



# **EVALUACIÓN DE LA ANTIGENICIDAD DE PÉPTIDOS DERIVADOS DE LA PROTEÍNA Pv12 DE *Plasmodium vivax* EN MUESTRAS OBTENIDAS DE INDIVIDUOS DE ZONAS ENDÉMICAS DE COLOMBIA**



**LEIDY ESTEFANIA RODRIGUEZ CASAS**

**RENZO STEVEN JAIMES BLANCO**

**UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
PROGRAMA DE BACTERIOLOGÍA  
TRABAJO DE GRADO  
BOGOTA D.C.  
2018**



**EVALUACIÓN DE LA ANTIGENICIDAD DE PÉPTIDOS DERIVADOS DE LA PROTEÍNA Pv12 DE *Plasmodium vivax* EN MUESTRAS OBTENIDAS DE INDIVIDUOS DE ZONAS ENDÉMICAS DE COLOMBIA**



**CAROLINA LÓPEZ SANTANA MSc.**

**Asesora Externa**

**EDITH HERNANDEZ R MSc.**

**Asesora Interna**

**UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
PROGRAMA DE BACTERIOLOGÍA  
TRABAJO DE GRADO  
BOGOTA D.C.  
2018**

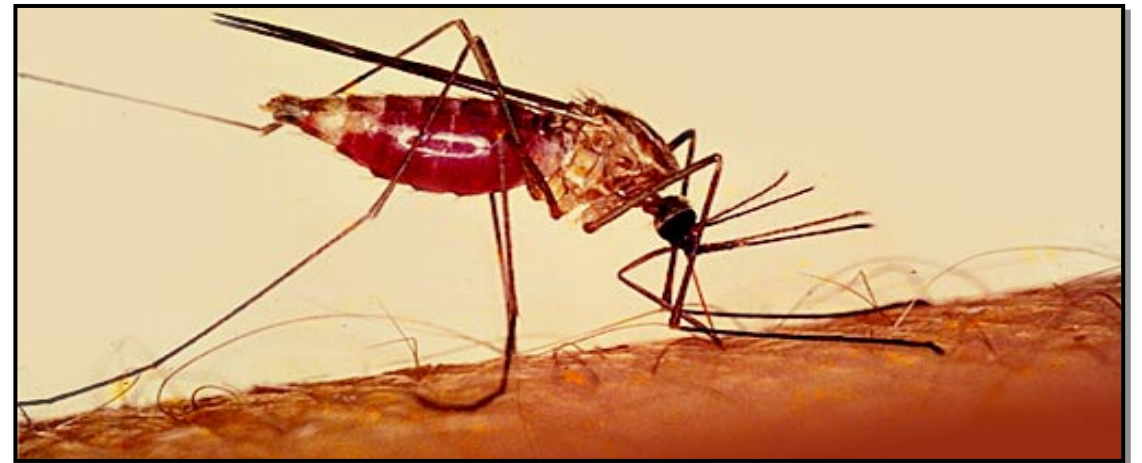
# GENERALIDADES DE LA MALARIA

Enfermedad potencialmente mortal causada por parásito del género *Plasmodium*.



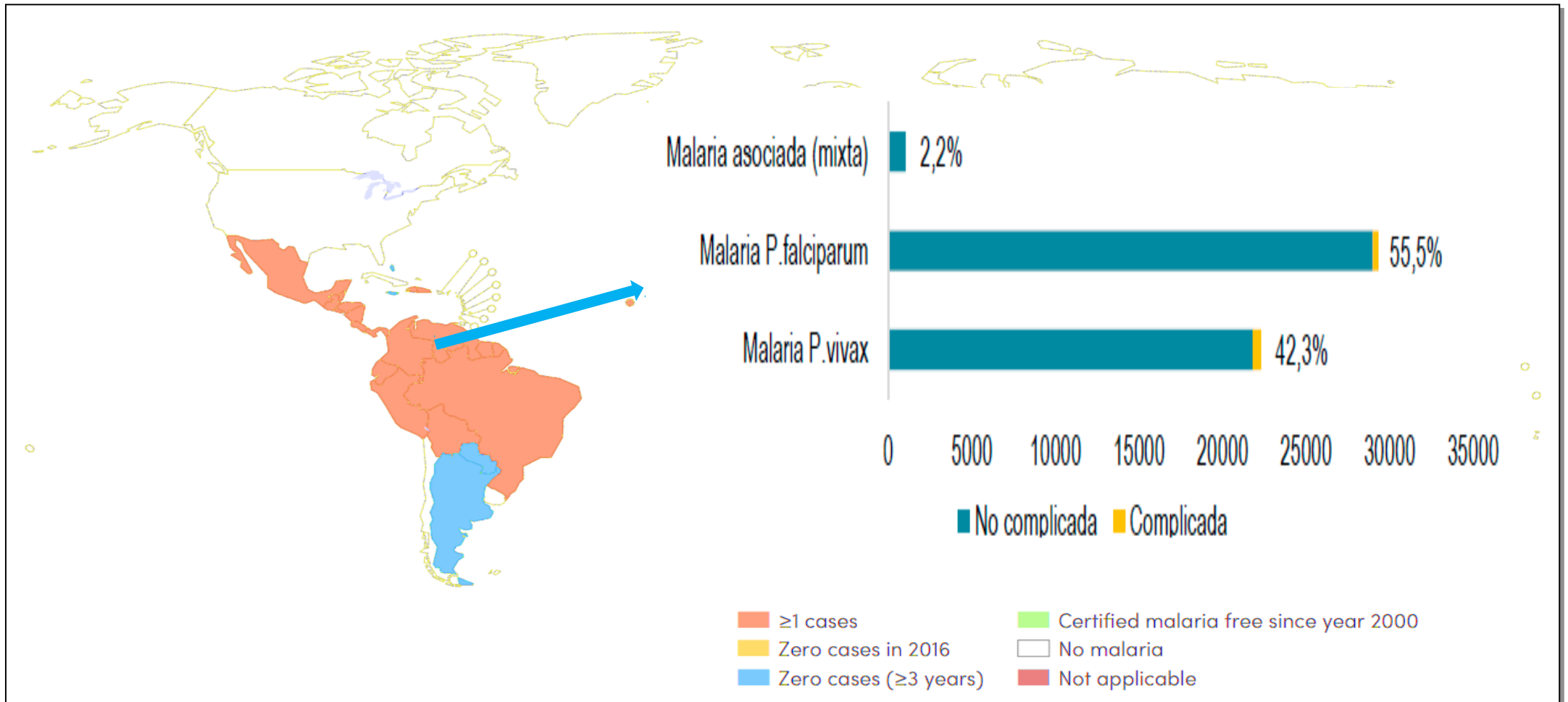
<http://diariote.mx/wp-content/uploads/2015/04/sintomas-malaria.jpg>

ASPECTO	<i>P.vivax</i>	<i>P.falciparum</i>
Periodo de incubación (días)	15 días o hasta 6-12 meses	12 (9-14) días
Ciclos eritrocíticos (horas)	48	48
Célula blanco	Reticulocitos	Todos los estadios de maduración del glóbulo rojo
Picos febriles	8-12 horas	10-36 horas
Recaídas	Si	No

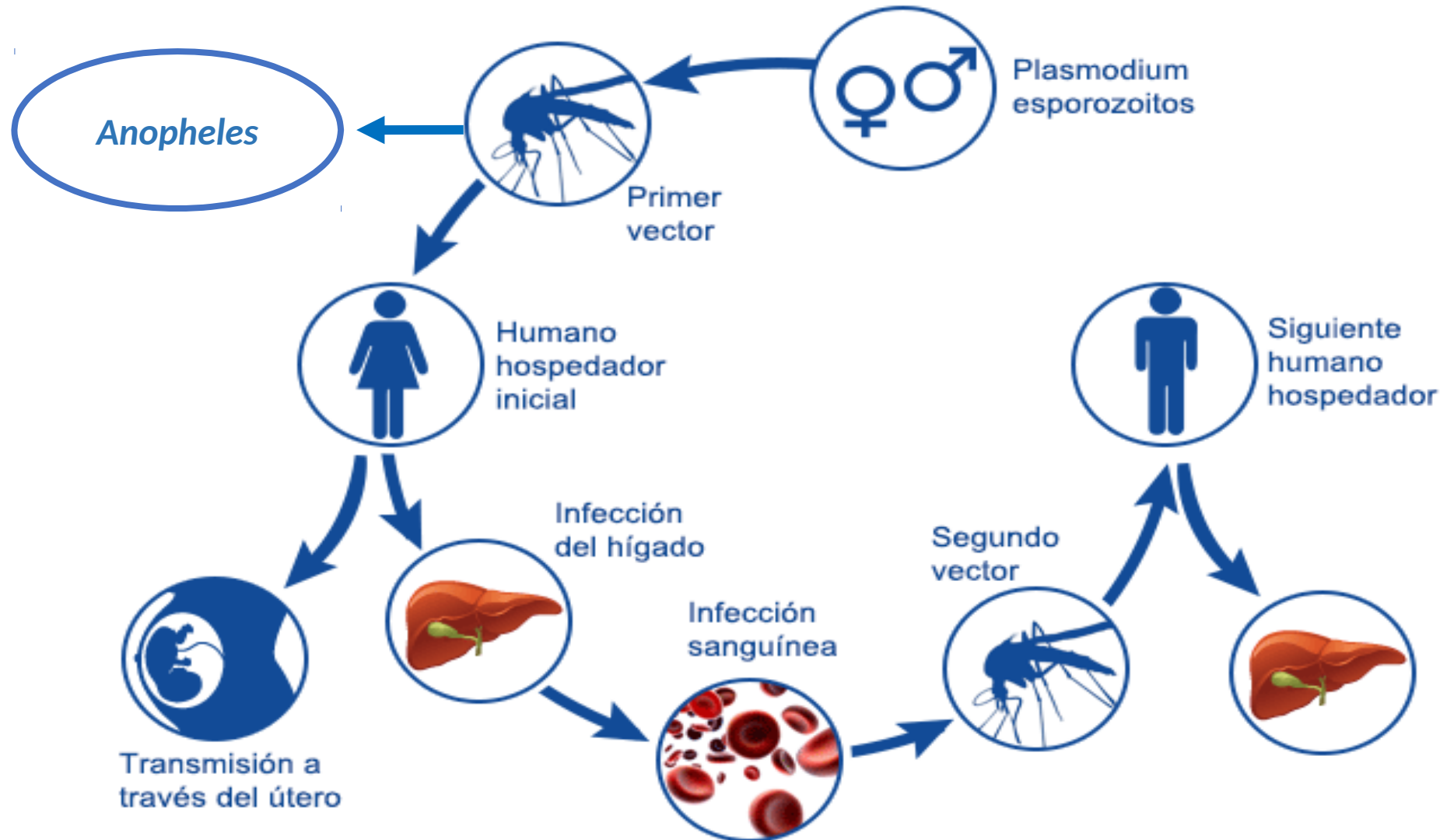


<https://wikicharlie.cl/w/Malaria>

# DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DE MALARIA EN EL MUNDO

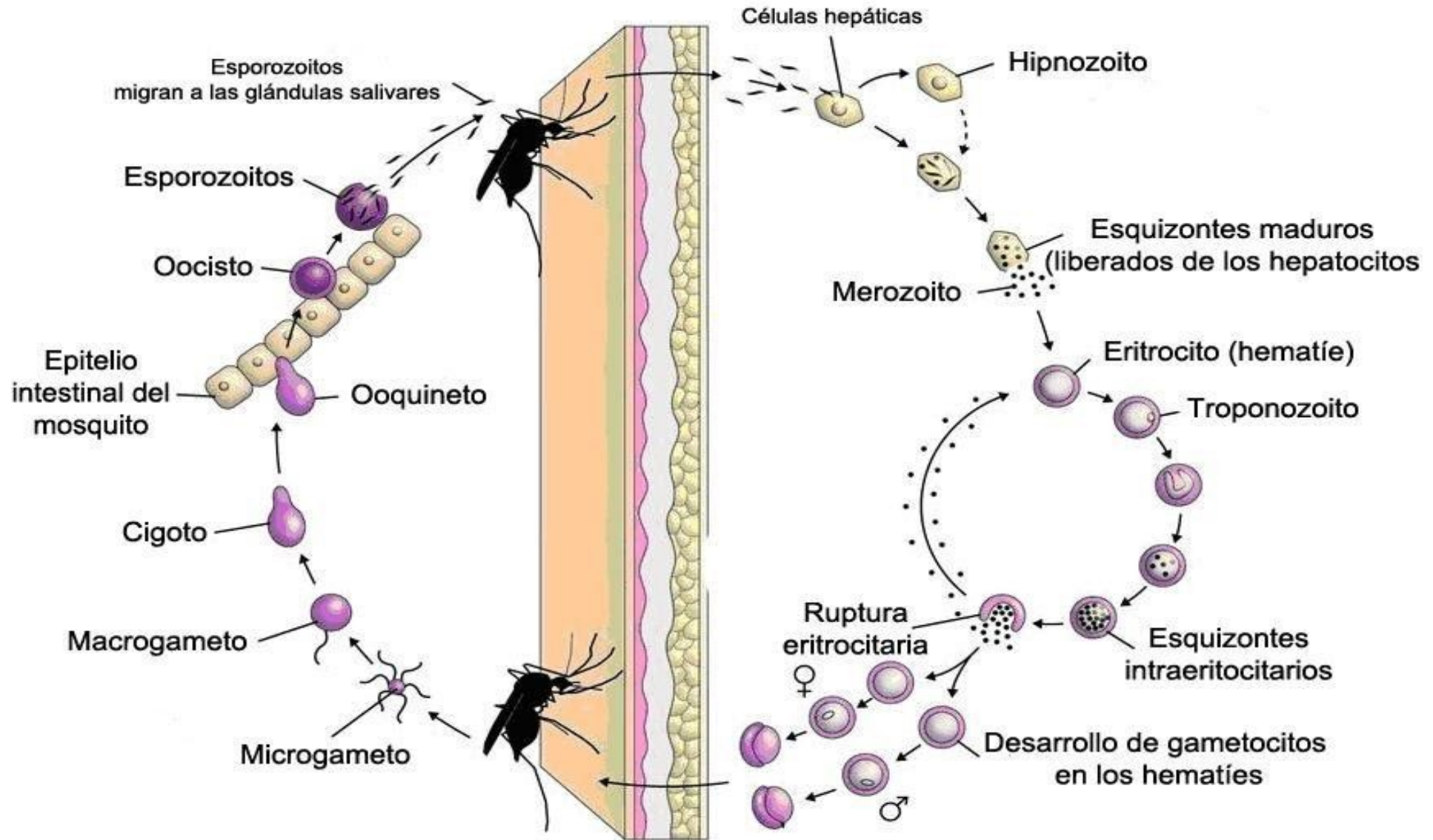


# CICLO DE TRANSMISIÓN

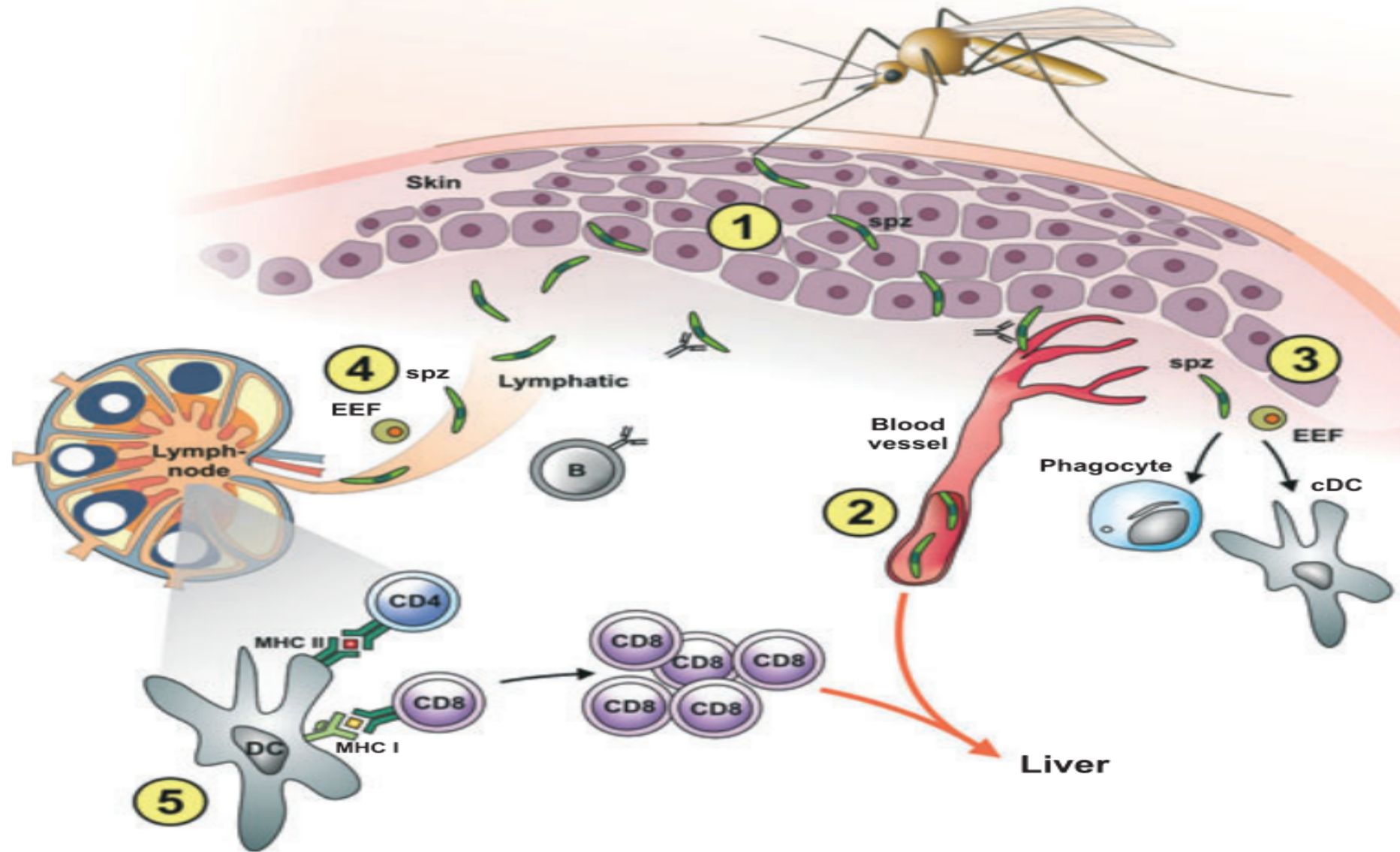




# CICLO BIOLÓGICO

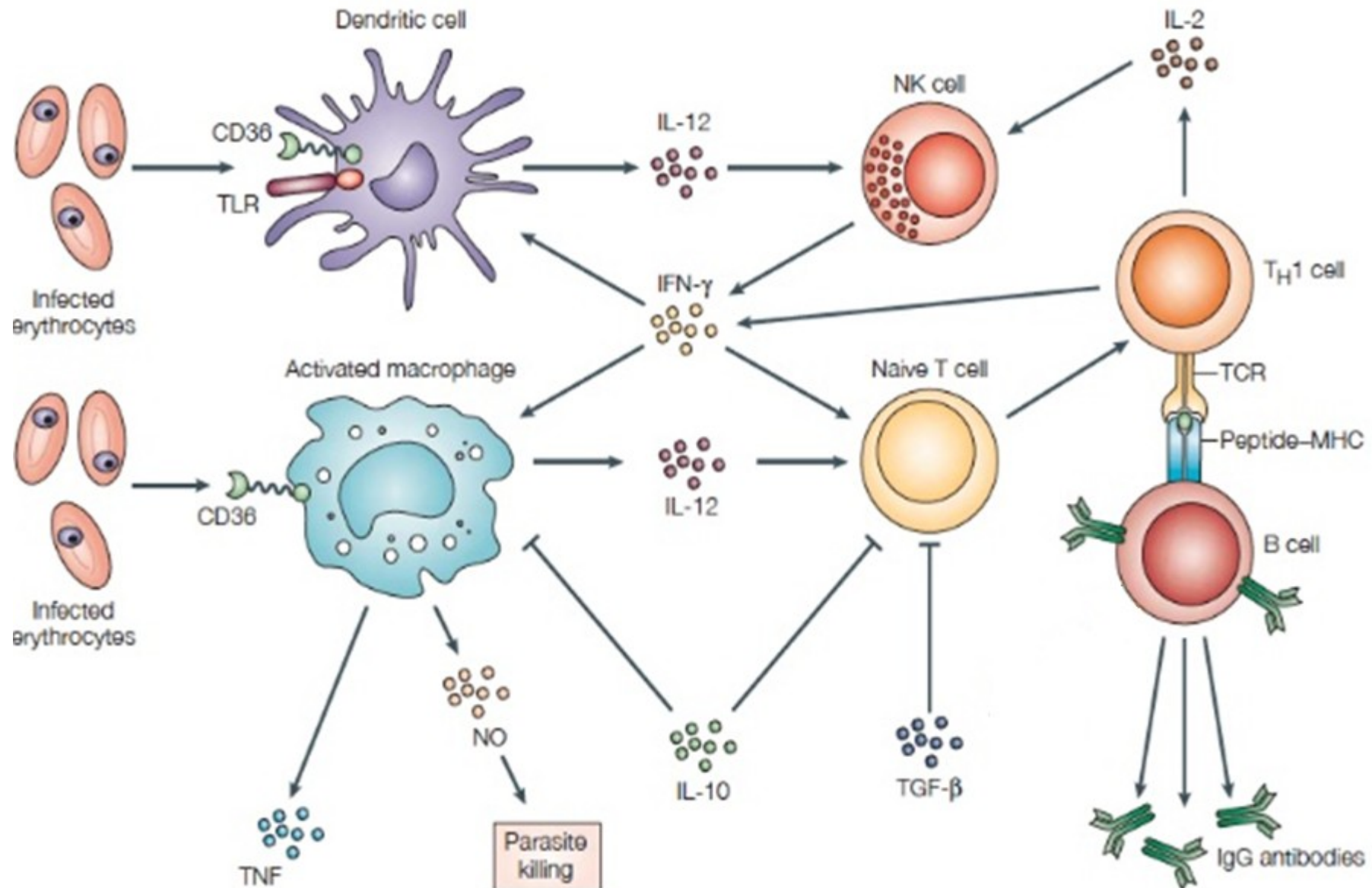


# RESPUESTA INMUNE



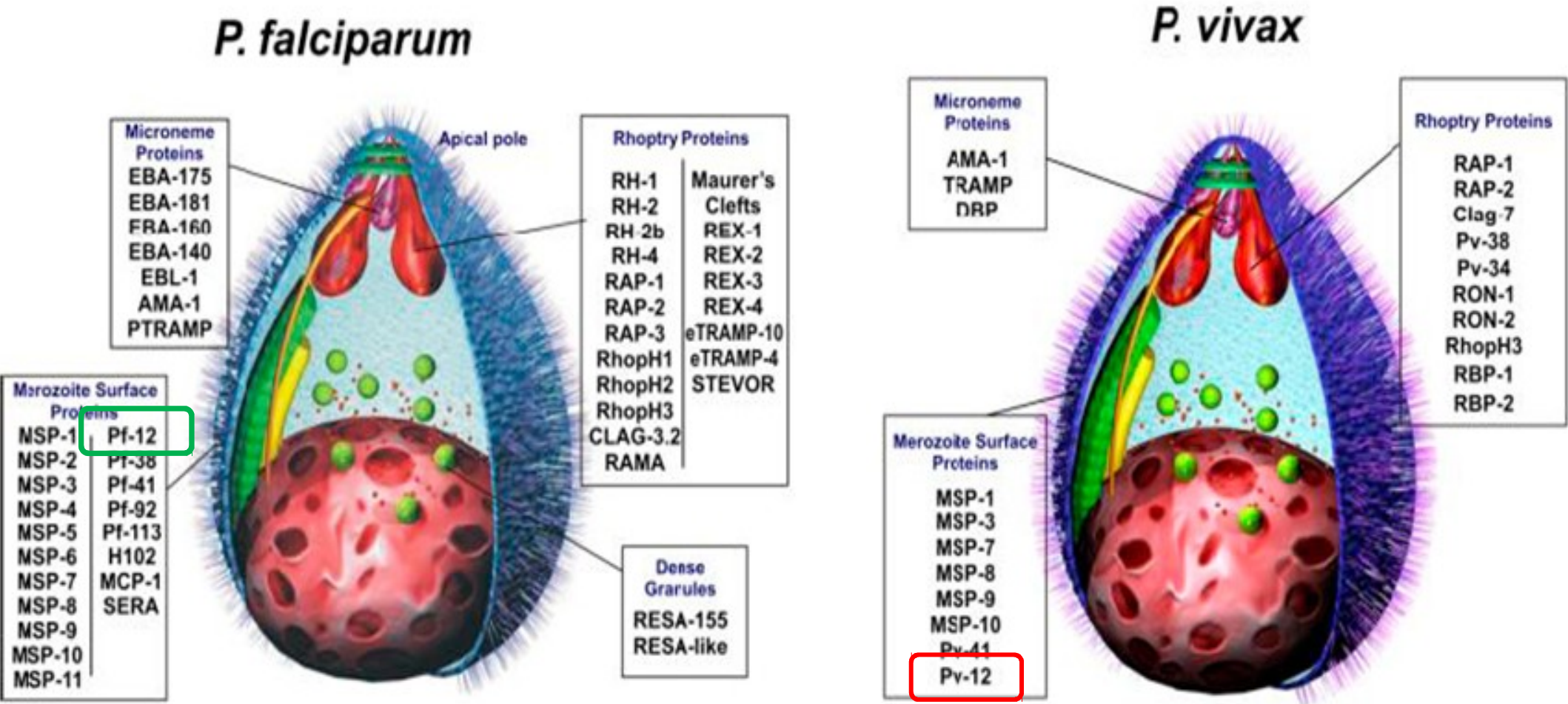
**Fase**  
**exo-eritrocitaria**

# FASE INTRA-ERITROCITARIA





# PROTEÍNAS DEL MEROZOITO



# OBJETIVOS

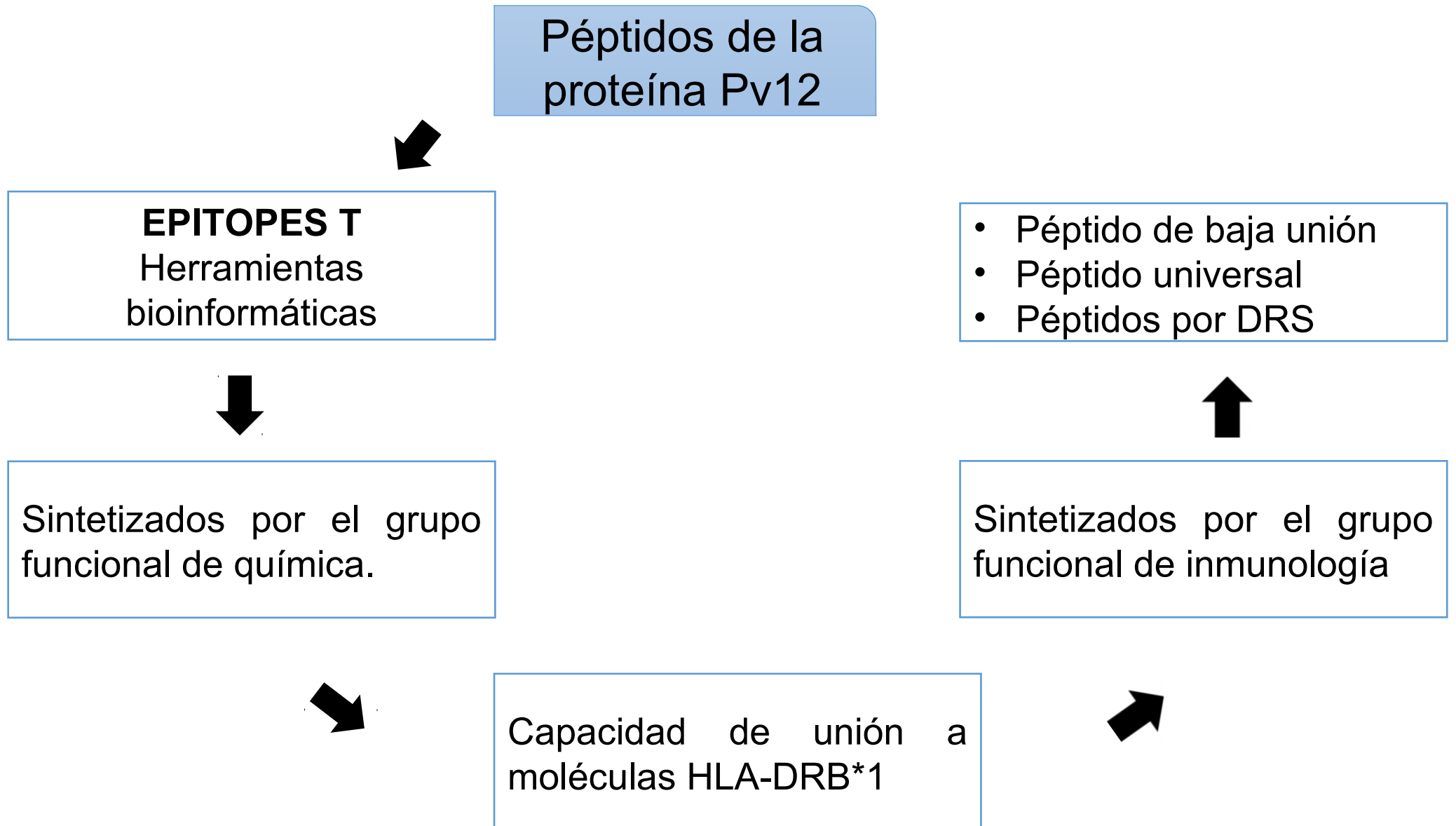
## GENERAL

Evaluar la antigenicidad de péptidos derivados de la proteína *Pv12* de *Plasmodium vivax* a partir de muestras obtenidas de individuos de zonas endémicas en Colombia.

# OBJETIVO ESPECÍFICO

- Determinar la capacidad de linfoproliferación de epitopes T de la proteína Pv12 en muestras de individuos de zonas endémicas.

# SELECCIÓN DE PÉPTIDOS



# OBTENCIÓN DE LAS MUESTRAS

Alelo DRB1\*

\*04

\*07

\*11

\*13



- Tipificados por la FIDIC.
- Mayor distribución en zonas de malaria por *P.vivax*



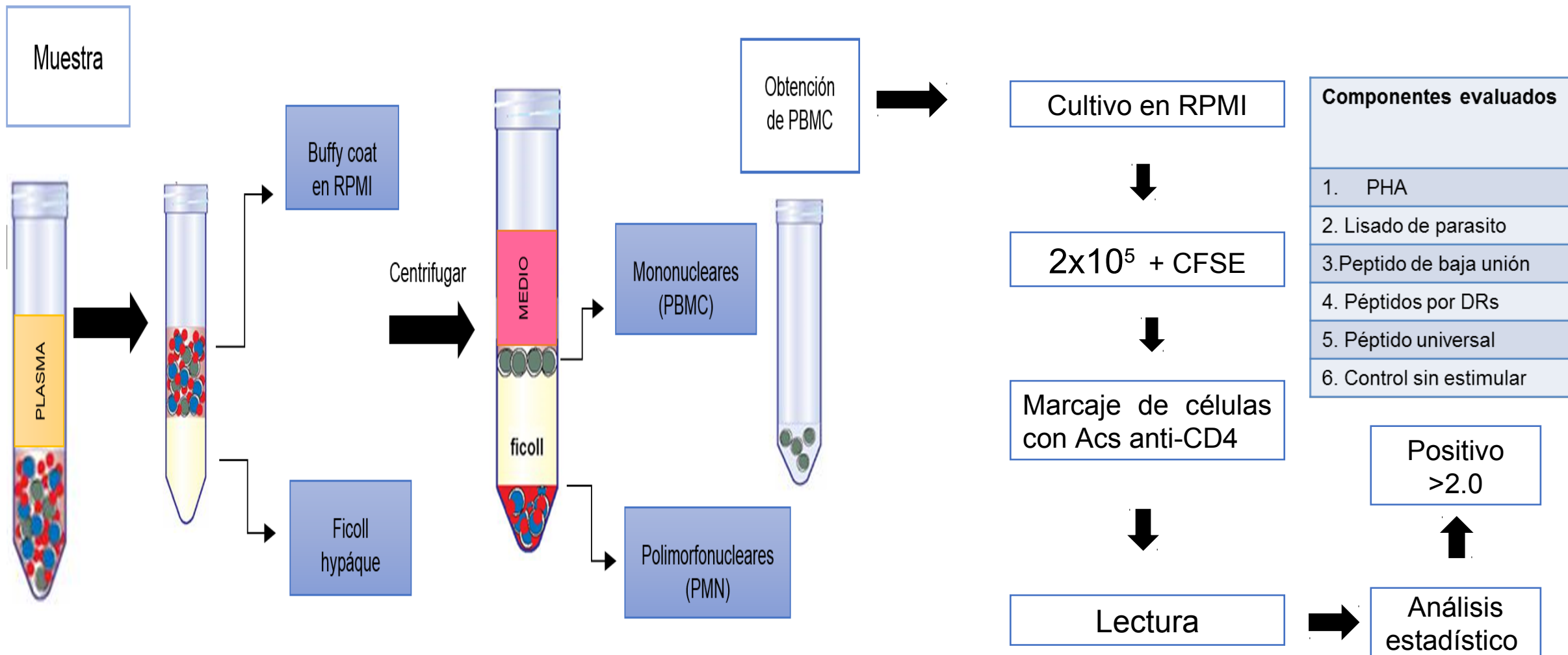
30 individuos de zonas endémicas, 8 individuos de zonas no endémicas



1. Mayor de edad
2. Residir en zona endémica (Córdoba y Choco).
3. Uno o mas episodios (*p.vivax*)
4. No infecciones mixtas.
5. 6 meses antes.
6. Tratamiento idóneo.



# ENSAYO DE LINFOPROLIFERACIÓN



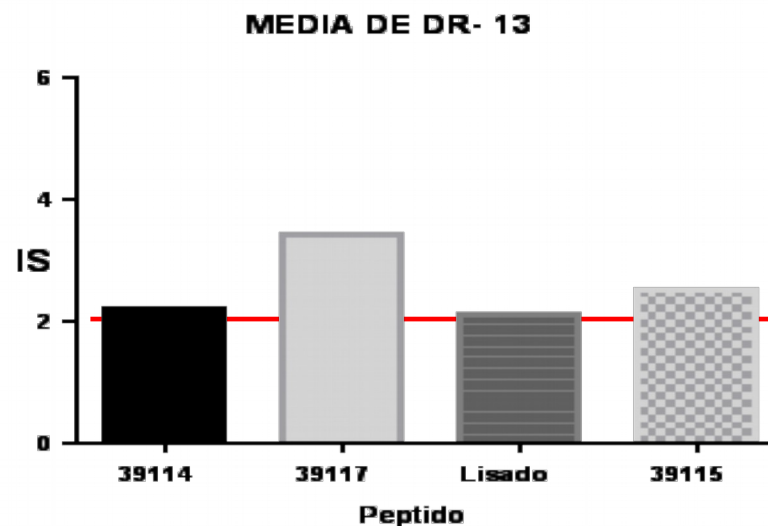
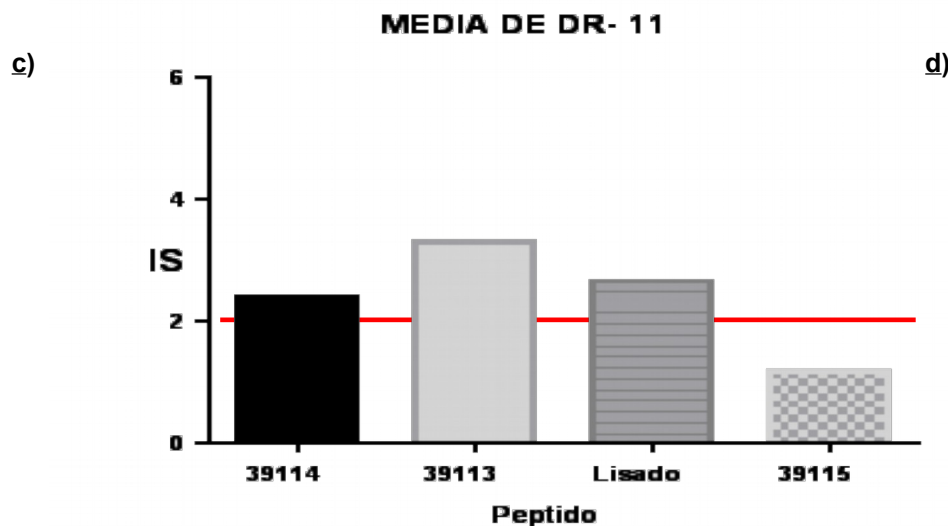
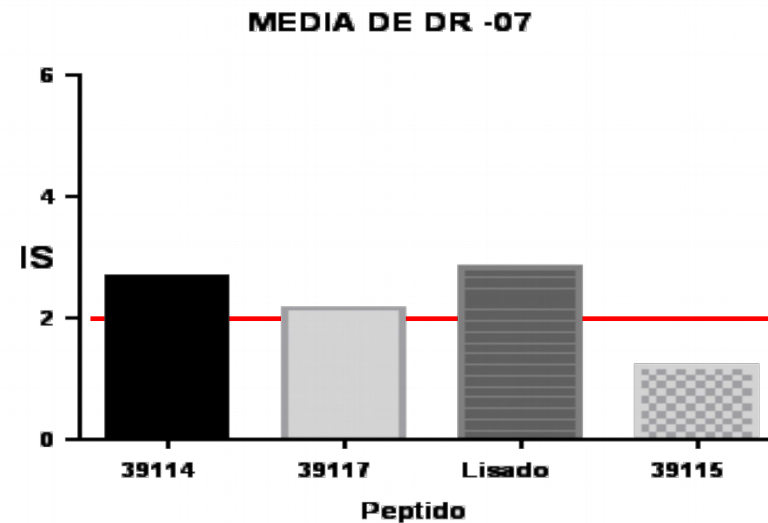
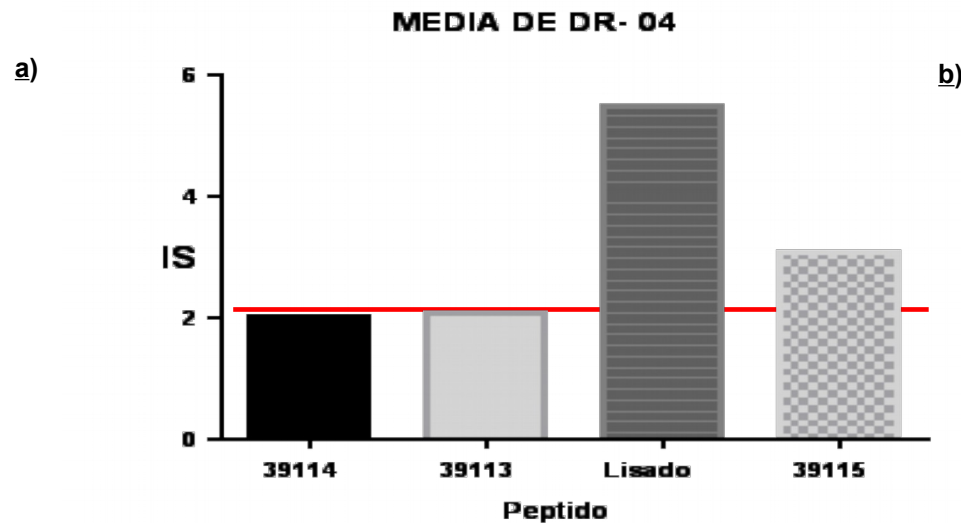
**Obtención de células mononucleares**

# PÉPTIDOS PARA ENSAYO DE LINFOPROLIFERACIÓN

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

DR	PEPTIDO ESPECIFICO	PEPTIDO UNIVERSAL	PEPTIDO DE BAJA UNION	UBICACIÓN
				EN PROTEINA 3' a 5'
DR*04	39113 EECFLQGFNLSG KKE	39114 YNKIFYARVPQRI YQ	39115 KKSYYDDVSFRVP PNL	MRIAKAALCGQLLIWWLSAPAEGFTHTCDFNDELSLEF DERQMTNGEQICTLKPDVLDKVIKCGAERKNYELLPN NCFEQVFTSKSIEDAKNAHNAHNVHNVQNAQQLVEYLH GAAAVKRRKQKETNADEKKSYYDDVSFRVPPNLEKEQKA LYCVCQNKAKIRVRKRSGEEYDKEIFNLGIIIEVLIPSLPKKI DGCDFTKNTSPLFTKGYDANFYKTIENKDDVICKVKATE GKLIGFKCPADYAIPEEFCFLQGFNLSGKKEQLRTKIELT DLVMDHYNKIFYARVPQRIYQNMHFFCACVLEEKRLVAH FEFATTPDDQNSVSEPRANVLQGRSAGSAAFPGPGPFL LLLSGVLFEIM
DR*11				
DR*07				
DR*13	39117 LGIIIEVLIPSLPKKI			

# ÍNDICE DE ESTIMULACIÓN PARA CADA DR



IS: INDICE DE ESTIMULACIÓN

# REACTIVIDAD DE LOS PÉPTIDOS

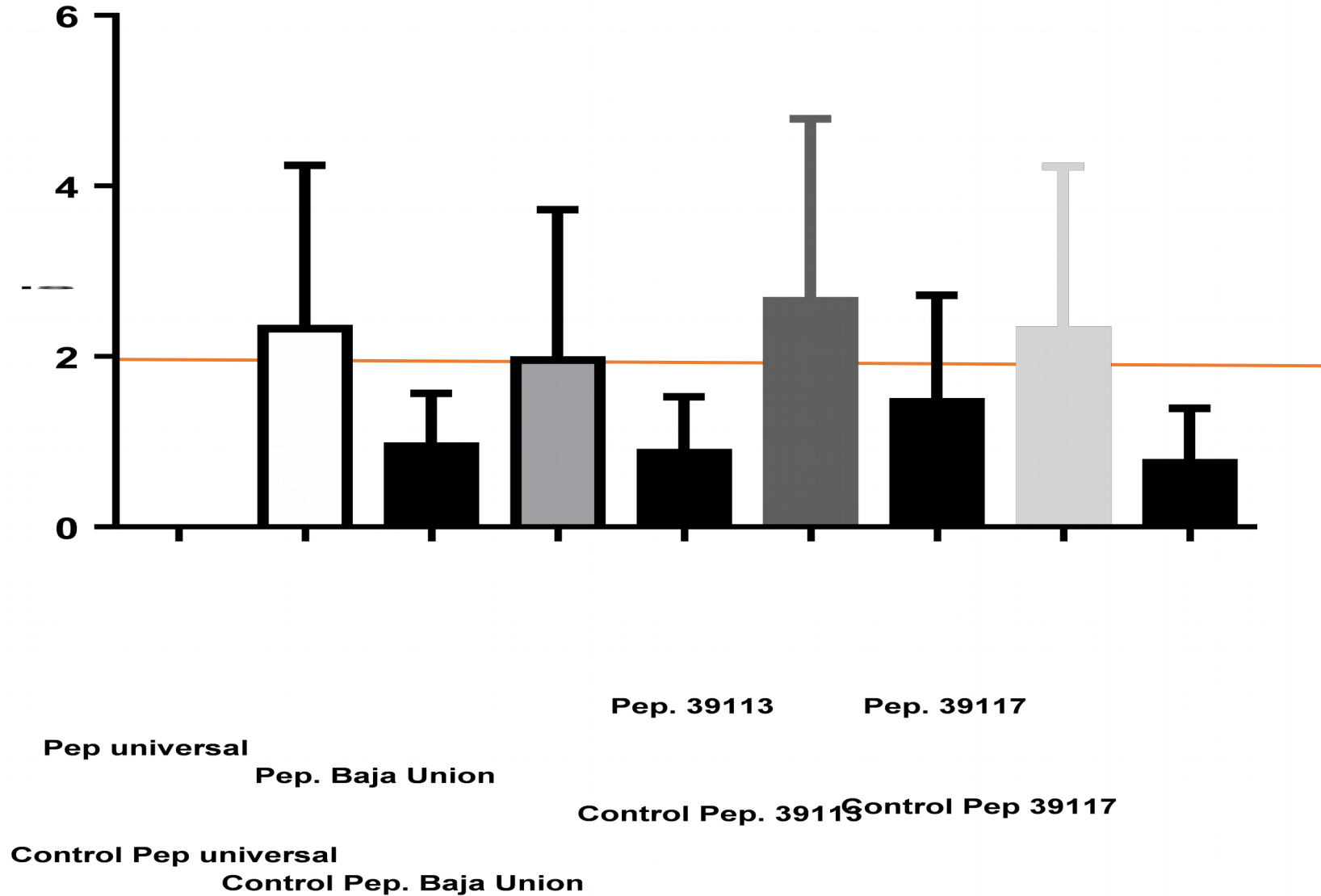
Péptido universal 39114			Péptido 39113			Péptido 39117			Péptido de baja unión 39115		
R	SIG	SDSI	R	SIG	SD SI	R	SIG	SD SI	R	SIG	SDSI
14/2 9	2,33 <input type="text"/>	1,64	7/15	2,65 <input type="text"/>	2,06	6/14	2,31 <input type="text"/>	1,85	4/29	1,33 <input type="text"/>	1,23

- **R**: número de muestras evaluadas que presentaron un índice de estimulación positivo (igual o mayor 2.0).
- **SIG**: Promedio del índice de estimulación para cada grupo de exposición.
- **SD SI**: Desviación estándar del IS para cada grupo de exposición.

UBICACIÓN EN LA  
PROTEINA

Fonseca y col.2016,Perú.

# IS DE LOS LINFOCITOS CD4+



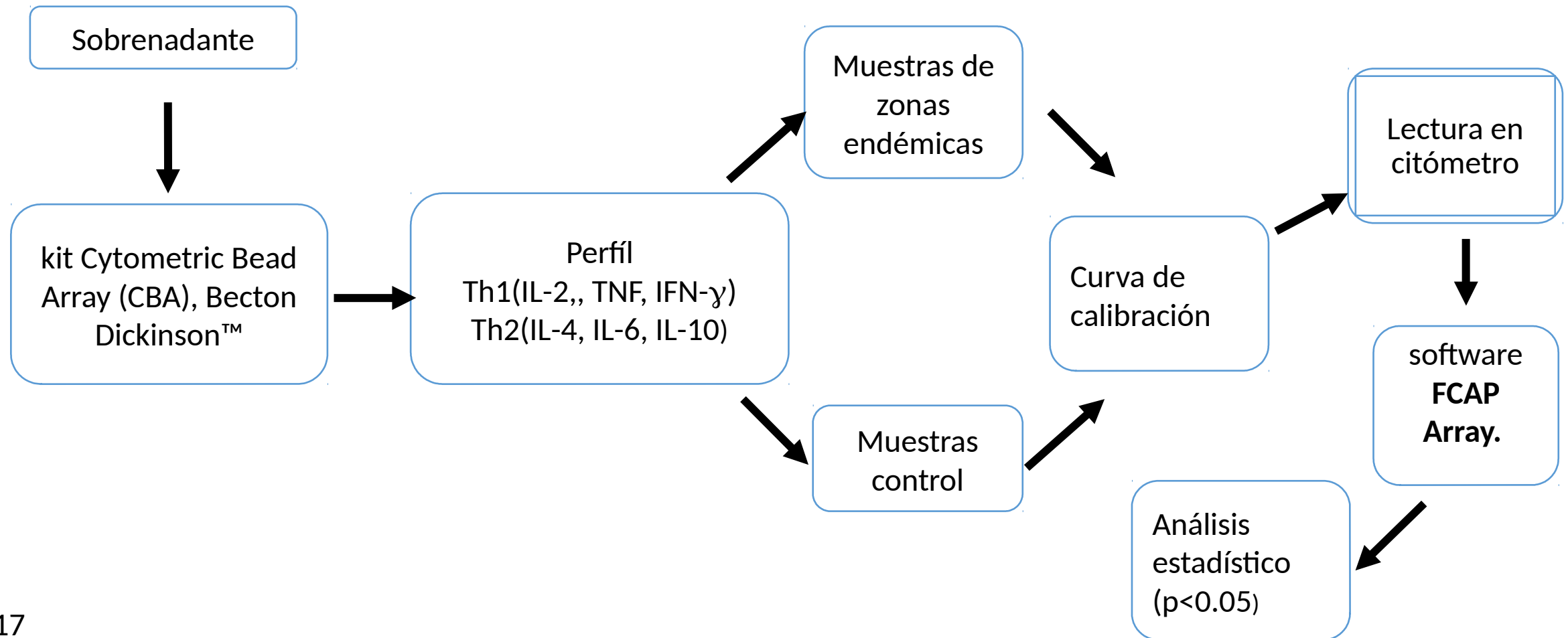
James y col, 2013



## OBJETIVO ESPECÍFICO

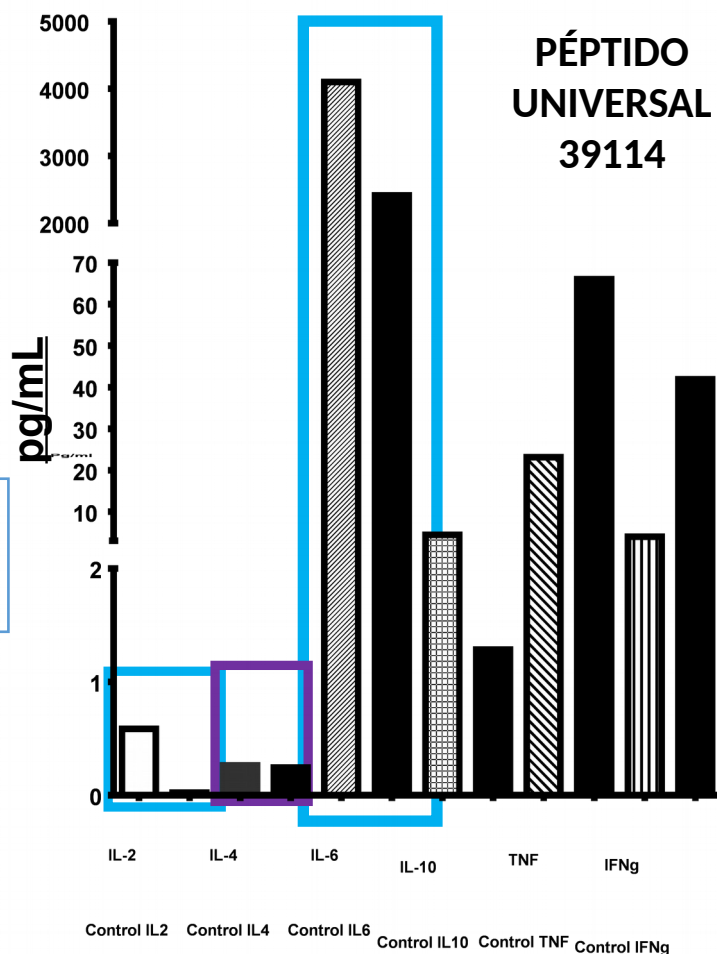
- Establecer la producción de citoquinas en los sobrenadantes de linfoproliferación a partir de las muestras de los individuos de estudio

# CUANTIFICACIÓN DE CITOQUINAS POR CBA

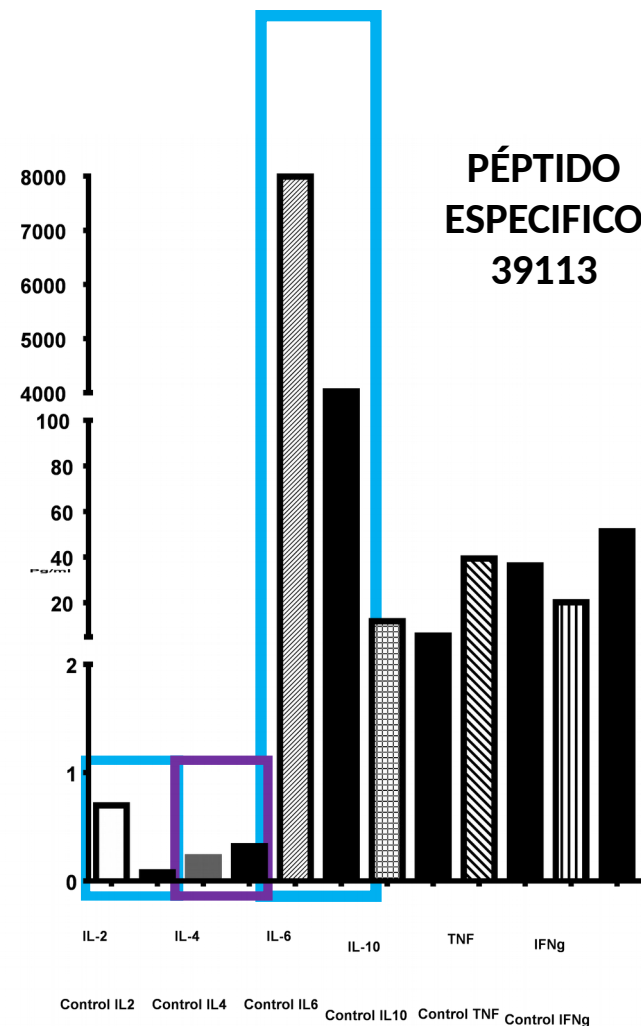


# CONCENTRACIÓN DE CITOQUINAS POST ESTIMULACIÓN

Sebina y col, 2017.



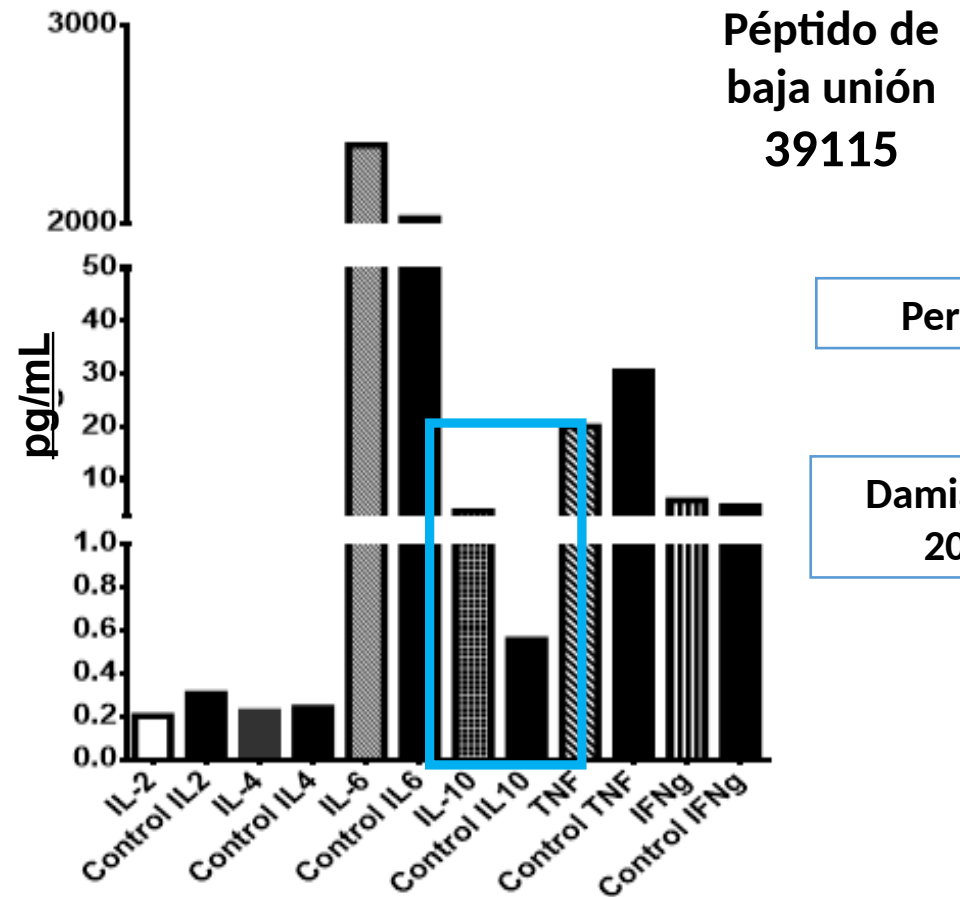
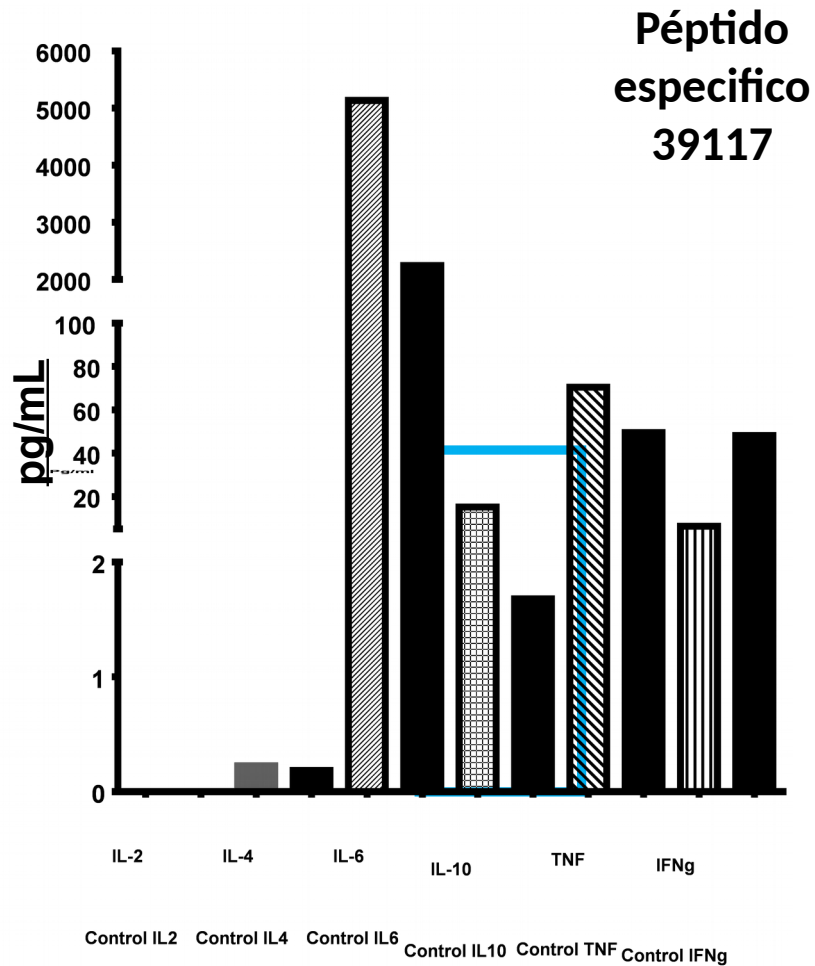
Martinez y col 2010, Colombia



Elhussein y col, 2015,

Dorothy y col, 2004

# CONCENTRACIÓN DE CITOQUINAS POST ESTIMULACIÓN



Perez y col.2014

Damián Pérez y col,  
2015, London

# OBJETIVO ESPECÍFICO

- Evaluar la respuesta inmune humoral de epítopes B en las muestras de los mismos individuos.

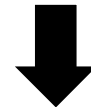


# SELECCIÓN DE PÉPTIDOS

Péptidos de la  
proteína Pv12



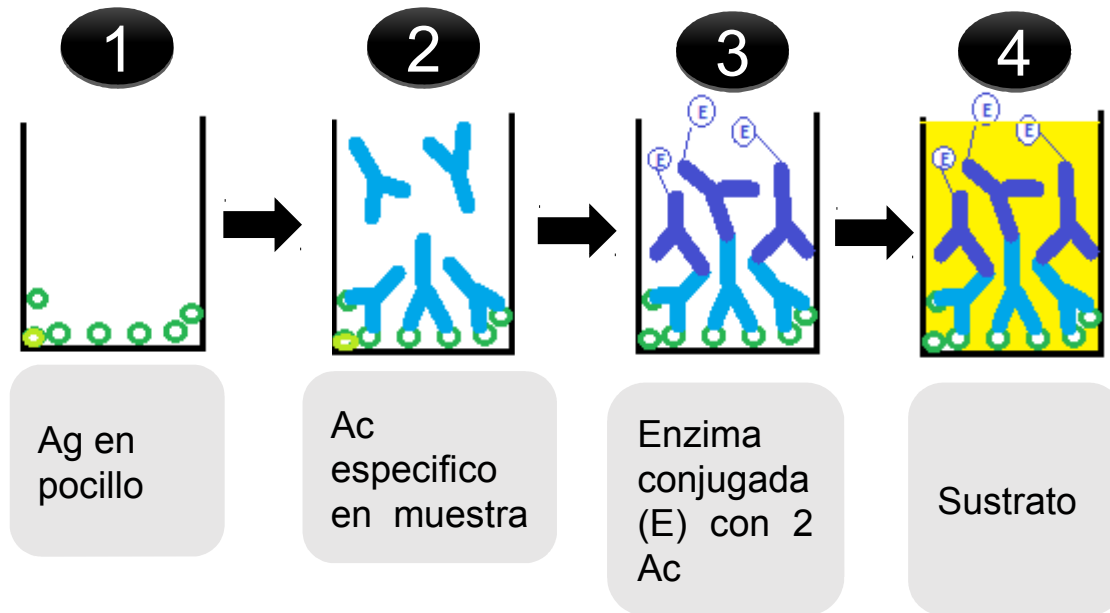
**EPITOPES B**  
Herramientas  
bioinformáticas



Sintetizados por el  
grupo funcional de  
química.

# DETERMINACIÓN DE REACTIVIDAD POR EPITOPES B

- ELISA INDIRECTA



Espectrofotómetro

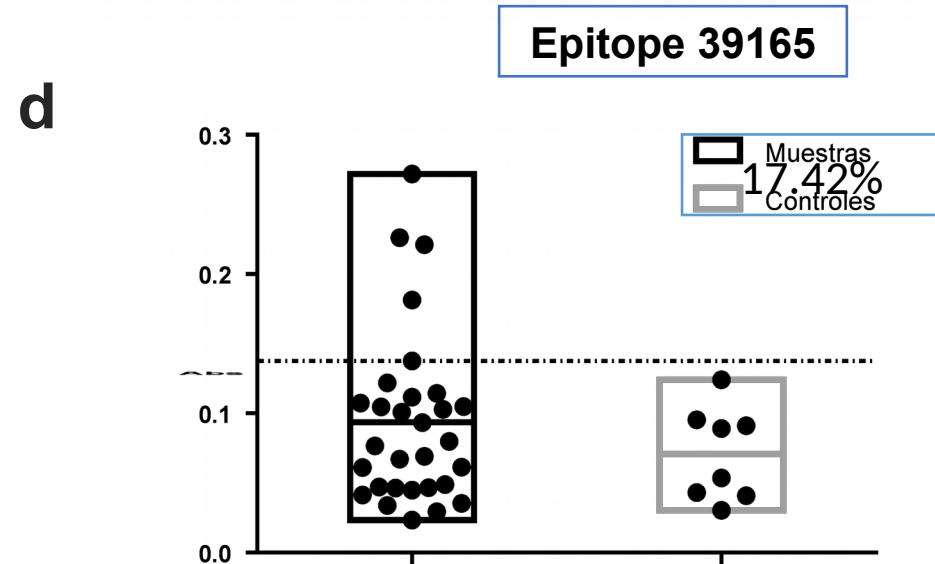
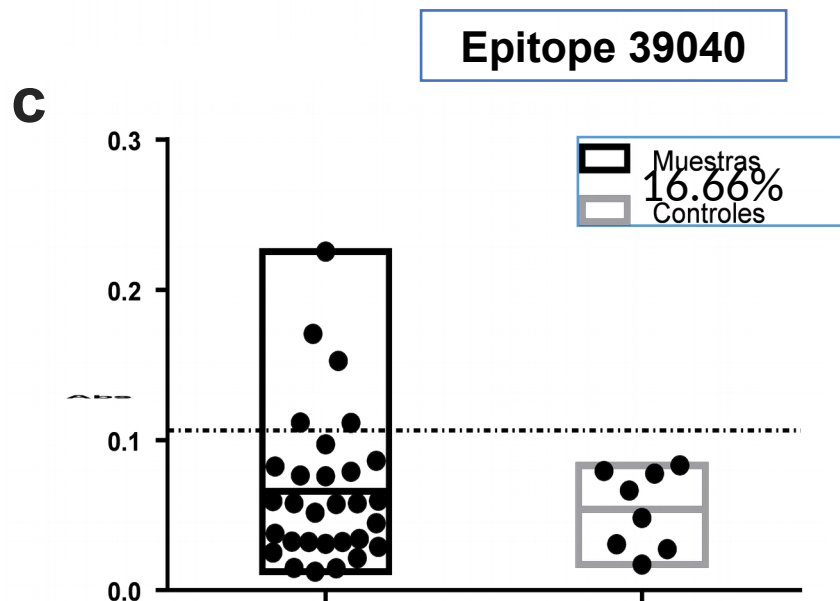
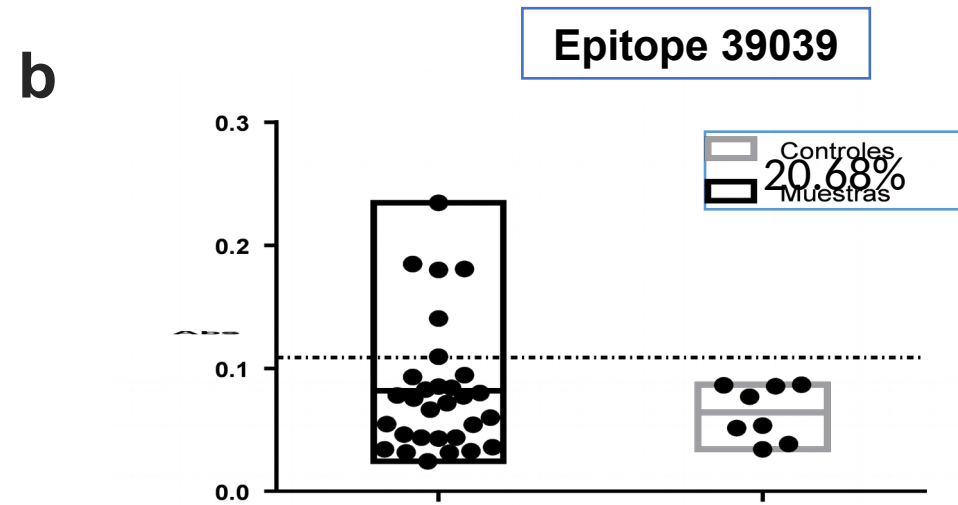
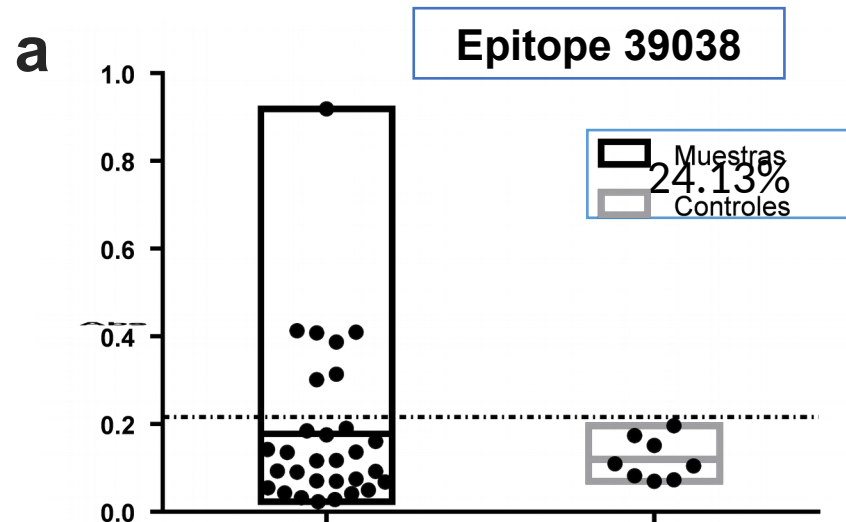


<https://www.fishersci.es/shop/products/multiskan-go-microplate-spectrophotometer/p-4530546>

# PÉPTIDOS PARA LA REACTIVIDAD DE EPITOPES B

EPITOPE	CODIGO	SECUENCIA PEPTIDO	Ubicación 3' a 5'
EB1	39038	AKIRVRKRSGEEYDK EIFNL	MRIAKAALCGQLLIWWLSAPAEGFTHTCDFNDELSLEFDE RQMTNGEQICTLKPDVLDKWKCGAERKNYELLPNCFE QVFTSKSIEDAKNAHNAHNVHNVQNAQQLVEYLHGAAAI <b>VK</b>
EB2	39039	AHFEFATTPDDQNSV SEPRA	<b>RKQKETNADEKKS</b> <b>YDDVS</b> FRVPPNLEKEQKALYCVCQNK AKIRVRKRSGEEYD <b>KEIFNL</b> GIIEVLIPSLPKKIDGCDFTKNT
EB3	39040	FNL <b>SGKKEQLRTKIEL</b> TDLV	SPLFTKGYDANFYKTIENKDDVICKVKATEGKCLIGFKCPADY AIEPEECFLQGF <b>FNL</b> <b>SGKKEQLRTKIEL</b> <b>TDLVMDHYNKIFYA</b>
EB4	39165	<b>VKRKQKETNADEKKS</b> <b>YDDVS</b>	RVPQRIYQNMHFFCACVLEEKRLV <b>AHFEFATTPDDQNSVS</b> <b>EPRA</b> ANVLQGRSAGSAAFPGPFLLLLLSGVLFFIM

# REACTIVIDAD EPITOPES B



- a) B1
- b) B2
- c) B3
- d) B4

# Conclusiones

- ❑ Los péptidos estimulantes 39113, 39114 y 39117 fueron capaces de presentar linfoproliferación, obteniendo cada uno de ellos un índice de estimulación positiva.
- ❑ Se evidenció producción con diferencias significativas de IL-6 Y IL-10 en muestras estimuladas con el péptido específico 39117 y péptido de baja unión 39115, a su vez se obtuvo producción significativa de IL-6 en muestras estimuladas con el péptido específico 39113.
- ❑ Se evidenció que todos los epitopes B mostraron reactividad, sin embargo, el epitopé B1 fue el que presentó mayor reactividad con un porcentaje de 24.13%, lo que equivale a 7 de 29 muestras estimuladas, pero no se obtuvo diferencia significativa entre las muestras y los controles.
- ❑ Se identificó capacidad antigénica en los péptidos 39117 y 39113 de la proteína *Pv12* a través de ensayos de linfoproliferación y cuantificación de citoquinas.

# Agradecimientos

- A Dios por permitirnos llegar hasta este momento, con su ayuda y direccionamiento.
- Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca por ser nuestra segunda casa durante todo este proceso.
- A la Fundación Instituto Inmunología de Colombia-FIDIC, por recibirnos de una manera tan grata y así mismo darnos la oportunidad de crecer tanto personal como profesionalmente.
- Al grupo funcional de inmunología y en especial a la Magister Carolina López por su apoyo, dirección y acompañamiento.
- A la docente Edith Del Carmen Hernández Rojas por su asesoría y apoyo en esta última etapa.