

Avances en el desarrollo de una vacuna contra la malaria por *Plasmodium falciparum*: una revisión de literatura

Alida M Gómez-Rodríguez¹; Jessica S Molina-Franky¹; David R Salamanca-Jiménez¹;
César M Reyes- Santofimio²

RESUMEN

Introducción. La malaria por *Plasmodium falciparum* es una enfermedad causante de altas tasas de morbilidad a nivel mundial. Diferentes candidatos a vacuna se han evaluado experimentalmente en humanos; sin embargo, no se dispone de ninguna vacuna que reduzca o elimine esta devastadora enfermedad.

Objetivo. Describir en términos de diseño, respuesta inmune, eficacia protectora y perspectivas, los principales candidatos vigentes a vacuna contra la malaria por *Plasmodium falciparum*, dirigidos a las fases pre-eritrocítica y eritrocítica.

Metodología. Se realizó una revisión descriptiva de trabajos publicados en bases de datos PubMed, Science Direct, Embase y MedLine. Los criterios de inclusión fueron: trabajos publicados en una ventana de tiempo entre 2000 y 2019, candidatos a vacuna contra *Plasmodium falciparum* en estadios pre y eritrocíticos y vigencia según la Organización Mundial de la Salud. En total, se revisaron 90 artículos originales, encontrando que 63 cumplieron con todos los criterios establecidos, mientras que 27, no cumplieron por lo menos con un criterio.

Resultados. Los candidatos a vacunas vigentes incluyen diseños basados en parásitos atenuados, proteínas recombinantes, vectores virales y síntesis química. Las formulaciones contienen un número mínimo de antígenos con secuencias de aminoácidos altamente polimórficas, que inducen un aceptable perfil de inmunogenicidad, aunque una limitada eficacia protectora contra la malaria, debido a que tales regiones polimórficas son inmunodominantes, confiriendo únicamente inmunidad específica de cepa.

Conclusiones. El desarrollo de una vacuna efectiva contra la malaria por *Plasmodium falciparum* posiblemente requiera incluir múltiples epítopes funcionalmente relevantes, del estadio pre y eritrocítico, que contengan regiones conservadas entre cepas, para lograr inducir respuestas inmunes duraderas que bloqueen la invasión del parásito a células hepáticas y eritrocitos.

Palabras clave: malaria, *Plasmodium falciparum*, vacunas, inmunogenicidad, protección.

¹ Universidad de Boyacá, Tunja, Colombia.

² Universidad del Rosario, Bogotá, Colombia

Correspondencia: Alida Marcela Gómez Rodríguez. Dirección Carrera 2a este N° 64-169. Tunja (Boyacá), Colombia. Teléfono: +(577) 3212353632. Correo electrónico aligomez@uniboyaca.edu.co

Citar este artículo así:

Gómez-Rodríguez AM, Molina-Franky JS, Salamanca-Jiménez DR; Reyes-Santofimio CM. Avances en el desarrollo de una vacuna contra la malaria por *Plasmodium falciparum*: una revisión de literatura. Revista Investig Salud Univ Boyacá. 2020;7(1): 137-160. doi: <https://doi.org/10.24267/23897325.428>

Advances in the development of vaccine against malaria by *Plasmodium falciparum*: a literature review

ABSTRACT

Introduction. *Plasmodium falciparum* malaria is a disease that causes high rates of morbidity and mortality worldwide. Different vaccine candidates have been evaluated experimentally in humans; however, there is no vaccine available that reduces or eliminates this devastating disease.

Objective. Describe in terms of design, immune response, protective efficacy and perspectives, the main current candidates for *Plasmodium falciparum* malaria vaccine aimed at the pre-erythrocytic and erythrocyte phases.

Methodology. A descriptive review of works published in PubMed, Science Direct, Embase and MedLine databases was carried out. The inclusion criteria were: papers published in a time window between 2000 and 2019, candidates for vaccine against *Plasmodium falciparum* in pre and erythrocyte stages and validity according to the World Health Organization. In total, 90 original articles were reviewed, finding that 63 met all the established criteria, while 27 did not meet at least one criterion.

Results. Applicants for current vaccines include designs based on attenuated parasites, recombinant proteins, viral vectors and chemical synthesis. The formulations include a minimum number of antigens with highly polymorphic amino acid sequences, which induce an acceptable immunogenicity profile, although a limited protective efficacy against malaria.

Conclusion. The development of an effective vaccine against malaria by *Plasmodium falciparum* may require the inclusion of multiple functionally relevant epitopes, from the pre and erythrocyte stage, which do not contain polymorphic regions, in order to induce lasting immune responses that block the invasion of the parasite to hepatic and erythrocyte target cells.

Keywords: malaria, *Plasmodium falciparum*, vaccines, immunogenicity, protection.

Avanços no desenvolvimento de uma vacina contra a Malária por *Plasmodium falciparum*: Uma revisão da literatura.

RESUMO

Introdução. A malária por *Plasmodium falciparum* é uma doença que causa altas taxas de morbimortalidade em todo o mundo. Diferentes candidatos à vacina foram avaliados experimentalmente em humanos; no entanto, nenhuma vacina está disponível para reduzir ou eliminar esta doença devastadora.

Objetivo. Descrever em termos de projeção, resposta imune, eficácia protetora e perspectivas, os principais candidatos atuais à vacina contra a malária por *Plasmodium falciparum*, visando às fases pré-eritrocítica e eritrocítica.

Metodologia. Foi realizada uma revisão descritiva dos trabalhos publicados nas bases de dados PubMed, Science Direct, Embase e MedLine. Os critérios de inclusão foram: trabalhos publicados em uma janela temporal entre 2000 e 2019, candidatos à vacina contra *Plasmodium falciparum* nos estágios pré e eritrocitários e validade de acordo com a Organização Mundial da Saúde. No total, foram revisados 90 artigos originais, constatando que 63 atendiam a todos os critérios estabelecidos, enquanto 27 não atendiam pelo menos um critério.

Resultados. Os candidatos atuais à vacina incluem projeções baseadas em parasitas atenuados, proteínas recombinantes, vetores virais e síntese química. As formulações contêm um número mínimo de antígenos com sequências de aminoácidos altamente polimórficas, que induzem um perfil de imunogenicidade aceitável, embora com eficácia protetora limitada contra a malária, uma vez que essas regiões polimórficas são imunodominantes, conferindo apenas imunidade específica à cepa.

Conclusão. O desenvolvimento de uma vacina eficaz contra a malária por *Plasmodium falciparum* pode exigir a inclusão de vários epítomos funcionalmente relevantes, do estágio pré e eritrocítico, contendo regiões conservadas entre as cepas, a fim de induzir respostas imunes duradouras que permitam bloquear a invasão do parasita nas células hepáticas e eritrócitos.

Palavras-chave: malária, *Plasmodium falciparum*, vacinas, imunogenicidade, proteção.

INTRODUCCIÓN

La malaria es una enfermedad de gran impacto en la salud pública en todo el mundo (1). De las cinco especies de parásitos que causan esta enfermedad en el ser humano, *Plasmodium falciparum* es la especie responsable de la mayor tasa de morbimortalidad a nivel mundial, con 200 millones de casos y aproximadamente 400.000 muertes anuales (2). A pesar de muchos esfuerzos en el diagnóstico temprano, el tratamiento oportuno y los intentos de producir vacunas antimaláricas, aún no se ha logrado una estrategia completamente efectiva para controlar esta enfermedad (3-4).

El ciclo de vida de *Plasmodium* spp. es complejo, ya que presenta múltiples estadios y dos huéspedes: un invertebrado (mosquito), donde se reproduce sexualmente y un vertebrado (humano), en el que se reproduce asexualmente, en cada uno el parásito utiliza múltiples antígenos que pueden ser inmunógenos (5). La infección inicia cuando el mosquito *Anopheles* hembra, inocula entre 20 a 200 esporozoítos (Spz) en la piel del huésped humano, los cuales viajan a través del torrente sanguíneo hasta localizar y ubicarse en las células hepáticas (estadio pre-eritrocítico) (6-7). En el hígado, los Spz se reproducen en una nueva forma parasitaria denominada merozoíto (Mrz) que tienen la capacidad de invadir a los glóbulos rojos (estadio eritrocítico) (8-10); en esta fase,

el parásito se multiplica liberando entre 32 a 50 Mrz que pueden invadir otros glóbulos rojos cada 48 a 72 horas por cada ciclo (11-12). Algunos de estos Mrz se convierten en gametocitos que son ingeridos por otro mosquito durante una nueva picadura para comenzar su ciclo sexual y producir nuevos Spz (9-13).

La mayoría de los síntomas son causados por la invasión, reproducción y liberación de Mrz en el torrente sanguíneo, lo que ocasiona múltiples problemas hematológicos que incluyen anemia severa, hemólisis y hemaglutinación como resultado de la destrucción de eritrocitos y por las grandes cantidades de hemoglobina liberada en la circulación, luego de la ruptura de glóbulos rojos (3). Estas afectaciones pueden provocar vasculitis, daño renal y cerebral, ocasionando en algunos casos la muerte de los pacientes (3,4).

En varias regiones del mundo, los mosquitos *Anopheles*, han desarrollado resistencia contra los insecticidas (14) y, así mismo, se ha identificado que los parásitos generan resistencia a algunos tratamientos antimaláricos, de manera que cada vez se hace más necesario el desarrollo de una vacuna que definitivamente logre erradicar esta enfermedad (14-15).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) estableció como objetivo estratégico para el desarrollo de vacunas contra la malaria un 75 % o más

de eficacia contra la malaria clínica, con una protección superior a 2 años para su uso en áreas endémicas en 2030 (1). La mayoría de los estudios clínicos de candidatos a vacuna contra *P. falciparum* han sido direccionados al estadio asexual del parásito, con formulaciones dirigidas a bloquear la infección inicial en la fase hepática o estadio pre-eritrocítico, para prevenir la enfermedad clínica y la transmisión de la malaria, así como estudios enfocados a bloquear la multiplicación del parásito en los glóbulos rojos en la fase eritrocítica que apuntan a evitar la replicación, reducción de la parasitemia y el desarrollo de enfermedad clínica (10,16,17).

Así, esta revisión describe los resultados obtenidos de los diferentes candidatos a vacuna contra los estadios pre-eritrocítico y eritrocítico de *P. falciparum*, que están en curso a la fecha, de acuerdo a la OMS (18), con el propósito de analizar su diseño, inducción de respuesta inmune, eficacia protectora y perspectivas futuras.

METODOLOGÍA

Se realizó una revisión descriptiva sobre candidatos a vacuna dirigidos contra el estadio pre-eritrocítico y eritrocítico de *P. falciparum*, publicados en revistas indexadas en las bases de datos PubMed, Science Direct, Embase y MedLine. Se tuvieron en cuenta criterios de inclusión como la vigencia de los estudios de candidatos a vacuna contra la fase

asexual del ciclo de vida de *P. falciparum* según la OMS (18), asimismo, se seleccionaron todos los artículos disponibles publicados en la ventana de tiempo establecida entre los años 2000 y 2019 escritos en idioma inglés. Se utilizaron los descriptores en Ciencias de la Salud (DeCS) y Medical Subject Headings (MeSH) para la selección de las palabras clave: malaria, *Plasmodium falciparum*, vacunas, inmunogenicidad, protección.

A partir de 90 artículos originales, se seleccionaron 82 correspondientes únicamente a los principales estudios clínicos actuales de candidatos a vacuna, sin incluir ensayos pre-clínicos, de estos, se excluyeron 19 por no presentar información suficiente sobre el diseño, inmunogenicidad y/o protección final. En total, se analizaron 63 referencias que cumplieron con todos los criterios de inclusión establecidos. Se elaboró una matriz bibliográfica en Excel, con los artículos seleccionados, organizados por título, base de datos, autor, tipo de documento, palabras clave, resumen del artículo, fecha de publicación, principales resultados y cita en norma Vancouver o APA. A partir de esta matriz, se generó una tabla con el diseño, formulación y principales resultados obtenidos de los candidatos a vacuna de estudio.

RESULTADOS

Candidatos a vacuna contra el estadio pre-eritrocítico de *P. falciparum*

Vacuna recombinante RTS, S

La vacuna RTS, S consta de un gran segmento (aminoácidos 207 a 395) de la proteína CSP de la cepa *P. falciparum* NF54 en la que se han identificado muchos epítomos variables (6,19). El diseño de la vacuna incluye un tetrapéptido de la región de repetición en tándem NANP CSP (Figura 1), (R) y la región C-terminal que contiene epítomos de células T (T) (exclusivo para la cepa NF54), los cuales se fusionan con el antígeno de superficie (S) de hepatitis B (HBsAg) y un antígeno adicional (S) en relación 1:4 (RTS,S) expresado en *Saccharomyces cerevisiae* células de levadura (20). El candidato a vacuna ha sido formulado en suspensión líquida de liposomas con dos inmunoestimulantes, para mejorar la presentación antigénica AS01 y AS02 (21).

Los estudios de fase I, arrojaron resultados favorables con respecto a la seguridad e inmunogenicidad de la vacuna (Tabla 1) (20, 22). Los estudios fase II realizados en población infantil africana revelaron que la vacuna fue tolerable y segura, además, se mostró una alta respuesta inmune frente a los antígenos de CSP y hepatitis B. Adicionalmente, se informó que el candidato vacunal podía disminuir entre un 30%-50% el riesgo de nuevas infecciones y episodios clínicos de malaria generadas por *P. falciparum* (28,29). Los ensayos clínicos fase III, empezaron el año 2009 en diferentes países africanos (30,31). La protección disminuyó de un 57 % a un 37 % después de 48

meses de seguimiento, a pesar de obtener significativas respuestas de anticuerpos después de la tercera dosis (Tabla 1) (31,32). Además, se presentó una gran variabilidad en la eficacia de la vacuna entre los sitios de estudio entre el 40 y el 77 % en la población infantil (31). Estos resultados pueden atribuirse a la intensidad de la transmisión, la elección del adyuvante y la edad de la población que recibe la vacuna (31, 32).

En la actualidad, RTS,S es considerada la vacuna más estudiada y avanzada del mundo, desde un punto de vista clínico (2), demostrando en estudios clínicos Fase I y Fase II que puede proteger niños pequeños y a bebés que viven en zonas de alta transmisión de malaria por *Plasmodium falciparum* (10,17); sin embargo, actualmente se adelantan estudios con nuevas formulaciones con probabilidades de favorecer la memoria inmunológica del antígeno vacunal para robustecer su seguridad y generar una verdadera eficacia protectora en el tiempo.

Figura 1. Estructura en cintas de antígenos utilizados para el desarrollo de vacunas contra la malaria por *Plasmodium falciparum*. Estadio pre-eritrocítico (izquierda): Proteína de Circumsporozoito-dominio trombospondina (*PfCSP-TSR*)-vacuna RTS,S (PDB: 3VDK) (22), Proteína Adhesiva Relacionada con Trombospondina-dominio vonWillebrand (*PfTRAP-vWA*) y dominio trombospondina (*PfTRAP-TSR*)-vacuna Chad63/MVA-TRAP (PDB 2BBX) (23). Estadio eritrocítico: Proteína homóloga de unión a reticulocitos (*PfRH5*)-vacuna Chad63/MVA-RH5 (PDB 4WAT) (24), Antígeno de Membrana Apical (*PfAMA1*)-vacuna AMA1 DiCo (PDB 4R19) (25) y Proteína de Unión a Eritrocitos (*PfEBA175*)-vacuna EBA 175-R11 NG (PDB 1ZRO) (26).

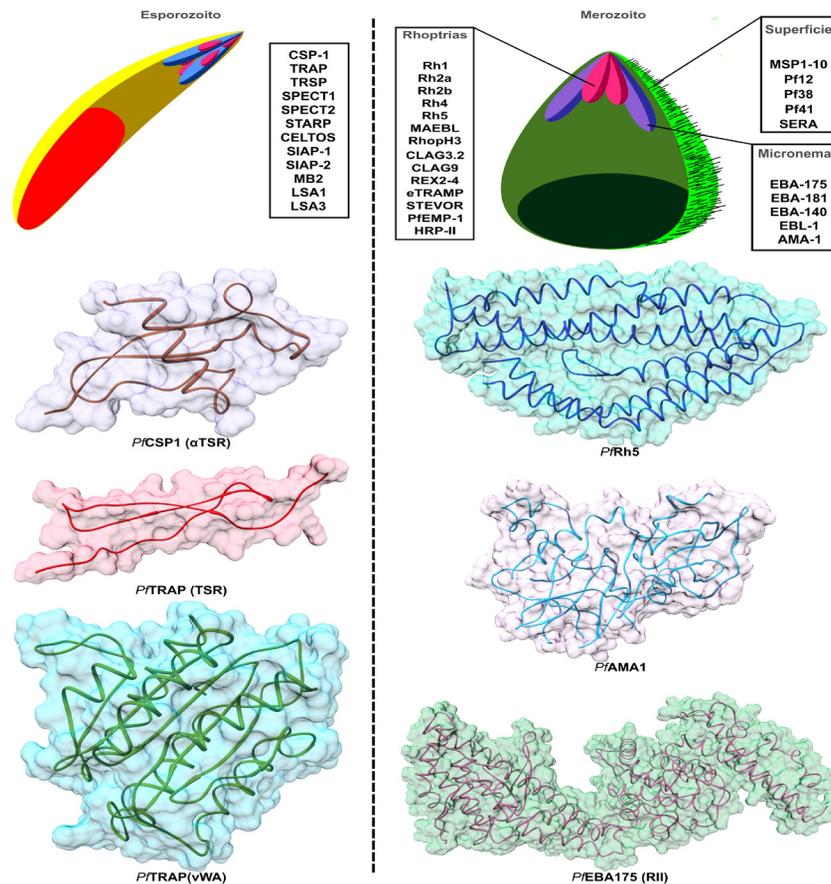


Tabla 1. Diseño, formulación y principales resultados de los candidatos a vacuna contra la fase pre-eritrocítica y eritrocítica de *Plasmodium falciparum*

| Diseño y formulación del candidato a vacuna | Fase de ensayo clínico | Principales resultados | Ref |
|--|---|---|-------------------|
| RTS,S Estadio pre-eritrocítico Vacuna recombinante Adyuvante AS01 | Fase I: 2002 - 2003 Fase II :2004-2008 Fase III: 2009 -2015 | Vacuna más estudiada y avanzada hasta el momento. Los resultados de los últimos ensayos fase III muestran una protección a 37% después de 48 meses de seguimiento. Actualmente se avanza en estudios Fase IV. | 2, 6, 17,19-33 |
| PfSPZ Estadio pre-eritrocítico Vacuna con Spz completos atenuados | Fase I: 2013-2019 | Respuesta inmune humoral y celular. La vacuna muestra un rango de eficacia que depende de la exposición previa a la malaria y varía de 35 a 100%. | 33-39 |
| Chad63 MVA/ ME-TRAP Estadio pre-eritrocítico Vacuna con vector viral | Fase I: 2011-2013 Fase II:2017-2018 | Vacuna inmunogénica, capaz de inducir respuestas moderadas de células T (mediana 326 SFU / 106 PBMC (IC 95%). Presenta una baja eficacia (13-25%) contra la malaria clínica durante el período de seguimiento. | 5-7, 40-45 |
| MSP3-SLP Estadio eritrocítico Vacuna químicamente sintetizada Adyuvante Montanide ISA 720 / Alhydrogel | Fase I: 2003-2008 | La vacuna produjo niveles detectables de anticuerpos IgG1 e IgG3 que disminuyen drásticamente en el tiempo. | 46-50 |
| P27A Estadio eritrocítico Vacuna químicamente sintetizada Adyuvante Montanide GLA-SE / Alhydrogel | Fase I: 2014-2015 | La vacuna indujo una baja producción de títulos de anticuerpo anti-P27A (25%) al finalizar los estudios. | 51-53 |

| Diseño y formulación del candidato a vacuna | Fase de ensayo clínico | Principales resultados | Ref |
|---|--|--|-----------------|
| BK-SE36 Estadio eritrocítico Vacuna recombinante Adyuvante Alhydrogel | Fase I: 2008-2011 | La inmunogenicidad producida por la vacuna fue baja y no estadísticamente significativo (aumento de 1,55 veces con respecto al control). | 15, 54-58 |
| ChAd 63 /MVA RH5 Estadio eritrocítico Vacuna con vector viral | Fase I: 2014-2015 | Los anticuerpos inducidos por la vacuna demostraron una importante actividad específicas anti-RH5, entre el 36-50%. | 4, 59-65 |
| GMZ2 Estadio eritrocítico Vacuna recombinante Adyuvante Alhydrogel | Fase I: 2006-2008 Fase II:2010-2014 | La vacuna indujo anticuerpos anti-GMZ2 al inicio del estudio, los cuales disminuyeron con el tiempo. Eficacia protectora del 14%. | 66-70 |
| AMA 1 DiCo Estadio eritrocítico Vacuna recombinante Adyuvante GLA-SE / Alhydrogel | Fase I: 2014-2015 | El promedio de anticuerpos IgG con el adyuvante GLA-SE fue mayor con respecto a anhidrogel, con valores de 38–60 mg/ml y 19–23 mg/ml, respectivamente. | 11-13, 71-76 |
| EBA 175-RII NG Estadio eritrocítico Vacuna recombinante Adyuvante fosfato de aluminio | Fase I: 2008-2012 | Títulos de anticuerpos detectables anti EBA175 después de la tercera inmunización (25%), sin embargo, se reducen durante el seguimiento. | 10, 77-80 |

Vacuna con Spz atenuados *PfSPZ*

Las vacunas *P. falciparum* con Spz atenuados (*PfSPZ*) son los únicos candidatos que contienen Spz vivos, atenuados por radiación y metabólicamente activos, que se han aislado de las glándulas salivales de los mosquitos infectados por *P.*

falciparum (33, 34). Otros enfoques incluyen Spz atenuados mediante manipulación genética, eliminando o modificando genes de parásitos que alteran el desarrollo de infección en etapa hepática y Spz, administrados en combinación con medicamentos (profilaxis química) (33,34).

Los estudios clínicos fase I, con este tipo de vacunas, mostraron en términos de inmunogenicidad una buena respuesta humoral y celular, corroborando que anticuerpos producidos por inmunización con Spz atenuados previenen el desarrollo de infección hepática y pueden inmovilizar el parásito en la dermis vascular o prevenir la etapa de eritrocitos (35). Sin embargo, la eficacia inducida por la vacuna fue cuestionada durante los estudios clínicos de fase II; en ese caso, los autores sugirieron que la respuesta inmune obtenida anteriormente fue provocada, en mayor medida, por la exposición previa al parásito de las personas vacunadas más que por el tratamiento en sí (36-39). Adicionalmente, la producción de esta vacuna ha implicado la obtención de grandes cantidades de Spz para su comercialización, requiriendo, para el parásito cultivado, una funcionalidad de invasión e infección a hepatocitos equivalentes, además de evitar una posible expansión en campo (13).

Actualmente, las investigaciones con este tipo de vacunas se han dirigido a mejorar la atenuación de Spz (38-39), centrando los esfuerzos en producir un gran repertorio de inmunógenos y evaluar el impacto de un régimen particular, dosificación y ruta de inoculación, de tal forma que permitan una inmunidad celular y humoral efectiva.

Vacuna con el vector viral Chad63MVA/ME-TRAP

Esta vacuna antipalúdica se desarrolló utilizando el adenovirus 63 de chimpancé (Chad63) y el virus Vaccinia Modificado Ankara (MVA), en el que se insertaron genes que codifican la cadena de epítipo múltiple (EM) de la proteína de adhesión relacionada con trombospondina (TRAP) (Figura 1) (40). Para el Spz, TRAP es una proteína fundamental en los procesos de migración e invasión a células hepáticas del hospedero vertebrado (5-7). Ensayos clínicos fase I evidenciaron una adecuada respuesta inmune celular y humoral en adultos de dos regiones endémicas de malaria en África, reportando un 21 % de eficacia (41-42); adicionalmente, en estudios fase II, al evaluar diferentes regímenes de vacunación en población adulta e infantil, se observó una buena respuesta inmune, especialmente en niños, aunque su eficacia protectora disminuyó hasta un 13 % (43). La administración secuencial de vacunas, con los vectores MVA y Chad63, tiene como objetivo inducir células T CD4 + y CD8 + que producen interferón gamma (IFN- γ), debido a su papel principal en la protección mediadora durante la etapa hepática (44); sin embargo, los resultados obtenidos demostraron que la vacuna Chad63 MVA/ME-TRAP no genera memoria inmunológica de larga duración, como se ha encontrado en otros estudios con vacunas similares (45).

Candidatos a vacuna contra el estadio eritrocítico de *P. falciparum*

Vacuna químicamente sintetizada MSP3-SLP

Esta vacuna se basa en la Proteína de la Superficie de Merozoito 3 (MSP3) de *P. falciparum*, y está diseñada como un péptido sintético largo (SLP, por su abreviatura en inglés Synthetic Long Peptide), de 95 aminoácidos (181R - 276E) (Tabla 1). MSP3 es una proteína de recubrimiento del parásito que permite el reconocimiento y posterior invasión a los eritrocitos (46). La formulación de MSP3-SLP incluyó los adyuvantes inorgánicos Montanide ISA 720 e hidróxido de aluminio (Alhydrogel), como potenciadores de la respuesta inmunológica (47).

En los ensayos clínicos fase I no se encontraron eventos adversos graves, pero sí se identificaron niveles detectables de anticuerpos; sin embargo, al final del seguimiento (mes 12) los títulos disminuyeron considerablemente (48-49). Estos resultados fueron interpretados en términos de las respuestas inmunes adquiridas por exposición previa a *P. falciparum*. Ensayos posteriores, realizados únicamente en población infantil, mostraron la respuesta inmunológica necesaria para avanzar con los estudios fase II (50). Aunque las vacunas basadas en péptidos se caracterizan por su alto rendimiento, estabilidad y propiedades inmunológicas, en este caso, el uso de péptidos sin-

téticos largos interfiere en el adecuado reconocimiento del sistema inmune y una efectiva respuesta que garantice altos títulos de anticuerpos (12, 15). En este momento, los resultados fase II no se encuentran publicados, es probable que se estén adelantando nuevos estudios para potenciar la eficacia del antígeno vacunal.

Vacuna químicamente sintetizada P27A

La vacuna P27A se diseñó a partir de la proteína exportada del trofozoito (Tex1) de *P. falciparum*, involucrada en la reproducción de Mrz al interior de los eritrocitos. Este antígeno presenta en su estructura secundaria dos motivos de tipo α -hélice (845K - 871T) y (223H - 326S) que, al ser sintetizados químicamente, pueden imitar epítopes nativos de *P. falciparum* en un ambiente acuoso (51). Así, se espera un aumento en el reconocimiento y en la respuesta del sistema inmune. En la formulación de P27A se emplearon, por separado, los adyuvantes: emulsión lipídica estable de glucopiranosil (GLA-SE) e hidróxido de aluminio (Alhydrogel) (52,53).

En los ensayos clínicos fase I se presentaron con mayor frecuencia eventos adversos con el adyuvante GLA-SE y, para ambas formulaciones, se encontró un bajo reconocimiento de anticuerpos anti-P27A (25%) (Tabla 1) (52). Los investigadores explicaron que la reducción de la respuesta inmune en los voluntarios estuvo relacionada

con otros tipos de infección, factores genéticos o exposición previa a la malaria (53). Este informe sugiere la necesidad de reevaluar el diseño metodológico en cuanto a la selección, el número de epítopes y los adyuvantes para estimular en mayor grado la respuesta inmunitaria, como lo explican otros autores que han superado las primeras fases clínicas durante el desarrollo de vacunas antimaláricas (19, 36, 37).

Vacuna recombinante BK-SE36

Esta vacuna contiene regiones polimórficas del antígeno de repeticiones de Serina - 5 (SERA-5) de *P. falciparum*; adicionalmente, la proteína seleccionada está involucrada en la ruptura y liberación de los Mrz y gametos en la fase eritrocítica del parásito (54). BK-SE36 fue generada de forma recombinante en *Escherichia coli* y combinada con hidróxido de aluminio (Alhydrogel), como potenciador de la respuesta inmunológica (Tabla 1) (54).

Los estudios clínicos fase I evaluaron la seguridad e inmunogenicidad de diferentes concentraciones de BK-SE36 en población adulta; asimismo, se encontró un buen perfil de seguridad sin una respuesta inmune suficiente para evitar la incidencia de malaria en los participantes (55-57). Actualmente, la vacuna se encuentra en un nuevo ensayo fase I con infantes (58); por otra parte, los candidatos disponibles han demostrado una fuerte inmunogenicidad y alta eficacia protec-

tora con una cepa de parásitos homólogos, sin embargo, su eficacia ha disminuido cuando han estado expuestos a una cepa heteróloga; por tanto, la selección de regiones antigénicas no polimórficas entre cepas (regiones conservadas-comunes en todas las cepas) es necesaria para garantizar el sostenimiento prolongado de la respuesta inmune en la población (12,59).

Vacuna con el vector viral ChAd 63 /MVA RH5

Este candidato a vacuna está diseñado a partir de la proteína Homóloga de unión a Reticulocitos-5 (RH5) de *P. falciparum* (Figura 1), con los vectores virales descritos previamente, ChAd63 y MVA (4, 60, 61). El antígeno seleccionado es un ligando fundamental durante la formación de la unión estrecha entre el parásito y el glóbulo rojo, mediante su interacción con el receptor de membrana en eritrocitos Basigina (BSG) que proporcionan señales para activar la invasión de *Plasmodium* (9,10,13).

El ensayo clínico fase I mostró un perfil de seguridad favorable, con niveles superiores (36-50 %) de anticuerpos específicos anti-RH5, respecto a aquellos generados por exposición natural a la malaria (62). Es importante destacar que la respuesta de células T (CD4+/CD8+) fue similar a la reportada en otro estudio que utilizó dosis similares de ChAd 63 y MVA (63), sugiriendo que la

inmunidad generada por la vacuna está asociada principalmente a los vectores virales. Adicionalmente, anticuerpos inducidos por inmunización con ChAd 63RH5 / MVARH5 podrían no bloquear completamente la interacción RH5 –BSG, ya que se ha demostrado que RH5 interactúa mejor con eritrocitos, cuando forma un complejo con el antígeno protector rico en cisteína (CyRPA) y la proteína que interactúa con *PfRh5* (*PfRipr*), que cuando se une solo (64, 65); lo anterior, indica la posibilidad de que una nueva formulación, que incluya los antígenos del complejo, pueda generar la protección deseable.

Vacuna recombinante GMZ2

La vacuna GMZ2 fusiona los dominios conservados de la Proteína Rica en Glutamato (GLURP) y la Proteína de Superficie de Merozoito-3 (MSP-3); estos antígenos participan en el reconocimiento y la adhesión del Mrz a los eritrocitos, así como en el crecimiento del parásito en la célula hospedera (66–68). Esta vacuna se expresó de forma recombinante en *Lactococcus lactis* y se formuló con hidróxido de aluminio (Alhydrogel) (63).

En estudios fase I, GMZ2 indujo inicialmente altos títulos de anticuerpos, sin embargo, no se generó una memoria inmunológica que evitara el desarrollo y reproducción del parásito en el estadio eritrocítico, debido a que los títulos disminuyeron drásticamente luego de un año de seguimiento

(Tabla 1) (69). Al evaluar la eficacia en estudios fase II, se encontró una escasa protección del 14 % (70), lo cual sugería el mejoramiento de la formulación de GMZ2 para continuar con los estudios clínicos. En ese sentido, se requiere una respuesta inmune que pueda estimular la memoria, tanto de las células B como de las células plasmáticas de larga vida (31,51).

Vacuna recombinante AMA 1 DiCo

El candidato a vacuna AMA1 DiCo está basado en el Antígeno de0 Membrana Apical 1 (AMA-1) de *Pfalciparum* (Figura 1), implicado en la identificación, reorientación y posterior invasión del Mrz al eritrocito (11, 71). El diseño incluyó tres secuencias que intentan cubrir la diversidad genética (DiCo) de la región extracelular de AMA1 en las cepas FVO, HB3 y 3D7 del parásito de la malaria, expresadas de manera recombinante en la levadura *Pichia pastoris*, incluyendo los adyuvantes GLA-SE y Alhydrogel (Tabla 1) (71).

En la primera fase de estudio, los resultados mostraron que la vacuna formulada con GLA-SE presentó una mejor respuesta inmune (38–60 mg/ml), comparada con la formulación de Alhydrogel (19–23 mg/ml) en los participantes de áreas endémicas de malaria (72-74). Con respecto a esta vacuna, aunque se considera muy promisorias, es importante anotar que AMA-1 es un antígeno altamente polimórfico que distrae la respuesta

inmune del hospedero al inducir anticuerpos dirigidos a fragmentos funcionalmente irrelevantes (variables de la proteína) (12-13). En estudios anteriores, candidatos a vacuna basados en regiones variables AMA-1 han demostrado alta inmunogenicidad (se encuentran en regiones expuestas de la proteína) pero poca eficacia protectora, debido a que le confieren solo inmunidad específica de cepa (75,76). Se espera que una nueva formulación de AMA-1-DiCo puede lograr mayor eficacia protectora en ensayos en fase II en curso.

Vacuna recombinante EBA 175-RII NG

La vacuna se enfocó en el Antígeno de Unión a Eritrocitos de 175kDa (EBA-175) de *P. falciparum*, importante en la interacción inicial de Mrz con eritrocitos, previo al proceso de invasión (77) (Figura 1). Este candidato contiene dos fracciones no glicosiladas (NG), la fracción F1 de 274 aminoácidos y la fracción F2 de 306 aminoácidos (10). Para la producción de la vacuna recombinante se utilizó *P. pastoris* en formulación con el adyuvante inorgánico fosfato de aluminio.

En los ensayos clínicos fase I se reportaron niveles apreciables de anticuerpos anti-EBA175, cuando solo se administraron altas concentraciones del antígeno vacunal (78). Sin embargo, la capacidad de generar una respuesta inmune de larga duración no se observó en los ensayos realizados, lo que demuestra una baja protección inducida por

este tipo de vacuna (79). Algunas limitaciones encontradas en los ensayos se relacionaron con el tamaño de la muestra, seguimiento limitado a los participantes y diferencias entre respuesta inmunológica con respecto a las concentraciones de vacuna entre personas expuestas y no expuestas a malaria (79). Por lo tanto, es necesario mejorar el diseño metodológico de la vacuna RII NG para incrementar la respuesta inmune, tanto humoral como celular.

Para las respuestas de anticuerpos, la inmunidad protectora de larga duración requiere la inducción de células B de memoria que pueden generar una respuesta de memoria, tras la reinfección y la generación de células secretoras de anticuerpos de larga vida que mantienen los anticuerpos circulantes (80). Por tanto, para el desarrollo de vacunas se requiere la inducción inicial de la actividad funcional de los anticuerpos, a partir de la selección de los epítomos antigénicos más relevantes que puedan generar anticuerpos multifuncionales que contribuyan a mantener la eficacia con el tiempo.

CONCLUSIONES

Aunque existen importantes progresos en el desarrollo de vacunas contra la malaria, quedan desafíos importantes para lograr vacunas altamente eficaces y duraderas contra *Plasmodium falciparum*. En el avance del diseño de vacunas contra la malaria, dirigidas a las etapas pre-eritrocítica y

eritrocítica del parásito, se han incluido formulaciones con parásitos atenuados, proteínas recombinantes, vectores virales y químicamente sintetizadas, que en su mayoría incluyen uno o pocos fragmentos (2 o 3) antigénicos. La identificación y priorización de antígenos o epítopes vacunales incluye criterios como la ubicación y función celular, abundancia, polimorfismos, datos de ensayos funcionales in vitro y evidencia de asociaciones protectoras en estudios de inmunidad adquirida naturalmente.

Estos candidatos a vacuna, analizados en ensayos clínicos vigentes, han demostrado un aceptable perfil de seguridad, sin embargo, ninguno de ellos ha logrado una protección y eficacia significativa contra la malaria, debido posiblemente al gran polimorfismo genético del parásito, con más de 200.000 variantes de *P. falciparum* que no presentan inmunidad cruzada entre especies ni entre cepas de la misma especie. Por lo tanto, para generar una vacuna totalmente efectiva, que bloquee definitivamente el ciclo de vida del parásito, es posible que sea necesario inducir una alta concentración de anticuerpos capaces de impedir la invasión del parásito tanto en el estadio hepático como eritrocitario y, además, promover repuestas inmunitarias humorales y celulares que logren mantener una memoria inmunológica potente, funcional y de larga duración.

De acuerdo con lo anterior, para la generación de nuevas vacunas contra la malaria, se sugiere un enfoque que incluya en su diseño múltiples antígenos, de las diferentes etapas del ciclo de vida del parásito. En ese nuevo enfoque, se debería considerar la selección de regiones antigénicas altamente conservadas de las proteínas de Spz y Mrz, implicadas en el proceso de la invasión a células del hospedero, debido a que las regiones polimórficas inmunodominantes son utilizadas por el parásito como mecanismo de evasión para distraer el sistema inmune, confiriendo únicamente inmunidad específica de cepa.

LIMITACIONES

No hubo limitaciones.

CONFLICTOS DE INTERÉS

Los autores declaran no tener conflicto de interés.

FINANCIACIÓN

Los autores declaran financiación de la Universidad de Boyacá de los medios necesarios para llevar a cabo este artículo de revisión.

AGRADECIMIENTOS

Los autores queremos agradecer a la Universidad de Boyacá por su apoyo en la trayectoria académica y laboral.

REFERENCIAS

1. WHO: World Health Organization. [Internet]. Ginebra:Suiza; [4 de diciembre de 2019; citado 10 de diciembre de 2019]. World malaria report 2019. [aprox. 5 pantallas]. Available from: <https://www.who.int/publications-detail/world-malaria-report-2019>.
2. Coelho CH, Doritchamou J, Zaidi I, Duffy P. Advances in malaria vaccine development: report from the 2017 malaria vaccine symposium. *npj Vaccines*. 2017;(2):34. <https://doi.org/10.1038/s41541-017-0035-3>
3. Tahita MC, Tinto H, Menten J, Ouedraogo J-B, Guiguemde RT, van Geertruyden J, et al. Clinical signs and symptoms cannot reliably predict *Plasmodium falciparum* malaria infection in pregnant women living in an area of high seasonal transmission. *MalarJ*. 2013;12(1):464. <https://doi.org/10.1186/1475-2875-12-464>
4. Ord RL, Rodriguez M, Lobo CA. Malaria invasion ligand RH5 and its prime candidacy in blood-stage malaria vaccine design. *Hum Vaccin & Immunotheraps*. 2015;11(6):1465-73. <https://doi.org/10.1080/21645515.2015.1026496>
5. Sinnis P, Coppi A. A long and winding road: The Plasmodium sporozoite's journey in the mammalian host. *Parasit Internat*. 2007;56(3):171-8. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2007.04.002>
6. García JE, Puentes A, Patarroyo ME. Developmental Biology of Sporozoite-Host Interactions in *Plasmodium falciparum* Malaria: Implications for Vaccine Design. *Clin. Microbiol. Rev*. 2006;19(4):686-707. <https://doi.org/10.1128/CMR.00063-05>
7. Sultan AA, Thathy V, Frevert U, Robson KJ, Crisanti A, Nussenzweig V, et al. TRAP is necessary for gliding motility and infectivity of plasmodium sporozoites. *Cell*. 1997;90(3):511-22. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)80511-5](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)80511-5)
8. Cowman AF, Healer J, Marapana D, Marsh K. Malaria: Biology and Disease. *Cell*. 2016;167(3):610-24. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.07.055>
9. Cowman AF, Berry D, Baum J. The cellular and molecular basis for malaria parasite invasion of the human red blood cell. *J Cell Biol*. 2012;198(6):961-71. <https://doi.org/10.1083/jcb.201206112>
10. Maier AG, Cooke BM, Cowman AF, Tilley L. Malaria parasite proteins that remodel the host erythrocyte. *Nat Rev Microbiol*. 2009;7(5):341-

54. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2110>
11. Kato K, Mayer DCG, Singh S, Reid M, Miller LH. Domain III of *Plasmodium falciparum* apical membrane antigen 1 binds to the erythrocyte membrane protein Kx. PNAS. 2005;102(15):5552-7. <https://doi.org/10.1073/pnas.0501594102>
12. Patarroyo ME, Alba MP, Rojas-Luna R, Bermudez A, Aza-Conde J. Functionally relevant proteins in *Plasmodium falciparum* host cell invasion. J Immunother. 2017;9(2):131-55. <https://doi.org/10.2217/imt-2016-0091>
13. Baum J, Gilberger T-W, Frischknecht F, Meissner M. Host-cell invasion by malaria parasites: insights from Plasmodium and Toxoplasma. Trends Parasitol. 2008;24(12):557-63. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2008.08.006>
14. Ahoudi AD, Amambua-Ngwa A, Awandare GA, Bei AK, Conway DJ, Diakite M, et al. Malaria Vaccine Development: Focusing Field Erythrocyte Invasion Studies on Phenotypic Diversity. Trends Parasitol. 2016;32(4):274-83. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2015.11.009>
15. Curtidor H, Patarroyo ME, Patarroyo MA. Recent advances in the development of a chemically synthesised anti-malarial vaccine. Expert Opinion on Biological Therapy. 2015;15(11):1567-81. <https://doi.org/10.1517/14712598.2015.1075505>
16. Cunningham AL, Garçon N, Leo O, Friedland LR, Strugnell R, Laupèze B, et al. Vaccine development: From concept to early clinical testing. Vaccine. 2016;34(52):6655-64. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2016.10.016>
17. Rappuoli R, Aderem A. A 2020 vision for vaccines against HIV, tuberculosis and malaria. Nature. 2011;473(7348):463-9. <https://doi.org/10.1038/nature10124>
18. WHO: World Health Organization. [Internet]. Ginebra:Suiza; [17 de julio de 2017; citado 20 de noviembre 2019]. Malaria Vaccine Rainbow Tables. [aprox. 1 pantalla]. Available from: https://www.who.int/immunization/research/development/Rainbow_tables/en/
19. Coffman RL, Sher A, Seder RA. Vaccine Adjuvants: Putting Innate Immunity to Work. J Immun. 2010;33(4):492-503. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2010.10.002>
20. Kester KE, McKinney DA, Tornieporth N, Ockenhouse CF, Heppner DG, Hall T, et al. Efficacy of recombinant circumsporozoite protein vaccine regimens against experimental *Plasmodium falciparum* malaria. J Infect Dis. 2001;183(4):640-7. <https://doi.org/10.1086/318534>

21. Gordon DM, McGovern TW, Krzych U, Cohen JC, Schneider I, LaChance R, et al. Safety, Immunogenicity, and Efficacy of a Recombinantly Produced *Plasmodium falciparum* Circumsporozoite Protein-Hepatitis B Surface Antigen Subunit Vaccine. *J Infectious Diseases*. 1995;171(6):1576-85. <https://doi.org/10.1093/infdis/171.6.1576>
22. Doud, M.B., Koksall, A.C., Mi, L.Z., Song, G., Lu, C., Springer, T.A. Unexpected fold in the circumsporozoite protein target of malaria vaccines. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012;109:7817-7822. <https://doi.org/10.1073/pnas.1205737109>
23. Tossavainen, H., Pihlajamaa, T., Huttunen, T.K., Raulo, E., Rauvala, H., Permi, P., Kilpelainen, I.; *Protein Sci* 2006;15:1760-1768. <https://doi.org/10.1110/ps.052068506>
24. Chen, L., Xu, Y., Healer, J., Thompson, JK, Smith, BJ, Lawrence, MC, Cowman, AF. Crystal structure of PfRh5, an essential *P. falciparum* ligand for invasion of human erythrocytes. *Elife*. 2014;3. <https://doi.org/10.7554/eLife.04187>
25. Lim, S.S., Yang, W., Krishnarjuna, B., Kannan Sivaraman, K., Chandrashekar, I.R., Kass, I., MacRaild, C.A., Devine, S.M., Debono, C.O., Anders, R.F., Scanlon, M.J., Scammells, P.J., Norton, R.S., McGowan, S. Structure and Dynamics of Apical Membrane Antigen 1 from *Plasmodium falciparum* FVO. *Biochemistry*. 2014;53:7310-7320. <https://doi.org/10.1021/bi5012089>
26. Tolia, N.H., Enemark, E.J., Sim, B.K., Joshua-Tor, L. Structural Basis for the EBA-175 Erythrocyte Invasion Pathway of the Malaria Parasite *Plasmodium falciparum*. *Cell*. 2005;122:183-193. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2005.05.033>
27. Kester KE, McKinney DA, Tornieporth N, Ockenhouse CF, Heppner DG, Hall T, et al. A phase I/IIa safety, immunogenicity, and efficacy bridging randomized study of a two-dose regimen of liquid and lyophilized formulations of the candidate malaria vaccine RTS,S/AS02A in malaria-naïve adults. *Vaccine*. 2007;25(29):5359-66. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2007.05.005>
28. Macete E, Aponte JJ, Guinovart C, Sacarlal J, Ofori-Anyinam O, Mandomando I, et al. Safety and immunogenicity of the RTS,S/AS02A candidate malaria vaccine in children aged 1-4 in Mozambique. *Trop Med Internal Health*. 2006;12(1):37-46. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3156.2006.01754.x>
29. Alonso PL, Sacarlal J, Aponte JJ, Leach A, Macete E, Milman J, et al. Efficacy of the

- RTS,S/AS02A vaccine against *Plasmodium falciparum* infection and disease in young African children: randomised controlled trial. *The Lancet*. 2004;364(9443):1411-20. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(04\)17223-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(04)17223-1)
30. Horowitz A, Hafalla JCR, King E, Lusingu J, Dekker D, Leach A, et al. Antigen-Specific IL-2 Secretion Correlates with NK Cell Responses after Immunization of Tanzanian Children with the RTS,S/AS01 Malaria Vaccine. *The Journal of Immunology*. 2012;188(10):5054-62. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1102710>
31. White MT, Bejon P, Olotu A, Griffin JT, Bojang K, Lusingu J, et al. A combined analysis of immunogenicity, antibody kinetics and vaccine efficacy from phase 2 trials of the RTS,S malaria vaccine. *BMC Med*. 2014;12:117. <https://doi.org/10.1186/s12916-014-0117-2>
32. White MT, Bejon P, Olotu A, Griffin JT, Riley EM, Kester KE, et al. The relationship between RTS,S vaccine-induced antibodies, CD4+ T cell responses and protection against *Plasmodium falciparum* infection. *PLoS ONE*. 2013;8(4):e61395. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061395>
33. Itsara LS, Zhou Y, Do J, Grieser AM, Vaughan AM, Ghosh AK. The Development of Whole Sporozoite Vaccines for *Plasmodium falciparum* Malaria. *Front Immunol*. 2018;9:2748. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02748>
34. Ishizuka AS, Lyke KE, DeZure A, Berry AA, Richie TL, Mendoza FH, et al. Protection against malaria at 1 year and immune correlates following PfSPZ vaccination. *Nat Med*. 2016;22(6):614-23. <https://doi.org/10.1038/nm.4110>
35. Ishizuka AS, Lyke KE, DeZure A, Berry AA, Richie TL, Mendoza FH, et al. Corrigendum: Protection against malaria at 1 year and immune correlates following PfSPZ vaccination. *Nat Med*. 2016;22(6):692. <https://doi.org/10.1038/nm.4110>
36. Takashima E, Morita M, Tsuboi T. Vaccine candidates for malaria: what's new? *Expert Rev Vaccines*. 2016;15(1):1-3. <https://doi.org/10.1586/14760584.2016.1112744>
37. Richie TL, Billingsley PF, Sim BKL, James ER, Chakravarty S, Epstein JE, et al. Progress with *Plasmodium falciparum* sporozoite (PfSPZ)-based malaria vaccines. *Vaccine*. 2015;33:7452-61. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2015.09.096>
38. Lyke KE, Ishizuka AS, Berry AA, Chakravarty S, DeZure A, Enama ME, et al. Attenuated PfSPZ Vaccine induces strain-transcending T cells and durable protection against heterologous controlled human malaria infection. *Proc Natl*

- Acad Sci USA. 2017;114:2711–6. <https://doi.org/10.1073/pnas.1615324114>
39. Sissoko MS, Healy SA, Katile A, Omaswa F, Zaidi I, Gabriel EE, et al. Safety and efficacy of PfSPZ vaccine against *Plasmodium falciparum* via direct venous inoculation in healthy malaria-exposed adults in Mali: a randomised, double-blind phase 1 trial. *Lancet Infect Dis*. 2017;17:498–509. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(17\)30104-4](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30104-4)
40. Dunachie SJ, Walther M, Epstein JE, Keating S, Berthoud T, Andrews L, et al. A DNA Prime-Modified Vaccinia Virus Ankara Boost Vaccine Encoding Thrombospondin-Related Adhesion Protein but Not Circumsporozoite Protein Partially Protects Healthy Malaria-Naive Adults against *Plasmodium falciparum* Sporozoite Challenge. *Infect Immun*. 2006;74(10):5933-42. <https://doi.org/10.1128/IAI.00590-06>
41. Hill AVS, Reyes-Sandoval A, O'Hara G, Ewer K, Lawrie A, Goodman A, et al. Prime-boost vectored malaria vaccines: Progress and prospects. *Human Vaccines*. 2010;6(1):78-83. <https://doi.org/10.4161/hv.6.1.10116>
42. Duffy PE, Sahu T, Akue A, Milman N, Anderson C. Pre-erythrocytic malaria vaccines: identifying the targets. *Expert Rev Vaccines*. 2012;11(10):1261-80. <https://doi.org/10.1586/erv.12.92>
43. Bejon P, Mwacharo J, Kai O, Mwangi T, Milligan P, Todryk S, et al. A Phase 2b Randomised Trial of the Candidate Malaria Vaccines FP9 ME-TRAP and MVA ME-TRAP among Children in Kenya. *PLoS Clinical Trials*. 2006;1(6):e. <https://doi.org/10.1371/journal.pctr.0010029>
44. de Barra E, Hodgson SH, Ewer KJ, Bliss CM, Hennigan K, Collinset A al. A phase Ia study to assess the safety and immunogenicity of new malaria vaccine candidates ChAd63 CS administered alone and with MVA CS. *PLoS One*. 2014;9(12):e115161. Published 2014 Dec 18. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0115161>
45. Sheehy SH, Duncan CJ, Elias SC, Choudhary P, Biswas S, Halstead FD, et al. ChAd63-MVA-vectored blood-stage malaria vaccines targeting MSP1 and AMA1: assessment of efficacy against mosquito bite challenge in humans. *Mol Ther*. 2012;20:2355–68. <https://doi.org/10.1038/MT.2012.223>
46. Deshmukh A, Chourasia BK, Mehrotra S, Kana IH, Paul G, Panda A, et al. *Plasmodium falciparum* MSP3 exists in a complex on the merozoite surface and generates antibody response during natural infection. *Infect Immun*. 2018;23;86(8). <https://doi.org/10.1128/IAI.00067-18>

47. Sirima SB, Nébié I, Ouédraogo A, Tiono AB, Konaté AT, Gansané A, et al. Safety and immunogenicity of the *Plasmodium falciparum* merozoite surface protein-3 long synthetic peptide (MSP3-LSP) malaria vaccine in healthy, semi-immune adult males in Burkina Faso, West Africa. *Vaccine*. 2007;25(14). <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2006.05.090>
48. Nebie I, Diarra A, Ouedraogo A, Tiono AB, Konate AT, Gansane A, et al. Humoral and cell-mediated immunity to MSP3 peptides in adults immunized with MSP3 in malaria endemic area, Burkina Faso. *Parasite Immunol*. 2009;31(8):474-80. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3024.2009.01130.x>
49. Sirima SB, Tiono AB, Ouédraogo A, Diarra A, Ouédraogo AL, Yaro JB, et al. Safety and immunogenicity of the malaria vaccine candidate MSP3 long synthetic peptide in 12-24 months-old Burkinabe children. *PLoS ONE*. 2009;4(10):e7549. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0007549>
50. Audran R, Cachat M, Lurati F, Soe S, Leroy O, Corradin G, et al. Phase I Malaria Vaccine Trial with a Long Synthetic Peptide Derived from the Merozoite Surface Protein 3 Antigen. *Infect Immun*. 2005;73(12):8017-26. <https://doi.org/10.1128/IAI.73.12.8017-8026.2005>
51. Corradin G, Villard V, Kajava AV. Protein structure based strategies for antigen discovery and vaccine development against malaria and other pathogens. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*. 2007;7(4):259-65. <https://doi.org/10.2174/187153007782794371>
52. Villard V, Agak GW, Frank G, Jafarshad A, Servis C, Nébié I, et al. Rapid Identification of Malaria Vaccine Candidates Based on α -Helical Coiled Coil Protein Motif. Saul A, editor. *PLoS ONE*. 2007;2(7):e645. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0000645>
53. Steiner-Monard V, Kamaka K, Karoui O, Roethlisberger S, Audran R, Daubenberger C, et al. The Candidate Blood Stage Malaria Vaccine P27A Induces a Robust Humoral Response in a Fast Track to the Field Phase I Trial in Exposed and Non Exposed Volunteers. *Clin Infect Dis*. 2018;18;68(3) <https://doi.org/10.1093/cid/ciy514>
54. Li J, Mitamura T, Fox BA, Bzik DJ, Horii T. Differential localization of processed fragments of *Plasmodium falciparum* serine repeat antigen and further processing of its N-terminal 47 kDa fragment. *Parasitol Int*. 2002;51(4):343-52. [https://doi.org/10.1016/s1383-5769\(02\)00042-9](https://doi.org/10.1016/s1383-5769(02)00042-9)
55. Horii T, Shirai H, Jie L, Ishii KJ, Palacpac NQ, Tougan T, et al. Evidences of protection

- against blood-stage infection of *Plasmodium falciparum* by the novel protein vaccine SE36. *Parasitol Int.* 2010;59(3):380-6. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2010.05.002>
56. Yagi M, Palacpac NMQ, Ito K, Oishi Y, Itagaki S, Balikagala B, et al. Antibody titres and boosting after natural malaria infection in BK-SE36 vaccine responders during a follow-up study in Uganda. *Sci Rep.* 2016;6(1):34363. <https://doi.org/10.1038/srep34363>
57. Palacpac NMQ, Ntege E, Yeka A, Balikagala B, Suzuki N, Shirai H, et al. Phase 1b Randomized Trial and Follow-Up Study in Uganda of the Blood-Stage Malaria Vaccine Candidate BK-SE36. *PLoS ONE.* 2013;8(5):e64073. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0064073>
58. Horii T. Decisions for the future. *Hum Vaccin Immunother.* 2014;10(1):7-10. <https://doi.org/10.4161/hv.28053>
59. Tougan T, Edula JR, Takashima E, Morita M, Shinohara M, Shinohara A, et al. Molecular Camouflage of *Plasmodium falciparum* Merozoites by Binding of Host Vitronectin to P47 Fragment of SERA5. *Sci Rep.* 2018;8(1):5052. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-23194-9>
60. Patarroyo ME, Aza-Conde J, Moreno-Vranich A, Pabón L, Varela Y, Patarroyo MA. Far from the Madding Crowd: the Molecular Basis for Immunological Escape of *Plasmodium falciparum*. *Curr Issues Mol Biol.* 2017;22:65–78. <https://doi.org/10.21775/cimb.022.065>
61. Payne RO, Milne KH, Elias SC, Edwards NJ, Douglas AD, Brown RE, et al. Demonstration of the Blood-Stage *Plasmodium falciparum* Controlled Human Malaria Infection Model to Assess Efficacy of the P. falciparum Apical Membrane Antigen 1 Vaccine, FMP2.1/AS01. *J Infect Dis.* 2016;213(11):1743-51. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiw039>
62. Payne RO, Silk SE, Elias SC, Miura K, Diouf A, Galaway F, et al. Human vaccination against RH5 induces neutralizing antimalarial antibodies that inhibit RH5 invasion complex interactions. *JCI Insight.* 2017;2(21):e96381. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.96381>
63. Sheehy SH, Duncan CJA, Elias SC, Biswas S, Collins KA, O'Hara GA, et al. Phase Ia Clinical Evaluation of the Safety and Immunogenicity of the *Plasmodium falciparum* Blood-Stage Antigen AMA1 in ChAd63 and MVA Vaccine Vectors. Doolan DL, editor. *PLoS ONE.* 2012;7(2):e31208. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0031208>
64. Wong W, Huang R, Menant S, Hong Ch, Sandow

- JJ, Richard W, et al. Structure of *Plasmodium falciparum* Rh5-CyRPA-Ripr invasion complex. *Nature*. 2019;565(7737):118–121. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0779-6>
65. Favuzza P, Guffart E, Tamborrini M, Scherer B, Dreyer AM, Ruferet AC, et al. Structure of the malaria vaccine candidate antigen CyRPA and its complex with a parasite invasion inhibitory antibody. *Elife*. 2017;6:e20383. <https://doi.org/10.7554/eLife.20383>
66. Singh S, Soe S, Mejia J-P, Roussilhon C, Theisen M, Corradin G, et al. Identification of a conserved region of *Plasmodium falciparum* MSP3 targeted by biologically active antibodies to improve vaccine design. *J Infect Dis*. 2004;190(5):1010-8. <https://doi.org/10.1086/423208>
67. Soe S, Theisen M, Roussilhon C, Aye K-S, Druilhe P. Association between Protection against Clinical Malaria and Antibodies to Merozoite Surface Antigens in an Area of Hyperendemicity in Myanmar: Complementarity between Responses to Merozoite Surface Protein 3 and the 220-Kilodalton Glutamate-Rich Protein. *Infect Immun*. 2004;72(1):247-52. <https://doi.org/10.1128/iai.72.1.247-252.2004>
68. Esen M, Kremsner PG, Schleucher R, Gässler M, Imoukhuede EB, Imbault N, et al. Safety and immunogenicity of GMZ2 - a MSP3-GLURP fusion protein malaria vaccine candidate. *Vaccine*. 2009;27(49):6862-8. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2009.09.011>
69. Bélard S, Issifou S, Hounkpatin AB, Schaumburg F, Ngoa UA, Esen M, et al. A Randomized Controlled Phase Ib Trial of the Malaria Vaccine Candidate GMZ2 in African Children. Beeson JG, editor. *PLoS ONE*. 2011;6(7):e22525. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0022525>
70. Sirima SB, Mordmüller B, Milligan P, Ngoa UA, Kironde F, Atuguba F, et al. A phase 2b randomized, controlled trial of the efficacy of the GMZ2 malaria vaccine in African children. *Vaccine*. 2016;34(38):4536-42. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2016.07.041>
71. Remarque EJ, Faber BW, Kocken CHM, Thomas AW. A Diversity-Covering Approach to Immunization with *Plasmodium falciparum* Apical Membrane Antigen 1 Induces Broader Allelic Recognition and Growth Inhibition Responses in Rabbits. *Infect Immun*. 2008;76(6):2660-70. <https://doi.org/10.1128/IAI.00170-08>
72. Kwenti TE, Moye AL, Wiylyanyuy AB, Njunda LA, Nkuo-Akenji T. Variation in the immune responses against *Plasmodium falciparum* merozoite surface protein-1 and apical membrane antigen-1 in children residing in the different epidemiological strata of malaria in Cameroon. *Malar J*. 2017;16(1):453. <https://doi.org/10.1186/s12875-017-0453-1>

- doi.org/10.1186/s12936-017-2105-4
73. 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. PNAS. 2011;108(32):13275-80. <https://doi.org/10.1073/pnas.1110303108>
74. Sirima SB, Durier C, Kara L, Houard S, Gansane A, Loulergue P, et al. Safety and immunogenicity of a recombinant *Plasmodium falciparum* AMA1-DiCo malaria vaccine adjuvanted with GLA-SE or Alhydrogel® in European and African adults: A phase 1a/1b, randomized, double-blind multi-centre trial. Vaccine. 2017;35(45):6218-27. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2017.09.027>
75. Spiegel H, Boes A, Fendel R, Reimann A, Schillberg S, Fischer R. Immunization with the Malaria Diversity-Covering Blood-Stage Vaccine Candidate *Plasmodium falciparum* Apical Membrane Antigen 1 DiCo in Complex with Its Natural Ligand PfRon2 Does Not Improve the In Vitro Efficacy. Front Immunol. 2017;8. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00743>
76. Sagara, I., Dicko, A., Ellis, R. D., Fay, M. P., Diawara, S. I., Assadou, M. H., et al. A randomized controlled phase 2 trial of the blood stage AMA1-C1/Alhydrogel malaria vaccine in children in Mali. Vaccine 2009;27(23):3090–3098. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2009.03.014>
77. Tolia NH, Enemark EJ, Sim BKL, Joshua-Tor L. Structural Basis for the EBA-175 Erythrocyte Invasion Pathway of the Malaria Parasite *Plasmodium falciparum*. Cell. 2005;122(2):183-93. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2005.05.033>
78. Koram KA, Adu B, Ocran J, Karikari YS, Adu-Amankwah S, Ntiri M, et al. Safety and Immunogenicity of EBA-175 RII-NG Malaria Vaccine Administered Intramuscularly in Semi-Immune Adults: A Phase 1, Double-Blinded Placebo Controlled Dosage Escalation Study. PLOS ONE. 2016;11(9):e0163066. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0163066>
79. Beeson JG, Kurtovic L, Dobaño C, Opi H, Chan J, Feng G, et al. Challenges and strategies for developing efficacious and long-lasting malaria vaccines. SciTranslMed. 2019;11(474):eaau1458. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aau1458>
80. Bernasconi NL, Traggiai E, Lanzavecchia A. Maintenance of serological memory by polyclonal activation of human memory B cells. Science. 2002;298(5601):2199–2202.
76. Sagara, I., Dicko, A., Ellis, R. D., Fay, M. P., Diawara, S. I., Assadou, M. H., et al. A randomized controlled phase 2 trial of the blood stage AMA1-C1/Alhydrogel malaria vaccine in children



Esta obra está bajo una licencia de Creative Commons Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional