

La proteómica como herramienta en el desarrollo de una vacuna contra la toxocariasis

Proteomics as a tool in vaccine development against Toxocariasis

Estimado Editor:

El estudio de las proteínas de diversos parásitos es motivo de escrutinio en diferentes sitios en el mundo. Sin embargo, dado los avances que ha tenido la ciencia en las últimas décadas, el conocimiento del proteoma de parásitos causantes de zoonosis dentro del grupo de las enfermedades olvidadas, siguen un camino sinuoso y aún limitado^{1,2}. Como ejemplo de zoonosis destaca la toxocariasis, parasitosis de distribución mundial y con alta prevalencia en regiones de bajos recursos con alta densidad de perros y gatos (silvestres o domésticos). *Toxocara* spp. afecta principalmente a niños de zonas tropicales y subtropicales debido a la falta de hábitos de higiene que, en combinación con factores ambientales como la desnutrición, pueden causar cuadros clínicos graves. La seroprevalencia de toxocariasis es variable entre los países, pudiendo alcanzar hasta 80% en niños de algunas zonas endémicas de Nigeria; 47,7% en algunas áreas de bajos recursos de Oaxaca, México³ o de 12,4% en el sur de Chile⁴. Es por ello, que el enfoque en el estudio de los determinantes antigénicos del parásito ha tenido como objetivo desde hace varias décadas el desarrollo de una vacuna.

La proteómica es la disciplina que utiliza técnicas moleculares de alto rendimiento para identificar, localizar y analizar las proteínas que se encuentran presentes en un órgano, tipo celular o tejido bajo ciertas condiciones⁵. Su uso permite conocer las interacciones con otras moléculas, sugiriendo epítopos antigénicos que pueden ser probados de manera individual y específica, ahorrando tiempo y costos. En los últimos años, se han realizado los primeros esfuerzos por conocer parte del inmunoproteoma de *T. canis*, y permanece aún en una fase muy temprana el estudio de *T. cati*. Sin embargo, uno de los limitantes para la identificación de determinantes antigénicos en *Toxocara* es el rendimiento de las técnicas clásicamente utilizadas, y el poco número de investigaciones realizadas al respecto. No obstante, en la última década se han desarrollado técnicas de alto rendimiento como la proteómica espacial, enfocada al estudio de proteínas celulares y que representan una oportunidad de colaboración entre médicos especialistas e investigadores de ciencias básicas cuyas alteraciones de la enfermedad puede ser identificadas *in-situ*, y verificadas molecularmente por diversas técnicas “ómicas”.

En referencia a la aplicación de la proteómica y la búsqueda de antígenos para el desarrollo de una vacuna contra *Toxocara* la información es escasa, pero destacan dos ejemplos en la literatura especializada. El primero de ellos identifica 646 proteínas de extracto de larva de *T. canis* utilizando HPLC MS/MS, encontrando a la proteína TES-26 (identificada en estado larvario mas no en el adulto) como la mejor candidata a vacuna⁶. Por otra parte, en un segundo estudio se encontraron siete proteínas candidatas a vacunas por medio de análisis *in-silico* (rTc-Cad, rTcVcan, rTcCyst), y nano-HPLC MS/MS (rTES26, rTES32, rMUC-3 and rCTL-4), cuyos resultados fueron verificados en un modelo murino, encontrando a las proteínas TcCad y rTcVcan como las mejores candidatas⁷. En ambos ejemplos queda demostrando que las herramientas proteómicas pueden ser utilizadas para la identificación y posterior generación de vacunas contra *T. canis*.

En términos generales, la proteómica espacial comprende las áreas de espectrometría de masas con análisis fraccionado de organelos, las redes de análisis de interacción proteína-proteína, y la localización de proteínas de imágenes del proteoma completo⁸. Esto requiere un análisis bioinformático y estadístico robusto, para la predicción de la función y localización de las proteínas candidatas de estudio inmunológico⁹. Entre las dificultades a las que se enfrenta cada una de las variantes de proteómica de nueva generación están la necesidad de replicar los resultados, el porcentaje de casos falsos positivos obtenidos, la translocación de proteínas del sitio original, y el tiempo requerido para realizar cada fase de los experimentos. No obstante, la disponibilidad del uso de estas técnicas aún requiere un campo de especialización y costo importante, con la perspectiva de una disminución en los costos a mediano y largo plazo.

Adicionalmente, es necesaria la combinación de varias técnicas ómicas para una mejor validación de los resultados y la realización de estudios con enfoque inmunológico¹⁰. Sin embargo, en toxocariasis, usando técnicas proteómicas de nueva generación, se puede llegar a identificar proteínas somáticas y de excreción/excreción con funciones específicas para la invasión de los patógenos, en relación con la evasión o modulación del sistema inmune, con potencial para el desarrollo de nuevas vacunas, utilizando una proteína que estimule con fuerza el sistema inmune del hospedero^{7,11}. En este contexto, las nuevas técnicas ómicas de estudios con alto rendimiento podrían revelar avances importantes para el control de la enfermedad.

En el marco de la actual pandemia de COVID-19, es posible que la toxocariasis, presente en diversos países del mundo, tenga una respuesta cruzada contra SARS-CoV-2 probablemente por un fenómeno de inmunomodulación, como resultado de una infección previa debido a la convivencia con perros y gatos¹². Aparentemente, hay

una correlación inversamente proporcional entre la probabilidad de morir por COVID-19 y la infección previa por diversos agentes parasitarios¹³. Adicionalmente, se ha descrito anteriormente el desarrollo de eosinofilia como parte de la respuesta inmunitaria ante la infección por *Toxocara* spp. Estudios recientes han identificado una relación entre los niveles de eosinófilos en sangre periférica y la gravedad de la infección por COVID-19¹⁴.

El desarrollo actual de la pandemia nos invita a reflexionar sobre las distintas opciones de interacción genética-ambiental, asociando factores predisponentes o protectores para desarrollar diversas infecciones en las que se encuentran involucrados diversos agentes parasitarios. Actualmente, se encuentra en fase de consolidación nuevas aproximaciones tecnológicas como el análisis único de células, el análisis de repertorio inmune, el fenotipado múltiple y la transcriptómica espacial¹⁵, los cuales ayudarán a determinar de mejor manera la función inmune y su participación en las diversas infecciones.

En conclusión, el uso y entrenamiento en técnicas proteómicas de nueva generación, como lo es la proteómica espacial, representan áreas de oportunidad y colaboración para las áreas de ciencias de la salud y de ciencia básica. Los resultados obtenidos por medio de la proteómica espacial pueden repercutir en la identificación de antígenos, los cuales requieren verificación funcional adicional por diversas técnicas. La toxocariasis podría tener una participación en la protección contra Covid-19 debido a la presencia de eosinofilia. El desarrollo de una vacuna o fármacos se puede potenciar con la participación de más grupos de investigación enfocados en el tema de la toxocariasis.

Referencias bibliográficas

- 1.- Bottazzi ME, Dumonteil E, Valenzuela JG, Betancourt-Cravioto M, Tapia-Conyer R, Hotez PJ. [Bridging the innovation gap for neglected tropical diseases in México: capacity building for the development of a new generation of antipoverty vaccines]. *Bol Med Hosp Infant Mex* 2020; 68: 138-46.
- 2.- Totomoch-Serra A, Manterola C. Importance of genotyping cystic echinococcosis in humans. *Arch Med Res* 2020; 51: 63-4. doi: 10.1016/j.arcmed.2019.12.009.
- 3.- Vélez-Hernández L, Reyes-Barrera KL, Rojas-Almaráz D, Calderón-Oropeza MA, Cruz-Vázquez JK, Arcos-García JL. [Potential hazard of zoonotic parasites present in canine feces in Puerto Escondido, Oaxaca]. *Salud Pública Mex* 2014; 56: 625-30.
- 4.- Armstrong WA, Oberg C, Orellana JJ. Presence of parasite eggs with zoonotic potential in parks and public squares of the city of Temuco, Araucanía Region, Chile. *Arch Med Vet* 2011; 43: 127-34. doi: 10.4067/S0301-732X2011000200005
- 5.- Ludvigsen M, Honore B. Transcriptomics and proteomics: Integration?. In: eLS. John Wiley & Sons, Ltd: Chichester. September 2019. doi: 10.1002/9780470015902.a0006188. pub2
- 6.- Da-Silva MB, Urrego JR, Oviedo Y, Cooper PJ, Pacheco LGC, Pinheiro CS, et al. The somatic proteins of *Toxocara canis* larvae and excretory-secretory products revealed by proteomics. *Vet Parasitol* 2018; 259: 25-34. doi: 10.1016/j.vetpar.2018.06.015
- 7.- Salazar-Garcés LF, Santiago LF, de Oliveira Santos SP, Jaramillo Hernández DA, Barbosa da Silva M, Dos Santos Alves V, et al. Immunogenicity and protection induced by recombinant *Toxocara canis* proteins in a murine model of toxocariasis. *Vaccine* 2020; 38: 4762-72. doi: 10.1016/j.vaccine.2020.04.072
- 8.- Lundberg E, Borner GHH. Spatial proteomics: a powerful discovery tool for cell biology. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2019; 20: 285-302. doi: 10.1038/s41580-018-0094-y
- 9.- Winders WT, Menkin-Smith L. *Toxocara canis*. 2021 Jun 5. In: StatPearls. [Internet] Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021 Jan. PMID: 30860759.
- 10.- Crook OM, Smith T, Elzek M, Lilley KS. Moving profiling spatial proteomics beyond discrete classification. *Proteomics* 2020; 20: e1900392. doi: 10.1002/pmic.201900392.
- 11.- Zheng WB, Zou Y, Zhu XQ, Liu GH. *Toxocara* “omics” and the promises it holds for medicine and veterinary medicine. *Adv Parasitol* 2020; 109: 89-108. doi: 10.1016/bs.apar.2020.01.002
- 12.- Rojas C, Lüders CF, Manterola C, Velazco M. [Loss of risk perception to zoonoses and the figure of community dog]. *Rev Chilena Infectol* 2018; 35: 186-8. doi: 10.4067/s0716-10182018000200186
- 13.- Ssebambulidde K, Segawa I, Abuga KM, Nakate V, Kayiira A, Ellis J, et al. Parasites and their protection against COVID-19- Ecology or Immunology?. medRxiv [Internet] 18 de Mayo de 2020 [Fecha de acceso: 2 de febrero de 2021]. doi: 10.1101/2020.05.11.20098053
- 14.- Xie G, Ding F, Han L, Yin D, Lu H, Zhang M. The role of peripheral blood eosinophil counts in COVID-19 patients. *Allergy* 2021; 76: 471-82. doi: 10.1111/all.14465
- 15.- Stubbington MJT, Rozenblatt-Rosen O, Regev A, Teichmann SA. Single-cell transcriptomics to explore the immune system in health and disease. *Science* 2017; 358: 58-63. doi: 10.1126/science.aan6828

Armando Totomoch-Serra^{1,2},

César A. Brito-Carreón³ y Carlos Manterola^{1,2}

¹Programa de Doctorado en Ciencias Médicas, Universidad de La Frontera (UFRO), Temuco, Chile.

²Centro de Excelencia en Estudios Morfológicos y Quirúrgicos (CEMyQ), Universidad de La Frontera (UFRO), Temuco, Chile.

³Departamento de Genética y Biología Molecular, Centro de Investigación y Estudios Avanzados. Instituto Politécnico Nacional (CINVESTAV-IPN), México, México.

Correspondencia:

Dr. Carlos Manterola
carlos.manterola@ufrontera.cl