

LA NANOBIOLOGÍA EN LA LUCHA CONTRA LA LEISHMANIOSIS



En España nuestros perros son el principal reservorio de *Leishmania infantum*, parásito que causa la leishmaniosis visceral. Es una enfermedad que puede afectar también a las personas, causando más de 20.000 muertes anuales en el mundo. Queremos desarrollar una vacuna y un tratamiento para luchar contra esta enfermedad aplicando la nanobiología, que es una magnífica herramienta para introducir los principios activos hasta las células diana en los procesos patológicos humanos y animales.

✓ OBJETIVO

Mínimo: 4.000 €
Óptimo: 25.000 €

✓ UBICACIÓN

Madrid





Descripción

Leishmania infantum es el agente etiológico causante de la leishmaniosis visceral zoonótica (LV) en seres humanos y otros mamíferos, siendo el perro el más importante reservorio [1]. En muchas regiones de España la LV canina es endémica y representa un problema de primera magnitud tanto de índole veterinaria como de salud pública dado el carácter zoonótico del parásito [2]. Se trata de una enfermedad de transmisión vectorial cuyo responsable es un pequeño insecto díptero conocido como flebótomo.

Es una enfermedad cuya distribución es mundial y según datos de la Organización Mundial de la Salud se estima que 310 millones de personas están en riesgo de sufrir leishmaniosis en todo el mundo, registrándose unos 300.000 casos anuales de LV y 20.000 muertes al año [3].

1. Gramiccia, M., Recent advances in leishmaniosis in pet animals: epidemiology, diagnostics and anti-vectorial prophylaxis. *Vet Parasitol*, 2011. 181(1): p. 23-30.
2. Palatnik-de-Sousa, C.B. and M.J. Day, One Health: the global challenge of epidemic and endemic leishmaniasis. *Parasit Vectors*, 2011. 4: p. 197.



¿Qué está ocurriendo?

Aunque la incidencia de la LV humana en la Cuenca Mediterránea hasta el presente siglo era relativamente baja (un rango de 5–200 casos por año en cada país), el número de casos ha aumentado y está teniendo lugar una notable expansión de la enfermedad [4, 5]. Prueba de ello es el reciente brote de leishmaniosis humana acontecido en el suroeste de Madrid, que cuenta con 702 personas afectadas desde 2009 hasta febrero de 2017 y que se ha convertido en el mayor brote de leishmaniosis humana en Europa Occidental [6, 7].

Además, cabe destacar que en muchas regiones de España la leishmaniosis canina se presenta con carácter endémico y el perro está considerado el principal reservorio, no solo en la zona mediterránea, sino también en otras partes de Europa, donde la enfermedad se ha extendido [8]. Por tanto, el desarrollo de una vacuna o terapia efectivas constituye una prioridad de primera magnitud.

Recientemente nuestro grupo de investigación ha desarrollado una vacuna de ADN efectiva frente a varias formas de leishmaniosis. Se



trata de un plásmido vacunal (HisAK70), que codifica siete genes que codifican proteínas previamente descritas como importantes inmunógenos de *L. infantum*. En el modelo murino de leishmaniosis cutánea (LC), HisAK70 es capaz de eliminar el 100% de la carga parasitaria visceral, y además es capaz de reducir en un 62% la carga parasitaria en el modelo murino de LV [9].

Desde una perspectiva biotecnológica, el desarrollo de las nanopartículas ha supuesto una revolución en el campo de la administración de fármacos, aunque también se están empleando como vehículos de proteínas y ADN, frente a diversas enfermedades [10, 11]. Las nanopartículas (NP) de PLGA (ácido poliláctico-coglicólico) son las más ampliamente utilizadas, están constituidas por monómeros de ácido láctico y glicólico y están aprobadas por la Food and Drug Administration (FDA) y la Agencia Europea de Medicamentos EMA [12], con lo que la Nanotecnología se constituye en la actualidad en una apuesta metodológica esencial en la lucha frente a la enfermedad.



¿Por qué?

Actualmente no existe ninguna vacuna capaz de prevenir la leishmaniosis humana y aunque sí existen en Europa dos vacunas comerciales y varios tratamientos antileishmaniales para su uso en perros, aun distan mucho de ser satisfactorios [13] debido a que presentan inconvenientes muy importantes como la escasa eficacia, la toxicidad, los elevados costes, la necesidad de numerosas aplicaciones y el desarrollo de resistencias parasitarias [14].

Nuestra hipótesis considera que los fallos se pueden asociar a que solo se intenta luchar frente al parásito sin aliviar la respuesta inmunopatológica que conduce a la enfermedad, es deseable que los esfuerzos se centren en inmunomoduladores que controlen y reduzcan la gravedad de la patología desencadenada por la respuesta inmunitaria inducida por *L. infantum*. Las nanopartículas de PLGA representan un nuevo abordaje para la liberación de proteínas o péptidos con actividad inmunológica e inmunoterapéutica gracias a su capacidad para ser ingeridas por células fagocíticas e inducir respuestas inmunitarias. Además, su modificación en superficie ha sido utilizada recientemente en la terapia contra enfermedades como el Cáncer o el SIDA con el objetivo de dirigir los tratamientos de forma más específica a las células de interés [15, 16]. Es por esto que en nuestro grupo de investigación creemos que la incorporación de este tipo de nanotecnología en el desarrollo de tratamientos y vacunas frente a la leishmaniosis podría suponer un abordaje novedoso y prometedor en el control de esta enfermedad.



 ¿Y ahora qué podemos hacer?

Nuestro objetivo principal es desarrollar una herramienta eficaz en el tratamiento y prevención de la leishmaniosis canina basada en la nanobiotecnología, ya que el control de la enfermedad en los perros es una de las medidas más importantes en la lucha frente a la leishmaniosis humana.

En este proyecto proponemos aplicar una nueva formulación inmunogénica que utiliza nanopartículas de PLGA cargadas con un cóctel proteico, derivado de la secuencia de ADN HisAK70, y cuya superficie se modificará con el objetivo de dirigirlas especialmente a las células del sistema inmune que actúan como dianas del patógeno, como estrategia inmunoproláctica e inmunoterapéutica eficaz frente a *L. infantum*. Después se llevará a cabo la valoración de su actividad en un modelo *ex vivo* con células dianas y, posteriormente, su seguridad, inmunogenicidad y eficacia sobre un modelo experimental de infección intradérmica en ratones BALB/c y en función de los resultados en un ensayo clínico en el modelo canino.

 PRECIPITANDO ¿A qué se dedicará tu aportación?

Si se consiguiese el apoyo financiero suficiente para lograr el importe mínimo solicitado se llevaría a cabo la obtención, funcionalización y caracterización de nanopartículas de PLGA cargadas con el cóctel inmunogénico HisAK70 y dos ligandos de TLR 2 y 3 como adyuvantes, cumpliendo así el primer objetivo específico del proyecto.

Si se lograra un apoyo financiero superior al importe mínimo o si se alcanzara el importe óptimo se podrían emplear las nanopartículas previamente diseñadas para la evaluación de sus capacidades antileishmanial e inmunoterapéutica *ex vivo* en cultivos celulares de origen murino y canino, y en función de estos resultados, en un modelo murino de infección intradérmica con *L. infantum*.

Si se lograra superar el importe óptimo se podrían llevar a cabo los primeros pasos para trasladar este proyecto a la especie de interés mediante un ensayo clínico en el modelo canino.

 ¿Quieres saber más?

Página web de nuestro grupo investigación donde encontrarás



información acerca de nuestro trabajo

- <http://veterinaria.ucm.es/inbavet>

Algunas páginas en las que puedes encontrar más información acerca de la leishmaniosis:

- <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs375/es/>
- <http://www.madrimasd.org/informacionIdi/analisis/analisis/analisis.asp?id=62559/>
- <https://www.youtube.com/watch?v=5QziyJ3Dhas>
- <http://www.leishvet.org/>



Repercusiones del proyecto

La propuesta del proyecto pretende contribuir con soluciones imaginativas a combatir al enorme impacto social, económico y científico-tecnológico que representa la leishmaniosis como zoonosis emergente mediante el desarrollo de nuevas estrategias profilácticas y terapéuticas frente a la leishmaniosis canina y humana. De igual manera, este proyecto se apoya en recursos metodológicos del ámbito de la nanotecnología y biotecnología con una clara apuesta por la aplicación inmediata de los resultados. De hecho, estas disciplinas están consideradas como Tecnologías Facilitadoras Esenciales que pueden contribuir a solventar los problemas de los retos sociales tanto de forma individual como teniendo en consideración el beneficio acumulado que pueda resultar de su combinación.

Los resultados que se deriven de este proyecto podrían constituir un punto de inflexión en el ámbito de "Una Salud". En este contexto, y teniendo en cuenta las consecuencias del impacto humano sobre la alteración del medio natural y la transmisión parasitaria, los resultados podrían tener una aplicación inmediata en lo referente a la adopción de estrategias vacunales e inmunoterapéuticas basadas en nanotecnología como aproximación práctica para evitar y reducir el impacto de las consecuencias de la transmisión parasitaria sobre los perros como principal reservorio y por ello sobre los seres humanos.



Otros datos



Publicaciones más relevantes:

- Domínguez-Bernal, G., et al., HisAK70: progress towards a vaccine against different forms of leishmaniosis. *Parasit Vectors*, 2015. 8: p. 629.
- Domínguez-Bernal, G., et al., Mitigating an undesirable immune response of inherent susceptibility to cutaneous leishmaniosis in a mouse model: the role of the pathoantigenic HISA70 DNA vaccine. *Vet Res*, 2012. 43: p. 59.
- Domínguez-Bernal, G., et al., Characterisation of the ex vivo virulence of *Leishmania infantum* isolates from *Phlebotomus perniciosus* from an outbreak of human leishmaniosis in Madrid, Spain. *Parasit Vectors*, 2014. 7: p. 499.
- Domínguez-Bernal, G., et al., Alternative strategy for visceral leishmaniosis control: HisAK70- *Salmonella Choleraesuis*-pulsed dendritic cells. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*, 2017. 54: p. 13-19.

Patentes:

Inventores/as (p.o. de firma): F. J. Carrión; G. Domínguez-Bernal; J.A. Orden, R. de la Fuente.

Título: Quimera multicomponente para su uso como vacuna frente a la infección por *Leishmania* spp. en mamíferos.

Nº de solicitud: P201101355. *País de prioridad:* España. *Fecha de prioridad:* 23/12/2011.

Número de publicación (con examen previo): ES2415516. *Fecha de concesión:* 28/01/2014.

Entidad titular: UCM.

Países a los que se ha extendido: solicitud internacional PCT ES2012/000321.

1. Gramiccia, M., *Recent advances in leishmaniosis in pet animals: epidemiology, diagnostics and anti-vectorial prophylaxis*. *Vet Parasitol*, 2011. **181**(1): p. 23-30.
2. Palatnik-de-Sousa, C.B. and M.J. Day, *One Health: the global*



- challenge of epidemic and endemic leishmaniasis*. Parasit Vectors, 2011. **4**: p. 197.
3. WHO.
 4. Gradoni, L., et al., *Drug regimens for visceral leishmaniasis in Mediterranean countries*. Trop Med Int Health, 2008. **13**(10): p. 1272-6.
 5. Gramiccia, M. and L. Gradoni, *The current status of zoonotic leishmaniasis and approaches to disease control*. Int J Parasitol, 2005. **35**(11-12): p. 1169-80.
 6. Jimenez, M., et al., *Could wild rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) be reservoirs for *Leishmania infantum* in the focus of Madrid, Spain?* Vet Parasitol, 2014. **202**(3-4): p. 296-300.
 7. Noguero Alvarez, M., et al., *[Community outbreak of leishmaniasis in the southern area of the community of Madrid]*. Aten Primaria, 2012. **44**(8): p. 508-9.
 8. Maia, C. and L. Cardoso, *Spread of *Leishmania infantum* in Europe with dog travelling*. Vet Parasitol, 2015. **213**(1-2): p. 2-11.
 9. Dominguez-Bernal, G., et al., *HisAK70: progress towards a vaccine against different forms of leishmaniasis*. Parasit Vectors, 2015. **8**: p. 629.
 10. Parveen, S., R. Misra, and S.K. Sahoo, *Nanoparticles: a boon to drug delivery, therapeutics, diagnostics and imaging*. Nanomedicine, 2012. **8**(2): p. 147-66.
 11. Parveen, S. and S.K. Sahoo, *Polymeric nanoparticles for cancer therapy*. J Drug Target, 2008. **16**(2): p. 108-23.
 12. Danhier, F., et al., *PLGA-based nanoparticles: an overview of biomedical applications*. J Control Release, 2012. **161**(2): p. 505-22.
 13. Kobets, T., I. Grekov, and M. Lipoldova, *Leishmaniasis: prevention, parasite detection and treatment*. Curr Med Chem, 2012. **19**(10): p. 1443-74.
 14. Roatt, B.M., et al., *Immunotherapy and Immunochemotherapy in Visceral Leishmaniasis: Promising Treatments for this Neglected Disease*. Front Immunol, 2014. **5**: p. 272.
 15. Kasturi, S.P., et al., *Programming the magnitude and persistence of antibody responses with innate immunity*. Nature, 2011. **470**(7335): p. 543-7.



16. Rosalia, R.A., et al., *Efficient ex vivo induction of T cells with potent anti-tumor activity by protein antigen encapsulated in nanoparticles*. Cancer Immunol Immunother, 2013. **62**(7): p. 1161-73.
17. Dominguez-Bernal, G., et al., *Mitigating an undesirable immune response of inherent susceptibility to cutaneous leishmaniosis in a mouse model: the role of the pathoantigenic HISA70 DNA vaccine*. Vet Res, 2012. **43**: p. 59.
18. Dominguez-Bernal, G., et al., *Characterisation of the ex vivo virulence of Leishmania infantum isolates from Phlebotomus perniciosus from an outbreak of human leishmaniosis in Madrid, Spain*. Parasit Vectors, 2014. **7**: p. 499.
19. Dominguez-Bernal, G., et al., *Alternative strategy for visceral leishmaniosis control: HisAK70-Salmonella Choleraesuis-pulsed dendritic cells*. Comp Immunol Microbiol Infect Dis, 2017. **54**: p. 13-19.



Ubicación

Departamento de Sanidad Animal de la Facultad de Veterinaria de la UCM



¿Quién está detrás de este proyecto?

El Grupo de Investigación INMIVET, integrado en el Departamento de Sanidad Animal de la Facultad de Veterinaria de la UCM y creado en



el año 2004, está coordinado por el profesor Ricardo de la Fuente López (Catedrático de Universidad) y está integrado por más de 6 investigadores, que incluyen, además del coordinador, a tres Profesores Titulares de Universidad, 1 Profesor Contratado Doctor, 2 contratados predoctorales y colaboradores de otros centros y estudiantes pregraduados.

Dedicados a la línea de investigación destinada a estudio de la leishmaniosis se encuentran:

Gustavo Domínguez Bernal. Licenciado y Doctor en Veterinaria por la UCM. Imparte actualmente docencia en disciplinas relacionadas con la Inmunología y Enfermedades Infecciosas tanto en Grado como en Máster. Activo participante en la difusión de la ciencia a la sociedad, colaborando en iniciativas como la Semana de la Ciencia o desarrollando nuevos métodos didácticos en soporte informático encuadrados en Proyectos de Innovación Educativa. Autor de numerosas publicaciones científicas en revistas internacionales y de diversas revisiones sobre la interacción entre patógenos y células hospedadoras. Ha realizado estancias de investigación en distintos países europeos. Actualmente centra su actividad investigadora en el diseño de nuevas estrategias vacunales en la lucha frente a bacterias (*Salmonella*) y protozoos (*Leishmania*) que afectan a distintas especies animales, especialmente aquellas que son zoonóticas (se transmiten entre animales y personas). Es evaluador de la Agencia Estatal de Investigación para proyectos de I+D+i, y contratos Postdoctorales. Revisor de revistas de su área de conocimiento, y evaluador para agencias certificadoras de proyectos de I+D.

Fco. Javier Carrión Herrero. Licenciado en Biología-Zoología (UCM) y CC Ambientales (UAM) y posteriormente se doctoró por la UAM en el Dpto. de Biología Molecular. De forma continuada hasta la actualidad sus investigaciones tienen un enfoque multidisciplinar que se centra en Enfermedades Infecciosas Desatendidas. El principal grupo de parásitos que estudia pertenecen al género *Leishmania*, causantes de diversas formas de leishmaniosis. Sus investigaciones también se centran en el parásito *Trypanosoma cruzi* (agente etiológico de la enfermedad de Chagas) y en otros agentes microbianos de importancia médica y veterinaria (enfermedades entéricas). En el ámbito docente, desde el año 2010 viene impartiendo docencia repartida en asignaturas de Grado en Veterinaria (Epidemiología, Estancias, Trabajo Fin de Grado) y en Biología (Iniciación a la investigación, Zoología Aplicada). Además, ha participado en la docencia del Máster de Ciencias Veterinarias de la Facultad de Veterinaria UCM (Investigación en Inmunología Veterinaria). También ha participado en la elaboración de material docente y en la actualidad co-dirige dos tesis doctorales. En lo referente a la Divulgación Científica participa activamente y en el año 2016, su labor fue reconocida con el premio de Divulgación Científica otorgado por la OTRI-UCM. Es revisor habitual de manuscritos en prestigiosas revistas



científicas y también evaluador para la Agencia Nacional de Evaluación y Prospectiva (ANEP).

Abel Martínez Rodrigo. Graduado en Veterinaria por la UCM desde 2015. Actualmente forma parte del grupo INMIVET como Contratado Predoctoral UCM bajo la dirección de Gustavo Domínguez Bernal y Fco. Javier Carrión Herrero. Ha desarrollado su actividad investigadora centrada en el estudio de la leishmaniosis desde 2013, ha asistido a diferentes congresos y cursos internacionales relacionados con la inmunología y las enfermedades transmisibles y cuenta con tres publicaciones científicas en revistas internacionales. Ha realizado una estancia de investigación en el instituto de investigación Paul-Erlich en Frankfurt (Alemania).

Alicia Mas Zubiri. Graduada en Veterinaria por la UCM desde 2015 cuenta con un año de experiencia laboral en la clínica de pequeños animales. Actualmente forma parte del grupo INMIVET como Contratada Predoctoral UCM bajo la dirección de Gustavo Domínguez Bernal y Fco. Javier Carrión Herrero. Ha desarrollado su actividad investigadora centrada en el estudio de la leishmaniosis desde 2013, ha asistido a diferentes congresos y cursos internacionales relacionados con la inmunología y las enfermedades transmisibles y cuenta con tres publicaciones científicas en revistas internacionales. Ha realizado una estancia de investigación en el Departamento de Dermatología de la Universidad Johannes Gutenberg en Mainz (Alemania).

