



**COMPARACIÓN DE LA ACTIVIDAD DE INHIBICIÓN Y NEUTRALIZACIÓN DE
ANTICUERPOS MONOCLONALES Y ANTICUERPOS POLICLONALES
DIRIGIDOS A *Plasmodium spp***

**UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA FACULTAD DE
CIENCIAS DE LA SALUD
PROGRAMA DE BACTERIOLOGÍA**

TRABAJO DE GRADO

BOGOTÁ, SEPTIEMBRE 2022



**COMPARACIÓN DE LA ACTIVIDAD DE INHIBICIÓN Y
NEUTRALIZACIÓN DE ANTICUERPOS MONOCLONALES Y ANTICUERPOS
POLICLONALES DIRIGIDOS A *Plasmodium spp***

Estudiantes

Julián Samuel Tenjo Sarmiento

Asesoras

Diana Díaz Arévalo- PhD

Gabriela Arévalo Pinzón- MSc, PhD

UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
PROGRAMA DE BACTERIOLOGÍA**

TRABAJO DE GRADO

BOGOTÁ, SEPTIEMBRE 2022



***COMPARACIÓN DE LA ACTIVIDAD DE INHIBICIÓN Y NEUTRALIZACIÓN DE
ANTICUERPOS MONOCLONALES Y ANTICUERPOS POLICLONALES DIRIGIDOS
A Plasmodium spp***

APROBADA _____

JURADOS _____

ASESORAS: Diana Diaz

Gabriela Arevalo

**UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA FACULTAD DE
CIENCIAS DE LA SALUD
PROGRAMA DE BACTERIOLOGÍA
TRABAJO DE GRADO**

BOGOTÁ, SEPTIEMBRE 2022

AGRADECIMIENTOS

“Agradezco profundamente a mis padres y a mi hermano por ser un pilar fundamental en cada paso de mi vida, por apoyarme en momentos difíciles y ser la fuerza de este gran logro. Ellos son los que con su cariño me han impulsado siempre a perseguir mis metas y nunca abandonarlas frente a las adversidades

A la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, por brindarnos la oportunidad de haceros crecer profesionalmente, a nuestras asesoras Diana Diaz y Gabriela Arevalp, por confiar en nosotros y ser guías en este proceso gracias por su paciencia y apoyo.”

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN	7
ABSTRACT	8
INTRODUCCIÓN	9
OBJETIVO GENERAL	12
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	12
1.ANTECEDENTES	13
2.MARCO REFERENCIAL	16
2.1 Malaria	16
2.1.1 Definición	16
2.1.2 Transmisión	16
2.1.3 <i>Plasmodium spp</i>	17
2.1.4 Ciclo de vida	17
2.1.5 Proteínas implicadas en la invasión del glóbulo rojo	19
2.1.6 Epidemiología	20
2.1.7 Tratamiento	23
2.2 Anticuerpos	23
2.2.1 Características	23
2.2.2 Anticuerpos monoclonales	24
2.2.3 Anticuerpos policlonales	26
3.APROXIMACIÓN AL DISEÑO METODOLÓGICO	27
3.1 Tipo de investigación	27
3.2. Metodología	27
3.2.1. Fuentes de información	27
3.2.2. Criterios de inclusión:	27
3.2.3. Criterios de exclusión fueron:	28
4.RESULTADOS	28
4.1 Método de búsqueda y fuentes de información acerca de ensayos de inhibición dirigidos a <i>PfRh5</i>	28
4.2. Método de selección de artículos con base a los criterios de inclusión	28
4.3 Recopilación de datos de ensayos de inhibición de la invasión (GIA)	30
5.CONCLUSIONES	31

6.REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

31

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo de vida de <i>plasmodium spp.</i>	19
Figura 2. Estratificación del riesgo de malaria en Colombia 2010 a 2019.	21
Figura 3. Casos notificados de malaria no complicada por entidad territorial de procedencia colombiana.	22
Figura 4. Estructura de un anticuerpo.	24
Figura 5. Metodología usada para la búsqueda de ensayos de inhibición dirigidos a Pfrh5.	27
Figura 6. Anticuerpos utilizados en los ensayos GIA dirigidos a PhRf5	30
Figura 7. Comparación de las concentraciones y los porcentajes de ensayos de inhibición GIA dirigidos a Pfrh entre anticuerpos monoclonales y policlonales.	31

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Resultados de la búsqueda “inhibition assays AND Pfrh5 NOT reviews” y selección de artículos según los métodos de exclusión e inclusión	27
Tabla 2. Matriz de datos obtenidos a partir de los artículos seleccionados	29

RESUMEN

La malaria es una de las principales enfermedades tropicales febriles con mayor incidencia y prevalencia de muertes a nivel mundial, características que la posicionan como un problema importante de salud pública en zonas con sistemas precarios de salubridad, donde no hay acceso al diagnóstico, tratamiento eficiente y además una baja respuesta sistemática de calidad a través de programas de promoción y prevención en salud. Se han realizado varios estudios en el diseño de una vacuna eficaz contra la malaria, sin embargo, la eficacia de estas no es tan alta debido al comportamiento del parásito en su ciclo de vida. Visto desde la perspectiva inmunológica, el parásito presenta una cantidad determinada de antígenos que van cambiando a lo largo de sus diferentes estadios y contra los cuales es necesaria una respuesta inmune secuencial y enlazada, características que le confieren una amplia complejidad y a su vez reducen la capacidad de desarrollar una vacuna que otorgue una protección funcional. Por su parte los anticuerpos monoclonales se han convertido en una herramienta terapéutica ideal para muchas enfermedades, incluyendo diferentes cánceres, desórdenes autoinmunes y enfermedades infecciosas, como lo son el Trastuzumab un anticuerpo monoclonal de tipo IgG dirigido contra el receptor HER2 que se encuentra en células tumorales del cáncer de mama, el Infliximab, anticuerpo quimérico que ha sido utilizado en el tratamiento de la enfermedad de Crohn y la Artritis reumatoidea y el Omalizumab, un anticuerpo monoclonal humanizado que se une selectivamente a la IgE y tratar el asma moderada en personas mayores de 12 años quienes manifiestan síntomas mal controlados con corticoides inhalados. Teniendo en cuenta lo anterior el presente trabajo realizó una comparación entre anticuerpos monoclonales y policlonales como alternativa de tratamiento inmunoterapéutico basado en péptidos sintéticos con un enfoque dirigido a la población humana.

Palabras clave: Malaria, enfermedad, parásito, anticuerpos, ciclo de vida, neutralización, inhibición, sinergia.

ABSTRACT

Malaria is one of the main febrile tropical diseases with the highest incidence and prevalence of deaths worldwide, characteristics that position it as an important public health problem in areas with precarious health systems, where there is no access to diagnosis, efficient treatment and also a low quality systematic response through health promotion and prevention programs. Several studies have been carried out on the design of an effective vaccine against malaria, however the efficacy of these vaccines is not so high due to the behavior of the parasite in its life cycle. Seen from the immunological perspective, the parasite presents a certain number of antigens that change throughout its different stages and against which a sequential and linked immune response is necessary, characteristics that confer a wide complexity and in turn reduce the ability to develop a vaccine that provides functional protection. Monoclonal antibodies have become an ideal therapeutic tool for many diseases, including different cancers, autoimmune disorders and infectious diseases, such as Trastuzumab, an IgG monoclonal antibody directed against the HER2 receptor found in breast cancer tumor cells, Infliximab, a chimeric antibody that has been used in the treatment of Crohn's disease and rheumatoid arthritis, and Omalizumab, a humanized monoclonal antibody that selectively binds to IgE and treats moderate asthma in people older than 12 years who manifest symptoms poorly controlled with inhaled corticosteroids. Taking into account the above, the present work made a comparison between monoclonal and polyclonal antibodies as an alternative immunotherapeutic treatment based on synthetic peptides with an approach directed to the human population.

Keywords : Malaria, disease, parasite, antibodies, life cycle

INTRODUCCIÓN

La malaria es una enfermedad transmisible con altas tasas de prevalencia a nivel mundial, representa más del 17% de todas las enfermedades infecciosas y según la organización mundial de la salud (OMS) en el año 2020 se reportaron 229 millones de casos de Paludismo a raíz de este agente etiológico (1). Esta infección parasitaria es transmitida por la picadura del mosquito hembra del género *Anopheles*, el cual adquiere un protagonismo notorio en el desarrollo de la enfermedad ya que este vector será el encargado de la propagación de la enfermedad. Asimismo, es importante no perder de vista que a pesar de la cantidad de especies que se conocen de *Plasmodium*, solo cinco de ellas tienen la capacidad de generar enfermedad en los humanos; *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium malariae*, *Plasmodium ovale* y *Plasmodium Knowlesi*, epidemiológicamente a nivel nacional hay predominio de infección por *P. falciparum*, seguido por *P. vivax* y en un tercer lugar se posicionan las infecciones mixtas originadas por *P. falciparum* y *P. vivax*. Esta infección protozoaria se caracteriza principalmente por originar cuadros clínicos con escalofríos, fiebre y sudoración que se repetirá cada 24, 48 ó 72 horas, dependiendo la especie que provoque la enfermedad. En mujeres lactantes, niños menores de 5 años, gestantes, pacientes inmunodeprimidos y personas que se desplacen a zonas donde la transmisión palúdica sea considerablemente alta, existe un mayor riesgo de adquirir la enfermedad y como consecuencia directa cursar con un cuadro clínico más grave. En promedio, el periodo de incubación de la malaria dura de 10 a 14 días, tiempo en el que se desencadena el ciclo pre-eritrocítico en el hígado y se presentan los primeros síntomas generales.

Como se mencionó anteriormente, las características clínicas de la malaria estarán sujetas a la especie de *Plasmodium* que afecte al ser humano: *Plasmodium vivax* provocará la malaria conocida como fiebre terciaria; *Plasmodium malariae* es el agente infeccioso que ocasiona la forma de paludismo más mortal y peligrosa conocida como fiebre terciana maligna; mientras que *Plasmodium falciparum* es el causante de la mayor cantidad de muertes por malaria debido a la habilidad que tiene para que los hematíes infectados se adhieran a las células endoteliales vasculares y se generen obstrucciones que, como consecuencia directa van a producir manifestaciones severas que incluyen malaria cerebral, anemia profunda, insuficiencia respiratoria, insuficiencia renal y malaria severa del embarazo.

Sumado a las características patogénicas de estos parásitos, en los últimos años se ha extendido una fármaco-resistencia a diferentes antimaláricos, como la cloroquina, la quinina, mefloquina y a los antifolatos, lo que dificulta claramente la lucha en el control de la malaria, situación que ha generado la necesidad de desarrollar una alternativa a estos métodos convencionales de tratamiento para garantizar en gran medida la reducción de muertes por esta enfermedad. Adicionalmente, mutaciones puntuales en diferentes genes del parásito son responsables de la disminución progresiva de la sensibilidad a distintos medicamentos contra el paludismo.((1)(2))

Por su parte, durante el complejo ciclo de invasión, el parásito establece un amplio rango de interacciones con las células hospedadoras (hepatocitos y eritrocitos) que le permiten invadirlas y lisarlas. El proceso mejor descrito es el que se establece entre el merozoito y el eritrocito humano; en un primer paso, el merozoito interactúa con la membrana del eritrocito con interacciones de baja afinidad. Se ha establecido que la invasión del merozoito es un proceso con una serie de eventos que se pueden resumir en 4 pasos: (1) contacto del merozoito con el eritrocito por cualquier parte de la superficie del parásito; (2) orientación del extremo apical hacia la membrana del eritrocito; (3) ataque del complejo apical desplazándose dentro de la célula hospedadora y la unión entre las membranas de ambas células; (4) proceso de internalización del merozoito por el motor actina/miosina y al mismo tiempo la formación de la VP12. ((1) (2))

Este complejo apical juega un papel esencial en la invasión, ya que el contenido de las roptrias y micronemas es secretado promoviendo una fuerte unión entre la superficie del merozoito y la membrana del eritrocito. Esta unión genera una fuerza de penetración mediada por la interacción de las moléculas de actina/miosina del citoesqueleto del parásito y algunas proteínas de la superficie del eritrocito, resultando como producto final del proceso, la formación de la VP donde reside el parásito para multiplicarse asexualmente. La VP actúa como una barrera semipermeable entre el parásito y el eritrocito permitiendo la adquisición de nutrientes y secreción de proteínas derivadas del parásito. Por lo tanto, la esquizogonia eritrocítica es la parte del ciclo de vida del parásito donde se inicia el desarrollo de estructuras en el eritrocito anucleado hasta formarse el esquizonte maduro con la consecuente liberación de nuevos merozoítos. ((1)(2))

Existe un complejo proteico formado entre Basigina y Rh5, BSG constituye el receptor para la proteína homóloga de unión a reticulocitos de *P. falciparum* 5 (*PfRH5*), el cual forma un complejo ternario con el antígeno protector rico en cisteína (CyRPA) y la proteína que interactúa con *PfRh5* (Ripr) que se posiciona de forma paralela a la membrana del glóbulo rojo. Después de unirse *PfRh5* a BSG, el complejo se desensambla y CyRPA se excluye de la membrana, mientras que *PfRh5* y Ripr se insertan en ella, permitiendo así la formación de un poro en la membrana del glóbulo rojo. Se ha encontrado que existen anticuerpos con un alto potencial para bloquear la interacción que podría bloquear el proceso de invasión ya que los anticuerpos anti-Rh5 monoclonales y policlonales inhiben la invasión de eritrocitos de múltiples cepas de parásitos al bloquear la interacción Rh5-BSG in vitro Sin embargo no existen estudios que comparen la eficacia y las diferencias a nivel de ensayos de invasión de estos anticuerpos. ((1) (2))

Por esta razón se realizó una comparación entre anticuerpos monoclonales y policlonales dirigidos a diferentes dianas de *Plasmodium spp* para comparar su actividad de inhibición y neutralización. Los anticuerpos monoclonales (mAbs) son generados por células B idénticas, clones de una sola célula progenitora. Esto significa que los anticuerpos monoclonales poseen una afinidad con características monovalentes y solo reconocen el mismo epítipo de un antígeno. Por otra parte, los anticuerpos policlonales (pAbs) son una mezcla heterogénea de anticuerpos que generalmente son producidos por diferentes clones de células B y estos a diferencia de los anticuerpos monoclonales pueden reconocer y unirse a muchos parátomos diferentes de un solo antígeno. ((1)(2))

OBJETIVO GENERAL

- Comparar la actividad de inhibición y neutralización de anticuerpos monoclonales (mAPS) Y anticuerpos policlonales (pABS) dirigidos contra la proteína Rh5 de *P.falciparum*

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Describir los mecanismos de inhibición y neutralización mediada por anticuerpos monoclonales y policlonales
- Identificar el tipo de anticuerpo que posee mayor efectividad en relación al proceso de inhibición y neutralización de antígenos de membrana *Plasmodium spp.*

1. ANTECEDENTES

Según el reporte mundial de malaria 2021(3), la aparición de cepas resistentes a los diferentes tratamientos con fármacos afecta directamente al control de la enfermedad, esto aumentando cada vez más la necesidad de estrategias alternativas de tratamiento (4), De esta manera los avances inmunológicos y moleculares en el estudio de *Plasmodium spp* permiten la identificación de posibles inmunógenos que sean capaces de brindar una capacidad protectora eficaz (5).

Dutta y colaboradores en 2005, realizan un trabajo experimental que tiene como objetivo establecer el proceso de inhibición llevada a cabo por anticuerpos, concretamente buscan determinar si la inhibición del procesamiento y la redistribución contribuye a la inhibición de la invasión, usaron como metodología ensayos de inhibición de la invasión, inhibición del procesamiento e inmunofluorescencia para estudiar los efectos de la IgG y el Fab en la invasión de merozoitos, el procesamiento y redistribución de AMA-1. Como resultados obtuvieron que el anti AMA 1 policlonal fue mucho más inhibidor que el anticuerpo monoclonal 4G2dc1 en el ensayo de invasión, además tanto la inmunoglobulina G policlonal como la monoclonal inhibieron el procesamiento secundario de la forma de AMA-1, pero solo la IgG policlonal provocó su procesamiento anómalo, inhibió su redistribución y entrecruzar las formas solubles de AMA-1 en los merozoitos. Finalmente aunque el bloqueo de sitios biológicamente importantes es un modo de acción directo común de los anticuerpos anti-AMA-1, el bloqueo del procesamiento secundario y la redistribución de AMA-1 son mecanismos inhibitorios indirectos adicionales mediante los cuales la IgG policlonal inhibe la invasión.(6)

Las proteínas de superficie del merozoito son unas de las más estudiadas por su relevancia en el proceso de interacción hospedero-patógeno, que gracias a las herramientas de biología molecular es posible modificarlas y/u optimizarlas con el fin de mejorar su inmunogenicidad, en el caso particular de la proteína AMA-1 (7), no es exclusiva de *Plasmodium spp* también se ha evidenciado que está presente en otros patógenos como *Toxoplasma gondii* y *Babesia spp*, asociada a los micronemas del parásito (8), con dominios transmembrana, se ha reportado su rol

en el proceso de invasión del parásito, articulada a la proteína del cuello de la roptra RON2, este complejo proteico AMA-RON2 permite la invasión del parásito al eritrocito (9).

Williams y colaboradores en 2012, llevaron a cabo un trabajo que tiene como objetivo demostrar que los anticuerpos contra *PfRG5*, inhibe eficientemente el crecimiento in vitro de parásitos, además se realizaron evaluaciones en combinación con anticuerpos contra otros siete antígenos de merozoitos para valorar la sinergia, como metodología realizaron ensayo de actividad de inhibición del crecimiento, estimación de EC50 de anticuerpos específicos de antígeno y evaluación de la sinergia. En cuanto a resultados obtuvieron que, los anticuerpos contra la proteína de merozoíto *PfRH5* pueden neutralizar la invasión de glóbulos rojos en concentraciones que son significativamente más bajas que las de los anticuerpos contra *PfAMA1*, además los anticuerpos *PfRG5* actúan de forma sinérgica con otros anticuerpos dirigidos contra otros antígenos de unión a eritrocitos como *PfRH4* para inhibir el crecimiento de *Plasmodium falciparum*.(10)

Posteriormente en el año 2017, Bustamante y colaboradores realizaron un estudio que tuvo como objetivo evaluar sistemáticamente 29 antígenos que probablemente estén involucrados en la invasión del eritrocito en una etapa de desarrollo vulnerable para *Plasmodium spp* e identificar combinaciones sinérgicas, para la metodología se realizó un ensayo de actividad de inhibición del crecimiento, un estudio de cohorte humana, inmunoepidemiología, análisis de isoblograma y microscopía de video. Como resultado se encontró que en pruebas de reactividad cruzada se exhibió un efecto inhibitor dependiendo de la dosis del crecimientos de los parásitos 3d7 y Dd2, las pruebas de antígenos solos y en combinación identificaron varias dianas relevantes de cepa que tenían efectos combinatorios sinérgicos in vitro, mientras que los estudios en una población endémica revelaron que las combinaciones de los mismos antígenos estaban asociadas con la protección contra la malaria febril. La microscopía de vídeo estableció que las combinaciones más efectivas se dirigieron a múltiples etapas discretas de invasión, sugiriendo una explicación mecanicista para la sinergia. En general, este estudio identifica combinaciones específicas de antígenos para pruebas clínicas de alta prioridad y establece un enfoque generalizable que tiene más probabilidades de producir vacunas eficaces (11).

Finalmente Knudsen y colaboradores en 2022 realizaron una investigación que tuvo como objetivo examinar la neutralización de parásitos utilizando un panel de mAbs específicos de *PfRAMA* para identificar epítomos protectores en la proteína, en cuanto a metodología se llevó a cabo el ensayo de actividad de inhibición del crecimiento, transferencia de puntos en *PfRAMA* nativo y desnaturalizado, extracción de proteínas de esquizontes de *P. falciparum*, análisis de transferencia Western, generación de biblioteca de fragmentos de genes *PfRAMA* y selección de visualización de fagos con mAbs RAM1.25, RAM1.89 y RAM1.94. Dentro de los resultados se pudo encontrar que se identificó un nuevo mAb específico de *PfRAMA* con actividad neutralizante que, en combinación con mAbs específicos de *PfRh5* o *PfCyRPA*, potenció el efecto neutralizante. Ahora bien, mediante la aplicación de tecnología de visualización de fagos, se mapeo el epítomo protector para que estuviera en la región C-terminal de *PfRAMA*. Los resultados confirmaron el hallazgo previo de sinergia entre los anticuerpos específicos de *PfRAMA*, *PfRh5* y *PfCyRPA*, orientando así el camino para probar estos antígenos en combinación para mejorar la eficacia de las vacunas contra la malaria en etapa sanguínea.(12)

2.MARCO REFERENCIAL

2.1 Malaria

2.1.1 Definición

La malaria o también llamada paludismo es una enfermedad infecciosa endémica de regiones tropicales y subtropicales, transmitida por la picadura de un mosquito hembra del género *Anopheles* y causada por un parásito protozoario del género *Plasmodium*, el cual tiene varias especies, pero solamente cinco son infectantes para el humano: *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium ovale*, *Plasmodium malariae* y *Plasmodium knowlesi*. Sin embargo, también puede ser transmitida a otros animales vertebrados como ratones y monos. (13)

Las características clínicas de la malaria dependen de la especie de *Plasmodium* infectante, como también del número de parásitos y del estado inmunitario del hospedero, las manifestaciones clínicas y el cuadro clínico clásico en un individuo no inmune, los síntomas suelen aparecer entre 10 y 15 días luego de la infección del mosquito y consisten en escalofríos, episodios febriles y sudoración, sin embargo, la fiebre puede estar ausente al principio de la infección (3). Durante el proceso de infección y el avance de la enfermedad puede que se presente disfunción de órganos vitales, por aumento del número de parásitos en sangre, y puede llegar a desencadenarse una enfermedad grave con manifestaciones como por ejemplo: coma, acidosis metabólica, anemia severa, falla renal o edema aguda del pulmón, a lo que se le conoce como malaria complicada, la cual especialmente se presenta en los casos de infección por *P. falciparum*, ya que si no se trata en las primeras 24 horas puede agravarse de manera crónica, llevando a la muerte de la persona (3,14).

2.1.2 Transmisión

Su transmisión puede ser:

- Vectorial por la picadura del mosquito *Anopheles*, el cual inyecta la forma infectante (esporozoitos) del parásito
- Parental por la inoculación directa de glóbulos rojos infectados en casos como la transfusión o pinchazos con jeringas contaminadas

- Vertical por el contagio de una madre infectada al feto (15)

2.1.3 *Plasmodium spp*

El protozoario *Plasmodium spp* tiene como características que es un parásito perteneciente al al phylum Apicomplexa, clase Aconoidasida, orden Haemosporida y familia Plasmodiiae, es intracelular, cuenta con una estructura apicomplexa que lo ayuda a su penetración, además tiene la capacidad de producir un pigmento llamado pigmento malárico el cual es un metabolito de la hemoglobina. Su ciclo de vida es bastante complejo está dividido en dos etapas la primera es la sexual que sucede en el vector el mosquito y una segunda etapa asexual que se produce en el huésped intermediario los humanos. (16)

2.1.4 Ciclo de vida

Plasmodium spp posee un ciclo que involucra diferentes estadios cada uno con antígenos diferentes y particulares. Los principales estadios del ciclo de vida del *Plasmodium spp* son: el estadio en el mosquito o vector de transmisión (ciclo esporogónico) y en el hospedero (ciclo esquizogonia pre-eritrocítica y eritrocítica). El ciclo comienza con la inoculación de un pequeño número de esporozoitos que son liberados desde las glándulas salivares de un mosquito hembra del género Anopheles, a través de la saliva, al torrente sanguíneo de un hospedero vertebrado. Posteriormente, los esporozoitos penetran en el hígado e invaden los hepatocitos, maduran y alcanzan el ciclo de esquizogonia pre-eritrocítica; en este proceso mantiene de 5 a 15 días dependiendo la especie *P. vivax*, *P. ovale* pueden presentar una etapa silenciosa llamada hipnozoito, que les permite permanecer en el hígado por semanas o años antes de alcanzar la etapa esquizogonia eritrocítica *P. falciparum* y *P. malariae* no desarrollan esta fase de persistencia. (13)

En los hepatocitos, los esporozoitos logran la forma de esquizontes maduros que pueden contener entre 10000 a 30000 merozoitos. Seguidamente se da una ruptura de estas células y los merozoitos son liberados en el torrente sanguíneo donde comienza un ciclo de invasión de los glóbulos rojos (esquizogonia eritrocítica). Dentro de los eritrocitos, los merozoitos maduran en anillos, trofozoitos, hasta esquizontes, los cuales ocasionalmente se rompen y liberan nuevos merozoitos que invaden y lisan otros glóbulos rojos. Los parásitos modifican las células hospederas para permitir su propia supervivencia; la invasión de eritrocitos depende de las

interacciones de receptores específicos en la membrana eritrocítica con ligandos en la superficie del merozoito. Después de 10 días, una pequeña porción de parásitos madura en sus formas sexuales: macrogametocitos (hembra) y microgametocitos (macho); cuando un mosquito hembra anopheles se alimenta de la sangre de una persona infectada con malaria, ingiere estas formas sexuales. (13)

Los 23 macrogametocitos maduros son transportados dentro del intestino del mosquito, evadiendo los eritrocitos para formar microgametos, cada uno de los cuales forman 8 microgametos móviles haploides, después de unos minutos de entrar al intestino del mosquito. El microgameto se desplaza rápidamente para fertilizar el macrogameto y formar un cigoto, el cual se transforma en un ooquinate móvil dentro de 18-24 horas. Posteriormente los ooquines deben atravesar dos barreras: la matriz peritrófica y el epitelio del intestino para finalmente alcanzar el espacio extracelular entre estos y transformarse en oocitos. Entre 10 y 24 días después de la infección, dependiendo de la especie de *Plasmodium* y de la temperatura del ambiente, cientos de esporozoitos son liberados del oocito y los esporozoitos móviles invaden el epitelio glándulo-salivar. Cuando un mosquito infectado pica a un hospedero vertebrado susceptible, el ciclo de vida de este parásito vuelve a empezar. (13)

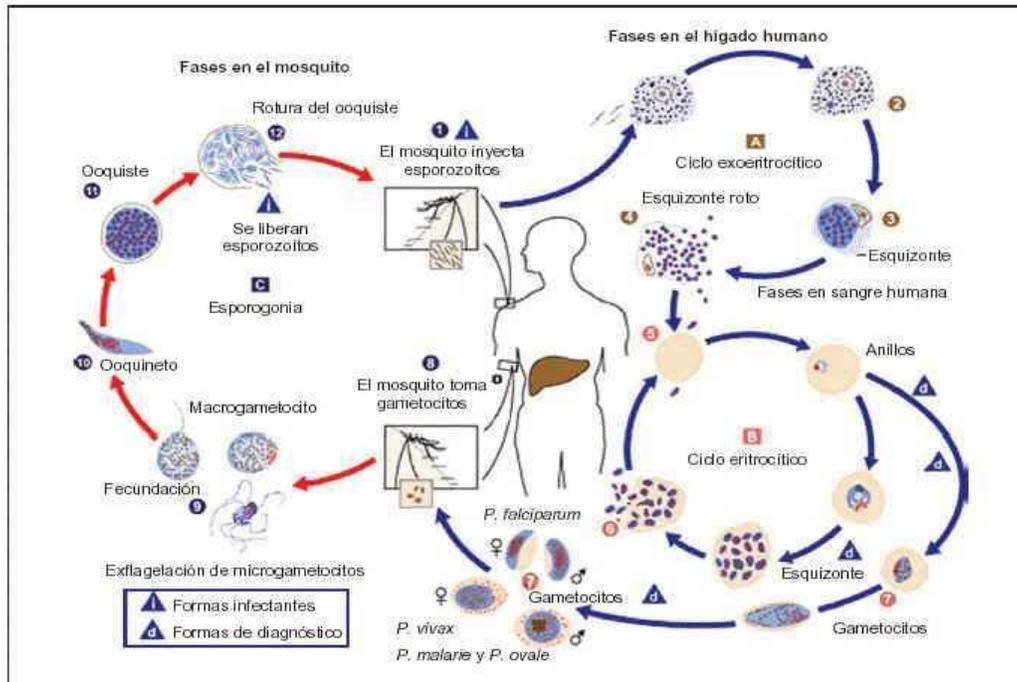


Figura 1: Ciclo de vida de *Plasmodium* spp. Imagen tomada de:

<https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-epidemiologia-tratamiento-del-paludismo-13033516>

2.1.5 Proteínas implicadas en la invasión del glóbulo rojo

Existen diversas proteínas que se involucran en diferentes etapas de contacto con la célula objetivo a invadir que en este caso es el glóbulo rojo, en el caso particular de *Plasmodium* spp se ha datado que es un proceso que puede abordar en aproximadamente 20 segundos, en los cuales se ven diferenciadas 4 etapas, la primera es el contacto inicial que tiene el mismo con el glóbulo rojo, en este proceso se ven involucradas las proteínas MSP, quienes están expuestas en la superficie del merozoito al igual en los gránulos densos del mismo, esta se conoce como una unión débil o reversible, de manera continua se da lugar a una reorientación del parásito, exponiendo principalmente su zona apical a la membrana del glóbulo rojo (17), una vez se da este contacto apical se da a lugar la formación de un complejo proteico que tiene un papel fundamental en lo que se conoce como una unión irreversible, esta es mediada por el complejo formado entre las proteínas RON y AMA (9). Una vez se conforma el complejo de unión fuerte, se da paso a la internalización del merozoito en el glóbulo rojo, esta se da por la interacción de

moléculas de actina y miosina, estas asociadas a ser proteínas motoras que generan un gasto de ATP ((18)(19)), permitiendo el movimiento del parásito para invadir el glóbulo rojo .

2.1.6 Epidemiología

A nivel mundial, hubo 241 millones de casos estimados de malaria en 2020 en 85 países endémicos, lo que equivale a un aumento con respecto a los 227 millones de casos estimados en 2019. La mayor parte de este aumento procede de la Región de África de la OMS. Países como Venezuela, Brasil, y Colombia mostraron más del 77% de todos los casos de la región de las Américas. (3)

A nivel mundial, las muertes por malaria disminuyeron continuamente durante el período 2000-2019, de 896.000 en el año 2000 a 562 000 en 2015 y a 558 000 en 2019. En 2020, las muertes por malaria aumentarán en un 12% en comparación con el 2019, hasta un estimado de 627 000. Se estima que 47 000 (68%) de las 69 000 muertes adicionales se debieron a alteraciones de los servicios de malaria durante la pandemia de COVID-19. (3)

Según el Ministerio de Salud en el documento Plan Estratégico, Colombia reporta el 10% de los casos de malaria que se registran en la región de las Américas. Este evento es endémico en la mayoría del territorio nacional, fundamentalmente en áreas localizadas por debajo de los 1.600 msnm, lo cual incluye al 85% del territorio nacional. En estas se presencian las condiciones geográficas, climáticas y ambientales que favorecen la existencia de biotipos receptivos y condiciones de vulnerabilidad que sustentan la transmisión endemo-epidémica persistente y la transmisión estacional contingencial. (20)

Se ha percibido una reducción de aproximadamente el 50% de la endemia de malaria en el país. Se reportan en promedio entre 67.000 casos de malaria por año, la malaria complicada representa entre el 1 al 2% de los casos. Aunque la especie prevalente en Colombia es *Plasmodium vivax*, en el periodo se han presentado cambios en la relación *P. vivax* / *P. falciparum*, predominando en años epidémicos el *Plasmodium falciparum*, lo que se podría explicar por el aumento significativo de casos en la región pacífica en donde domina esta especie de *Plasmodium*.(20)

Existen 3 grandes focos activos importantes de producción y dispersión de la enfermedad: el foco de Urabá - Bajo Cauca – Alto San Jorge; el foco de la Costa Pacífica y el foco de transición de la Orinoquia-Amazonia, en estos la transmisión se concentra predominantemente en el área rural de los municipios, donde se registra más del 80% de la carga de la enfermedad, comprendiendo los departamentos de Chocó, Antioquia, Córdoba, Nariño, Cauca, Distrito de Buenaventura, Bolívar, Risaralda, Amazonas, Vichada, Guainía y Guaviare. En el año 2018 se reactivó el foco de transmisión en Norte de Santander en la región del Catatumbo municipio de Tibú y la Gabarra, por el flujo de migrantes de Venezuela.(20)

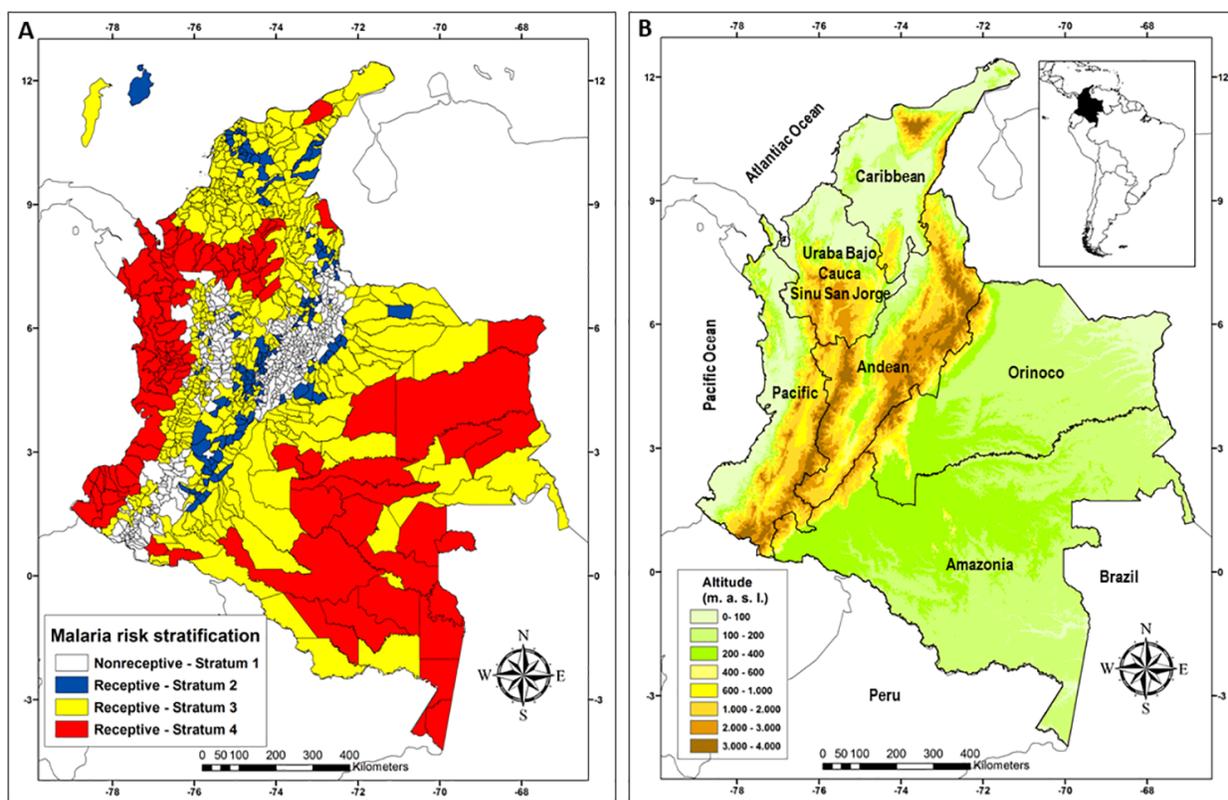


Figura 2. Estratificación del riesgo de malaria en Colombia 2010 a 2019. Imagen tomada de: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0247811>.

En la actualidad, tomando como base el boletín epidemiológico de Colombia 2022 en la semana epidemiológica 13 se notificaron 1.768 casos de malaria, teniendo un acumulado de 15.462 casos, de los cuales 14.995 son de malaria no complicada y 467 de malaria complicada. Predomina la infección por *Plasmodium vivax* con 60,8 % (9.402), seguido de *Plasmodium*

falciparum con 38,4 % (5.931) e infección mixta con 0,8 % (129). Malaria no complicada Por procedencia, Chocó (33,1 %), Nariño (18,5 %), Córdoba (14,0%), Antioquia (9,9 %) y Guainía (6,2 %) aportan el 81,7 % de los casos de malaria no complicada Se notificaron 467 casos de malaria complicada, que proceden de 27 entidades territoriales y 10 casos procedentes del exterior. Chocó, Antioquia, Nariño, Bolívar, Córdoba, Risaralda y Norte de Santander notificaron el 70,3 % de los casos. (21)

Entidad territorial	Infección mixta	<i>P. falciparum</i>	<i>P. malarie</i>	<i>P. vivax</i>	n	%
Chocó	57	2636	0	2276	4969	33,10
Nariño	15	1969	0	783	2767	18,50
Córdoba	8	338	0	1746	2092	14,00
Antioquia	8	251	0	1229	1488	9,90
Guainía	7	42	0	877	926	6,20
Norte de Santander	0	2	0	551	553	3,70
Amazonas	0	4	0	401	405	2,70
Cauca	1	294	0	16	311	2,10
Bolívar	10	41	0	219	270	1,80
Guaviare	1	31	0	202	234	1,60
Vichada	2	35	0	189	226	1,50
Risaralda	1	38	0	186	225	1,50
Exterior	2	21	0	168	191	1,27
Buenaventura	1	62	0	51	114	0,80
Meta	0	3	0	95	98	0,70
Caquetá	1	14	0	7	22	0,10
Vaupés	0	7	0	13	20	0,10
Putumayo	0	8	0	9	17	0,10
La Guajira	0	1	0	10	11	0,10
Cali	0	2	0	8	10	0,10
Sucre	0	2	0	7	9	0,10
Valle del Cauca	0	2	0	4	6	0,00
Desconocido	0	2	0	3	5	0,03
Arauca	0	0	0	5	5	0,00
Cesar	0	0	0	4	4	0,00
Huila	1	1	0	2	4	0,00
Caldas	0	1	0	2	3	0,00
Magdalena	0	0	0	2	2	0,00
Santander	0	0	0	2	2	0,00
Atlántico	0	0	0	2	2	0,00
Casanare	0	0	0	2	2	0,00
Total	115	5807	0	9073	14995	100

Fuente: SIVIGILA, Instituto Nacional de Salud, Colombia, 2022
 Nota: no se presentaron casos de otros departamentos o distritos

Figura 3. Casos notificados de malaria no complicada por entidad territorial de procedencia colombiana. semana 13 de 2022. Imagen tomada de:

<https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/Paginas/Vista-Boletin-Epidemiologico.aspx>

2.1.7 Tratamiento

Uno de los principales problemas que hay en el control y tratamiento de la malaria es consecuencia a la múltiple resistencia a medicamentos destinados al tratamiento que se le da al proceso infeccioso, actualmente se cuenta con medicamentos como el maloprim (mezcla de

dapsona y pirimetamina), el farsidan (sulfadoxina y pirimetamina) y desde hace mucho tiempo el uso de las cloroquinas, razón por la cual la mayoría de cepas de *P. falciparum* y *P. vivax* han generado una fuerte resistencia a dicho tratamiento. (20)

Desde 2006 el país aprobó las terapias combinadas con derivados de Artemisininas (TCA), como esquema de primera línea para la malaria no complicada por *P. falciparum*. Las TCA son el tratamiento más eficaz que existe contra esta especie y no se dispone de otros fármacos para combatir parásitos multidrogoresistentes. Actualmente la eficacia de la combinación Artemeter-Lumefantrina es del 98,8% y no se han detectado parásitos resistentes a artemisinina en Colombia; sin embargo, no estamos libres de que esta situación se presente en un futuro cercano, teniendo en cuenta las presentes condiciones de salud, los cambios en patrones demográficos y las migraciones humanas que posibilitan la introducción de nuevos genotipos del parásito en áreas donde no existían, la problemática socio-económica, los cultivos ilícitos y la minería ilegal, actividades que promueven el comercio clandestino de medicamentos antimaláricos en poblaciones rurales, medicinas que no cuentan con las pruebas necesarias para asegurar su calidad y la administración de tratamientos incompletos, entre otros factores, crean entornos propicios para la aparición de focos de parásitos resistentes.(20)

2.2 Anticuerpos

2.2.1 Características

Cada anticuerpo se compone de 4 cadenas, 2 ligeras y 2 pesadas que se encuentran unidas por puentes disulfuro. Los anticuerpos tienen 2 funciones fundamentales; (22) reconocimiento y unión a antígenos, que se llevan a cabo mediante los extremos de las cadenas ya mencionadas, y (23) función efectora que se conoce como la destrucción de células infectadas y la activación de macrófagos, que se lleva a cabo gracias al extremo carboxiterminal de las cadenas pesadas. (22)

Las cadenas ligeras tienen una porción variable y una región constante. Las regiones variables se localizan en los extremos amino terminales de los brazos de la Y; se llaman variables porque los aminoácidos que contienen son distintos en diferentes anticuerpos. Dentro de las regiones V, las regiones hipervariables determinan la especificidad de la inmunoglobulina, y una región constante. Las cadenas pesadas poseen, asimismo, una región variable y una constante, la cual

determinará las clases o isotipos principales de inmunoglobulina. La región constante de las cadenas pesadas (C) contiene una secuencia de aminoácidos relativamente constante (isotipo) que es diferente para cada clase de Ig. (23)

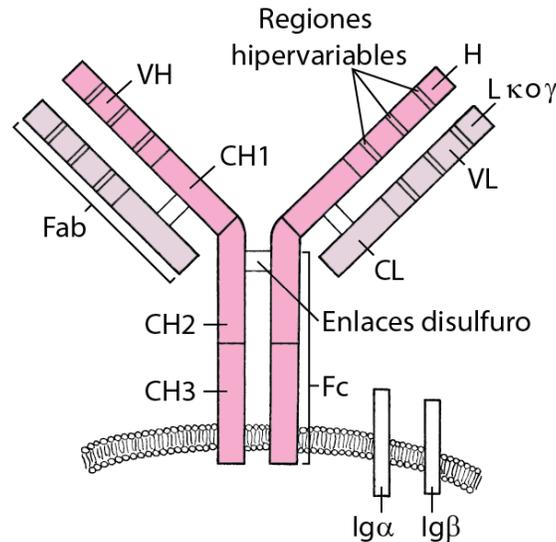


Figura 4. Estructura de un anticuerpo. Imagen tomada de:

<https://www.msdmanuals.com/es/professional/inmunolog%C3%ADa-y-trastornos-al%C3%A9rgicos/biolog%C3%ADa-del-sistema-inmunitario/componentes-moleculares-del-sistema-inmunitario>

2.2.2 Anticuerpos monoclonales

Un anticuerpo monoclonal se considera un anticuerpo de especificidad única, generado a partir de la immortalización de una célula B plasmática in vitro, son, glicoproteínas especializadas que forman parte del sistema inmune, y cuentan con la capacidad de reconocer un solo antígeno o epítipo concreto. Se consideran una poderosa herramienta para el diagnóstico de laboratorio, y son cada vez más utilizados en el tratamiento de diversas enfermedades. Además, su alta especificidad permite el abordaje de dianas muy precisas, que pueden determinar cambios celulares muy variados. (24)

Los anticuerpos monoclonales tuvieron lugar en los años setenta por Milstein y Köhler en el laboratorio de biología molecular de Cambridge (Reino Unido). Estos autores investigaron los mecanismos moleculares de la generación de diversidad de los anticuerpos y necesitaban

producir una célula B inmortal con especificidad conocida, para así poder analizar en detalle las mutaciones de los genes de las Ig. Para ello fusionaron una línea de células de mieloma murino, sensible a ciertos fármacos, con células de bazo de un animal inmunizado (hibridoma). Mediante este procedimiento consiguieron seleccionar solamente las células híbridas y los clones con especificidad conocida. (22) Como complemento, dependiendo de la región Fc, pueden diseñarse para facilitar distintos tipos de respuestas efectoras.

Son isotipos de tipo de IgG, a nivel estructural, las regiones hipervariables de cada cadena pesada y ligera se unen formando el sitio de unión al antígeno, denominado fragmento de unión a antígeno (Fab), también posee un dominio del fragmento cristalizante (Fc) responsable de la función efectora, este se compone de dos dominios constantes. Pueden llegar a tener una vida media sérica prolongada gracias al reciclaje de anticuerpos dependiente del pH a través del receptor Fc neonatal (FcRn) debido a que la mayoría de anticuerpos murinos son capaces de inducir respuesta inmune (anticuerpos anti-ratón, reacciones alérgicas y la inducción de anticuerpos antidrogas (ADA)) y también carecen de funciones efectoras se crearon anticuerpos monoclonales quiméricos que contienen una unidad de reconocimiento de anticuerpos murinos y una región Fc humana, como resultado de la escisión de la porción Fc inmunogénica de la molécula de inmunoglobulina o mediante metodologías recombinantes, lo que resultó en moléculas que son aproximadamente 65% humanas. A pesar de su mejoría y la reducción de inmunogenicidad los anticuerpos monoclonales quiméricos siguen induciendo ADA es por esto que los anticuerpos monoclonales humanizados se desarrollaron, introduciendo sólo las regiones hipervariables murinas en un marco Ab humano, lo que resultó en moléculas que son aproximadamente 95% humanas. (24)

2.2.3 Anticuerpos policlonales

Los anticuerpos policlonales (pAbs) son una mezcla heterogénea de anticuerpos que generalmente son producidos por diferentes clones de células B en el cuerpo. Pueden reconocer y unirse a muchos epítomos diferentes de un solo antígeno. Todas las formas de anticuerpos, policlonales (pAb), monoclonales basados en hibridomas (mAb) y monoclonales recombinantes (rAb), tienen ventajas y desventajas como herramientas de investigación y tienen atributos que los diferencian unos de otros. Los pAb muestran propiedades de unión de múltiples epítomos, lo que hace que estos reactivos sean ideales para muchas aplicaciones, mientras que su suministro

finito resta valor a su utilidad. A medida que se agotan los suministros inherentemente limitados de pAb, se deben producir nuevos lotes de anticuerpos mediante la regeneración de una respuesta inmunitaria similar que, incluso con la validación adecuada, a menudo da como resultado lotes posteriores que muestran variaciones en el rendimiento del anticuerpo. (25)

3. APROXIMACIÓN AL DISEÑO METODOLÓGICO

El presente trabajo se planteó como una revisión del tema. Para ello, se hizo una búsqueda exhaustiva en diversas bases de datos y buscadores con el objetivo de recopilar información disponible sobre la presencia de anticuerpos dirigidos contra la proteína Rh5 y su efectividad mediante ensayos de inhibición de la invasión o ensayos de inhibición del crecimiento.

3.1 Tipo de investigación

Cuantitativa de tipo descriptivo.

3.2. Metodología

3.2.1. Fuentes de información

Las bases de datos empleadas fueron: Pubmed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>), ScienceDirect (<https://www.sciencedirect.com/>) y Springer (<https://www.springer.com/la>). El método de búsqueda consistió en utilizar como palabras clave en las diversas bases de datos: inhibition assays AND *Pf*Rh5 NOT reviews, dichos términos por los conectores booleanos “AND», “not”. Como resultado se encontraron 32 documentos los cuales fueron filtrados utilizando criterios de inclusión y exclusión para así poder evaluar 8 artículos evidenciando los datos relevantes de cada uno

3.2.2. Criterios de inclusión:

- Artículos que estén disponibles en la red (texto completo)
- Artículos publicados en inglés
- Artículos con fecha de publicación entre el año 2014 al 2022.
- Artículos que contengan ensayos de inhibición de la invasión de Rh5 (*Pf*Rh5) o ensayos de inhibición del crecimiento (GIA).

3.2.3. Criterios de exclusión fueron:

- Artículos con restricción de textos
- No se incluyeron estudios que no correspondan a investigaciones originales como la “literatura gris”

4.RESULTADOS

4.1 Método y fuentes de información acerca de ensayos de inhibición dirigidos a *PfRh5*

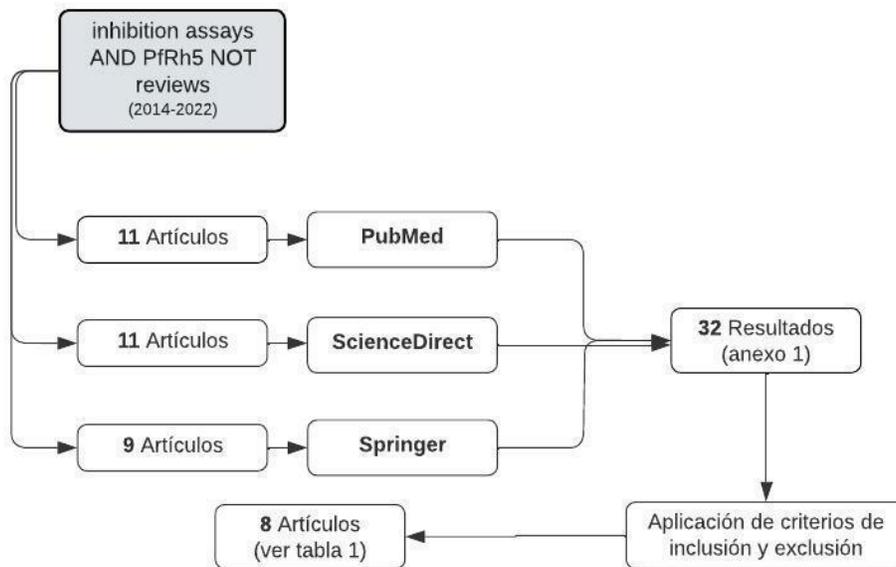


Figura 5. Metodología usada para la búsqueda de ensayos de inhibición dirigidos a *PfRh5*.

4.2. Método de selección de artículos con base a los criterios de inclusión

Tabla 1. Resultados de la búsqueda “inhibition assays AND PfRh5 NOT reviews” y selección de artículos según los métodos de exclusión e inclusión

ScienceDirect	PubMed	Springer
Disrupting CD147-RAP2 interaction abrogates erythrocyte invasion by <i>Plasmodium falciparum</i>	1) Assessing the functional impact of <i>PfRh5</i> genetic diversity on ex vivo erythrocyte invasion inhibition	Analyses of Interactions Between Heparin and the Apical Surface Proteins of <i>Plasmodium falciparum</i>

Dual Plasmeprin-Targeting Antimalarial Agents Disrupt Multiple Stages of the Malaria Parasite Life Cycle	<i>Pf</i> RH5 as a candidate vaccine for <i>Plasmodium falciparum</i> malaria	Generation of <i>Plasmodium falciparum</i> parasite-inhibitory antibodies by immunization with recombinantly-expressed CyRPA
Malaria Vaccine Development: Focusing Field Erythrocyte Invasion Studies on Phenotypic Diversity: The West African Merozoite Invasion Network (WAMIN)	2) A DNA Vaccine Encoding <i>Plasmodium falciparum Pf</i> RH5 in Cationic Liposomes for Dermal Tattooing Immunization	Strain-transcending neutralization of malaria parasite by antibodies against <i>Plasmodium falciparum</i> enolase
<i>Pf</i> RH5 as a candidate vaccine for <i>Plasmodium falciparum</i> malaria	3) Generation of <i>Plasmodium falciparum</i> parasite-inhibitory antibodies by immunization with recombinantly-expressed CyRPA	Complement Evasion Mechanisms of the Human Pathogen <i>Plasmodium falciparum</i>
Parasite Calcineurin Regulates Host Cell Recognition and Attachment by Apicomplexans	Enhancing neutralization of <i>Plasmodium falciparum</i> using a novel monoclonal antibody against the rhoptry-associated membrane antigen	Rhoptries and Other Merozoite Organelles Involved in Invasion
Advances in Parasitology	4) Basigin is a druggable target for host-oriented antimalarial interventions	Studies on Immunogenicity and Antigenicity of Baculovirus-Expressed Binding Region of <i>Plasmodium falciparum</i> EBA-140 Merozoite Ligand
Malaria vaccine trial shows the potentiating power of incremental progress	5) Revealing the sequence and resulting cellular morphology of receptor-ligand interactions during <i>Plasmodium falciparum</i> invasion of erythrocytes	Bacterial superglue enables easy development of efficient virus-like particle based vaccines
Malaria, Immunity, and Immunopathology	6) Heterotypic interactions drive antibody synergy against a malaria vaccine candidate	Naturally induced humoral response against <i>Plasmodium vivax</i> reticulocyte binding protein 2P1
Glycosylphosphatidylinositol-anchored micronemal antigen (GAMA) interacts with the band 3 receptor to promote erythrocyte invasion by malaria parasites	Liposomes loaded with <i>P. falciparum</i> merozoite-derived proteins are highly immunogenic and produce invasion-inhibiting and anti-toxin antibodies	CD147 promotes IKK/I κ B/NF- κ B pathway to resist TNF-induced apoptosis in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts
Identification of <i>Plasmodium falciparum</i> reticulocyte binding protein homologue 5-interacting protein, <i>Pf</i> Ripr, as a highly conserved blood-stage malaria	7) A malaria vaccine candidate based on an epitope of the <i>Plasmodium falciparum</i> RH5 protein	

vaccine candidate		
Chapter 14 - Genomics and precision medicine for malaria: A dream come true?	8) Naturally acquired antibodies specific for <i>Plasmodium falciparum</i> reticulocyte-binding protein homologue 5 inhibit parasite growth and predict protection from malaria	

Artículos que cumplen con los criterios de inclusión

Artículos que no cumplen con los criterios de inclusión

Nota: Se realizó la búsqueda de documentos en tres diferentes bases de datos utilizando las mismas palabras clave, con resultados limitados en un rango de tiempo de 9 años (2014-2022), el resultado fue de 32 documentos en los cuales se realizó una depuración, aplicando los criterios de exclusión. Se descartaron documentos que no estaban dirigidos a la proteína de interés PfRh5, se eliminaron documentos en los cuales no se evidenciaban ensayos de inhibición de la invasión GIA, se excluyeron documentos que no estaban disponibles de manera gratuita, además 3 de los documentos obtenidos eran capítulos de libros académicos razón por la cual también fueron excluidos, por otra parte, las tres bases de datos también compartían algunos artículos iguales de los cuales solo se elegía uno en caso de cumplir con los criterios de inclusión. una vez aplicados estos criterios de exclusión se seleccionaron 8 artículos que cumplen con los criterios de inclusión los cuales se evidencian en la tabla de color verde y debidamente numerados. (Tabla 1).

4.3 Recopilación de datos de ensayos de inhibición de la invasión (GIA)

Tabla 2. Matriz de datos obtenidos a partir de los artículos seleccionados

Artículo	Proteínas	Tipo de anticuerpo	Isotipo	Concentración	Técnica	% de inhibición (GIA)
1	BSG <i>PfRh5</i>	Monoclonal	anti-BSG MEM-M6 /6	10 µg/mL 1 µg/mL 0.1 µg/mL	Microscopía de frotis fino	20-23% Dependiente de dosis
2	<i>PfRh5</i> HBs	Policlonal	igG anti <i>PfRh5</i>	180 µg/mL 300 µg/mL	citometría de flujo	39-58% Dependiente de dosis

3	<i>PfRh5</i> <i>PfCyRPA</i>	Monoclonal	SB1.6 SB2.1 SB2.3 SB3.3.	500 µg/mL 250µg/mL 125 µg/mL	Citometría de flujo	40% dependiente de dosis
4	Basigina <i>PfRh5</i>	Monoclonal	Ab-1 MEM-M6 /6	100 µg/mL	Citometría de flujo	90% de inhibición
5	(<i>PfRh5</i> - Basigina)	Policlonal	anti- <i>PfRh</i> 5	2.5µg/mL 10µg/mL 20µg/mL	Microscopía de células vivas	dependiente de la dosis (hasta un 90%)
6	CyRPA	Monoclonal	Cy.002 Cy.003 Cy.004 Cy.005 Cy.007 Cy.009 Cy.010	500µg/mL	Elisa	81% de inhibición
7	<i>PfRh5</i>	Monoclonal	2E11 5A03 5A08 2D05 2D12 3B10 3C06 4F05	25µg/mL 100µg/mL	Ensayo de inmunofluor escencia (IFA)	99% de inhibición
8	<i>pfRh5</i> RAMA1	Policlonal	IgG específico para <i>PfRh5</i> y RAMA1	55 µg/mL	Elisa	50% de inhibición



Figura 6. Anticuerpos utilizados en los ensayos GIA dirigidos a PhRf5

De los 8 artículos seleccionados, 5 de ellos (62%) utilizaron anticuerpos monoclonales para sus ensayos GIA dirigidos contra la proteína PfRh 5 de *P.falciparum* y los otros 3 (38%) utilizaron anticuerpos policlonales.

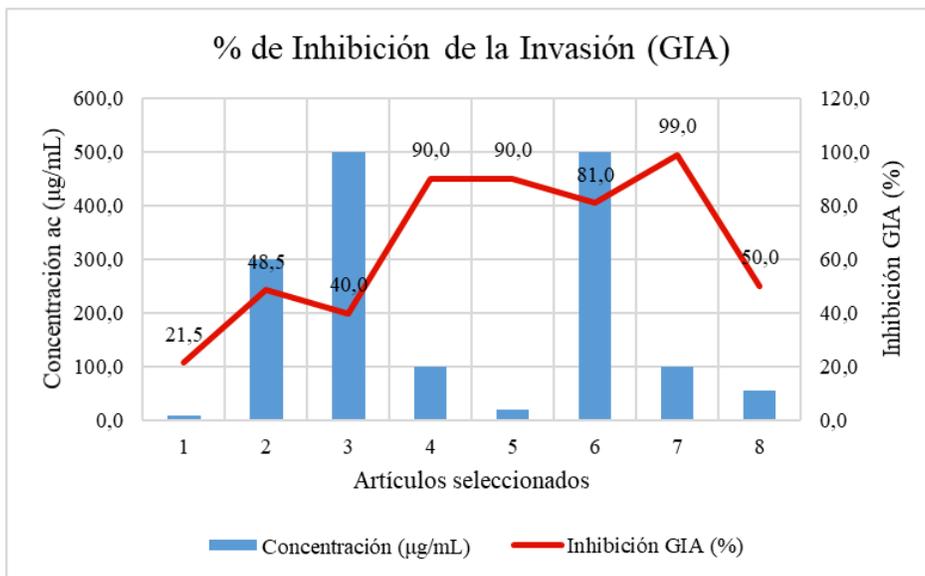


Figura 7. Comparación de las concentraciones y los porcentajes de ensayos de inhibición GIA dirigidos a PfRh entre anticuerpos monoclonales y policlonales.

Se puede observar las diferentes concentraciones de anticuerpos tanto monoclonales como policlonales utilizados en los diferentes artículos seleccionados, estas fueron las concentraciones en las cuales se evidenció el mayor porcentaje de inhibición de la invasión de cada uno de los anticuerpos, como resultado de la gráfica se observa que los anticuerpos de los artículos 4,5,6 ,7 y 8, poseen un alto porcentaje de inhibición (entre el 50% y el 99%) y que solo los anticuerpos del artículo 6 muestra una alta concentración de los mismos. predominando en un alto grado de inhibición de la invasión los anticuerpos de naturaleza monoclonal.

5.CONCLUSIONES

- Al comparar los artículos encontrados que describen la actividad de inhibición de la invasión de los anticuerpos monoclonales y policlonales dirigidos contra la proteína Rh5 de *P.falciparum*, los resultados arrojados mostraron un mayor porcentaje de inhibición de la invasión por parte de los anticuerpos monoclonales los cuales evidenciaron estos altos porcentajes con una baja concentración de anticuerpos, lo que los hace más eficaces ya que en los mayores porcentajes correspondiente a anticuerpos policlonales, se necesitaron concentraciones más altas (**Figura 7**)
- La forma de merozoito de *P. falciparum* utiliza un repertorio ampliado de ligandos de invasión, que pueden expresarse de forma variante y polimórfica, lo que facilita la evasión inmunitaria y la utilización de receptores alternativos. Si bien la mayoría de los ligandos de invasión involucrados en la formación de uniones estrechas son prescindibles y variantes, se ha demostrado que la PfRh5 es esencial. Los anticuerpos dirigidos contra el receptor PfRh5, son potentes inhibidores y altamente neutralizantes.
- Son necesarios más estudios para una comparación más profunda entre estos dos tipos de anticuerpos debido a que su naturaleza implica el uso de diferentes técnicas de lectura de los ensayos GIA y esto puede sesgar la comparación de la eficiencia y eficiencia de de uno respecto al otro.

6.REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. RH5–Basigin interaction plays a major role in the host tropism of *Plasmodium falciparum* [Internet]. [citado el 12 de octubre de 2022]. Disponible en: <https://www.pnas.org/doi/10.1073/pnas.1320771110>
2. Receptores del hospedero implicados en la invasión del merozoito de *Plasmodium falciparum*: revisión [Internet]. [citado el 12 de octubre de 2022]. Disponible en: <https://core.ac.uk/download/pdf/322581138.pdf>
3. World malaria report 2021 [Internet]. World Health Organization. 2021 [citado el 23 de septiembre de 2022]. Disponible en: <https://www.who.int/publications-detail-redirect/9789240040496>
4. Resistencia a los antimaláricos [Internet]. [citado el 27 de septiembre de 2022]. Disponible en: https://seq.es/wp-content/uploads/2015/02/seq_0214-3429_29_sup1_16venanzi.pdf
5. Douine M, Lambert Y, Musset L, Hiwat H, Blume LR, Marchesini P, et al. Malaria in Gold Miners in the Guianas and the Amazon: Current Knowledge and Challenges. *Curr Trop Med Rep.* el 1 de junio de 2020;7(2):37–47.
6. Dutta S, Haynes JD, Barbosa A, Ware LA, Snavely JD, Moch JK, et al. Mode of action of invasion-inhibitory antibodies directed against apical membrane antigen 1 of *Plasmodium falciparum*. *Infect Immun.* abril de 2005;73(4):2116–22.
7. Lozano JM, Lesmes LP, Carreño LF, Gallego GM, Patarroyo ME. Development of Designed Site-Directed Pseudopeptide-Peptido-Mimetic Immunogens as Novel Minimal Subunit-Vaccine Candidates for Malaria. *Molecules.* el 6 de diciembre de 2010;15(12):8856–89.
8. Parker ML, Penarete-Vargas DM, Hamilton PT, Guérin A, Dubey JP, Perlman SJ, et al. Dissecting the interface between apicomplexan parasite and host cell: Insights from a divergent AMA-RON2 pair. *Proc Natl Acad Sci U S A.* el 12 de enero de 2016;113(2):398–403.
9. Srinivasan P, Beatty WL, Diouf A, Herrera R, Ambroggio X, Moch JK, et al. Binding of *Plasmodium* merozoite proteins RON2 and AMA1 triggers commitment to invasion. *Proc Natl Acad Sci.* el 9 de agosto de 2011;108(32):13275–80.
10. Williams AR, Douglas AD, Miura K, Illingworth JJ, Choudhary P, Murungi LM, et al. Enhancing Blockade of *Plasmodium falciparum* Erythrocyte Invasion: Assessing Combinations of Antibodies against PfRH5 and Other Merozoite Antigens. *PLoS Pathog.* el 8 de noviembre de 2012;8(11):e1002991.
11. Bustamante LY, Powell GT, Lin YC, Macklin MD, Cross N, Kemp A, et al. Synergistic malaria vaccine combinations identified by systematic antigen screening. *Proc Natl Acad Sci U S A.* el 7 de noviembre de 2017;114(45):12045–50.
12. Knudsen AS, Walker MR, Agullet JP, Björnsson KH, Bassi MR, Barfod L. Enhancing neutralization of *Plasmodium falciparum* using a novel monoclonal antibody against the rhoptry-associated membrane antigen. *Sci Rep.* el 23 de febrero de 2022;12(1):3040.
13. Bohórquez Araque MY. Evaluación del efecto de fragmentos F(ab)₂ de anticuerpos policlonales de conejo, inducidos por pseudopéptidos amida reducida de la region N-terminal del antígeno msp-1 de *p. falciparum* en un modelo de malaria en ratones balb/c. 2009 [citado el 23 de septiembre de 2022]; Disponible en: <http://repository.javeriana.edu.co/handle/10554/623>
14. González L, Guzmán M, Carmona-Fonseca J, Lopera T, Blair S. Características clínico-

- epidemiológicas de 291 pacientes hospitalizados por malaria en Medellín (Colombia). *Acta Médica Colombiana*. 2000;25:8.
15. Uribe AG, Bernal GB. MALARIA [Internet]. ILADIBA; 2013. Disponible en: https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/TH/memorias_malaria.pdf
 16. Talapko J, Škrlec I, Alebić T, Jukić M, Včev A. Malaria: The Past and the Present. *Microorganisms*. el 21 de junio de 2019;7(6):E179.
 17. Vásquez AM, Tobón A. Pathogenic mechanisms in *Plasmodium falciparum* malaria. *Biomédica*. el 1 de abril de 2012;32:106–20.
 18. Departamento de Ciencias de la Vida y Biotecnología. Universidad Yachay Tech, Imbabura, Ecuador, Spencer LM, Universidad de Venezuela. Departamento de Biología Celular de la Universidad Simón Bolívar, Caracas-Venezuela, Gómez A, Universidad de Granada, España., Collovini E, et al. Mechanisms of invasion from sporozoite and merozoite of *Plasmodium*. *Bionatura*. el 15 de junio de 2016;1(2):89–94.
 19. Forero de Lleras C. Proteínas de unión a actina en *Plasmodium falciparum*. *bvs*. 1996;208–208.
 20. PLAN ESTRATÉGICO NACIONAL DE MALARIA 2019- 2022 [Internet]. [citado el 23 de septiembre de 2022]. Disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/PP/PAI/plan-estrategico-malaria.pdf>
 21. Boletín epidemiológico semana 13 2022 [Internet]. [citado el 23 de septiembre de 2022]. Disponible en: https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/BoletinEpidemiologico/2022_Bolet%C3%ADn_epidemiologico_semana_13.pdf
 22. García Merino A. Anticuerpos monoclonales. Aspectos básicos. *Neurología*. el 1 de junio de 2011;26(5):301–6.
 23. Componentes celulares del sistema inmunitario - Inmunología y trastornos alérgicos [Internet]. Manual MSD versión para profesionales. 2021 [citado el 23 de septiembre de 2022]. Disponible en: <https://www.msdmanuals.com/es-co/professional/inmunolog%C3%ADa-y-trastornos-al%C3%A9rgicos/biolog%C3%ADa-del-sistema-inmunitario/componentes-celulares-del-sistema-inmunitario>
 24. Buss NA, Henderson SJ, McFarlane M, Shenton JM, de Haan L. Monoclonal antibody therapeutics: history and future. *Curr Opin Pharmacol*. el 1 de octubre de 2012;12(5):615–22.
 25. Anticuerpos Policlonales vs Monoclonales [Internet]. 2018 [citado el 23 de septiembre de 2022]. Disponible en: <https://www.labclinics.com/2018/09/07/anticuerpos-policlonales-vs-monoclonales/>