

## Posibilidades de una Vacuna para Toxoplasmosis

Jhon Carlos Castaño Osorio, MD.  
Candidato a Doctorado Instituto Pedro Kouri, La Habana,  
Cuba. Becario BID-Colciencias, Docente Universidad del Quindío

La inmunidad protectora estimulada por una infección natural por *T. gondii* sugiere que el desarrollo de una vacuna efectiva es un objetivo alcanzable. Sin embargo, los taquizoitos muertos no protegen contra un reto experimental en modelos animales. Este protozooario es capaz de replicarse en todas las células nucleadas. Como parásito intracelular obligado, el proceso de invasión celular es fundamental para su supervivencia y diseminación. Este es un proceso activo dirigido por el parásito y se basa en una serie de interacciones entre la membrana de superficie del parásito y las moléculas localizadas en la superficie de la célula hospedera. Estas proteínas de la membrana del parásito son los primeros candidatos para ser utilizados en la búsqueda de vacunas contra esta parasitosis.(1-5).

La superficie del taquizoito de *T. gondii* está dominada por 5 proteínas mayoritarias las cuales han sido implicadas como ligandos mediante los cuales se realiza el reconocimiento celular y la adhesión, de ellas la P30 y la P22 son las más abundantes(5-8). Varios autores han tratado de dilucidar el potencial inmunoprotector de la proteína P30 (SAG1) y la P22 (SAG2) con resultados contradictorios. Los antígenos de superficie de *Toxoplasma* conjugados con adyuvantes (ISCOM) han producido una buena respuesta inmune tanto celular como humoral y proveen alguna protección contra un reto letal en ratones. La falla de estas preparaciones para dar una protección completa a largo plazo puede deberse a su carácter temporal. En la infección natural, la latencia del parásito en los tejidos continúa estimulando la inmunidad. Se han utilizado varias estrategias en el desarrollo de vacunas contra este parásito para tratar de producir una respuesta inmune protectora a largo plazo. Con este fin se han desarrollado cepas mutantes vivas y atenuadas en virulencia, entre ellas la TS-4 (ATCC 40.500), la S-48 y la T-263(ATTC 40.615). Sin embargo la manipulación de estas cepas es muy dispendiosa y

existe el riesgo de que con el tiempo pueden revertir a su estado de virulencia natural(9-11). También se ha realizado inmunización con componentes del parásito como homogenizados crudos(12-14), SAG1, rSAG1, SAG2, rSAG2, SAG3, ESA (componentes secretorios-excretorios), *p24*, GRA, plásmidos codificando la SAG1(p1tPASAG1) así como la SAG1 conjugada con toxina colérica, lográndose protección parcial o completa y aún resultados contradictorios, como sucedió con un esquema de P30 conjugada con coadyuvante de Freund que aumentó la mortalidad en los ratones inmunizados con esta preparación (23-33). Un resumen de los ensayos experimentales se presenta en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Ensayos vacunales para *Toxoplasma* en ratón

Autor	Modelo animal	Proteína	Vía de inoculación	Adyuvante	Reto con <i>T. gondii</i>	Criterios Protección	% protección
Fausto A. 1984 (13)	Ratón	Lisado completo de <i>Toxoplasma</i>	IP	Sin Adyuvante	5x10 <sup>5</sup> taquizoitos de la cepa C56 por vía IP	% Sobrevida	El 65% de los ratones inmunizados con los antígenos de 45-25 KDa sobre vivieron
Kasper LH. 1985 (14)	Ratón	P30	IP	Sin Adyuvante	Taquizoitos de la cepa RH	Mortalidad	100 % de sobrevida
Bourguin I. 1993 (15)	Ratón C56DL/6	Sonicado 10 mg/10 µg	Oral	Toxina Colérica (TC) o subunidad B de la TC (Tso)	Quistes tisulares de la cepa 76K. Vía oral	Sobrevida # quistes cerebrales	50% de sobrevida, TSo + TC produjo disminución de # de quistes
Bourguin I. 1995 (16)	Ratón C56DL/6	Sonicado (TSo) 10 mg/10 µg	Oral	Toxina Colérica completa o subunidad B.	Taquizoitos de la cepa RH	Proliferación Intracelular in vitro en macrófagos peritoneales	La actividad parasitostática fue significativa
Lunden A. 1997 (17)	Ratón Suizo	rSAG2	i.m 0,65µg	Iscom Quil A 10µg	Inoculación oral con 3000 ooquistes de la cepa Me 49	Mortalidad	0% v22 Iscom 0%GST Iscom Lisados de <i>T. gondii</i> mezclados con Quil A prolongaron la sobrevivencia
Verge-Roussel F. 1997 (18)	Ratón CBA/J C57BL/6	Péptidos derivados deSAG1	SC 20µg	Adyuvante Completo e Incompleto de Freund	100 quistes de la cepa 76k. Vía oral	Disminución de la carga de quistes cerebrales	Quistes en los ratones CBA/J inmunizados con péptido V41T . En los ratones C57BL/6 se encontró una mortalidad de 100%

Petersen E. 1998 (19)	Ratón NMRI	SAG1-re- combinante 20 µg	i.m 4 dosis	Alum 0,5 mg	Taquizoitos cepa RH y bradizoitos de la cepa SSI119. Vía IP	Numero de quistes cere- brales y sobrevida	No se encontraron diferencias estadísticamente signifi- cativas p: 0.28
Nielsen HV. 1999 (20)	Ratón C3H (H-2 <sup>K</sup> ) y BALB/c (H-2 <sup>D</sup> )	Plásmidos de DNA codificando el gen de la SAG1. p1t PASAG1	i.m 0 y 3 sema- nas	PBS	Cepa virulenta no productora de quistes RH. Vía IP	% Sobrevida Activación de linfocitos T- CD8+	80 a 100% protección contra reto con 10 <sup>5</sup> taquizoitos de la cepa RH <i>T. gondii</i>
Elsaid MM. 1999 (21)	Ratón	Antígenos P32 del taquizoíto y quistes tisulares	SC	Liposomas FAC	80 quistes de la cepa P. Vía oral	Mortalidad. # quistes cerebrales	100 % mortalidad en los ratones inmunizados con lisado de taquizoitos y lisado de quistes tisulares. En todos los ratones inmunizados con liposomas y con adyuvante de Freud el número de quistes disminuyó
Haque S. 1999 (22)	Ratón CBA/J	5x10 <sup>5</sup> ta- quizoitos de la cepa PNT ais- lada de un paciente con SIDA (Me49)	IP	Sin adyuvante	5x10 <sup>5</sup> LD <sub>90</sub> taquizoitos de la cepa PLK	% Sobrevida, Expansión de células NK y CD4+ T, pro- ducción de INF-γ, TNF-α	Solo el 40 % de ratones murieron a los 23 días después del reto. El uso de anticuerpos monoclonales anti-IFN-γ en los ratones infectados con PTN causó la muerte del 100%

## REFERENCIAS

1. Grimwood J, Smith JE. *Toxoplasma gondii*: the role of a 30 kDa surface and secreted proteins in host cell invasion. *Int J Parasitol.* 1996; 26:169-173.
2. Sibley LD, Howe DK. Genetic basis of pathogenicity in toxoplasmosis. *Curr Topics Microbiol Immunology.* 1996; 219:3-16.
3. Kasper LH., Mineo JR. Attachment and invasion of host cells by *Toxoplasma gondii*. *Parasitology Today.* 1994; 10:184-188.
4. Tomavo S. The major surface proteins of *Toxoplasma gondii*: structures and functions. In: *Toxoplasma gondii*. Ed.U.Gross. *Curr Top Microbiol Immunol.* 1996; 219: 82-89.
5. Boothroyd JC., Hehl A., Knoll LJ., and Manger ID. The surface of *Toxoplasma*: more and less. *Int J Parasitol.* 1998; 28:3-9.
6. Grimwood J, Smith JE. *Toxoplasma gondii* : the role of a 30 kDa surface and secreted proteins in host cell invasion. *Int J Parasitol.* 1996; 26:169-173.
7. Kasper LH., Mineo JR. Attachment and invasion of host cells by *Toxoplasma gondii*. *Parasitology Today.* 1994; 10:184-188.
8. Tomavo S. The major surface proteins of *Toxoplasma gondii*: structures and functions. In: *Toxoplasma gondii*. Ed.U.Gross. *Curr Top Microbiol Immunol.* 1996; 219: 82-89.
9. Araujo FG. Immunization against *Toxoplasma gondii*. *Parasitology Today.* 1994; 10: 358- 360.
10. Buxton D, Innes A. A commercial vaccine for ovine Toxoplasmosis. *Parasitology.* 1995; 110: S11-S16
11. Roberts CW, Brewer JM, Alexander J. Congenital toxoplasmosis in the Balb/c mouse: prevention of vertical disease transmission and fetal death by vaccination. *Vaccine.* 1994; 12: 1389-1394.
12. Chardés T, Bourguin I, Mevelec M, Dubremetz J, Bout D. Antibody responses to *Toxoplasma gondii* in sera, intestinal secretion and milk from orally infected mice and characterization of target antigens. *Infect Immun.* 1990; 58: 1240-1246
13. Araujo, FG., And Remington, J.S. Partially purified antigen preparation of *Toxoplasma gondii* protect against lethal infection in mice . *Infect. Immun.* 1984;45: 122.
14. Kasper LH, Currie KM, Bradley MS. An unexpected response to vaccination with a purified major membrane tachyzoite antigen(P30)of *Toxoplasma gondii* . *J Immunol* 1985; 134: 3426-3431.

15. Bourguin I, Chardés T, Mevelec M, Woodman JP, Bout D. Amplification of the secretory IgA response to *Toxoplasma gondii* using chorela toxin. FEMS Microbiol Letters. 1991; 81: 265-272.
16. Bourguin I, Chardés T, Bout D. Peritoneal macrophages from C57BL/6 mice orally immunized with *Toxoplasma gondii* antigens in association with chorela toxin possess an enhanced ability to inhibit parasite multiplication. FEMS Immunology and Medical Microbiology . 1995; 12: 121-126.
17. Lundén A, Parmely SF, Lövgren Bengtsson K, Araujo FG. Use of a recombinant antigen, SAG2, expressed as glutathion-S-transferase fusion protein to immunize mice against *Toxoplasma gondii*. Parasitol Res 1997;83:6-9
18. Velge-Roussel F, Moretto M, Buzoni-Gate D, Dimier-Poisson I, Ferrer M, Hoebeke J, Bout D. Differences in immunological response to a T.gondii protein (SAG1) derived peptide between two strains of mice: effect on protection in T.gondii infection. Molecular Immunology. 1997; 34: 1045-1056.
19. Petersen E, Nielsen HV, Christiansen L, Spenter J. Immunization with *E. coli* produced recombinant *T. gondii* SAG1 with alum as adjuvant protect mice against lethal infection with *Toxoplasma gondii*. Vaccine. 1998; 16: 1283- 1289.
20. Nielsen HV, Lauemoller SL, Christiansen L, Buus S, Fomsgaard A, Petersen E. Complete protection against lethal *Toxoplasma gondii* infection in mice immunized with a plasmid encoding the SAG1 gene. Infect Immun. 1999; 67:6358-63.
21. Elsaid MM, Vitor R, Frézard F, Martins MS. Protection against Toxoplasmosis in mice immunized with different antigen of *Toxoplasma gondii* incorporated into liposomes. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1999; 94: 485-490.
22. Haque S, Franck J, Dumon H, Kasper LH, Haque A. Protection against lethal toxoplasmosis in mice by an avirulent strain of *Toxoplasma gondii*: stimulation of INF- $\gamma$  and TNF- $\alpha$  response. Experimental Parasitology. 1999; 93: 231-240.
23. Vercammen M, Scorza T, Huygen K, De Braekeleer J, Diet R, Jacobs D, Saman E, Verschueren H. DNA vaccination with genes encoding *Toxoplasma gondii* antigens GRA1, GRA7 and ROP2 induces partially protective immunity against lethal challenge in mice. Infect Immun. 2000; 68: 38-45.
24. Angus CW, Klivington- Evans D, Dubey JP, Kovacs JA. Immunization with a DNA plasmid encoding the SAG1(P30) protein of *Toxoplasma gondii* is immunogenic and protective in rodents. J Infect Dis. 2000; 81: 317-24.
25. Prince JB, Auer KL, Huskinson J, Parmely F, Araujo FG, Remington JS. Cloning, expression and cDNA sequence of sequence of surface antigen P22 from *Toxoplasma gondii*. Mol Bioch Parasitol. 1990; 43: 97-106.
26. Biemans R, Grégoire D, Haumont M, Bosseloir A, Garcia L, Jacquet A, Dubeaux C, Bollen A. The conformation of purified *Toxoplasma gondii* SAG1 antigen, secreted from engineered *Pichia pastoris*, is adequate for serorecognition and cell proliferation. J Biotechnol. 1998; 66: 1337-1346.

27. Supply Ph, Sutton Ph, Coughlan SN, Bilo K, Saman E, Trees AJ, Delauw CMF, Locht C. Immunogenicity of recombinant BCG producing the GRA1 Antigen from *Toxoplasma gondii*. *Vaccine*. 1999; 17: 705-714.
28. Kim K, Bülow R, Kampmeier J, Boothroyd JC. Conformationally appropriate expression of the *Toxoplasma* antigens SAG1(p30) in CHO cells. *Infect Immun*. 1994; 62: 203-209.
29. Debard N, Buzoni-Gatel D, Bout D. Intranasal immunization with SAG1 protein of *Toxoplasma gondii* in association with cholera toxin dramatically reduces development of cerebral cysts after oral infection. *Infect Immun*. 1996; 64: 2158-2166.
30. Mevelec M, Chardés T, Mercereau-Pujalon O, Bourguin I, Achbarou A, Dubremetz J, Bout D. Molecular cloning of GRA4, a *Toxoplasma gondii* dense granule protein, recognized by mucosal IgA antibodies. *Mol Biochem Parasitol*. 1992; 56: 227-238.
31. Aosai F, Mun H, Norose K, Chen M, Hata H, Kobayashi, Kiuchi M, Stauss HJ, Yano A. Protective immunity induced by vaccination with SAG-1 gene-transfected cells against *Toxoplasma gondii* infection in mice. *Microbiol Immunol*. 1999, 43: 87-91.
32. Khan IA., Smith KA., Kasper LH. Induction of antigen specific parasitocidal cytotoxic T cell splenocytes by a major membrane protein (P30) of *Toxoplasma gondii*. *J Immunol*. 1998; 141:3600-3605
33. Sayles PC, Gibson GW, Johnson LL. B cells are essential for vaccination-induced resistance to avirulent *Toxoplasma gondii*. *Infection and Immunity*. 2000; 68:1026-1033