

Avances prometedores en la lucha contra la leishmaniosis canina: Una nueva vacuna en el horizonte

CLARA HURTADO-MORILLAS^{1*}, ABEL MARTÍNEZ-RODRIGO^{2,3}, ALICIA MAS¹, LAURA DE URBINA-FUENTES¹, JOSÉ A. ORDEN¹ y GUSTAVO DOMÍNGUEZ BERNAL¹

*Primer premio VETINDOC a la mejor comunicación oral patrocinada por COLVEMA

¹ Grupo INMIVET. Departamento de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid

² Grupo INMIVET. Departamento de Producción Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid

³ Centro de Investigación en Sanidad Animal, Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CISA-INIA-CSIC).

*clarahur@ucm.es

¿Por qué vacunar frente a la leishmaniosis canina?

La leishmaniosis canina (Lcan) es una enfermedad crónica, sistémica y potencialmente mortal causada por parásitos del género *Leishmania*. Estos protozoos se transmiten principalmente a través de la mordedura de insectos vectores (flebotomos) pertenecientes al género *Phlebotomus* en Europa, África y Asia, y del género *Lutzomyia* en el continente americano. Existen un total de 13 especies de *Leishmania* que se han descrito con capacidad para poder infectar a los perros; entre todas ellas, *Leishmania infantum* (*L. infantum*) es la especie que presenta una mayor distribución a nivel mundial¹, además de ser la causante de casos graves de Lcan y de leishmaniosis visceral zoonótica (LVZ) en los seres humanos. Los cánidos son el principal reservorio de la enfermedad, lo que significa que en los perros el parásito sobrevive, se multiplica, y puede ser transmitido a los flebotomos. Por todo ello, la leishmaniosis se



Investigadores del grupo INMIVET de la Facultad de Veterinaria de la UCM

considera una preocupación global en términos de salud humana y animal y está catalogada como una de las Enfermedades Tropicales Desatendidas más importantes por la Organización Mundial de la Salud (OMS)².

Actualmente, la leishmaniosis canina afecta a perros en todo el planeta, está presente en todos los continentes excepto en Oceanía

y es especialmente preocupante en regiones como la Cuenca Mediterránea y Sudamérica. Lejos de estar cerca de su control con las medidas preventivas y terapéuticas disponibles en la actualidad, la prevalencia ha ido en aumento, por lo que se ha convertido en una preocupación creciente para la salud animal, llegando a alcanzar el 30-50 % de seroprevalencia en los perros de países del sur de

Europa³. La situación epidemiológica continúa empeorando y se han llegado a describir casos autóctonos de la enfermedad en países donde anteriormente no estaba presente, como es el caso de Rumanía⁴.

La importancia de la Lcan no solo radica en su carácter zoonótico y su prevalencia sino, también, en que se trata de una enfermedad grave que en la actualidad es difícil de curar. Si los animales no reciben un diagnóstico y tratamiento adecuados, se trata de

En este contexto, la prevención de la aparición de la enfermedad en los perros implica diferentes abordajes. Por un lado, se pueden aplicar medidas de control a nivel del vector, evitando la carga parasitaria y vigilando sus poblaciones. Y, por otro lado, se puede ejercer el control en los perros, que viene de la mano de dos herramientas: evitar el contacto de los flebotomos y generar una inmunidad protectora mediante la vacunación. En todos los casos, la reducción de la transmisión del parásito en los perros favorece

de esta enfermedad. De esta necesidad emerge el objetivo de un estudio realizado por investigadores de la Universidad Complutense de Madrid (UCM), que han desarrollado una vacuna como nueva herramienta para mejorar el control de la Lcan.

La Facultad de Veterinaria de la UCM en el desarrollo de una vacuna contra la Lcan

Una de las líneas principales de estudio dentro de nuestro grupo de investigación INMIVET, perteneciente al Departamento de Sanidad Animal de la Facultad de Veterinaria de la UCM, es el desarrollo de vacunas novedosas y eficaces frente a la leishmaniosis.

El principal objetivo de esta línea de investigación es diseñar una vacuna eficaz frente a la Lcan que pueda brindar una protección eficaz y duradera en los perros vacunados.

Tras varios años analizando y evaluando diferentes candida-

“ Lejos de estar cerca de su control con las medidas preventivas y terapéuticas disponibles en la actualidad, la prevalencia de la Leishmaniosis ha ido en aumento, por lo que se ha convertido en una preocupación creciente para la salud animal. ”

una enfermedad potencialmente mortal. Pese a la existencia de diferentes opciones terapéuticas, estas presentan una serie de limitaciones importantes. Además de ser costosas, y algunas complejas de administrar en los domicilios, pueden no ser completamente efectivas, tanto es así que existe la posibilidad de que la enfermedad reaparezca después del tratamiento. Otro de los grandes problemas de los abordajes terapéuticos de la enfermedad es la duración de los mismos, puesto que pueden requerir largos períodos de tiempo y presentar efectos secundarios graves que obligan a suspender el mismo. Esto hace que el uso de herramientas para prevenir la aparición de la enfermedad sea la opción más beneficiosa en términos de salud, además de ser la más económica y sostenible en muchas ocasiones.

también la disminución de la aparición de los casos de la enfermedad, LVZ, en los seres humanos. Es, por tanto, imprescindible un enfoque multidisciplinar y la utilización de varias herramientas para lograr disminuir la aparición

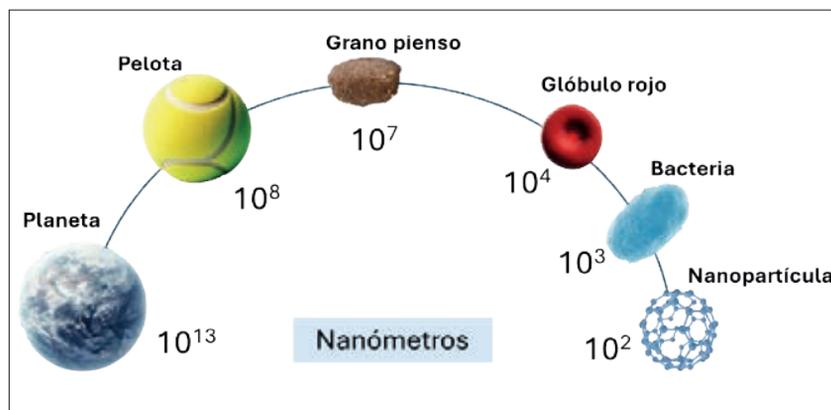


tos vacunales frente al parásito, hemos diseñado un péptido utilizando herramientas bioinformáticas avanzadas. Este péptido o secuencia pequeña de aminoácidos, llamado HisDTC, se compone de fragmentos de cuatro proteínas de *L. infantum* que contienen una selección de aminoácidos (epítomos) con la capacidad de generar una respuesta inmunológica eficaz frente a la leishmaniosis. Esto supone una importante diferencia con respecto a las estrategias vacunales que se encuentran actualmente comercializadas. De manera tradicional, este tipo de péptidos vacunales estaban conformados por fragmentos de distintas proteínas inmunogénicas del parásito, sin embargo, gracias a la aplicación de herramientas bioinformáticas, se han seleccionado aquellos epítomos con capacidad para activar de forma más eficaz aquellas células del sistema inmunitario responsables de la defensa frente a la leishmaniosis.

El resultado de la fusión de estos epítomos dio lugar a una secuencia compuesta por 70 aminoácidos, el péptido quimérico HisDTC (ES2795149B2)*, que está arrojando resultados muy prometedores en los diferentes estudios realizados hasta la fecha⁵⁻⁷.

Nanovacunas: el poder de lo más pequeño

Uno de los principales desafíos al desarrollar vacunas que consisten en péptidos o proteínas es su limitada capacidad para inducir una respuesta inmunitaria lo suficientemente eficaz por sí solas como para conseguir una protección adecuada. Por esto, se suelen administrar junto con adyuvantes, que son moléculas que ayudan a potenciar el efecto pro-



Nanopartícula representada a escala, con dimensiones en el orden de los nanómetros, mostrando su tamaño en relación con objetos macroscópicos y microscópicos.

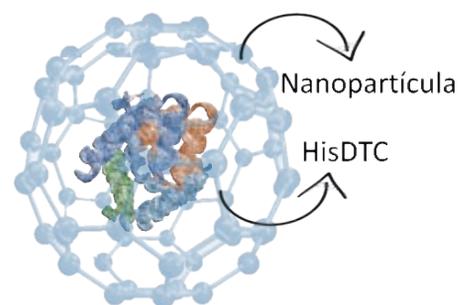
tektor del antígeno vacunal (moléculas que son reconocidas por las células del sistema inmunitario y desencadenan una respuesta protectora). Desde el grupo INMIVET hemos adoptado un enfoque innovador combinando el péptido HisDTC con la nanotecnología, prescindiendo de los adyuvantes convencionales.

La nanotecnología en el diseño de vacunas

La nanotecnología es un campo novedoso en el diseño de vacunas en una escala extremadamente pequeña, que se escapa de la vista del ojo humano e, incluso, del microscopio óptico: la nanoescala, con lo que se logran partículas que son entre 10 y 100 veces más pequeñas que una bacteria. La nanotecnología está abriendo nuevas puertas en el campo de la medicina y las vacunas que utilizan este tipo de sistemas de nanopartículas de las empresas Pfizer y Moderna frente al virus SARS-CoV-2 son solo un ejemplo de cómo se está utilizando esta tecnología para mejorar la salud frente a las enfermedades infecciosas.

Las vacunas convencionales utilizan el patógeno completo o fragmentos inactivos del mismo, mientras que las nanovacunas

son aquellas que emplean nanopartículas como vehículos para entregar los antígenos vacunales. Estas nanopartículas pueden estar compuestas por una variedad de materiales, como metales, polímeros o incluso biomoléculas. Las nanopartículas compuestas por polímeros son las más estudiadas e inocuas, y están autorizadas para la administración de fármacos en los seres humanos por la Agencia Europea del Medicamento (EMA).



Las nanovacunas presentan dos principales ventajas sobre las vacunas convencionales. La primera es que pueden aumentar la eficiencia de la entrega de antígenos a las células del sistema inmunitario, lo que puede conducir a una respuesta protectora más robusta y duradera. La segunda consiste en que las nanopartículas permiten liberar gradualmente los antígenos, lo que puede prolongar la

respuesta inmunitaria y ayudar reducir la necesidad de dosis de refuerzo.

De esta manera, el potencial de estos sistemas es inmenso, y por ello, las nanopartículas están emergiendo como adyuvantes prometedores en el desarrollo de vacunas, ofreciendo ventajas significativas en términos de eficacia, precisión y estabilidad de la respuesta inmunitaria frente a un amplio abanico de enfermedades⁸.

¿En qué consiste la nanovacuna desarrollada frente a la leishmaniosis?

Aunando los avances tecnológicos actuales, por un lado, el desarrollo de péptidos con algoritmos bioinformáticos para lograr una respuesta específica frente al parásito, y, por el otro, la utilización de nanopartículas como vehículo vacunal, hemos desarrollado una formulación que consiste en el péptido HisDTC encapsulado dentro de una nanopartícula polimérica, que se convierte así en una nanovacuna. De esta manera, presentamos una herramienta novedosa en comparación con otras vacunas actualmente comercializadas contra la Lcan o cualquier otra enfermedad en medicina veterinaria.

¿Cómo evaluar la eficacia de una vacuna frente a la leishmaniosis canina?

La efectividad de muchas vacunas dirigidas contra otros microorganismos se basa principalmente en la inducción de una respuesta inmunitaria predominantemente del tipo humoral, es decir, mediada por anticuerpos. Sin embargo,

“ La reducción de la transmisión del parásito en los perros favorece también la disminución de la aparición de los casos de la enfermedad en los seres humanos. Es, por tanto, imprescindible un enfoque multidisciplinar y la utilización de varias herramientas para lograr disminuir su aparición. ”

el abordaje de vacunas frente a *Leishmania* implica consideraciones distintas debido a la naturaleza intracelular del parásito. Dado que estos organismos eucariotas intracelulares evaden las respuestas inmunitarias mediada por anticuerpos, se requiere una estrategia de vacunación que favorezca una respuesta inmunitaria de tipo celular, caracterizada por la activación de linfocitos T específicos.

En este contexto, el interferón gamma (IFN- γ) se presenta como un regulador clave en la defensa inmunitaria contra la Lcan. Esta citoquina desempeña un papel esencial en la activación de macrófagos y linfocitos T, con lo que promueve la limitación de la multiplicación parasitaria y la eliminación de las formas intracelulares del parásito.

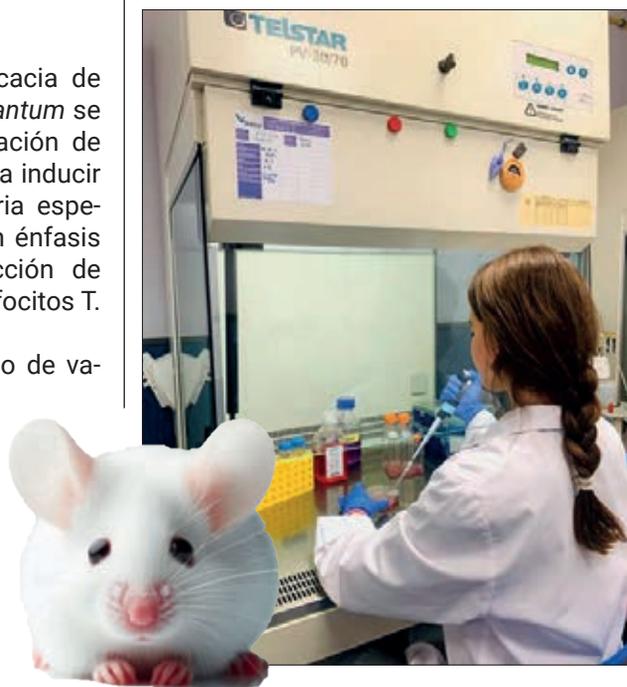
La evaluación de la eficacia de una vacuna contra *L. infantum* se fundamenta en la valoración de la capacidad de esta para inducir una respuesta inmunitaria específica y duradera, con un énfasis particular en la producción de IFN- γ por parte de los linfocitos T.

En resumen, el desarrollo de vacunas contra la Lcan representa un desafío que requiere un enfoque adaptado a las complejidades de la respuesta inmunitaria frente a un patógeno eucariota intracelular. Al comprender y apro-

vechar los mecanismos inmunitarios específicos, como la producción de IFN- γ y la activación de células T, podemos aspirar a diseñar vacunas efectivas y duraderas que contribuyan significativamente a la protección de los perros expuestos a este parásito.

Hallazgos de interés hasta el momento

Desde el grupo INMIVET, recientemente hemos publicado los resultados de nuestra última investigación, en la que evaluamos por primera vez esta prometedora nanovacuna como nuevo candidato vacunal frente a la infección por *L. infantum*⁷.



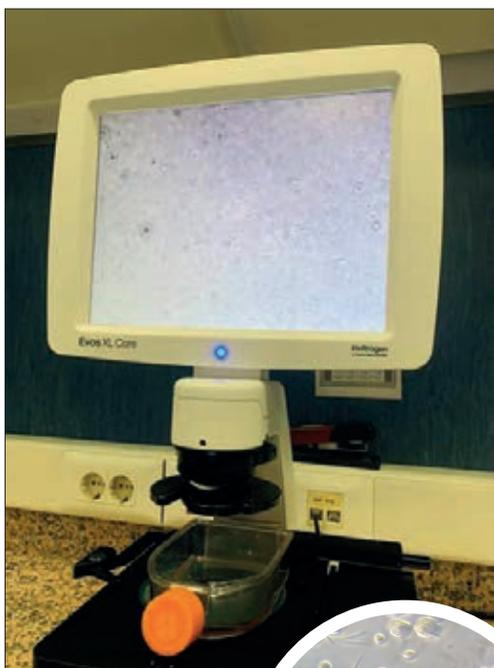
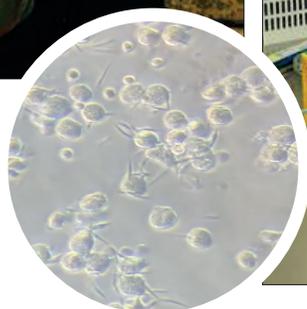


Imagen tomada con un microscopio óptico invertido de células de ratón que están siendo infectadas por parásitos de *Leishmania*.



El estudio se llevó a cabo en un modelo de leishmaniosis visceral en ratón, causada por *L. infantum*. Esto constituye el primer abordaje para analizar la eficacia y seguridad de nuestra formulación, así como para mejorarla y optimizarla, antes de realizar ensayos clínicos en la especie de destino, los cánidos.

El objetivo principal de esta investigación fue evaluar la capacidad protectora del péptido HisDTC encapsulado como nueva vacuna frente a la infección por *L. infantum*, así como determinar la duración de esa protección. Para ello, examinamos su eficacia tanto a corto (un mes y medio después de la vacunación) como a largo plazo (cuatro meses después de la vacunación). Además, también se comparó su eficacia con la de la vacuna LetiFend®, que, en el momento del estudio, era la única va-

cuna autorizada y comercializada en Europa para prevenir la Lcan.

Los hallazgos de esta investigación indican que se trata de una formulación segura para los animales, puesto que HisDTC no pro-

te consistió en que los animales vacunados con HisDTC encapsulado en nanopartículas fueron capaces de controlar de forma eficaz la multiplicación del parásito, llegando a superar incluso la eficacia de LetiFend®. Esto es debido

“ Las perspectivas para esta vacuna son alentadoras. Los resultados obtenidos en este estudio inicial en ratones revelan una respuesta inmunitaria protectora eficaz y sin efectos adversos, lo que respalda la necesidad de avanzar hacia ensayos clínicos en perros. ”

vocó ninguna reacción adversa ni efectos no deseados en ninguno de los animales vacunados. Sin embargo, el aspecto más relevan-

te es que esta nanovacuna es capaz de inducir una respuesta inmunitaria protectora, caracterizada por una gran producción de IFN- γ , que

es crucial para una adecuada protección frente a *Leishmania*. Otro aspecto clave a destacar es que los animales vacunados con HisDTC mantuvieron esta protección también a largo plazo.

De esta manera, estos resultados respaldan que el péptido HisDTC encapsulado en nanopartículas podría ser una opción eficaz, duradera y segura contra la Lcan producida por la infección de *L. infantum*.

Perspectivas de futuro

Las perspectivas para esta vacuna son alentadoras. Los resultados obtenidos en este estudio inicial en ratones revelan una respuesta inmunitaria protectora eficaz y sin efectos adversos, lo que

respalda la necesidad de avanzar hacia ensayos clínicos en perros.

Estas pruebas clínicas representan nuestro próximo objetivo crucial, ya que nos permitirán evaluar tanto la eficacia como la seguridad de la vacuna en la población diana afectada por la leishmaniosis canina, los perros.

En la actualidad, y con la autorización de la Agencia Española del Medicamento, se está llevando a cabo, en colaboración con las clínicas veterinarias del grupo Peñagrande, el primer ensayo de campo con la nanovacuna. Si estos ensayos confirman los resultados prometedores obtenidos hasta ahora, estaríamos cerca de poder tener una vacuna eficaz contra la Lcan, lo que supondría un gran avance en la lucha frente a esta.



Bibliografía

Enlace al artículo principal para más información:

Hurtado-Morillas C., et al., *Enhancing Control of Leishmania infantum Infection: A Multi-Epitope Nanovaccine for Durable T-Cell Immunity. Animals (Basel)*. 2024

- 1 Dantas-Torres, F., et al., Canine leishmaniosis in the Old and New Worlds: unveiled similarities and differences. *Trends Parasitol*, 2012. 28(12): p. 531-8.
- 2 WHO. Leishmaniasis. 2023 19 June 2023]; Available from: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis>.
- 3 Morales-Yuste, M., J. Martín-Sánchez, and V. Corpas-Lopez, Canine Leishmaniasis: Update on Epidemiology, Diagnosis, Treatment, and Prevention. *Vet Sci*, 2022. 9(8).
- 4 Dumitrache, M.O., et al., The quest for canine leishmaniasis in Romania: the presence of an autochthonous focus with subclinical infections in an area where disease occurred. *Parasit Vectors*, 2016. 9(1): p. 297.
- 5 Martínez-Rodrigo, A., et al., Epitope Selection for Fighting Visceral Leishmaniosis: Not All Peptides Function the Same Way. *Vaccines (Basel)*, 2020. 8(3).
- 6 Mas, A., et al., A Tailored Approach to Leishmaniasis Vaccination: Comparative Evaluation of the Efficacy and Cross-Protection Capacity of DNA vs. Peptide-Based Vaccines in a Murine Model. *Int J Mol Sci*, 2023. 24(15).
- 7 Hurtado-Morillas, C., et al., Enhancing Control of *Leishmania infantum* Infection: A Multi-Epitope Nanovaccine for Durable T-Cell Immunity. *Animals (Basel)*, 2024. 14(4).
- 8 Zaheer, T., K. Pal, and I. Zaheer, Topical review on nano-vaccinology: Biochemical promises and key challenges. *Process Biochem*, 2021. 100: p. 237-244.

*La aplicación del péptido HisDTC está protegida mediante la concesión de una patente (ES2795149B2). Esta patente es propiedad de la Universidad Complutense de Madrid, España.