	3
Introducción.....	4
Objetivos.....	6
Metodología.....	7
Discusión y resultados	7
➤ Diversidad genética de <i>Plasmodium</i>	7
• Pfcr1.....	9
• Kelch13.....	10
• Técnicas de detección.....	11
• Prevención de las resistencias.....	11
➤ Variabilidad genética en el individuo.....	12
• El caso de la amodiaquina.....	13
• El caso de las artemisininas.....	14
Conclusión.....	15
Bibliografía.....	16

ABSTRACT

Malaria is a disease with a high mortality rate that affects millions of people around the world. A comprehensive range of antimalarial drugs has helped to implement an effective drug policy. However, the emergence and spread of antimalarial drug resistance has become a threat to malaria control. Scientific advances had provided an understanding of the mechanism of the antimalarial drugs, and its effectiveness or synergism. Nevertheless, the way in which the genetic makeup of human and *Plasmodium* affects therapeutic effectiveness has not received enough attention throughout history. *Plasmodium* genetic alterations result in the resistance emergence. As a consequence, antimalarial treatment can become ineffective, increasing morbidity and mortality.

Clinical trials have observed large variability at individual level of diverse drug metabolizing enzymes and transporters that influences the drug pharmacokinetic profile. The resulting variations in concentrations of the drug within plasma could result in either suboptimal effectiveness or drug toxicity, depending on the genetic background of the patients. These alterations can produce incomplete cure, relapses, resistances or adverse effects. Here, we review the principal genetic variants affecting antimalarial medications and discuss their clinical implications.

INTRODUCCIÓN

La malaria o paludismo es una enfermedad parasitaria causada por protozoos hemáticos del género *Plasmodium*, los cuales son transmitidos de un individuo a otro a través de la picadura de una hembra de mosquito del género *Anopheles*. Existen cinco especies principales de *Plasmodium* que infectan a los seres humanos: *P. falciparum* (principalmente en África), *P. vivax* (Suramérica y Asia), *P. malariae* (localización puntual), *P. ovale* (África oriental) y *P. knowlesi* (Sureste de Asia). Las infecciones por *P. falciparum* y por *P. vivax* son las que tienen una mayor prevalencia, siendo la infección por *P. falciparum* la más grave.

Entre las enfermedades transmitidas por vectores, la malaria es la causante de los mayores índices de morbilidad y mortalidad a nivel mundial, siendo la población más vulnerable los niños menores de 5 años y las mujeres embarazadas. Cerca de 2.400 millones de personas (40% de la población mundial) vive en zonas de riesgo ^[1].

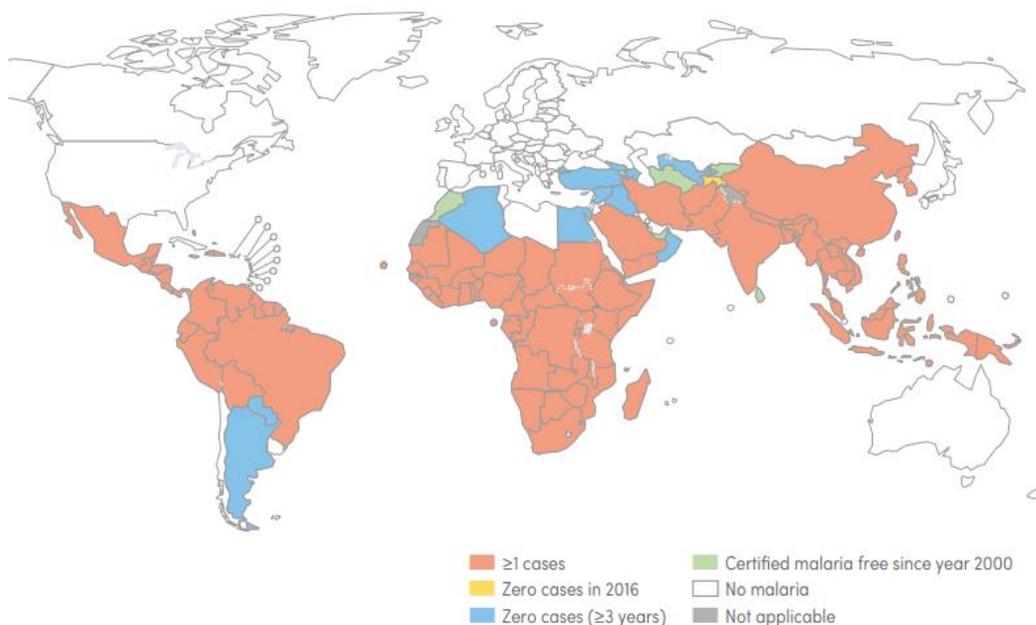


Ilustración 1. Distribución geográfica de la malaria. Tomado de Ref 1.

En el último informe mundial sobre la malaria publicado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) se estima que en 2016, cerca de 91 países reportaron un total de 216 millones de casos de malaria, de los cuales el total de muertes ascendió hasta 445.000. África se sitúa en cabeza presentando el 90% de los casos de malaria y muertes en todo el mundo. Además, se estima que en la región africana cada día mueren a causa de la malaria en torno a 2000 niños menores de 5 años ^[1].

Los esfuerzos globales coordinados para prevenir y controlar la malaria han constituido toda una proeza para la salud pública. Los pilares fundamentales para alcanzar el éxito en esta tarea han sido la prevención y el tratamiento farmacológico. Aunque la prevención no se considera en esta revisión, ha sido igual de determinante en la lucha contra la malaria. La prevención de esta enfermedad abarca diferentes frentes como la lucha contra el vector mediante insecticidas y la fumigación, la implementación del uso de mosquiteros y la quimiopprofilaxis ^[2].

El arsenal de fármacos contra la malaria ha ido evolucionando en el transcurso de la lucha contra la enfermedad, desde las primeras quininas extraídas de la corteza del árbol *Cinchona*, a sus análogos sintéticos, pasando por la cloroquina, pilar principal del tratamiento durante el siglo XX. Sin embargo, la aparición de resistencia a la cloroquina ocasionó el fracaso del programa del control de la malaria. Esto llevó al descubrimiento de los análogos de la cloroquina, como la mefloquina. Así como de los arilaminoalcoholes, como la halofantrina o la piperaquina. La combinación de los fármacos antifolato de sulfadoxina y pirimetamina también demostró una gran eficacia; aunque la emergencia de resistencias generalizada a los antimaláricos ha ido reduciendo su uso. Recientemente, la combinación de atovacuna y proguanil ha resultado bastante efectiva como profilaxis ^{[3][4]}.

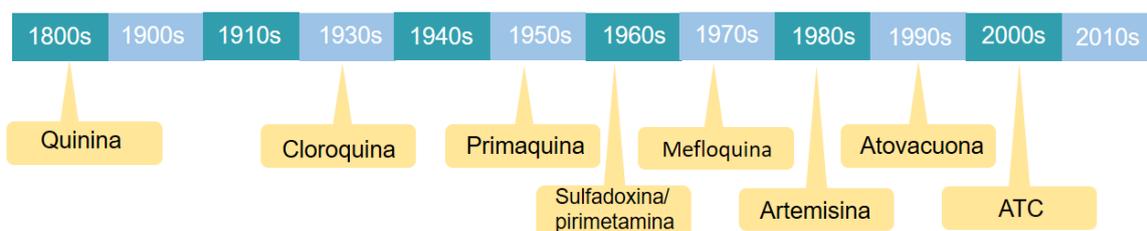


Ilustración 2. Descubrimiento e introducción en el tratamiento de los distintos fármacos antimaláricos. Tomado y adaptado de Ref. [3]

Finalmente, la introducción de la artemisina y sus congéneres supuso el descubrimiento de la que sería la piedra angular del tratamiento de la malaria actual. La OMS recomienda los tratamientos combinados con la artemisina (ACT) que contengan dos principios activos con diferentes mecanismos de acción. Actualmente, la OMS respalda cuatro combinaciones ACT para el tratamiento de malaria (tabla 1) [2].

Régimen	Artemisina	Fármaco asociado
AL	Arteméter	Lumefantrina
AS + AQ	Artesunato	Amodiaquina
AS + MQ	Artesunato	Mefloquina
AS + SP	Artesunato	Sulfadoxina-pirimetamina

Tabla 1. Terapéutica basada en ACT. Tomado de ref [2].

En este momento, el tratamiento farmacológico es un pilar básico para el control de la malaria. Los avances científicos han permitido un mayor entendimiento de los antimaláricos: su mecanismo de acción, efectividad, sinergismo en terapias combinadas e indicaciones según susceptibilidad o gravedad. Sin embargo, existen dos aspectos fundamentales que a menudo pasan desapercibidos por la estrategia seguida para el tratamiento de la malaria, y que responden a la siguiente cuestión: ¿Cómo afecta la composición genética de *Plasmodium* y la del ser humano a la efectividad del tratamiento?

OBJETIVOS

Este trabajo pretende profundizar y resaltar, de la forma más actualizada posible, los aspectos farmacogénéticos de mayor relevancia que afectan a la respuesta del tratamiento antimalárico y que conciernen tanto al genoma del *Plasmodium* como al del hospedador.

METODOLOGÍA

Se ha realizado una revisión bibliográfica de bases de datos y artículos científicos actualizados en el tema. Prácticamente toda la información se obtuvo de informes de la OMS, Pubmed, SCOPUS y el punto Q de la biblioteca de la Universidad de La Laguna. Principalmente se han consultado artículos de las revistas *Tropical parasitology*, *European Journal Of Drug Metabolism and Pharmacokinetics* y *Biomédica*.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Diversidad genética de *Plasmodium* en el tratamiento de la malaria

A lo largo de la historia evolutiva, el éxito de la supervivencia de *Plasmodium*, así como el fracaso de los intentos por erradicarlo, se deben a su diversidad y complejidad genética, es decir, a su capacidad para mutar [5]. Esta gran variabilidad genética le ha permitido evitar la respuesta del sistema inmune del hospedador y desarrollar variantes resistentes a los fármacos antimaláricos [5].

La OMS define la fármacoresistencia a los antimaláricos como “la capacidad de una cepa de parásitos de sobrevivir o de multiplicarse, a pesar de la administración y la absorción de un medicamento administrado en dosis iguales o mayores que las generalmente recomendadas” [1]. Esta resistencia plantea una seria amenaza a la iniciativa mundial para el control de la malaria. Hasta ahora, la resistencia se ha documentado en tres de las especies: *P. falciparum*, *P. vivax* y *P. malariae*¹.

¹ Nos hemos centrado en *Plasmodium falciparum* por ser la especie más agresiva y que más resistencias genera.

Se han valorado varios mecanismos para explicar los cambios en la sensibilidad a los fármacos antimaláricos. Fundamentalmente, se basan en la resistencia mediada por mutación de genes que codifican transportadores, reduciendo la disponibilidad del fármaco en el sitio de acción, pero también mutaciones de la propia diana, entre otros.

En esta revisión, repasaremos los principales genes del genoma de *Plasmodium falciparum* (tabla 2) que generan de forma directa o indirecta resistencias frente a los fármacos más utilizados en la lucha contra la malaria. Por su relevancia, haremos especial hincapié en los genes PFCRT y PFK13.

Gen	Exones	Localización	Tamaño (aa)	Masa molecular (KDa)	Mecanismo de resistencia	Antimalárico
PFCRT	13	Cromosoma 7	424	48,6	Expulsión de la cloroquina ionizada de la vacuola digestiva parasitaria mediante un mecanismo de eflujo por un transportador	Cloroquina
PFMDR-1	1	Cromosoma 5	1419	162,85	Interrupción de la acumulación del fármaco dentro de la vacuola digestiva por la menor propensión del transportador PfMDR1 a unirse a la misma	Cloroquina, Quinina, mefloquina, halofantrina, y artemisinina
PFDHFR	1	Cromosoma 4	608	71,73	Modificación del objetivo del fármaco: reducción de la inhibición de la actividad enzimática	Pirimetamina Cicloguanil
PFDHPS	3	Cromosoma 8	706	83,37	Modificación del objetivo del fármaco: reducción de la inhibición de la actividad enzimática	Sulfadoxina
Cyt B	2	ADN mitocondrial	376	43,37	Modificación de la diana del fármaco	Atovacuona
PFK13	1	Cromosoma 13	726	83,66	Quiescencia	Artemisina

Tabla 2. Características de los principales genes de *Plasmodium falciparum* implicados en el desarrollo de resistencia ^{[6][7]}.

Dichos genes conforman los conocidos como marcadores moleculares de la enfermedad. El análisis de estos marcadores permite prever y estimar la aparición y propagación de las resistencias a los antimaláricos alrededor del mundo. De esta manera, se puede esbozar un mapa de selectividad a los diferentes antimaláricos, optimizando el tratamiento en función de la región geográfica.

Gen de la proteína de transporte asociada a la resistencia a cloroquina de *Plasmodium falciparum*

La cloroquina es una base débil diprotonada. Cuando se encuentra en su forma neutra es capaz de difundir a través de las membranas del eritrocito infectado, llegando hasta la vacuola digestiva de *Plasmodium*, donde vuelve a ser protonada y por lo tanto, retenida [8]. Se cree que la cloroquina actúa evitando la degradación del grupo hemo de la hemoglobina, lo que provoca la acumulación de moléculas incompatibles con la supervivencia del parásito [9]. Las mutaciones en el gen transportador de la cloroquina (pfCRT) son las principales responsables de la aparición de resistencias a este fármaco antimalárico [8].

Entre dichas alteraciones genéticas, la mutación K76T se presenta como la principal causa de la aparición de resistencias contra la cloroquina [6]. Esta mutación supone la sustitución de un residuo de lisina por un residuo de treonina en la proteína transportadora de cloroquina, generando el cambio de una carga positiva por una carga neutra.

Debido a este cambio el transportador es capaz de provocar la salida de la cloroquina diprotonada de la vacuola mediante un sistema de transporte activo [6][8].

Si se compara la capacidad de acumulación de una proteína transportadora de cloroquina codificada por el gen que contiene el alelo salvaje y aquella codificada por el que contiene el alelo mutante, se observa que la capacidad de almacenamiento es menor en el caso del alelo mutante. Por lo tanto, las especies con mutaciones en el gen pfCRT mostrarán, no solo una

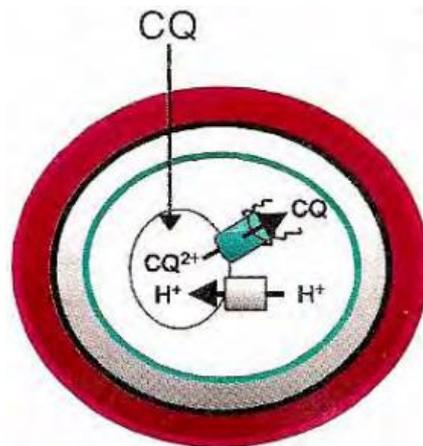


Ilustración 3. Modelo de resistencia.
Cloroquina es expulsada por una glicoproteína de la VD. Imagen tomada y adaptada de Ref. 9

actividad de transporte aumentada, si no también, una afinidad disminuida hacia la cloroquina, lo que conduce a una acumulación menor en la vacuola digestiva, un menor efecto terapéutico y la aparición de resistencia al fármaco [6].

También se pueden producir mutaciones que afectan a la proteína 1 de multiresistencia (pfmdr1) que genera resistencia por un mecanismo muy similar a pfcr1. Cuando se producen mutaciones simultáneas en ambos genes se observa una gran disminución de la sensibilidad sobre todo a quinina [10]. También se han asociado con la aparición de resistencias frente cloroquina, mefloquina, halofantrina, lumefantrina y artemisina [8].

kelch 13

Como hemos dicho anteriormente, la mayoría de mecanismos de resistencia se pueden clasificar en dos grupos. El primero se relacionaría con una reducción de la disponibilidad del fármaco en su lugar de acción, debido a mutaciones en genes transportadores. El segundo grupo tendría que ver con la modificación de la diana del fármaco mediante mutaciones en los genes correspondientes. Sin embargo, la resistencia a la artemisina es el resultado de un proceso celular diferente, conocido como quiescencia [7].

Esta forma de resistencia se alcanza cuando las formas celulares parasitarias entran en un estado de reposo tras la exposición a la artemisina, para posteriormente reanudar el crecimiento una vez se haya eliminado el fármaco en sangre. La definición clásica de quiescencia es "una ausencia reversible de proliferación", es decir, una célula que no se divide, y que normalmente reinicia su ciclo celular cuando las condiciones se vuelven apropiadas. Esta capacidad es conferida por mutaciones del dominio de la hélice del gen PfK13 [7].

El gen afectado codifica una proteína de la superfamilia Kelch: PfK13. Aunque su función no se conoce con exactitud, su similitud con la proteína humana Keap1 indica que consiste en un mecanismo de respuesta al estrés oxidativo.

Las mutaciones en *pfk13* generan una serie de cambios moleculares:

- Inhibición de la ubiquitinación de la enzima PI3K, de forma que aumenta la concentración de su producto, PI3P. Este producto facilita la retención de proteínas mediadoras de virulencia en el retículo endoplasmático, lo cual favorece su desarrollo intraeritrocítico (estadio de desarrollo del parásito que transcurre dentro de los hematíes) [7].

- Modificaciones en la homeostasis del retículo endoplásmico, que favorecen la neutralización del daño causado por las artemisininas; las proteínas que pudieran haber quedado desplegadas o mal plegadas se reparan o se destruyen dada la expresión aumentada de chaperonas [7].

El conjunto de estas modificaciones moleculares permite al parásito permanecer en estado quiescente. Éste reanudará su multiplicación y desarrollo una vez las artemisininas hayan desaparecido del torrente sanguíneo. Todo ello implicará una curación incompleta, recidivas y reinfecciones.

Técnicas de detección

La resistencia de *Plasmodium* a algunos medicamentos antimaláricos está relacionada con polimorfismos de un solo nucleótido (SNP). El genotipado de SNP puede usarse, no solo para la diferenciación de especies, sino también para la identificación de genotipos de cepas resistentes. Estos análisis se realizan rutinariamente usando amplificación por PCR y corte con enzimas de restricción (técnica de RFLP, del inglés “Restriction Fragment Length Polymorphism”), microarray de genotipado, PCR cuantitativa (qPCR) y secuenciación directa de productos de PCR [11]. Sin embargo, actualmente no existen métodos para la identificación de parásitos resistentes que sean lo suficientemente simples, baratos y rápidos como para realizarse en zonas endémicas de la enfermedad [11].

Prevención de las resistencias

Cuando se utiliza un fármaco antimalárico de forma masiva se favorece la selección de mutaciones que producen resistencias. Existen varios factores que favorecen esta selección: elevada carga parasitaria en el paciente, larga

semivida del aclaramiento parasitario o el uso de monoterapias. Para prevenir la aparición de resistencia se han tomado varias medidas sanitarias: tratar solo a los pacientes con diagnóstico parasitológico confirmado, administrar tratamientos combinados, 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.

Variabilidad genética en el individuo y su influencia en la respuesta terapéutica

El papel que juega la genética de *Plasmodium* es crucial para determinar la respuesta terapéutica a los fármacos antimaláricos. Sin embargo, existe otro aspecto fundamental que a menudo ha pasado desapercibido: la genética del hospedador. Existe una gran variabilidad genética entre los individuos de la especie humana, lo que se traduce en la existencia de numerosos polimorfismos que expresan una gran variedad de enzimas metabolizadoras y proteínas de transporte. Éstas tienen un papel importante en la degradación, absorción intestinal, distribución y excreción de los fármacos antimaláricos ^[12]. Por lo tanto, las rutas metabólicas de biotransformación y los mecanismos de excreción que afectarán el fármaco en el organismo dependerán de la idiosincrasia del individuo. Por ejemplo, se pueden originar compuestos más activos que la molécula del fármaco original u otros con poca o ninguna actividad ^{[10][13]}. También, por diferencias en las proteínas involucradas en la excreción, se pueden alterar las concentraciones del fármaco en el plasma conduciendo desde una eficacia subóptima hasta la toxicidad del antimalárico ^[12].

El estudio de las variantes genéticas relacionadas con fármacos antimaláricos dentro de cada una de las poblaciones afectadas posibilita, no solo reducir los gastos sanitarios, sino predecir y evitar la aparición de efectos adversos y resistencia ^[2].

El caso de la amodiaquina

Un ejemplo específico de como la composición genética de un individuo puede afectar a la eficacia de un medicamento es el caso de la amodiaquina. La amodiaquina muestra una amplia variación entre los individuos [12]. Se usa comúnmente en combinación con artesunato como tratamiento de primera línea para la malaria no complicada, particularmente en África occidental [12]. La amodiaquina es un fármaco generalmente bien tolerado, cuya vía principal de eliminación del organismo humano es la biotransformación en desetilamodiaquina, por la acción de la CYP2C8 [13].

Sin embargo, las personas cuyo genotipo presenta variantes mutadas en los genes CYP2C8, CYP1A1 o CYP1B1 pueden desarrollar reacciones adversas de carácter inmunogénico. Es más, en aquellos individuos con grandes disfunciones en la actividad de CYP2C8, también se observa una importante reducción de la eficacia y un aumento considerable de la toxicidad de la amiodaquina, con aparición de hepatotoxicidad y agranulocitosis. Se cree que estas alteraciones son debidas a la formación de amodiaquina quinonaimina, un intermediario de arilación, altamente reactivo. Dicho compuesto se forma sobre todo en metabolizadores lentos, que tardan demasiado tiempo en transformar la amodiaquina en desetilamodiaquina [12].

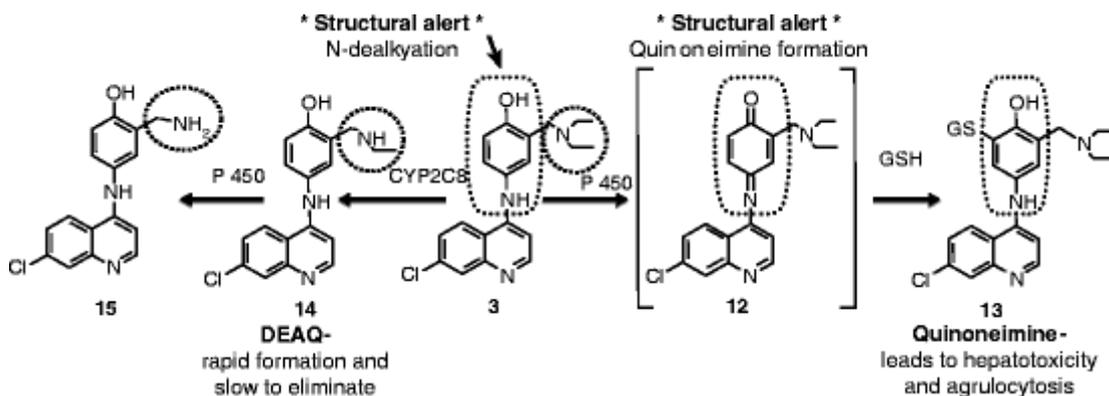


Ilustración 3 Metabolización de la amodiaquina tomado de *Treatment and Prevention of Malaria*

El porcentaje de población con una variante genética que produzca un CYP2C8 inactivo es relativamente baja en la mayoría de zonas endémicas de malaria, no obstante, la carga de la enfermedad es tan alta que aumenta considerablemente la incidencia del riesgo [2].

El caso de las artemisininas

Otro ejemplo específico es el uso de artemisininas. Este grupo de fármacos presenta diferentes rutas de metabolización para la obtención de su metabolito activo, la dihidroartemisina. El artesunato es un derivado semisintético de la artemisinina, que puede administrarse tanto por vía oral, como intramuscular e intravenosa. El sistema enzimático CYP2A6² es el principal encargado de metabolizar el artesunato. La variabilidad genética de CYP2A6 es enorme, con 40 variantes identificadas, de las cuales 13 presentan una capacidad disminuida y 5 no muestran actividad in vivo [2].

La dihidroartemisina es la molécula con mayor actividad antimalárica, por lo tanto, los individuos que expresen un polimorfismo que produzca un CYP2A6 de rendimiento deficiente, presentarán concentraciones menores de dihidroartemisina y mayores de artesunato en plasma. En consecuencia, la actividad farmacológica de en estos individuos se verá reducida, eliminándose una menor carga parasitaria y aumentando la resistencia potencial al artesunato [2].

Otros fármacos cuyo metabolismo influye en la respuesta terapéutica se muestran en la tabla 3.

FARMACO ANTIMALÁRICO	ENZIMA METABÓLICO	METABOLITOS
PRIMAQUINA	CYP1A2 CYP3A4	Carboxiprimaquina
CIPROGUANIL Y PROGUANIL	CYP2C19 CYP3A4	Clorcicloguanil Cicloguanil
QUININA	CYP3A4 CYP3A5	3-hidroxiquinina
CLOROQUINA	CYP2C8 CYP3A4 CYP3A5	N-desetilcloroquina Bisdesetilcloroquina 7-cloro-4-aminoquinilina Cloroquina N-óxido Cloroquina di-N-óxido

Tabla 3. Principales polimorfos implicados en la metabolización de fármacos antimaláricos [2].

² Los sistemas CYP2B6, CYP1A1 Y CYP1A2, también intervienen en el metabolismo de las artemisininas.

Es necesario encontrar formas de mejorar el conocimiento sobre la farmacocinética y farmacogenética de los antimaláricos con el objetivo de proteger su longevidad. Para ello debemos integrar estudios farmacogenéticos con los estudios farmacocinéticos de los antimaláricos, aumentar la generación de datos genéticos humanos y, a la vez, mejorar las infraestructuras para la investigación farmacogenética del uso de antimaláricos en zonas endémicas

Conclusión

El tratamiento farmacológico constituye la piedra angular de la lucha contra la malaria. La rapidez con la que *Plasmodium* se adapta y genera resistencia a los fármacos antimaláricos eleva las alarmas y supone una seria amenaza para el tratamiento de la malaria. Si no se maneja adecuadamente, podría revertir el programa de control de la enfermedad y la contención lograda hasta el momento en todo el mundo.

Comprender la forma en que las distintas alteraciones genéticas de *Plasmodium* modifican su capacidad infectiva, es esencial para establecer un régimen o tratamiento apropiado, que reduzca el fracaso terapéutico, la mortalidad e incluso la propagación de dichas resistencias. El advenimiento de la genómica promete facilitar esta tarea, al permitir la identificación de los distintos marcadores moleculares de resistencia.

Los enfoques genéticos también han demostrado la importancia de la variabilidad genética entre los individuos. Por ejemplo, se ha demostrado la existencia de enzimas metabólicas, predominantemente varias isoenzimas del citocromo P450, así como transportadores, cuya expresión polimórfica contribuye a la variabilidad en la respuesta del fármaco.

La farmacogenómica se postula como el futuro del llamado tratamiento farmacológico personalizado adaptado al genotipo de cada individuo y *Plasmodium* infectante. Su implementación en el diagnóstico permitirá sin duda mejorar el perfil de efectos adversos, evitar el fracaso terapéutico e impedir la propagación de resistencias, ayudando así a alcanzar el objetivo de erradicar la malaria.

BIBLIOGRAFÍA

- [1]. World Health Organisation (WHO). World Malaria Report, 2017.
- [2]. Roederer M, McLeoda H, Juliano J. Can pharmacogenomics improve malaria drug policy?. *Bull World Health Organ.* 2011; 89:838–845.
- [3]. Horn D, Manoj T. Duraisingh. Antiparasitic Chemotherapy: From Genomes to Mechanisms. *Annu Rev Pharmacol. Toxicol,* 2014; 54:71-94.
- [4]. Muñoz J, Rojo G, Ramirez-Olivencia G, Salas J, Treviño B, Perez J.L et al. Diagnóstico y tratamiento de la malaria importada en España: recomendaciones del Grupo de Trabajo de Malaria de la Sociedad Española de Medicina Tropical y Salud Internacional. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2015;33(6):1–13.
- [5]. Jiménez J.N, Muskus C.E, Vélez I. D. Diversidad genética de *Plasmodium falciparum* y sus implicaciones en la epidemiología de la malaria. *Biomedica.* 2005;25: 588-602.
- [6]. Hiasindh Ashmi A, Subhash Chandra P. Antimalarial drug resistance: An overview. *Trop Parasitol.* 2016; 6(1): 30–41.
- [7]. Paloque L, Ramadani A.P, Mercereau-Puijalon O, Augereau J. *Plasmodium falciparum*: multifaceted resistance to artemisinins. *Malaria Journal.* 2016; 15:149.
- [8]. Ecker A, Lehane A.M, Clain J, Fidock D.A. PfCRT and its role in antimalarial drug resistance. *Trends Parasitol.* 2012; 28(11): 504–514.
- [9]. Bustamante L.Y, Giralda L.E. Cloroquina: hipótesis acerca de los mecanismos de resistencia en *Plasmodium falciparum*. *Biomedica.* 1994; 19(1) :18-24.
- [10]. Venanzi E, López-Vélez R. Resistencia a los antimaláricos. *Rev Esp Quimioter.* 2016; 29 (Supl. 1): 72-75.
- [11]. Moers A.P, Hallett R.L, Burrow R, Schallig H.D, Sutherland C.J, van Amerongen A. Detection of single-nucleotide polymorphisms in *Plasmodium falciparum* by PCR primer extension and lateral flow immunoassay. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015;59(1):365-71.
- [12]. Kerb R, Fux R, Mörike K, Kremsner P.G, Gil J.P, Gleiter C.H et al. Pharmacogenetics of antimalarial drugs: effect on metabolism and transport. *Lancet Infect Dis.* 2009; 9: 760–74.
- [13]. Guzmán V, Carmona-Fonseca J. El citocromo P-450 y la respuesta terapéutica a los antimaláricos. *Rev Panam.* 2006;19(1):9–22.