

doi: 10.30827/ars.v63i2.22199

Artículos de revisión

## Aplicaciones de los nanoanticuerpos en la medicina

### Nanoantibodies applications in medicine

Celeste Ortega-Monge<sup>1</sup>  0000-0002-8384-9987

Noelia Arce-Rodríguez<sup>1</sup>  0000-0002-6183-5891

Maripaz Santamaría-Muñoz<sup>1</sup>  0000-0001-7720-4042

Marianela Chavarria-Rojas<sup>1,2</sup>  0000-0002-0507-6982

María Fernanda Rojas Salas<sup>1,2</sup>  0000-0001-6375-1387

Eleaneth Baltodano Viales<sup>1,2</sup>

German L. Madrigal Redondo<sup>1,2</sup>  0000-0002-9856-4044

<sup>1</sup>Universidad de Costa Rica, Facultad de Farmacia, San José, Costa Rica.

<sup>2</sup>Instituto de Investigaciones Farmacéuticas, San José, Costa Rica.

---

#### Correspondencia

Marianela Chavarria-Rojas  
marianela.chavarria@ucr.ac.cr

---

**Recibido:** 08.09.2021

**Aceptado:** 25.01.2022

**Publicado:** 21.04.2022

---

#### Agradecimientos

Se le agradece al Instituto de Investigaciones Farmacéuticas por todo el apoyo que dieron para realizar este artículo, así como a su director el Dr. German Madrigal Redondo.

---

#### Financiación

Instituto de Investigaciones Farmacéuticas (INIFAR), Universidad de Costa Rica

---

#### Conflicto de intereses

Los autores dejan constancia que no existe ningún tipo de conflicto de intereses con la investigación realizada en el presente artículo.

---

## Resumen

**Introducción:** Los nanoanticuerpos están compuestos únicamente por la región variable de la cadena pesada y se obtienen a partir de algunas especies de camélidos y tiburones. Tienen alta capacidad de unión, alta especificidad, tamaño pequeño, alta accesibilidad y alta penetración de los tejidos, por lo que potencialmente podrían ser utilizados para el tratamiento, diagnóstico y prevención de diferentes enfermedades.

**Método:** Se realizó una revisión bibliográfica de las aplicaciones médicas de los nanoanticuerpos. Se examinaron artículos científicos publicados en inglés y español desde 2015 a 2021 en las bases de datos Google Académico, Elsevier, PubMed, Clinical trials, Annual Reviews y ScienceDirect. Se prefirieron los estudios que demostraron mayor valor según el idioma, veracidad de la información y fecha de publicación.

**Resultados y discusión:** En total, se seleccionaron 21 artículos para ser evaluados y analizados, de los cuales 20 fueron estudios preclínicos y un estudio clínico. Los nanoanticuerpos destacan como alternativas terapéuticas, diagnósticas y preventivas contra el cáncer, la hepatitis C, el Alzheimer, el Parkinson, la diarrea provocada por rotavirus y el COVID-19.

**Conclusiones:** Los nanoanticuerpos pueden ser de gran utilidad para la prevención, diagnóstico y tratamiento de distintas enfermedades; sin embargo, se requiere continuar con el desarrollo de estudios clínicos y preclínicos que respalden la seguridad y eficacia de estos fármacos.

---

**Palabras clave:** anticuerpos; nanoanticuerpos; neoplasia; hepatitis; enfermedad de Alzheimer; Parkinson; diarrea; SARS-CoV-2.

## Abstract

**Introduction:** Nanoantibodies are composed solely of the variable region of the heavy chain and are obtained from some species of camelids and sharks. They have high binding capacity, high specificity, small size, high accessibility, and high tissue penetration, so they could potentially be used to treat, diagnose, and prevent several diseases.

**Method:** A bibliographic review of the medical applications of nanoantibodies was carried out. Scientific articles were examined, published in English and Spanish from 2015 to 2021 in Google Academic, Elsevier, PubMed, Clinical trials, Annual Reviews, and ScienceDirect databases. Studies that showed greater value according to language, information accuracy, and publication date were preferred.

**Results and discussion:** 21 articles were selected to be evaluated and analyzed, of which 20 were preclinical studies and one clinical study. Nanoantibodies stand out as therapeutic, diagnostic, and preventive alternatives against cancer, hepatitis C, Alzheimer's disease, Parkinson's disease, diarrhea caused by rotavirus, and COVID-19.

**Conclusions:** Nanoantibodies can be very useful for the prevention, diagnosis, and treatment of different diseases; however, it is necessary to continue developing clinical and preclinical studies that support the safety and efficacy of these drugs.

---

**Keywords:** antibodies; nanoantibodies; neoplasms; hepatitis; Alzheimer disease; Parkinson; diarrhea; SARS-CoV-2.

## Puntos clave

Los nanoanticuerpos son de gran relevancia en el área de la medicina, están compuestos únicamente por la región variable de la cadena pesada. Debido a su alta capacidad de unión, especificidad, tamaño pequeño, alta accesibilidad y penetración en los tejidos, se han vuelto una de las principales alternativas para tratar patologías, al igual que los anticuerpos policlonales y monoclonales.

Se han descrito diferentes estudios preclínicos para estudiar la efectividad y aplicabilidad de los nanoanticuerpos en la medicina. En este trabajo se realizó una revisión bibliográfica y los estudios consultados indican que los nanoanticuerpos son una herramienta prometedora para el diagnóstico, prevención y tratamiento de diferentes enfermedades. Sin embargo, es de suma importancia continuar con el desarrollo de estudios clínicos que evidencien la eficacia y seguridad de los nanoanticuerpos.

## Introducción

Las células plasmáticas secretan anticuerpos (Abs) en respuesta a un antígeno (Ag). Estos anticuerpos también conocidos como inmunoglobulinas (Ig), son glicoproteínas que forman parte fundamental de la respuesta inmune humoral, debido a que reconocen y reaccionan de manera específica a determinado antígeno<sup>(1)</sup>. Se encuentran conformadas por dos cadenas ligeras iguales y dos cadenas pesadas simétricas, ambas unidas por puentes disulfuro y uniones no covalentes como las fuerzas electrostáticas y fuerzas de Van Der Waals<sup>(2)</sup>.

Las cadenas ligeras están compuestas por un dominio constante y un dominio variable, mientras que las cadenas pesadas están constituidas por tres dominios constantes y uno variable. El Ab se une con el Ag en las regiones de determinación complementaria (CDR) que se encuentran en la cadena pesada y en la ligera<sup>(2,3)</sup>.

Los Abs policlonales y monoclonales son los que más se han utilizado en la industria farmacéutica; no obstante, no tienen suficiente especificidad y sensibilidad respectivamente, y su estabilidad disminuye con el tiempo<sup>(4)</sup>. Por esta razón, se han desarrollado nanoanticuerpos (nAbs), compuestos únicamente por la región variable de la cadena pesada<sup>(5)</sup>. Los nAbs se obtienen a partir de camélidos y tiburones y tienen una alta capacidad de unión y especificidad a pesar de que no cuentan con cadenas ligeras. Además, tienen un tamaño pequeño, alta accesibilidad y penetración en los tejidos<sup>(4)</sup>.

Las especies de tiburones pertenecientes a la familia *Orectolobidae* y las especies *Ginglymostoma cirratum* y *Galeorhinus galeus* son capaces de producir Ig constituidas solamente con la cadena pesada<sup>(6)</sup>, las cuales contienen de tres a cinco dominios constantes. Estos nAbs derivados de tiburón (IgNAR) tienen un tamaño aproximado a 73 kDa y se pueden encontrar en diferentes longitudes dependiendo de si es una Ig transmembranal o de secreción<sup>(7)</sup>. Las IgNAR tienen una vida media modificable, mayor solubilidad, estabilidad y capacidad de penetración en los tejidos; no obstante, pueden presentar inmunogenicidad, lo que podría afectar sus aplicaciones clínicas<sup>(8)</sup>.

Por otro lado, entre los camélidos utilizados para este propósito se encuentran las especies *Lama glama*, *Vicugna pacos*, *Vicugna vicugna* y *Camelus* sp., pues en su suero se puede encontrar Abs heterodiméricos convencionales compuestos sólo por cadenas pesadas<sup>(9)</sup>. Estos nAbs derivados de camélidos (VHH) tienen un tamaño de 15 kDa, son las moléculas más pequeñas que se encuentran en la naturaleza capaces de reconocer a un Ag con una alta afinidad y especificidad. Además, tienen la capacidad de acceder a epítomos ocluidos, elevada estabilidad térmica y física, alta penetración en los tejidos tumorales, alta resistencia al proceso de pasteurización y alta versatilidad que facilita su expresión en sistemas como levaduras, bacterias y células de mamíferos<sup>(10)</sup>.

Dentro de las principales ventajas que poseen los nAbs se encuentra su estabilidad incluso en condiciones adversas y con temperaturas extremas durante periodos extensos, además presentan una alta biocompatibilidad, especificidad y diversidad, lo que permite su uso en gran cantidad de tratamientos para diversas enfermedades. Por otra parte, se debe considerar que presentan una inmunogenicidad débil en humanos que podría aumentar con el uso a largo plazo<sup>(11)</sup>.

Los nAbs se han utilizado extensamente en las áreas de investigación, farmacoterapia, biofarmacia, diagnóstico y nanorreactivos,<sup>(9)</sup> por lo que esta revisión tiene como objetivo ejemplificar algunos de los usos y aplicaciones más comunes de los nAbs en la medicina.

## Métodos

La metodología empleada consistió en una revisión bibliográfica de distintas fuentes de información, donde se consultó las bases de datos Google Académico, Elsevier, PubMed, Clinical trials, Annual Reviews y ScienceDirect. Se utilizaron las siguientes palabras clave: anticuerpos; nanoanticuerpos; neoplasia; enfermedad de Alzheimer; camello; hepatitis; parkinson; diarrea; SARS-CoV-2. Los términos se consultaron en inglés y español en un rango temporal del 2015-2021; sin embargo, existen artículos secundarios de años anteriores al 2015 que se utilizaron por ser referencias citadas en los artículos primarios. Los criterios de elegibilidad de las publicaciones incluyen estudios originales que describen estudios preclínicos *in vivo* e *in vitro* y estudios clínicos sobre los usos que tienen los nAbs en la medicina. Se seleccionaron los artículos que demostraron un mayor valor para desarrollar la investigación según el idioma, veracidad de la información, fecha de publicación, entre otros.

Para definir nAbs se utilizaron tres artículos, sobre el uso de nAbs en cáncer se consultaron ocho artículos, en hepatitis cinco artículos, en enfermedad de Parkinson diez artículos, en enfermedad de Alzheimer (EA) cinco artículos, en diarrea causada por rotavirus diez artículos y en COVID-19 ocho artículos. Se utilizaron en total 21 artículos científicos, de los cuales nueve corresponden a estudios preclínicos *in vitro*, 11 a estudios preclínicos *in vivo* y uno es un estudio clínico.

Los estudios publicados se clasificaron según su aplicación: Detección del cáncer, concretamente uno de ellos investiga el impedimento de su propagación, y otro la reducción de su recurrencia. Otro estudio acerca de la inhibición de la replicación del virus de la hepatitis C (VHC). Dos acerca del diagnóstico y otros dos sobre la prevención de la enfermedad de Alzheimer (EA). Dos sobre el impedimento de la propagación del Parkinson, y uno acerca del alivio e impedimento de su deterioro. Además, se utilizaron tres estudios sobre la prevención y tratamiento de diarrea causada por *Rotavirus*, así como un estudio para el desarrollo de una vacuna contra la diarrea causada por *Escherichia coli* enterotoxigénica (ETEC). Finalmente, se utilizaron tres estudios que versan sobre la prevención de la COVID-19, uno de ellos estudia la neutralización del virus y otro la neutralización del daño celular causado por el mismo.

## Resultados y Discusión

Se evaluaron en total 21 artículos científicos, como se observa en la Tabla 1, donde se describen las aplicaciones más destacadas de los nAbs. Por ejemplo, su capacidad de disminuir la propagación del cáncer y del Parkinson, inhibir la replicación del VHC y prevenir la EA. También se utilizan en el diagnóstico de la EA y como estrategia para la prevención de la COVID-19, enfermedad causada por el SARS-CoV-2.

Todos los ensayos realizados en las publicaciones mencionadas corresponden a ensayos en fase preclínica salvo el descrito en la publicación<sup>(15)</sup> que corresponde a un trabajo en fase clínica. A continuación, se explican cada uno de estos estudios de manera más detallada.

**Tabla 1.** Descripción de los estudios preclínicos *in vivo* e *in vitro* y estudios clínicos sobre los usos y aplicaciones de los nAbs en la medicina.

<i>Detección del Cáncer</i>	
Selección de nAbs específicos contra la $\alpha$ -fetoproteína (AFP), lo que permitió la detección ultrasensible de biomarcadores de cáncer.	Chen et al., 2016 <sup>(12)</sup>
<i>Impedimento de la propagación del Cáncer</i>	
Uso de nAbs CAPNb2 contra CapG humano para impedir la formación de lesiones metastásicas o migración celular en el cáncer de mama.	Van et al., 2013 <sup>(13)</sup>
Desarrollo de nAbs dirigidos al receptor de quimiocinas (US28) para alterar el crecimiento tumoral en los glioblastomas (GMB).	Heukers et al., 2018 <sup>(14)</sup>
<i>Reducción de la recurrencia del Cáncer</i>	
Uso de células CAR-T derivadas de nAbs bioespecíficos en linfoma B en período de recaída para evaluar la seguridad y eficacia de las mismas.	Henan Cancer Hospital. 2019 <sup>(15)</sup>
<i>Inhibición de la replicación de la Hepatitis C</i>	
Desarrollo de nAbs con clones de <i>E. coli</i> para penetrar e inhibir el virus.	Jittavisutthikul et al., 2015 <sup>(16)</sup>
<i>Diagnóstico de la Enfermedad de Alzheimer</i>	
Uso de los VHH como sondas específicas para dianas localizadas en el cerebro, como posible herramienta diagnóstica.	Li et al., 2016 <sup>(5)</sup>
Estudio de los VHH conjugados químicamente en la resonancia magnética de la EA, para el diagnóstico de imágenes moleculares <i>in vivo</i> .	Vandesquille et al., 2017 <sup>(17)</sup>
<i>Prevención de la Enfermedad de Alzheimer</i>	
Uso de los VHH para inhibir la actividad $\beta$ -secretasa e impedir la generación de $\beta$ -amiloide y por ende su acumulación, lo que permitiría detener el progreso de la EA.	Dorresteijn et al., 2015 <sup>(18)</sup>
Uso de VHH anti BACE1 por medio de virus adenoasociados (AAV), para disminuir la cantidad de $\beta$ -amiloide en ratones con la EA. Se evaluó la posibilidad de combinar los VHH con vectores virales para dirigirse a una proteína diana en el sistema nervioso central (SNC).	Rincon et al., 2019 <sup>(19)</sup>
<i>Impedimento de la propagación del Parkinson</i>	
Uso de los nAbs VH14PEST para contrarrestar los efectos tóxicos de la proteína $\alpha$ -sinucleína ( $\alpha$ -Syn), que forma agregados facilitadores de degeneración neuronal.	Butler et al., 2016 <sup>(20)</sup>
Uso de los nAbs para reducir la toxicidad de la $\alpha$ -Syn mediante la implementación de un mecanismo novedoso, lo cual es significativo en términos terapéuticos.	Marija et al., 2015 <sup>(21)</sup>
<i>Alivio e impedimento del deterioro del Parkinson</i>	
Orientación selectiva de los nAbs VH14*PEST y NbSyn87*PEST hacia la $\alpha$ -Syn. Se demostró que el primero es capaz de sostener el tono dopaminérgico.	Chatterjee et al., 2018 <sup>(22)</sup>
<i>Prevención de la diarrea por Rotavirus</i>	
Uso de VHH anti-VP6 en estudios <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> en ratones. Se demostró la neutralización del virus.	Maffey. 2016 <sup>(23)</sup>
<i>Tratamiento y diagnóstico de diarrea por Rotavirus</i>	
Uso de VHH para el desarrollo del primer biofármaco antiviral para tratar diarrea por <i>Rotavirus</i> en neonatos humanos.	Mendez. 2004-2019 <sup>(24)</sup>
<i>Inhibición y tratamiento de la diarrea por Rotavirus</i>	
Inhibición de la propagación del <i>Rotavirus</i> mediante el uso de VHH anti-VP6.	Crowell et al., 2021 <sup>(25)</sup>
<i>Desarrollo de una vacuna contra la diarrea causada por ETEC</i>	
Observación de la efectividad de los VHH para reducir la colonización de ETEC y su uso en la ingeniería inversa para el desarrollo de una vacuna.	Amcheslavsky et al., 2021 <sup>(26)</sup>
<i>Prevención de la COVID-19</i>	
Uso de VHH para el bloqueo de la unión de la proteína de espiga del virus con el receptor de la enzima convertidora de angiotensina 2, como prevención de la propagación del virus.	Pedreáñez et al., 2021 <sup>(9)</sup>

<i>Tratamiento preventivo contra la COVID-19</i>	
Desarrollo de una biblioteca de VHH e identificación de su potencial como tratamiento preventivo contra la COVID-19.	Esperbent, 2020 <sup>(27)</sup>
<i>Neutralización de diversas variantes de la COVID-19</i>	
Uso de un “cocktail” de nAbs para neutralizar diversas variantes de la COVID-19.	Zhou et al., 2021 <sup>(28)</sup>
<i>Prevención y neutralización de la COVID-19</i>	
Evidencia la importancia de VHH en la respuesta inmune contra el virus y su inhibición mediante un tratamiento profiláctico.	Hasson et al., 2020 <sup>(29)</sup>
<i>Neutralización de daño celular causado por la COVID-19</i>	
Demostración de una neutralización cercana al 50% del daño celular causado por la COVID-19, por parte de los nAbs.	Djemli et al., 2021 <sup>(30)</sup>

## Cáncer

El cáncer es una patología celular que agrupa diversos orígenes. Su fisiopatología es difícil de describir, ya que involucra distintas entidades clínicas<sup>(31)</sup>; a pesar de esto, ha sido posible un consenso de principios comunes entre estas<sup>(32)</sup>. El cáncer se inicia cuando las células se dividen de forma anormal y descontrolada, lo que conlleva a la formación de agregados que representan un crecimiento dañino para los tejidos adyacentes y alteran la fisiología normal del organismo<sup>(31)</sup>. Este proceso puede afectar a los demás tejidos del cuerpo, causando metástasis y la muerte<sup>(33)</sup>.

Actualmente se siguen buscando diferentes potenciales terapéuticos tanto para el diagnóstico como para la terapia del cáncer; un ejemplo de esto es el uso de los nAbs. La eficacia terapéutica de estos está respaldada por diferentes experimentaciones sobre adhesión y migración celular, perturbación de vías de señalización, angiogénesis y proliferación celular. Por ejemplo, existen tumores de difícil acceso que pueden ser visualizados por medio de imágenes moleculares debido a la acumulación homogénea de los nAbs, lo que permite la detección de biomarcadores cancerígenos<sup>(34)</sup>. Estas son moléculas asociadas a mutaciones genéticas o alteraciones epigenéticas que determinan la predisposición de un individuo a diferentes tipos de cáncer<sup>(12)</sup>.

Una ventaja de los nAbs es su pequeño tamaño que permite una penetración tumoral más homogénea y profunda<sup>(34)</sup>, además de facilitar la unión a antígenos localizados en tejidos difícilmente accesibles<sup>(35)</sup>, por ejemplo, atravesar la barrera hematoencefálica (BHE)<sup>(36)</sup>. Una desventaja de los nAbs es su corta vida media *in vivo*<sup>(34)</sup>. Sin embargo, su tamaño ha sido fundamental para los mecanismos que utilizan estas moléculas en la terapia y diagnóstico del cáncer. Los nAbs son capaces de inhibir la proliferación de células tumorales, puesto que actúan contra las proteínas de superficie de dichas células, lo cual altera su funcionamiento e induce a la apoptosis debido al bloqueo de la señalización a través de un receptor de factor de crecimiento<sup>(37)</sup>.

Aunado a lo anterior, cuando los nAbs están dirigidos a tumores, se pueden unir a los antígenos de manera muy similar a como lo hacen los Abs convencionales, la diferencia radica en que los nAbs son capaces de acceder a epítomos que no son reconocidos por los Abs<sup>(38)</sup>.

En los estudios preclínicos es necesario recalcar las aplicaciones de estas moléculas, un ejemplo es el uso de animales tales como alpacas inmunizadas contra la  $\alpha$ -fetoproteína (AFP), la cual es producida por diversos tumores como carcinoma hepatocelular y hepatoblastoma. En estudios previos, se seleccionaron nAbs específicos para la AFP y los resultados demostraron que presentan alta solubilidad, reproducibilidad y afinidad. De esta forma, se evidencia que un inmunoensayo mediado por nAbs brinda futuras aplicaciones para detectar biomarcadores de cáncer<sup>(12)</sup>.

Actualmente existen nAbs disponibles para dianas tumorales específicas, por ejemplo, en cáncer de mama se evaluó un nAbs conocido como CAPNb2 en un modelo animal de ratones desnudos. La sobreexpresión del componente del citoesqueleto de actina (CapG) se ha relacionado con la diseminación de las células tumorales en este tipo de cáncer. De esta forma, se estudió la propagación de las células cancerígenas después de administrar los CAPNb2 contra el CapG humano. Este estudio demostró que CAPNb2 interactúa con CapG en el espacio citoplasmático, restringe la migración celular e impide la formación de lesiones metastásicas en los modelos animales estudiados. A partir de estos hallazgos, se

ha promovido una iniciativa para el diseño de fármacos utilizando CAPNb2, pues la inhibición del CapG disminuye de forma significativa la metástasis del cáncer de mama<sup>(13)</sup>.

Por otro lado, el glioblastoma (GMB) es el cáncer de cerebro más agresivo que existe, además de ser incurable, se caracteriza por expresar proteínas específicas, así como el receptor de quimiocinas US28, que conducen a vías de señalización inflamatorias y proliferativas. Por esta razón se desarrollaron nAbs dirigidos al receptor US28 capaces de unirse a su dominio extracelular, lo cual altera el crecimiento tumoral *in vitro*. En este estudio se enfatiza el potencial terapéutico de los nAbs para el tratamiento de GMB<sup>(14)</sup>.

Actualmente, en el Hospital de Cáncer Henan se desarrolla un estudio clínico que se encuentra en período de reclutamiento de pacientes. El objetivo es evaluar el funcionamiento de células CAR-T productoras de nAbs biespecíficos para CD19 y CD20, antígenos presentes en el linfoma de células B. Las CAR-T son capaces de disminuir la recurrencia del linfoma en pacientes con recaídas; sin embargo, el estudio aún no ha finalizado<sup>(15)</sup>. Por tanto, sería deseable que se desarrollaran más estudios clínicos, ya que los nAbs han evidenciado un potencial terapéutico realmente significativo en cáncer.

## Hepatitis

Los virus de la Hepatitis B (VHB) y C (VHC) pueden llegar a causar la muerte del paciente tras una infección persistente. El VHB se caracteriza por ser un virus ADN, mientras que el VHC es de tipo ARN y ambos tienen la posibilidad de causar infección tanto en humanos como en chimpancés<sup>(39)</sup>. La forma de transmisión es por contacto con sangre o fluidos corporales infectados<sup>(40)</sup>. Esta enfermedad tiene ciertos niveles de afectación crónica en el hígado y con el progreso puede desarrollar fibrosis y carcinoma hepatocelular<sup>(41)</sup>.

La explicación de la fisiopatología de la hepatitis no es sencillo, incluso los receptores de ambos virus no están completamente estudiados, pero se conoce que los hepatocitos son el principal sitio de infección debido a que cuando el virus ingresa al organismo, los polipéptidos de su envoltura interactúan con su membrana celular<sup>(39)</sup>. Actualmente, más de 170 millones de personas están afectadas por el VHC de manera crónica, por esta razón, es necesario desarrollar terapias novedosas para su tratamiento<sup>(42)</sup>.

Los recientes estudios con nAbs han demostrado su poder inhibitorio sobre la replicación del VHC y su capacidad de reducir el ARN viral en el interior de los hepatocitos. Además, los nAbs penetrables participan en la respuesta inmune innata de la supresión viral y toleran las mutaciones del VHC.

Se realizó un estudio donde se evaluó el uso de los nAbs como posible tratamiento de infecciones por VHC. Los Abs se obtuvieron a partir de *E. coli* como sistema de expresión y su capacidad de penetración en las células hepáticas humanas se demostró mediante un ELISA. El mecanismo de penetración e inhibición es complejo, pero se determinó que con los nAbs es posible desarrollar agentes inmunoterapéuticos sumamente eficientes para pacientes infectados<sup>(16)</sup>. Este estudio es el único que respalda el uso de los nAbs en esta patología, lo que motiva y justifica la importancia de darle continuidad a esta investigación en otras ramas de la enfermedad u otros mecanismos mediante los cuales los nAbs podrían inhibir la replicación del VHC.

## Alzheimer

La EA es el trastorno neurodegenerativo más importante que afecta la corteza cerebral<sup>(43)</sup> y se caracteriza por una acumulación de depósitos de proteínas tau y amiloides en el cerebro<sup>(44)</sup>. Los pacientes con EA sufren una pérdida progresiva de la función cognitiva que inicia con un déficit de memoria, conforme avanza la enfermedad se presentan alteraciones del lenguaje, pérdida de la independencia y problemas cognitivos mayores y cada vez más limitantes. En la etapa terminal los pacientes pueden presentar delirio, razonamiento alterado, rigidez e incapacidad de realizar por sí mismos sus funciones básicas<sup>(43)</sup>.

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), el número de enfermedades neurodegenerativas se va a triplicar en los siguientes 30 años, por lo que ha surgido la necesidad de buscar terapias efectivas para la prevención y tratamiento de éstas, como es el uso de nanopartículas<sup>(45)</sup>.

Los VHH tienen un gran futuro para el diagnóstico de imágenes moleculares *in vivo*, debido a que son muy específicos para su antígeno diana, son estables en el tiempo y difunden fácilmente en los tejidos. Además, se pueden humanizar de manera sencilla sin perder sus propiedades. Se ha logrado demostrar que existen VHH con capacidad de atravesar la BHE, por lo que parecen ser una herramienta prometedora para el desarrollo de biomarcadores intracerebrales<sup>(17)</sup>.

En el año 2017 se realizó un estudio sobre el uso de los VHH en el análisis de la EA por resonancia magnética. Se utilizó el VHH conocido como R3VQ, el cual es capaz de atravesar la BHE y con especificidad por los depósitos de  $\beta$ -amiloide, lesiones características de la EA. Se utilizó *E. coli* para la expresión del R3VQ con una etiqueta 6-histidina en la región carbono terminal, lo cual permitió el reconocimiento de los depósitos de  $\beta$ -amiloide mediante técnicas inmunohistoquímicas en el modelo animal utilizado. También, se desarrollaron agentes de contraste para la detección de depósitos de  $\beta$ -amiloide mediante resonancia magnética en los modelos animales<sup>(17)</sup>.

En el 2016 se realizó un estudio sobre el posible uso de nAbs de un solo dominio de camélidos como una herramienta para la obtención de imágenes *in vivo* de dianas cerebrales intracelulares y extracelulares. Para ello, se utilizaron dos nuevos VHH capaces de reconocer específicamente los depósitos de los ovillos neurofibrilares de proteínas *tau* intracelulares y amiloides extracelulares. Se utilizaron ratones con lesiones por depósitos de proteína  $\beta$ -amiloide y se les administró VHH en la corteza frontal; posteriormente, se recolectaron muestras de tejido cerebral para el posterior análisis histológico<sup>(5)</sup>. Otros animales recibieron VHH conjugado con Alexa Fluor<sup>®</sup> y se realizaron los análisis correspondientes mediante microscopía confocal láser de barrido.

Los hallazgos obtenidos demuestran que VHH-E9 con un punto isoeléctrico básico atraviesa de manera pasiva la BHE, ingresa en el parénquima cerebral y se une a los astrocitos. En el estudio se concluyó que los VHH pueden ser utilizados como sondas específicas para dianas cerebrales localizadas a nivel intracelular y extracelular, lo que respalda su uso como una nueva herramienta de diagnóstico en Neurología<sup>(5)</sup>.

En el 2015 se estudió la inhibición de la actividad de la enzima  $\beta$ -secretasa (BACE1) mediada por los VHH. Se observó una menor producción y acumulación de la proteína  $\beta$ -amiloide, relacionado con la disminución del progreso de la EA. En un ensayo con células de neuroblastoma se evidenció el efecto inhibitorio de los VHH-B3 sobre la BACE1 y en un ensayo *in vivo*, el VHH-B3 disminuyó los niveles de  $\beta$ -amiloide en cerebro y plasma. Por esta razón, los VHH son considerados una estrategia terapéutica prometedora para disminuir la progresión de la EA, además, podrían ser utilizados para ayudar a comprender mejor el papel de la BACE1 en la EA<sup>(18)</sup>.

La administración de VHH anti-BACE1 mediante virus adenoasociados (AAV) demostró en un estudio preclínico realizado en ratones con la EA, que se podía disminuir la cantidad de  $\beta$ -amiloide. Los VHH suelen tener una difusión limitada a través de la BHE porque se eliminan rápidamente del parénquima, por lo que se utilizó AAV como vector para dirigir la entrega al sistema nervioso central (SNC). En un modelo animal de ratón con amiloidosis cerebral se observó una disminución importante en los niveles de  $\beta$ -amiloide después de la administración de una dosis única de VHH-B9 en el SNC. Con esto, se demostró la posibilidad de combinar los VHH con vectores virales para dirigirse a una proteína diana localizada en el SNC<sup>(19)</sup>.

## Parkinson

Se considera la enfermedad de Parkinson como la segunda causa de neurodegeneración crónica progresiva, relacionada con un declive o empeoramiento de las neuronas dopaminérgicas encontradas en la sustancia negra pars compacta. Como consecuencia, los pacientes sufren de síntomas como temblores en reposo, postura inestable, afectación gastrointestinal, afectación del sueño, y alteraciones cognitivas y bradicinesia, que se presentan ante un grado importante de degeneración neuronal. Por lo general, el inicio y detección de la enfermedad se da alrededor de los 60 años, pero puede afectar a pacientes más jóvenes<sup>(46, 47, 48, 49)</sup>.

El declive neuronal puede estar asociado a una disfunción mitocondrial o a la agregación de la proteína  $\alpha$ -sinucleína ( $\alpha$ -Syn)<sup>(50)</sup>, la cual tiene un papel importante en la liberación de neurotransmisores<sup>(51)</sup>.

Debido a la degeneración de las neuronas dopaminérgicas, se reduce la liberación de dopamina en el cuerpo estriado. Por esta razón, los circuitos neuronales en los ganglios basales se ven afectados, lo que deriva en una disminución de la función dopaminérgica y pérdida del control del movimiento<sup>(48)</sup>.

En un estudio sobre la enfermedad de Parkinson, se evidenció que el nAbs bifuncional llamado VH14PEST es capaz de contrarrestar los efectos tóxicos de la  $\alpha$ -Syn y posee efectos proteostáticos heterólogos<sup>(20)</sup>. La  $\alpha$ -Syn posee un componente no amiloide (NAC), que tiene una región de interacción hidrofóbica esencial para la agregación de esta proteína neuronal<sup>(52)</sup>. En otro estudio se demostró la capacidad de los nAbs para reducir la toxicidad de la  $\alpha$ -Syn al inhibir la formación de fibrillas, lo que provoca, mediante la unión del nAbs, una conversión conformacional de oligómeros de la  $\alpha$ -Syn de alta estabilidad a una conformación menos estable. Ambos estudios sugieren el mismo resultado pero con mecanismos diferentes que podrían ser relevantes en términos terapéuticos<sup>(21)</sup>.

En otra investigación se utilizó un modelo animal basado en la sobreexpresión de la  $\alpha$ -Syn donde se administraron dos nAbs orientados selectivamente a la proteína, con el fin de comparar su potencial terapéutico. Los nAbs utilizados fueron el VH14-PEST donde PEST es la región del NAC y el NbSyn87-PEST donde PEST es la región C terminal de la proteína. Se demostró que los dos nAbs poseían actividad contra la  $\alpha$ -Syn y que el VH14-PEST era capaz de sostener el tono dopaminérgico<sup>(22)</sup>.

Todo lo precedente hace referencia a estudios preclínicos, indispensables en la investigación del posible potencial terapéutico de las diferentes tecnologías con nAbs. Sin embargo, no se han encontrado publicaciones de estudios clínicos vigentes ni en periodo de revisión que permitan evidenciar el potencial terapéutico en humanos, o que promuevan el desarrollo de algún fármaco para el tratamiento de la enfermedad de Parkinson.

## Diarrea

La diarrea se define como el aumento en la frecuencia de las deposiciones que puede llegar a ser de tres o más al día, además de cambios en la consistencia de las heces, que por lo general pasan a ser blandas o líquidas. Puede clasificarse según su duración como aguda, cuando se da por menos de 14 días, y persistente o crónica si sucede por encima de dos semanas<sup>(53)</sup>. El exceso de contenido líquido en las heces es la característica más frecuente de diarrea crónica<sup>(54)</sup>. Asimismo, se atribuye a la diarrea aguda distintas causas, entre las que se encuentran: infecciones por microorganismos o por intoxicación alimentaria, asociada a fármacos o sustancias tóxicas, intolerancia a alimentos, entre otros; además, cualquier causa de diarrea crónica puede manifestarse de manera aguda en las primeras semanas<sup>(55)</sup>. Las diarreas se pueden agrupar con diferentes nombres de acuerdo a sus características, por lo que estas son de sumo cuidado y deben de ser vigiladas<sup>(56)</sup>. Un ejemplo de esto, es la diarrea causada por *Rotavirus*, la cual puede ocasionar la muerte en menores de 5 años<sup>(57)</sup>.

Actualmente, existen dos vacunas en el mercado contra *Rotavirus*; sin embargo, éstas no han mostrado los resultados esperados en las poblaciones más expuestas al virus, por lo que ha sido necesario el estudio de la enfermedad con el fin de desarrollar un tratamiento efectivo para la misma<sup>(58)</sup>. Se ha estudiado el uso de nAbs en diarreas provocadas por *Rotavirus*, ya que estos poseen un sitio de reconocimiento de antígeno de una sola cadena. Esta es la principal razón por la que algunos animales como las vacas no se ven afectados por el virus, a pesar de la ingesta de agua contaminada<sup>(59)</sup>.

A partir de este descubrimiento, se realizó una investigación en la cual se inmunizó una llama adulta con proteína VP6 derivada de una cepa de *Rotavirus* bovino. Se extrajo ADN de las células mononucleares y se amplificaron los fragmentos que codifican para VHH. Se seleccionaron dos clones de nAbs con amplia actividad neutralizante tanto *in vitro*, frente a cepas de *Rotavirus* animal y humano, como *in vivo* en ratones y se observó una reducción en la duración y severidad de la diarrea causada por el virus. Se concluyó que la administración de VHH anti-VP6 es una buena opción como tratamiento profiláctico, así como una opción terapéutica después de la aparición de los primeros síntomas<sup>(23)</sup>.

Adicionalmente, un estudio realizado en ratones y cerdos gnotobióticos evidenció la importancia de los VHH en el diagnóstico de *Rotavirus* y su capacidad de neutralizar específicamente las cepas tipo A, lo que establece un antecedente para el desarrollo de un tratamiento terapéutico. Por esta razón, con el uso de VHH se patentó el kit diagnóstico Rotadial<sup>®</sup>. Asimismo, en el 2019 se patentó un biofár-

maco antiviral para el tratamiento de infecciones virales por *Rotavirus* en neonatos humanos; dicho tratamiento se utilizó previamente en terneros y mostró excelentes resultados en la neutralización del *Rotavirus* tipo A por VHH<sup>(24)</sup>.

En otro estudio se ensayaron dos VHH utilizando un modelo animal. Mediante un test de ELISA, una titulación de infectividad viral y un cultivo celular de inmunofluorescencia, se demostró la unión de los VHH a la proteína VP6, lo que derivó en una protección parcial contra la diarrea severa y la reducción en la propagación del virus. Por esto, se ha considerado una buena opción para tratar la diarrea causada por el virus<sup>(25)</sup>.

Actualmente no existe ninguna vacuna contra la diarrea causada por ETEC. Sin embargo, se ha demostrado la eficacia del uso de VHH para tratar enfermedades infecciosas en mucosas. Los VHH reconocen epítomos conservados en patógenos hipervariables, por lo que el uso de una combinación de éstos puede ser una buena opción e incluso más accesible económicamente que los anticuerpos monoclonales. Adicionalmente, pueden ser utilizados en el desarrollo de una vacuna contra esta bacteria en ingeniería inversa<sup>(26)</sup>.

## COVID-19

La COVID-19 es una enfermedad causada por el Coronavirus 2 del síndrome respiratorio agudo severo (SARS-CoV-2)<sup>(60)</sup>. Debido a su alta transmisibilidad, se declaró pandemia a inicios del 2020, lo que desencadenó una cantidad importante de estudios e investigaciones<sup>(61)</sup>. La infección puede ser asintomática o pueden presentarse cuadros clínicos leves o moderados e inclusive graves como el síndrome de distrés respiratorio agudo y shock séptico. La variedad de síntomas junto con la facilidad de mutación, han sido un gran reto para desarrollar una vacuna efectiva y un tratamiento que permita reducir los cuadros graves del virus<sup>(62)</sup>.

El SARS-CoV-2 ingresa en la célula huésped mediante una interacción entre la glicoproteína de la espícula y el receptor de la enzima convertidora de angiotensina 2 (ECA2). Por esta razón, con la intención de prevenir esta interacción, se aisló y caracterizó un fragmento de VHH de alta especificidad con un dominio globular presente en la superficie distal de la espícula del virus, evitando de esta forma su unión directa con la ECA2. Adicionalmente, este VHH puede expresarse en grandes cantidades en bacterias, por lo que representa una buena opción para su desarrollo a gran escala para la intervención de la COVID-19<sup>(9)</sup>.

Los nAbs se presentan como una futura opción prometedora para combatir la COVID-19; es por ello que diferentes laboratorios han desarrollado la primera biblioteca de VHH contra COVID-19, lo que permite a su vez la selección de anticuerpos capaces de neutralizar la infección viral; además, facilita la obtención de anticuerpos monoclonales que permiten la identificación del virus. Estos nAbs podrían funcionar como fármacos preventivos o terapéuticos complementarios a la vacunación<sup>(27)</sup>.

Se han desarrollado medicamentos con nAbs que están en fase preclínica o clínica. En octubre del 2020, 13 fármacos se encontraban en fase I/II de estudios clínicos, dos medicamentos estaban en fase II/III y otros dos en fase III. Estas investigaciones representan un futuro prometedor para la utilización de Abs contra esta enfermedad. Por ejemplo, en 2020, se realizó un estudio en un modelo animal donde se evaluaron dos nAbs con alta afinidad a la proteína S del SARS-CoV-2. Se concluyó que, al administrar una mezcla de nAbs, es posible atacar diferentes sitios de unión de la proteína y lograr la neutralización de diversas variantes del virus. Cabe destacar que este estudio inició su primera fase clínica en junio del mismo año, esperando tener pronto resultados alentadores<sup>(28)</sup>.

Además, otro estudio muestra cómo el administrar una forma inactiva del virus a camellos, desencadena una respuesta inmune favorable contra los componentes del virus, de manera que se produce una IgG específica presente en el suero y la leche de estos animales. Por esta razón, se cree que la utilización de estos nAbs puede producir una respuesta selectiva capaz de inhibir y neutralizar al virus, también se espera que con el consumo de la leche de estos animales se genere una respuesta inmunitaria pasiva como profilaxis para prevenir un cuadro grave. Por otro lado, se indica que los pacientes infectados podrían ingerir la leche tres veces al día para neutralizar el virus<sup>(29)</sup>.

Por último, cabe destacar que el uso de VHH se presenta como una potencial alternativa en el tratamiento empírico de la COVID-19. Se han seleccionado tres VHH que muestran en estudios *in vitro* una capacidad de neutralización viral cercana al 50%. Se concluye, por tanto, que pueden ser utilizados en profilaxis y como tratamiento empírico, reduciendo las complicaciones, elevando la tasa de supervivencia de pacientes<sup>(30)</sup>.

## Conclusiones

Debido a la alta especificidad, tamaño pequeño y otras características favorables de los nAbs, se ha evaluado su uso en enfermedades como cáncer, hepatitis, Alzheimer, Parkinson, diarrea y COVID-19. Los estudios consultados indican que los nAbs son una herramienta prometedora para el diagnóstico, prevención y tratamiento de diferentes enfermedades. Sin embargo, es de suma importancia continuar con el desarrollo de estudios clínicos que evidencien la eficacia y seguridad de los nAbs.

## Bibliografía

1. Hameed A. Conventional and Nano-Antibodies and Their Future Uses. *AAJMS*. 2019;2(3):14-34.
2. Langjahr P, Sotelo P. Presente y futuro de los anticuerpos recombinantes terapéuticos. *Mem Inst Investig Cienc Salud*. 2016;14(2):110-21.
3. Abbas A, Lichtman A, Pillai S. Antigen Recognition in the Adaptive Immune System: Structure of Lymphocyte Antigen Receptors and Development of Immune Repertoires. En: *Basic Immunology: Functions and Disorders of the Immune System* [Internet]. 6ª ed. 2020. Disponible en: <https://www-clinicalkey-com.ezproxy.sibdi.ucr.ac.cr/#!/content/book/3-s2.0-B9780323549431000040?scroll-To=%23hl0000384>
4. Wong A, Sykora C, Rogers L, Higginbotham J, Wang J. Modified Nanoantibodies Increase Sensitivity in Avidin-Biotin Immunohistochemistry. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2018;26(9):682-8.
5. Li T, Vandesquille M, Koukoui F, et al. Camelid single-domain antibodies: A versatile tool for *in vivo* imaging of extracellular and intracellular brain targets. *J Control Release*. 2016;243:1-10.
6. Liu W, Song H, Chen Q, et al. Recent advances in the selection and identification of antigen-specific nanobodies. *Mol Immunol*. 2018;96:37-47.
7. Vázquez V. Análisis transcriptómico y desarrollo de una biblioteca de los genes codificantes para anticuerpos IgNAR del tiburón *Heterodontus francisci*. Baja California, México: Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada; 2018.
8. English H, Hong J, Ho M. Ancient species offers contemporary therapeutics: an update on shark VNAR single domain antibody sequences, phage libraries and potential clinical applications. 2020. Doi: <https://doi.org/10.1093/abt/tbaa001>.
9. Pedrañe A, Mosquera J, Muñoz N, Tene D. Nanoanticuerpos: pequeñas moléculas, grandes posibilidades. *Act Biocl*. 2021;11(22):296-319.
10. Parreno G, Vega C, Bok M, Adúriz M, Aguilar A. Nanoanticuerpos derivados de llamas: una alternativa innovadora para controlar las diarreas por rotavirus y norovirus humano. *Revista Ciencia Reguladora de la ANMAT*. 2019;26-30.
11. Li C, Tang Z, Hu Z, et al. Natural Single-Domain Antibody-Nanobody: A Novel Concept in the Antibody Field. *J Biomed Nanotechnol*. 2018;14(1):1-19.
12. Chen J, He Q, Xu Y, et al. Nanobody medicated immunoassay for ultrasensitive detection of cancer biomarker alpha-fetoprotein. *Talanta*. 2016;147:523-30. Doi: 10.1016/j.talanta.2015.10.027.
13. Van Impe K, Bethuynne J, Cool S, et al. A nanobody targeting the F-actin capping protein CapG restrains breast cancer metastasis. *Breast Cancer Res*. 2013;15(6):R116. Doi: 10.1186/bcr3585.

14. Heukers R, Fan TS, Wit RH de, et al. The constitutive activity of the virally encoded chemokine receptor US28 accelerates glioblastoma growth. *Oncog Res.* 2018;30(1):1-12. Doi: 10.1038/s41388-018-0255-7.
15. Henan Cancer Hospital. Clinical Study of CD19/CD20 Bispecific Nanobody-derived CAR-T Cells in Refractory/Relapsed B Cell Lymphoma [Internet]. *clinicaltrials.gov*. 2019. Report No.: NCT03881761.
16. Jittavisutthikul S, Thanongsaksrikul J, Thueng-In K, et al. Humanized-VHH transbodies that inhibit HCV protease and replication. *Viruses.* 2015;7(4):2030-56. Doi: 10.3390/v7042030.
17. Vandesquille M, Li T, Po C, et al. Chemically-defined camelid antibody bioconjugate for the magnetic resonance imaging of Alzheimer's disease. *mAbs.* 2017;9(6):1016-27.
18. Dorresteijn B, Rotman M, Faber D, et al. Camelid heavy chain only antibody fragment domain against  $\beta$ -site of amyloid precursor protein cleaving enzyme 1 inhibits  $\beta$ -secretase activity *in vitro* and *in vivo*. *FEBS J.* 2015;282(18):3618-31.
19. Rincon M, Zhou L, Marneffe C, et al. AAV mediated delivery of a novel anti-BACE1 VHH reduces Abeta in an Alzheimer's disease mouse model [Preprint]. Leuven: bioRxiv; 2019.
20. Butler DC, Joshi SN, Genst ED, Baghel AS, Dobson CM, Messer A. Bifunctional Anti-Non-Amyloid Component  $\alpha$ -Synuclein Nanobodies Are Protective In Situ. *PLoS One.* 2016;11(11):e0165964. Doi: 10.1371/journal.pone.0165964.
21. Iljina M, Hong L, Horrocks MH, et al. Nanobodies raised against monomeric  $\alpha$ -synuclein inhibit fibril formation and destabilize toxic oligomeric species. *BMC Biol.* 2017;15:57. Doi: 10.1186/s12915-017-0390-6.
22. Chatterjee D, Bhatt M, Butler D, et al. Proteasome-targeted nanobodies alleviate pathology and functional decline in an  $\alpha$ -synuclein-based Parkinson's disease model. *Npj Park Di.* 2018;4(1):1-10. Doi: 10.1038/s41531-018-0062-4.
23. Maffey L. Prevención y tratamiento de Rotavirus A mediante nanoanticuerpos VHH anti-VP6 [Tesis doctoral]. Buenos Aires: Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires; 2016.
24. Mendez, M. Vinculación, transferencia y utilidad social de los conocimientos : el caso de INCUINTA (2004-2019) [Tesis de grado]. Universidad Nacional de La Plata: Memoria Académica; 2021.
25. Crowell L, Goodwine C, Holt C, et al. Development of a platform process for the production and purification of single-domain antibodies. *Biotechnol Bioeng.* 2021;118(9):3348-3358. Doi: 10.1002/bit.27724.
26. Amcheslavsky A, Wallace A, Ejemel M, et al. Anti-CfaE nanobodies provide broad cross-protection against major pathogenic enterotoxigenic *Escherichia coli* strains, with implications for vaccine design. *Sci Rep.* 2021;11(1):2751. Doi: 10.1038/s41598-021-81895-0.
27. Esperbent, C. Construyen una biblioteca de nanoanticuerpos de llamas contra la COVID-19. *Rev investig agropecu.* 2020;46(2):145-7.
28. Zhou Z, Wang X, Zhang X, et al. Significance of neutralizing antibodies in COVID-19 therapy: progress and prospect. *J Chin Pharm Sci.* 2021;30(2):87-106. Doi: 10.5246/jcps.2021.02.008.
29. Hasson S, Al-Jabri A. Immunized camels and COVID-19. *Asian Pac J Trop Med.* 2020;13(6):239-241. Doi: 10.4103/1995-7645.282561.
30. Djemli S, Tahraoui A, Boussena M, et al. Camelid Antibodies May well be effective Against SARS-CoV-2 variants. 2021;6(6):604-606.
31. Sánchez C. Conociendo y comprendiendo la célula cancerosa: Fisiopatología del cáncer. *Rev méd Clín Las Condes.* 2013;24(4):553-62. Doi: 10.1016/S0716-8640(13)70659-X.
32. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell.* 2000;100(1):57-70. Doi: 10.1016/S0092-8674(00)81683-9.
33. Mitrus I, Bryndza E, Sochanik A, Szala S. Evolving models of tumor origin and progression. *Tumor Biol.* 2012;33(4):911-7. Doi: 10.1007/s13277-012-0389-0.

34. Van Audenhove I, Gettemans J. Nanobodies as Versatile Tools to Understand, Diagnose, Visualize and Treat Cancer. *EBioMedicine*. 2016;8:40-8. Doi: 10.1016/j.ebiom.2016.04.028.
35. Nikooharf A, Arezumand R, Mansouri K, Khoshi AH, Namdar Ahmadabad H. Development of a Recombinant Monospecific Anti-PLGF Bivalent Nanobody and Evaluation of it in Angiogenesis Modulation. *Mol Biotechnol*. 2020;62(11-12):580-8. Doi: 10.1007/s12033-020-00275-7.
36. Jiménez A. Virtual biopsy: seeing invisible cancer. *SEBBM*. 2018. Doi: 10.18567/sebbmdiv\_ANC.2018.01.1.
37. Arezumand R, Alibakhshi A, Ranjbari J, Ramazani A, Muyldermans S. Nanobodies As Novel Agents for Targeting Angiogenesis in Solid Cancers. *Front Immunol*. 2017;0. Doi: 10.3389/fimmu.2017.01746.
38. Verhaar ER, Woodham AW, Ploegh HL. Nanobodies in cancer. *Semin Immunol*. 2020;101425. Doi: 10.1016/j.smim.2020.101425.
39. Guidotti LG, Chisari FV. Immunobiology and pathogenesis of viral hepatitis. *Annu Rev Pathol Mech Dis*. 2006;1(1):23-61. Doi: 10.1146/annurev.pathol.1.110304.100230.
40. Ganem D, Prince AM. Hepatitis B virus infection--natural history and clinical consequences. *N Engl J Med*. 2004;350(11):1118-29. Doi: 10.1056/NEJMra031087.
41. Ferrari C, Missale G, Boni C, Urbani S. Immunopathogenesis of hepatitis B. *J Hepatol*. 2003;39 Suppl 1:S36-42. Doi: 10.1016/s0168-8278(03)00137-5.
42. Pawlotsky J-M. Pathophysiology of hepatitis C virus infection and related liver disease. *Trends Microbiol*. 2004;12(2):96-102. Doi: 10.1016/j.tim.2003.12.005.
43. Rius S, Tormos AM, Pérez S, Taléns R. Vascular pathology: Cause or effect in Alzheimer disease?. *Neurol Engl Ed*. 2018;33(2):112-20. <https://doi.org/10.1016/j.nrleng.2015.07.008>.
44. Apostolova L. Alzheimer Disease. *Contin Lifelong Learn Neurol*. 2016;22(2):419-34. doi: 10.1212/CON.0000000000000307.
45. Asefy Z, Hoseinejhad S, Ceferov Z. Nanoparticles approaches in neurodegenerative diseases diagnosis and treatment. *Neurol Sci*. 2021;42(7):2653-60. doi: 10.1007/s10072-021-05234-x.
46. Marín M, Carmona V, Ibarra Q, et al. Enfermedad de Parkinson: fisiopatología, diagnóstico y tratamiento. *Rev Univ Ind Santander Salud*. 2018;50(1):79-92. Doi: 10.18273/revsal.v50n1-2018008.
47. Vázquez GE, Zoghbi HY. Parkinson's Disease Genetics and Pathophysiology. *Annu Rev Neurosci*. 2021;44(1):87-108. Doi: 10.1146/annurev-neuro-100720-034518.
48. DeMaagd G, Philip A. Parkinson's Disease and Its Management. *Pharm Ther*. 2015;40(8):504-32.
49. de Lau LML, Breteler MMB. Epidemiology of Parkinson's disease. *Lancet Neurol*. 2006;5(6):525-35. Doi: 10.1016/S1474-4422(06)70471-9.
50. Michel PP, Hirsch EC, Hunot S. Understanding Dopaminergic Cell Death Pathways in Parkinson Disease. *Neuron*. 2016;90(4):675-91. Doi: 10.1016/j.neuron.2016.03.038.
51. Burré J, Sharma M, Tsetsenis T, Buchman V, Etherton M, Südhof T.  $\alpha$ -Synuclein Promotes SNARE-Complex Assembly *in Vivo* and *in Vitro*. *Science*. 2010; 329(5999):1663-7. doi: 10.1126/science.1195227.
52. Giasson BI, Murray IVJ, Trojanowski JQ, Lee VM-Y. A Hydrophobic Stretch of 12 Amino Acid Residues in the Middle of  $\alpha$ -Synuclein Is Essential for Filament Assembly. *J Biol Chem*. 2001;276(4):2380-6. Doi: 10.1074/jbc.M008919200.
53. Múñez E, Pintos I, Ramos A. Protocolo diagnóstico y tratamiento de la diarrea en el paciente inmunocomprometido. *Med - Programa Form Médica Contin Acreditado*. 2018;12(55):3285-3288. Doi: 10.1016/j.med.2018.04.017.
54. Barraca J. Protocolo diagnóstico de la diarrea crónica. *Med - Programa Form Médica Contin Acreditado*. 2016;12(4):197-202. Doi: 10.1016/j.med.2016.02.013.

- 55.** Arco R, Lázaro J, Díaz P. Protocolo diagnóstico y terapéutico de la diarrea aguda. *Med - Programa Form Médica Contin Acreditado*. 2019;12(87):5135-9. Doi: 10.1016/j.med.2019.10.007.
- 56.** Escribano L, Rodríguez A, Centeno G. Protocolo diagnóstico etiopatogénico de la diarrea crónica. *Med - Programa Form Médica Contin Acreditado*. 2020;13(1):38-44. Doi: 10.1016/j.med.2020.01.005.
- 57.** Fei P, Chen J, Jiang Y, et al. Rotavirus-Induced Diarrhea Changes the Proteins, Amino Acids and Fatty Acids Profiles in Fecal Samples of the Infants. *Iran J Pediatr*. 2021;31(1). Doi: 10.5812/ijp.100031.
- 58.** Maffey L, Vega CG, Parreño V, Garaicoechea L. Controlling Rotavirus-associated diarrhea: Could single-domain antibody fragments make the difference? *Rev Argent Microbiol*. 2015;47(4):368-79. Doi: 10.1016/j.ram.2015.09.005.
- 59.** Fernandes C, Pereira S, Luiz M, Zuliani J, Furtado G, Stabeli R. Camelid Single-Domain Antibodies As an Alternative to Overcome Challenges Related to the Prevention, Detection, and Control of Neglected Tropical Diseases. *Front Immunol*. 2017;8:653. Doi: 10.3389/fimmu.2017.00653.
- 60.** Pérez M, Gómez J, Dieguez R. Características clínico-epidemiológicas de la COVID-19. *Rev habanera cienc médi*. 2020;19 (2):1-15.
- 61.** Serra M. COVID-19. De la patogenia a la elevada mortalidad en el adulto mayor y con comorbilidades. *Rev habanera cienc médi*. 2021;19(3).
- 62.** Avila J. Coronavirus COVID-19; patogenia, prevención y tratamiento. 4ªed. Lejona: salusplay; 2020. 19-25 p.

## Anexo: Abreviaturas

<b>Abs</b>	Anticuerpos
<b>α-Syn</b>	Proteína alfa-sinucleína
<b>AAV</b>	Virus adenoasociados
<b>AFP</b>	Alfa-fetoproteína
<b>Anti-VP6</b>	Anticuerpos contra la proteína VP6
<b>BACE1</b>	Enzima que escinde la proteína precursora amiloide
<b>BHE</b>	Barrera hematoencefálica
<b>CapG</b>	Componente del citoesqueleto de actina
<b>CAPNb2</b>	Nanoanticuerpos disponibles para dianas de tumores en ratones
<b>CD19 y CD20</b>	Nanoanticuerpos biespecíficos en el linfoma de células B
<b>CDR</b>	Regiones de determinación complementaria
<b>Células CAR-T</b>	Células T con receptores quiméricos de antígenos
<b>EA</b>	Enfermedad de Alzheimer
<b>ETEC</b>	<i>Escherichia coli</i> enterotoxigénica
<b>GMB</b>	Glioblastomas
<b>Ig</b>	Inmunoglobulinas
<b>IgNAR</b>	Nanoanticuerpos de cadena pesada

<b>nAbs</b>	Nanoanticuerpos
<b>NAC</b>	Componente no amiloide
<b>NbSyn87-PEST</b>	Nanoanticuerpo bifuncional donde PEST es la región C terminal de la proteína
<b>R3VQ</b>	Virus VHH con capacidad de cruzar la barrera hematoencefálica
<b>SARS-CoV-2</b>	Coronavirus 2 del síndrome respiratorio agudo severo
<b>SNC</b>	Sistema nervioso central
<b>US28</b>	Receptor de quimiocinas
<b>VH14-PEST</b>	Nanoanticuerpo bifuncional donde PEST es la región del componente no amiloide
<b>VHB</b>	Virus de la hepatitis B
<b>VHC</b>	Virus de la hepatitis C
<b>VHH</b>	Nanoanticuerpos de dominio simple derivado de camélidos

© BY-NC-SA 4.0