

## **Inmunoprofilaxis frente a la Fasciolosis: Situación Actual y Perspectivas**

### **Immunoprophylaxis of Fasciolosis: Current Situation and Future Trends**

Aitana López Baquero

Tutor:

Ignacio Ferre Pérez

Universidad Complutense de Madrid

#### *Resumen*

La fasciolosis es una enfermedad parasitaria importante, no solo por la hepatopatía que produce en el ganado, sino por las graves pérdidas económicas que supone y su comportamiento zoonótico. A los daños ocasionados en el hígado se une la capacidad del parásito para estimular el sistema inmunitario hacia una respuesta Th2, que facilita su supervivencia y la aparición de coinfecciones. Los problemas de resistencias farmacológicas y la elevada prevalencia de la enfermedad, hacen cada vez más necesario el desarrollo de una vacuna. Actualmente se investiga especialmente en antígenos del parásito adulto. En este trabajo se indica la necesidad de investigar antígenos del parásito inmaduro para frenar la infección antes de que se produzca el daño hepático y la modificación del sistema inmunitario.

*Palabras clave: fasciola, control, inmunoprofilaxis, vacuna.*

#### *Abstract*

Fasciolosis is a zoonotic parasitic disease, causing severe hepatic pathology and important economic losses in livestock. Liver damage arise by the ability of trematodes to develop a Th2 response by host immune system, which enables parasite survival and the appearance of coinfections. New control methods, such a vaccine, are needed by the increasing anthelmintic resistances and the high prevalence of the disease. Current research is focused on the analysis of the adult parasite's proteins. This work shows the need to investigate antigens from immature parasite to reduce liver damage and redirected-immune system effects.

*Keywords: fasciola, control, immunoprophylaxis, vaccine.*

## Introducción

La **fasciolosis** causada por *Fasciola hepática* es una enfermedad parasitaria cosmopolita asociada a inflamación hepática y trastornos digestivos y nutritivos. Es un proceso importante en los animales domésticos, sobre todo rumiantes, en regiones de clima templado. La importancia de la fasciolosis en Europa se ha incrementado en la última década principalmente por dos factores: el aumento de cepas resistentes al triclabendazol (fármaco de elección) y el cambio climático que ha alterado la distribución geográfica del caracol que actúa como hospedador intermediario del parásito (Molina-Hernández et al., 2015).

El impacto que produce la fasciolosis es fundamentalmente económico, causando tanto pérdidas indirectas, como la reducción de las producciones, mayores costes veterinarios y susceptibilidad a padecer otras infecciones; como pérdidas directas por decomisos y mortalidad.

El ciclo vital del trematodo está asociado a ambientes húmedos o encharcados. El ganado infectado elimina huevos del parásito con las deyecciones, en los que se desarrolla una larva, que una vez eclosionada buscará un molusco anfíbio (*Galba truncatula*), donde multiplicarse. Finalmente, se formarán unas fases larvianas (cercarias) que abandonarán al caracol para enquistarse como **metacercarias** en la hierba circundante. Los animales de abasto se infectarán, por tanto, al ingerir hierba contaminada con estas meta-cercarias.

La fasciolosis es una **zoonosis**, siendo la principal fuente de infección para el humano diversas plantas acuáticas (berros, rábanos) o agua contaminados por meta-cercarias.

Debido a la elevada prevalencia de la enfermedad, sus consecuencias económicas y la resistencia desarrollada por los parásitos frente a los fármacos disponibles, es urgente encontrar otros métodos de control. Las vacunas podrían ser una alternativa eficaz. Sin embargo, en el caso de la fasciolosis existen tres problemas importantes para su diseño: no hay rumiantes con fenotipos resistentes bien definidos frente al parásito, el escaso conocimiento de los mecanismos de inmunidad adquirida en la fasciolosis y la complejidad de los antígenos de *Fasciola* que pueden modular la respuesta inmunitaria (Toet, Piedrafito, y Spithill, 2014).

## Discusión

### Patología hepática y respuesta inmune

Durante la **fase pre-patente**, la hepatopatía causada por las fasciolas inmaduras está asociada a sus actividades histiófagas. Durante 6-8 semanas, estas migran por el parénquima hepático causando hemorragia y necrosis; con el tiempo esas áreas de necrosis se fibrosan. En la **fase patente**, a partir de las 8-9 semanas post-infección, se produce el asentamiento de los parásitos en los conductos biliares donde madurarán sexualmente. Las fasciolas adultas son hematófagas

y con espinas en su tegumento, causando colangitis intensa con erosión e hiperplasia del epitelio biliar, presencia de infiltrado de células inflamatorias y fibrosis portal. Estas lesiones, junto con los trayectos fibróticos del parénquima, son las típicas lesiones de la fasciolosis crónica. Cuando la dosis infectante es muy elevada, las lesiones suelen ser más intensas e incluso los animales pueden morir durante la fase pre-patente (fasciolosis aguda). Sin embargo, cuando es baja, la fasciolosis se desarrolla de forma crónica.

Entender cómo puede modificar el parásito la respuesta inmunitaria de su hospedador es complejo, pero imprescindible para la elaboración de una vacuna. *Fasciola hepática* induce al sistema inmunitario de su hospedador al desarrollo de una **respuesta Th2** (antiinflamatoria) en la primera semana post-infección, reduciéndose la **respuesta Th1** (proinflamatoria). De este modo, se permite el desarrollo de una infección crónica que garantiza la supervivencia del parásito, siempre que la dosis infectante no sea elevada, en cuyo caso se produce daño hepático intenso y fallo orgánico. Este hecho es muy importante cuando se pretende preparar una vacuna, puesto que su eficacia dependerá de la dosis infectante. Además, la modificación de la respuesta inmunitaria facilita coinfecciones con virus y bacterias (Molina-Hernández et al., 2015).

### ¿Es posible elaborar una vacuna frente a *Fasciola hepática*?

Diversos estudios han demostrado que se puede inducir inmunidad tras la infección por *Fasciola* spp. Sin embargo, el grado de inmunidad es variable entre diferentes rumiantes hospedadores y especies del trematodo. Por ejemplo, tras la primoinfección, las ovejas no adquieren inmunidad frente a *F. hepatica*, aunque algunas razas ovinas tienen resistencia frente a *Fasciola gigantica*. Los bovinos, en cambio, sí desarrollan inmunidad frente a *F. hepatica* (Toet, Piedrafito, y Spithill, 2014). Los mecanismos de resistencia están relacionados con la fibrosis causada por la primoinfección y retrasan la migración de los parásitos en sucesivas reinfecciones.

Se ha demostrado que *F. hepatica* es susceptible a la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC) y que en algunas razas de ovejas, ese mecanismo es el que elimina las fases juveniles de *F. gigantica*. En terneros no se conoce el mecanismo de destrucción de los parásitos, pero sí se sospecha que está mediado por el mecanismo ADCC. Es razonable proponer, entonces, que los anticuerpos inducidos durante la fase más temprana de la infección están dirigidos frente a antígenos del tegumento superficial de las fasciolas inmaduras y que esos antígenos pueden ser las posibles dianas de la muerte de los parásitos mediada por el mecanismo ADCC. Por ello, es importante el estudio de antígenos de superficie de *Fasciola* spp. como candidatos vacunales. La unión antígeno-anticuerpo es máxima a las 3-5 semanas post-infección y después se reduce cuando el parásito penetra en los conductos biliares. Todo ello sugiere que

los anticuerpos serían capaces de reconocer los antígenos tegumentarios en las primeras fases y que serían potencialmente capaces de promover los mecanismos ADCC (Toet et al., 2014).

### **Candidatos vacunales**

Una vacuna puede mostrar distinto grado de protección dependiendo del tipo de adyuvante, vía de administración e inmunogenicidad de los candidatos antigénicos (Meemon y Sobhon, 2015). La mayor parte de los candidatos vacunales testados han sido aislados como proteínas nativas de parásitos adultos y confieren buena protección en terneros y ovejas. El problema es que están dirigidos frente a las formas adultas, que ya han puesto en marcha todo el mecanismo inmunogénico de evasión y residen en los conductos biliares, siendo inaccesibles para las células del hospedador.

Actualmente, las dos moléculas más estudiadas en la elaboración de vacunas son proteasas: **catepsinas L y B**. Las catepsinas L constituyen hasta 80% de todas las proteínas secretadas por los parásitos adultos y su función es digerir los componentes proteicos de la sangre y obtener aminoácidos para formar el huevo. Aunque más eficaz en terneros que en ovejas, su eficacia (42-69%) justificaría su comercialización, siempre que se combine con un adyuvante adecuado (Toet et al., 2014). La eficacia individual de la vacuna es muy variable, por eso se trata de elaborar vacunas multivalentes, como la combinación de catepsina L1 o L2 con hemoblogina parasitaria, utilizando como adyuvante el de Freund completo (Toet et al., 2014). Las catepsinas B son secretadas fundamentalmente por las fasciolas recién desengastadas e inmaduras, participando en el desengastamiento, penetración intestinal e invasión de los tejidos hepáticos. McGonigle et al. (2008) demostraron que podrían ser buenos candidatos vacunales porque reducen la penetración de la barrera intestinal en experimentos realizados en ratas y reducen la motilidad y viabilidad de las formas inmaduras *in vitro*.

### **Perspectivas futuras**

Para evitar la hepatopatía producida por la migración parasitaria y el desarrollo de una respuesta Th2, la vacuna más efectiva debe estar encaminada a destruir los estadios más tempranos del parásito. Se investigan los **antígenos de superficie tegumentaria** en las formas inmaduras porque son el foco potencial de los mecanismos ADCC (Toet et al., 2014).

El **adyuvante de Freund** induce una fuerte respuesta inmune Th1, dando lugar a una potente inflamación y por eso se debe utilizar con precaución. Sin embargo, ofrece una protección de hasta 85-96% en terneros con fasciolosis crónica. Además se investigan otros adyuvantes como el hi-

dróxido de aluminio o los aceites minerales (Dalton, Robinson, Mulcahy, O'Neill, y Donnelly, 2013).

El **LAP** es una proteasa de las células epiteliales intestinales del parásito que tiene el mejor nivel de protección (49-89%) para un solo antígeno vacunal y sería suficiente para elaborar vacunas para el ganado (Toet et al., 2014).

También se han identificado proteínas tegumentarias en las fasciolas adultas que son ortólogas a las conocidas proteínas de superficie de *Schistosoma* y *Opisthorchis*, y que tendrían que ser estudiadas también como posibles productos vacunales.

### **Conclusiones**

Las moléculas secretadas por *Fasciola* spp. podrían ser utilizadas como productos vacunales, aunque deberían investigarse prioritariamente las proteínas secretadas o expresadas en la superficie tegumentaria de los vermes inmaduros.

### **Referencias**

- Dalton, J. P., Robinson, M. W., Mulcahy, G., O'Neill, S. M., & Donnelly, S. (2013). Immunomodulatory molecules of *Fasciola hepatica*: Candidates for both vaccine and immunotherapeutic development. *Veterinary Parasitology*, 195, 272-285. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.04.008>
- McGonigle, L., Mousley A., Marks, N. J., Brennan, G. P., Dalton, J. P., Spithill, T. W., Day, T. A., & Maule, A. G. (2008). The silencing of cysteine proteases in *Fasciola hepatica* newly excysted juveniles using RNA interference reduces gut penetration. *International Journal for Parasitology*, 38, 149-155. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2007.10.007>
- Meemon, K., & Sobhon, P. (2015). Juvenile-specific cathepsin proteases in *Fasciola* spp.: Their characteristics and vaccine efficacies. *Parasitology Research*, 114, 2807-2813. <https://doi.org/10.1007/s00436-015-4589-6>
- Molina-Hernández, V., Mulcahy, G., Pérez, J., Martínez-Moreno, A., Donnelly, S., O'Neill, S. M., Dalton, J. P., & Cwiklinski, K. (2015). *Fasciola hepatica* vaccine: We may not be there yet but we're on the right road. *Veterinary Parasitology*, 208, 101-111. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2015.01.004>
- Sansri, V., Meemon, K., Changklungmoa, N., Kueakhai, P., Chantree, P., Chaichanasak, P., Lorsuwanarat, N., ... Sobhon P. (2015). Protection against *Fasciola gigantica* infection in mice by vaccination with recombinant juvenile-specific cathepsin L. *Vaccine*, 33, 1596-1601. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2015.02.010>
- Toet, H., Piedrafitra, D. M., & Spithill, T. W. (2014). Liver fluke vaccines in ruminants: Strategies, progress and future opportunities. *International Journal for Parasitology*, 44, 915-927. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2014.07.011>