

VESÍCULAS EXTRACELULARES EN LA COMUNICACIÓN HOSPEDADOR-HELMINTO: APLICACIONES BIOMÉDICAS

EXTRACELLULAR VESICLES IN THE HOST-HELMINTH COMMUNICATION: BIOMEDICAL APPLICATIONS

Antonio Marcilla Díaz

Área de Parasitología, Depto. de Farmacia y Tecnología Farmacéutica y Parasitología. Facultat de Farmàcia, Universitat de València. Av. V.A. Estellés, s/n, 46100-Burjassot (Valencia).
Sección: Biología, Biotecnología y Farmacogenómica

corresponding author: antonio.marcilla@uv.es

REVISIÓN

RESUMEN

Las vesículas extracelulares constituyen un nuevo mecanismo de comunicación intercelular, junto a los clásicos mediados por contacto directo entre células y por la emisión de moléculas. Su estudio ha despertado considerable interés desde su descubrimiento en 1983 en reticulocitos. El término incluye diferentes tipos de vesículas que varían en tamaño y origen, considerándose fundamentalmente exosomas, microvesículas y cuerpos apoptóticos.

Estas estructuras se encuentran formadas por una membrana lipídica, donde se enclavan diversos tipos de receptores, y pueden transportar diversas moléculas como azúcares, proteínas y ácidos nucleicos, así como metabolitos. Se han descrito en todos los reinos de la naturaleza (participando en diversos tipos de interacciones, tanto intercelulares como inter-específicas), así como en todo tipo de fluidos biológicos, constituyendo parte de lo que se conoce como "biopsia líquida". De hecho, su presencia en muestras procedentes tanto de procesos fisiológicos como en procesos patológicos las ha hecho excelente biomarcadores. Su papel en salud y enfermedad está siendo ampliamente investigado.

En este contexto, el estudio de las vesículas extracelulares producidas por parásitos, y en concreto por helmintos, constituye un campo de investigación en expansión, de gran interés biomédico, como es el control de las infecciones causadas por estos. De hecho, dichas vesículas pueden ser utilizadas para realizar un diagnóstico rápido y específico, así como constituir herramientas para vacunación, y ser posibles dianas de nuevos tratamientos.

La capacidad de las vesículas extracelulares de modular la respuesta inmunitaria, abre asimismo nuevas posibilidades de su uso frente a enfermedades autoinmunes.

ABSTRACT

Extracellular vesicles participate in intercellular communications, altogether with classic mechanisms like direct contact between cells and the secretion of mediators. They have attracted considerable interest since their discovery in reticulocytes in 1983. The term includes different types of vesicles that vary in size and origin, with exosomes, microvesicles and apoptotic bodies as the major ones.

These structures are surrounded by a lipid membrane, where various types of receptors are located, and can carry different cargo molecules, including sugars, proteins, nucleic acids and metabolites. They have been described in all kingdoms in nature (participating in both intercellular and inter-specific communications), in all types of biological fluids (as part of liquid biopsy). In fact, their presence in samples from both physiological and pathological processes has suggested them as excellent biomarkers. Their role in health and disease is being widely investigated.

In this context, the study of extracellular vesicles produced by parasites, and specifically by helminths, constitutes a growing field of research, with great biomedical interest, mainly in the control of infections caused by them. In fact, these vesicles can be used to generate rapid and specific diagnosis systems, to produce new tools for vaccination, and to identify targets for new treatments.

The ability of extracellular vesicles to modulate the immune response also opens new possibilities for their use against autoimmune diseases.

Palabras Clave:

Vesículas extracelulares
Helmintos
Comunicación parásito-hospedador

Keywords:

Extracellular vesicles
Helminths
Host-parasite communication

1. INTRODUCCIÓN

Algunos autores mencionan a Darwin y sus estudios de la Pangénesis, donde se citan las “gémulas”, como los precursores de lo que hoy conocemos como material secretado por las células en forma de ácidos nucleicos circulantes, priones y vesículas extracelulares (1). Pero siendo más precisos, los primeros estudios sobre su existencia datarían de 1947, donde se detectaron como “polvo celular” en residuos de plaquetas. Curiosamente, 20 años después también se detectaron estructuras compatibles en plantas (1).

Pero fue en dos artículos científicos publicados en 1983, por los grupos de Phil Stahl de la Washington University en St. Louis, USA y Rose Johnstone en McGill University, en Montreal, Canadá, quienes las describieron en el reciclaje de receptores de transferrina en reticulocitos (2, 3).

El campo de estudio sobre vesículas extracelulares ha evolucionado espectacularmente en los últimos años, encontrándose cerca de 25000 artículos científicos si hacemos una búsqueda bibliográfica utilizando “extracellular vesicles”, y se ha editado la revista científica *Journal of Extracellular Vesicles* (<https://onlinelibrary.wiley.com/journal/20013078>), muy reconocida en el campo de la Biología Celular.

En los últimos años ha existido cierta controversia en cuanto a la nomenclatura a emplear, utilizándose diversos nombres para referirse a dichas vesículas, habiéndose consensuado por parte de la *International Society for Extracellular Vesicles* (ISEV, <https://www.isev.org/>), la utilización precisamente del término “vesículas extracelulares” (VEs), que abarcaría a los tres tipos principales, identificados por su tamaño y origen, tal cual son exosomas (las más pequeñas y que se liberan por la fusión de cuerpos multivesiculares con la membrana plasmática), microvesículas (secretadas por gemación a partir de la membrana plasmática) y cuerpos apoptóticos (derivados de la rotura celular) (4) (Figura 1).

Por lo que se refiere a su composición, utilizaré una imagen publicada en 2013 por el grupo del Dr. Sánchez-Madrid (Académico Correspondiente de la Real Academia Nacional de Farmacia), donde se puede ver que dichas vesículas contienen en su superficie numerosas moléculas incluyendo receptores y tetraspaninas (estas consideradas como marcadores de vesículas), así como fosfolípidos y azúcares. Asimismo, en su interior transportan diverso material que incluye proteínas de origen citosólico (enzimas como enolasa, proteínas del citoesqueleto, de choque térmico, etc.), así como ácidos nucleicos (RNAs, como mRNAs y miRNAs, así como DNA) (5) (Figura 2).

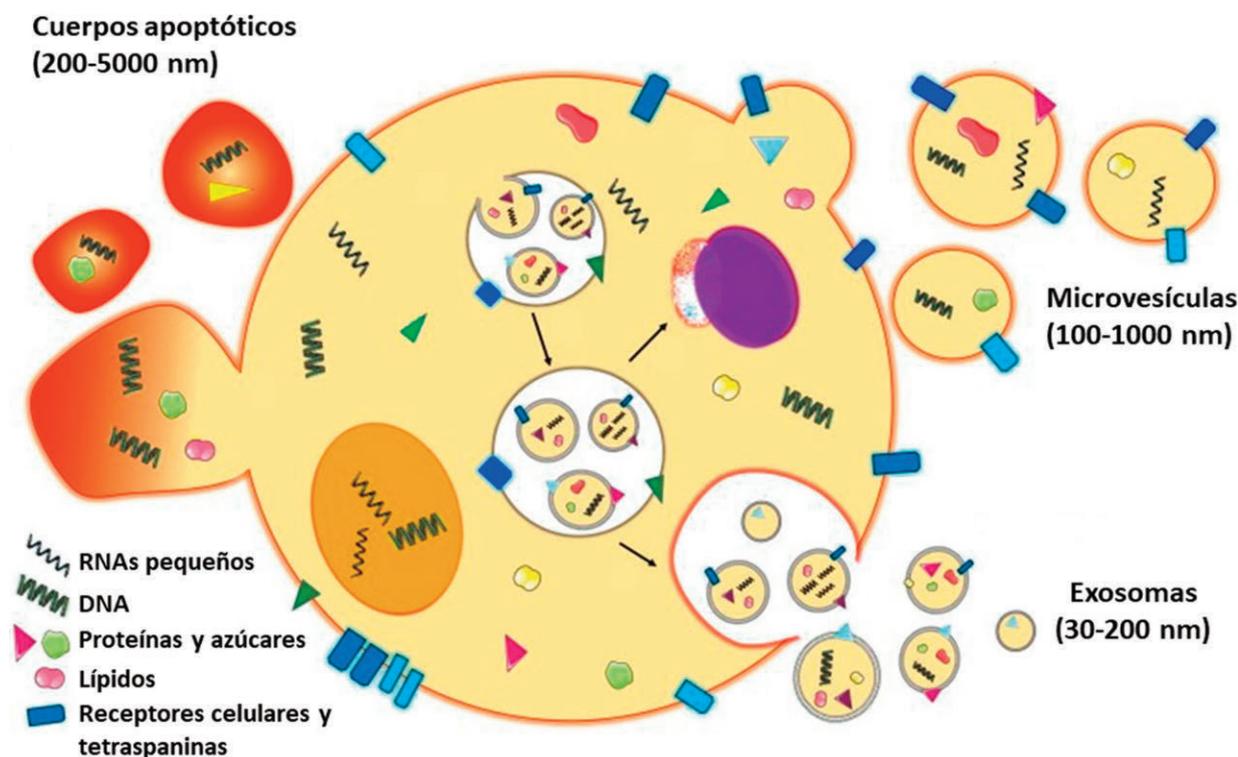


Figura 1. Biogénesis de los principales tipos de vesículas extracelulares (Modificada de Drurey *et al.* (4); Reproducida bajo licencia de Creative Commons)

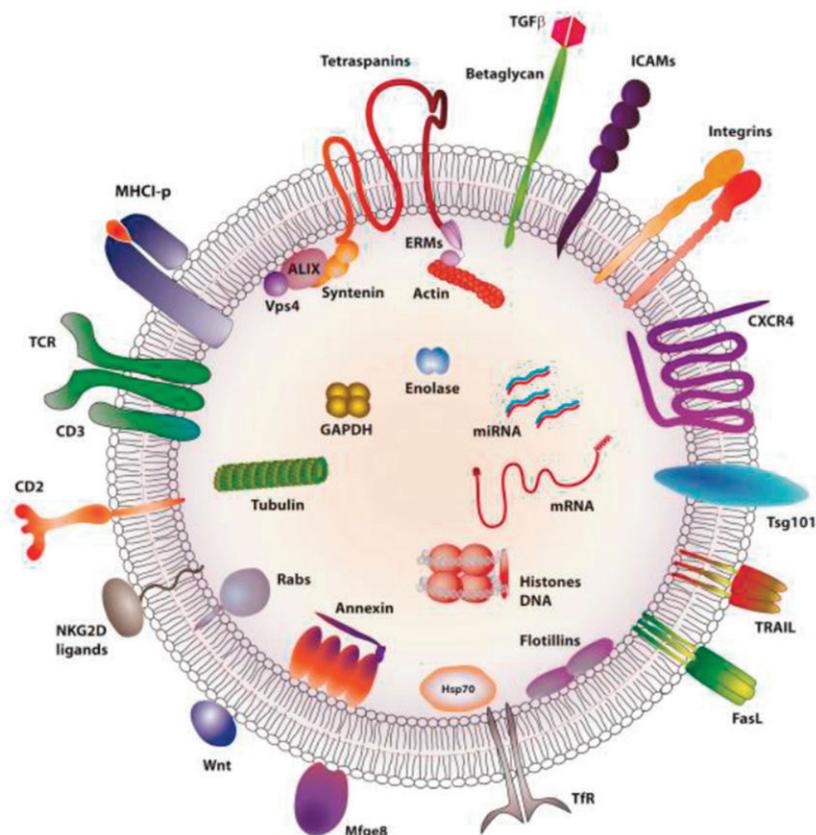


Figura 2. Esquema de la estructura y componentes presentes en vesículas extracelulares (Tomada de Gutiérrez-Vázquez *et al.*, (5); Reproducida con permiso de John Wiley and Sons)

2. VESÍCULAS EXTRACELULARES COMO UN NUEVO PARADIGMA EN LA COMUNICACIÓN INTERCELULAR EN BIOMEDICINA

El envío de dichos componentes protegidos por una membrana lipídica constituye un nuevo paradigma en la comunicación intercelular, que se une a los mecanismos clásicos de comunicación que incluyen el contacto directo entre células o por moléculas mediadoras (i.e. citoquinas, hormonas, etc.).

En el congreso del Grupo Español de Investigación e Innovación en Vesículas Extracelulares (GEIVEX, <http://www.geivex.org>) de 2016 celebrado en Donostia, los Dres. Matías Sáenz y David Otaegui acuñaron el término de “*whatsapp celular*” para referirse a estas vesículas y su papel en la comunicación, haciendo un analogismo con los sistemas de comunicación que utilizamos los humanos en la actualidad. De hecho, las VEs participan en muy distintos procesos de comunicación en distintos tejidos que incluyen el desarrollo de tumores, la respuesta inmunitaria, o la comunicación madre-feto, y por ello estas vesículas y sus componentes pueden ser utilizadas como biomarcadores en diagnóstico, como dianas de tratamiento o vehículos para el transporte de fármacos, o incluso como sistemas de vacunación (6) (Figura 3).

Dichas VEs pueden promover o atenuar una enfermedad, encontrándose presentes en todos los fluidos biológicos analizados hasta ahora, como se indica en el artículo de revisión dirigido por Dra. Yañez-Mó, y donde tuve el honor de participar junto a numerosos investigadores españoles (7). Dicha publicación, tiene ya (a fecha 8 de mayo de 2021) más de 1200 citas en Pubmed y de 2500 en Google Scholar.

3. UTILIDAD DE LAS VESÍCULAS EXTRACELULARES EN HELMINTOS: UTILIDAD EN EL CONTROL DE ENFERMEDADES

El control de las helmintiasis, infecciones que llevan con los humanos desde su origen, y que son consideradas como “enfermedades desatendidas” (<https://www.who.int/teams/control-of-neglected-tropical-diseases/overview>) (8), requiere en la actualidad de nuevas herramientas, que permitan tanto un diagnóstico rápido y específico, la posibilidad de generar vacunas, así como la identificación de dianas para nuevos tratamientos (9). Precisamente, en nuestro grupo de investigación del Área de Parasitología en la Universitat de València hemos venido participando en estudios de caracterización de la interacción hospedador-helminto, analizando

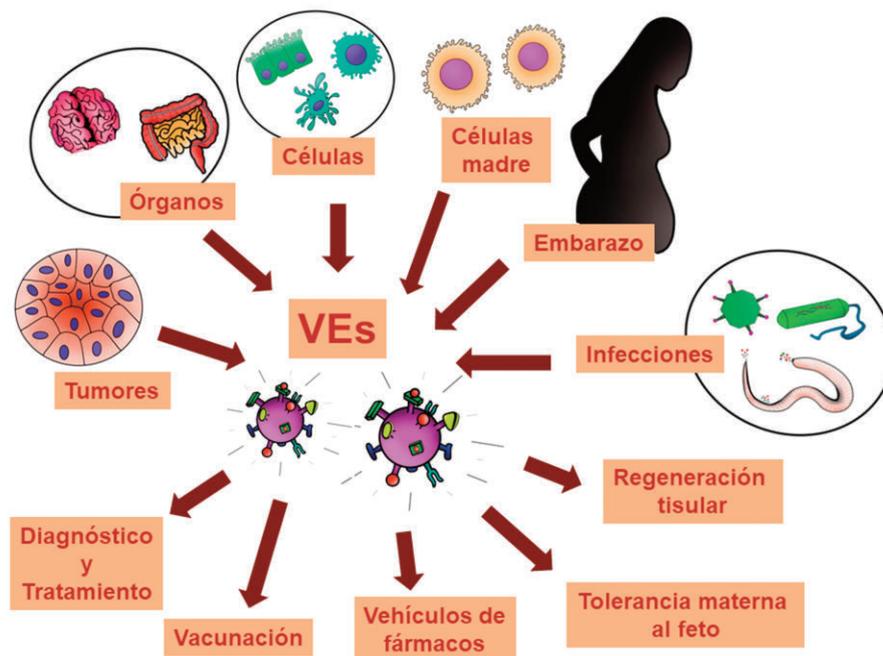


Figura 3. Aplicaciones biomédicas de vesículas extracelulares. Modificado de Gholizadeh *et al.* (6)

los materiales que secretan los helmintos (denominados de excreción/secreción). Así, allá por los primeros años de este siglo, y utilizando técnicas de Proteómica pudimos identificar numerosas proteínas citosólicas, denominadas por entonces como “moonlighting proteins”, por su aparente función dual, distinta durante el día como enzimas glicolíticas-; o “a la luz de la luna”, -como participantes en la interacción con el hospedador. Estas proteínas citosólicas como la piruvato hidratasa, o enolasa, carecen de las señales típicas de rutas de secreción clásicas, como son la presencia de péptido señal o dominios GPI (glicosil fosfatidil inositol). Por tanto, explicar su presencia en productos de excreción/secreción de helmintos era realmente una cuestión no resuelta por entonces, como también ocurría en levaduras o artrópodos, por citar otros organismos.

Y justamente en 2010 cayó en nuestras manos un artículo de revisión sobre caracterización proteómica de exosomas (VEs más pequeñas), de los Dres. Mathivanan y Simpson de Australia, y que resultó altamente inspirador (10). En él se mostraba como muchas de esas moléculas que habíamos identificado mediante técnicas de Proteómica en materiales de excreción/secreción de helmintos, eran secretadas en exosomas en mamíferos. Rápidamente nos pusimos manos a la obra para confirmar si los helmintos secretaban también VEs, adaptando los protocolos previamente descritos para cultivos de células de mamífero al cultivo de adultos de dos trematodos, *Echinostoma caproni* y *Fasciola hepatica* (o duela grande del hígado), obtenidos de infecciones experimentales en roedores en el primer caso, y de infecciones naturales (hígados decomisados de mataderos) en el segundo caso.

Tras un proceso de aislamiento mediante procesos de centrifugación diferencial, filtración y ultracentrifugación, las vesículas fueron caracterizadas mediante microscopía electrónica de transmisión, microscopía electrónica de barrido y mediante técnicas de Proteómica. Dichos estudios confirmaron la presencia de dichas vesículas secretadas por helmintos, y que las mismas contenían efectivamente proteínas como enolasa. Pudimos, asimismo, comprobar que este mecanismo de secreción mediante VEs es mayoritario en helmintos, ya que más del 50% de las proteínas secretadas lo hacían dentro de estas vesículas. Etiquetamos dichas vesículas con un fluoróforo y comprobamos su incorporación específica a células intestinales de mamífero en cultivo. Dichos resultados fueron publicados finalmente en 2012 (11).

Con posterioridad, nuestro grupo también ha sido pionero en la identificación de RNAs pequeños (microRNAs) en VEs de helmintos, en concreto las secretadas por el *trematodo* parásito del ganado *Dicrocoelium dendriticum* (duela pequeña del hígado) (12). Desde entonces numerosos estudios han descrito VEs en diversos helmintos, tanto trematodos, cestodos como nematodos, utilizando diferentes técnicas de aislamiento e identificando tanto proteínas como microRNAs en los mismos, como se muestra en la Tabla I, constituyendo un campo en continuo crecimiento (Tabla I).

De hecho, dichas vesículas han sido recientemente consideradas como “great balls of wonder”, en un número especial de la revista *International Journal for Parasitology* gestado a partir de un Seminario Internacional celebrado en la isla griega de Hydra, y parafraseando el título de una canción de 1957 del discolo Jerry Lee Lewis (13).



Las vesículas extracelulares purificadas a partir de adultos de *Fasciola hepatica*, y aisladas mediante cromatografía de filtración molecular presentan curiosamente gran diversidad morfológica, apareciendo no solamente redondeadas, sino también como tubos, en formas enrolladas, etc., estructuras que desaparecen al degradar la membrana con un detergente (14).

El análisis proteómico y la localización de las proteínas en las vesículas extracelulares de *Fasciola hepatica*, realizada en colaboración con el grupo del Dr. Mark Robinson, en Belfast, UK, muestra una gran similitud con lo que se había descrito en VEs de mamíferos por Mathivanan y colaboradores (10, 15).

3.1. Utilidad Diagnóstica

Los estudios de identificación de los componentes de las vesículas extracelulares en infecciones por helmintos están permitiendo su evaluación para sistemas de diagnóstico. En este contexto, se han identificado biomarcadores tanto para infecciones por trematodos y cestodos, ya sea tanto a partir de muestras de animales infestados experimentalmente, como a partir de muestras de pacientes. En la mayoría de los estudios se buscan fundamentalmente miRNAs, tanto del helminto como del hospedador (Tabla I).

Con el objetivo de identificar biomarcadores de infección por *Fasciola hepatica* en ganado bovino, nuestro grupo viene colaborando con investigadores del Instituto de Salud Global de Barcelona (Dr. Del Portillo), de la Universidad de Granada (el también Académico Correspondiente de esta Corporación, el Prof. Osuna) y del ISCIII de Madrid (Dr. Sotillo). Para ello, y tras aislar VEs de plasma de vacas sanas y vacas parasitadas mediante cromatografía de filtración molecular, dichas VEs han sido caracterizadas por citometría de flujo (con anticuerpos frente a tetraspaninas de la superficie), se han cuantificado las nanopartículas, y se ha confirmado su aislamiento mediante microscopía electrónica de transmisión. Resultados preliminares de caracterización mediante técnicas de proteómica parece indicar que existen diferencias en cuanto a las proteínas presentes en ambos tipos de muestras, lo que nos debiera conducir a la identificación de posibles biomarcadores de la infección (Tabla I).

3.2. Utilidad Vacunal

Por lo que respecta a la evaluación de las VEs como agentes vacunales para prevenir la enfermedad, también aquí nuestro grupo de investigación, con las profesoras Dolores Bernal y María Trelis, y la colaboración del Prof. Rafael Toledo, ha sido pionero en el estudio del uso de VEs de helmintos en vacunación. Se evaluó dicho potencial utilizando un modelo experimental de parasitación con *Echinostoma caproni* en ratón. Los animales fueron inoculados subcutáneamente con VEs purificadas a partir de cultivos del para-

sito, y posteriormente retados vía oral con metacercarias del parásito para generar la infección experimental. Los resultados mostraron que dicha inmunización no prevenía la infección posterior, pero al menos el desarrollo de la parasitación era más benévolo, con una mayor longevidad de los animales vacunados, frente al grupo control no inmunizado. Asimismo, los vermes obtenidos de dicho grupo inmunizado mostraron menor desarrollo y menor fertilidad (16). Más recientemente, otros grupos han descrito el uso de VEs de helmintos en vacunación (Tabla I), y se ha publicado una revisión sobre el tema (4).

3.3. Utilidad En El Tratamiento De Enfermedades Autoinmunes

Finalmente, dichas VEs se han utilizado recientemente para modular la respuesta inmunitaria, abriendo la posibilidad de su uso como agente terapéutico en enfermedades autoinmunes. Los estudios pioneros de la Dra. Buck, de Edimburgo, UK, demostraron que las VEs producidas por el nematodo intestinal de roedores *Heligmosomoides polygyrus* podrían modular la respuesta inmunitaria en un modelo experimental de alergia, mejorando la respuesta frente alérgenos del polvo (17).

Ese mismo año nosotros habíamos pronosticado que las VEs podrían modular la respuesta inmunitaria en enfermedades autoinmunes (18), y nos planteamos la siguiente pregunta: ¿Podrían VEs de *Fasciola hepatica* modular la respuesta inmunitaria en enfermedades autoinmunes (p.e. colitis ulcerosa) sin los inconvenientes de una infestación (terapia helmintiana)?

Para contestar esa pregunta, y en colaboración con investigadores de la Universitat de València, liderados por el Dr. Monteagudo, del Departamento de Patología, y las Dras. Recio y Giner, del Departamento de Farmacología, así como con la colaboración del grupo liderado por el Dr. Sánchez Madrid, del Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares, llevamos a cabo unos ensayos donde administramos subcutáneamente VEs de *Fasciola hepatica*, y después producíamos un proceso de colitis ulcerosa aguda en un modelo de ratón mediante la administración por vía oral del agente químico sulfato sódico de dextrano (DSS). Lo que pudimos observar es que la inmunización previa con las VEs hacía disminuir drásticamente los efectos del dextrano, reduciéndose la ulceración intestinal y el sangrado rectal en dichos ratones, donde se recuperaba la integridad de la mucosa. Demostramos, asimismo, que dicho efecto no se debía a la estimulación de linfocitos T maduros, como pudimos comprobar al realizar idénticos ensayos en ratones deficientes para el gen RAG1, los cuales carecen de los mismos (19). Resultados similares han sido también descritos por otros grupos de investigación, utilizando VEs de nematodos como *Ancylostoma* y *Trichinella*, lo que apoya nuestros resultados (20, 21).



Tabla I. Helminthos parásitos donde se han descrito vesículas extracelulares, indicando su origen, composición y posible utilidad en Biomedicina.

	Especie	Origen VEs	Componentes identificados	Función/utilidad sugeridas	Referencia	DOI	
Trematodos	<i>Fasciola hepatica</i>	adulto	proteínas	comunicación hospedador	Marcilla et al., PLoS One 2012*	10.1371/journal.pone.0045974	
		adulto	proteínas	biogénesis e regulacion respuesta inmunitaria	Cwiklinski et al., Mol Cell Proteomics 2015	10.1074/mcp.M115.053934	
		adulto	miRNAs	regulación respuesta inmunitaria	Fromm et al., Int J Parasitol 2015	10.1016/j.ijpara.2015.06.002	
		adulto	proteínas, miRNAs	regulación respuesta inmunitaria	Roig et al., Front Microbiol 2018	10.3389/fmicb.2018.01036	
		adulto, y suero animales	proteínas	diagnóstico	Galiano et al., PT01.06J Extracell Vesicles 2018	10.1080/20013078.2018.1461450	
		adulto	proteínas hospedador	regulación respuesta inmunitaria	Murphy et al., PLoS NTD 2020	10.1371/journal.pntd.0008626	
		adulto	proteínas	secuestro drogas antiparasitarias	Davis et al., Sci Reports 2020	10.1038/s41598-020-69970-4	
		huevos y juveniles	ND	comunicación hospedador	Sánchez-López et al., Int J Parasitol 2020	10.1016/j.ijpara.2020.03.011	
		<i>Echinostoma caproni</i>	adulto	proteínas	comunicación hospedador	Marcilla et al., PLoS One 2012	10.1371/journal.pone.0045974
			adulto	proteínas	vacuna	Trelis et al., Int J Parasitol 2016	10.1016/j.ijpara.2016.07.003
		<i>Dicrocoelium dendriticum</i>	adulto	miRNAs	regulación respuesta inmunitaria	Bernal et al., J Proteomics 2014	10.1016/j.jprot.2014.02.012
		<i>Schistosoma japonicum</i>	adulto	proteínas	comunicación y regulacion r. inmunitaria	Wang et al., Parasitol Res 2015	10.1007/s00436-015-4373-7
			adulto	proteínas y miRNAs	ND	Du et al., PLoS NTD 2020	10.1371/journal.pntd.0008618
			huevos, y suero animales	miRNAs	comunicación y diagnóstico	Zhu et al., Parasites & Vectors 2016	10.1186/s13071-016-1845-2
			adulto	miRNAs	regulación respuesta inmunitaria	Liu et al., PLoS Pathogens 2019	10.1371/journal.ppat.1007817
			huevos	miRNA	suprime fibrosis hepática	Wang et al., J Extracell Vesicles 2020	10.1080/20013078.2020.1785738
		<i>Schistosoma mansoni</i>	adulto	proteínas	vacuna	Sotillo et al., Int J Parasitol 2016	10.1016/j.ijpara.2015.09.002
	esquistosómula		proteínas, miRNAs, tsRNAs	regulación respuesta inmunitaria	Nowacki et al., J Extracell Vesicles 2015	10.3402/jev.v4.28665	
	adulto (suero humano)		miRNAs	diagnóstico	Meningher et al., J Infect Dis 2017	10.1093/infdis/jiw539	
	adultos, y suero animales		proteínas, miRNAs	diagnóstico y regulación r. inmunitaria	Samoil et al., Sci Reports 2018	10.1038/s41598-018-21587-4	
	adulto		proteínas	comunicación con hospedador	Kifle et al., Mol Biochem Parasitol 2020	10.1016/j.molbiopara.2020.111264	
	adulto		proteínas hospedador	vacuna	Kifle et al., Intl J Parasitol 2020	10.1016/j.ijpara.2020.05.005	
	<i>Schistosoma bovis</i>	adulto	ND	ND	De la Torre-Escudero et al., Mol Biochem Parasitol 2017	10.1016/j.molbiopara.2016.07.009	
	<i>Schistosoma haematobium</i>	adulto	proteínas	vacunación	Mekkonen et al., Vaccines 2020	10.3390/vaccines8030416	
	<i>Opisthorchis viverrini</i>	adulto	proteínas	comunicación y carcinógeno	Chaiyadet et al., J Infect Dis 2015	10.1093/infdis/jiv291	
	<i>Calicophoron daubneyi</i>	adulto	proteínas	ND	Huson et al., Parasit Vectors 2018	10.1186/s13071-018-3225-6	
Cestodos	<i>Echinococcus multilocularis</i>	metacestodo	proteínas	comunicación y regulacion r. inmunitaria	Zheng et al., Vet Parasitol 2017	10.1016/j.vetpar.2017.01.012	
		metacestodo	proteínas, miRNAs	regulación respuesta inmunitaria	Ancarola et al., Int J Parasitol 2016	10.1016/j.ijpara.2017.05.003	
	<i>Echinococcus granulosus</i>	quiste hidatídico	proteínas	factor virulencia, biogénesis y diagnosis	Siles-Lucas et al., Vet Parasitol 2017	10.1016/j.vetpar.2017.01.022	
		quiste hidatídico	proteínas suero	diagnóstico	Fratini et al., PLoS NTD 2020	10.1371/journal.pntd.0008586	
		protoescolex, metacestodo	proteínas	comunicación hospedador	Nicolao et al., Parasit Vectors 2019	10.1371/journal.pntd.0007032	
	protoescolex	proteínas	comunicación hospedador	Wu et al., Acta Trop 2021	10.1016/j.actaTrop.2020.105756		



	<i>Taenia asiatica</i>	huevos	ND	biogénesis	Galan-Puchades et al., Parasitol Res 2016	10.1007/s00436-016-5165-4
	<i>Taenia crassiceps</i>	metacestodo	proteínas, miRNAs	regulación respuesta inmunitaria	Ancarola et al., Int J Parasitol 2016	10.1016/j.ijpara.2017.05.003
	<i>Mesocestoides corti</i>	metacestodo	proteínas, miRNAs	regulación respuesta inmunitaria	Ancarola et al., Int J Parasitol 2016	10.1016/j.ijpara.2017.05.003
Nematodos	<i>Heligmosomoides bakeri</i>	adulto	proteínas, miRNAs	comunicación y regulacion r. inmunitaria	Buck et al., Nature Comm 2014	10.1038/ncomms6488
		adulto	lipids	biogénesis	Simbari et al., J Extracell Vesicles 2016	10.3402/jev.v5.30741
		adulto	miRNAs	comunicación y vacuna	Cookley et al., Cell Reports 2017	10.1016/j.celrep.2017.05.001
		adulto	miRNAs	comunicación con hospedador	White et al., Intl J Parasitol 2020	10.1016/j.ijpara.2020.06.002
	<i>Brugia malayi</i>	larva	proteínas, miRNAs	comunicación y regulacion r. inmunitaria	Zamanian et al., PLoS One 2015	10.1371/journal.pntd.0004069
		larva	proteínas, miRNAs	comunicación y regulacion r. inmunitaria	Harischyra et al., PLoS NTD 2018	10.1371/journal.pntd.0006438
	<i>Trichuris suis</i>	larva	miRNAs	regulación respuesta inmunitaria	Hansen et al., J Parasitol 2015	10.1016/j.vetpar.2016.03.025
	<i>Teladorsagia circumcincta</i>	larva	proteínas	regulación respuesta inmunitaria	Tzelos et al., Vet Parasitol 2016	10.1016/j.vetpar.2016.03.008
	<i>Trichuris muris</i>	adulto	proteínas, miRNAs	biogénesis	Tritten et al., Exp Parasitol 2017	10.1016/j.exppara.2017.05.003
		adulto	proteínas, mRNA, miRNAs	comunicación hospedador y organoides	Eichenberger et al., J Extracell Vesicles 2018	10.1080/20013078.2018.1428004
adulto		proteínas	vacuna	Shears et al., Parasite Immunol 2018	10.1111/pim.12536	
adulto		RNAs hospedador	comunicación hospedador (organoide)	Duque-Correa et al., Intl J Parasitol 2020	10.1016/j.ijpara.2020.06.001	
adulto		miRNA	comunicación con hospedador	White et al., Intl J Parasitol 2020	10.1016/j.ijpara.2020.06.002	
<i>Trichinella spiralis</i>	larva	proteínas	regulación respuesta inmunitaria	Kosanovic et al., Parasite Immunol 2019	10.1111/pim.12665	
	larva	proteínas	comunicación y regulacion r. inmunitaria	Gao et al., Acta Trop 2021	10.1016/j.actatropica.2020.105761	
<i>Nippostrangylus brasiliensis</i>	adulto	proteínas, miRNAs	comunicación y regulacion r. inmunitaria	Eichenberger et al., Front Immunol 2018	10.3389/fimmu.2018.00850	
<i>Ascaris suum</i>	adulto	proteínas, miRNAs	comunicación y regulacion r. inmunitaria	Hansen et al., J Extracell Vesicles 2019	10.1080/20013078.2019.1578116	
<i>Oesophagostomum dentatum</i>	adulto	proteínas, miRNAs	comunicación y regulacion r. inmunitaria	Hansen et al., personal comm.	ND	
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	adulto	proteínas	comunicación hospedador	Toubarro et al., (LBS07.07) J Extracell Vesicles 2018	10.1080/20013078.2018.1461450	
<i>Steinernema carpocapsae</i>	adulto	proteínas	comunicación hospedador	Toubarro et al., (LBS07.07) J Extracell Vesicles 2018	10.1080/20013078.2018.1461450	

ND: no determinado. ^aEn negrita se muestran las publicaciones donde ha participado el autor

4. PERSPECTIVAS FUTURAS

Como hemos visto, las vesículas extracelulares de helmintos pueden tener utilidad no solo para controlar helmintiasis, sino también para el control de procesos autoinmunes. La posible utilización de las VEs y sus componentes a nivel biomédico, tanto a nivel veterinario como clínico, requerirá de ensayos de validación y estandarización, que permitan poder escalar, mediante técnicas relativamente sencillas y reproducibles, la producción de moléculas discretas (¿proteínas, miRNAs?) para su uso. Ello además requerirá finalmente cumplir los requerimientos de las agencias reguladoras, como la Agencia Europea del Medicamento (EMA) o la Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios (AEMPS). El camino no será ni fácil ni corto, pero "caminando se hace camino", y en nuestro caso siempre en compañía.

5. CONCLUSIONES

En los últimos años hemos vivido un gran auge en el estudio de las vesículas extracelulares de numerosos seres vivos, habiéndose descrito su papel no solo como material de desecho sino como mediadores en la comunicación entre células y organismos, incluso de reinos diferentes. Su identificación y caracterización en helmintos ha permitido resolver algunas cuestiones no resueltas hasta entonces, como era la presencia de moléculas de origen citosólico en la superficie, así como en los materiales secretados y excretados por los mismos. Asimismo, se ha podido confirmar esta vía de secreción como una de las principales en helmintos.

El estudio de las vesículas extracelulares de helmintos además de promover el conocimiento sobre las mismas a nivel de cien-



cia básica, ha permitido la identificación de biomarcadores que pueden ser de utilidad en ciencia aplicada, como es el control de helmintiasis, por cuanto facilitarían el diagnóstico y la prevención de la enfermedad. Asimismo, dichos estudios están generando nuevas dianas de tratamiento e incluso nuevas posibilidades de tratamiento, no solo de helmintiasis, sino también de enfermedades de tipo autoinmune. Futuros ensayos debieran validar dichos resultados permitiendo la estandarización de protocolos de producción de moléculas discretas con posible potencial clínico.

Agradecimientos

Mi sincero agradecimiento a los miembros de la Real Academia Nacional de Farmacia por el honor que me hacen con este nombramiento y por su cariñosa acogida.

Mi más sentido agradecimiento a las personas e instituciones que me han apoyado a lo largo de mi vida:

En primer lugar, al Sistema Educativo Público y de Calidad, sin cuyas ayudas y becas un joven de una ciudad pequeña de España con inquietudes científicas no hubiera podido realizar su sueño.

Por orden cronológico quiero agradecer a las personas que hicieron nacer en mí la curiosidad científica y que me enseñaron el camino, y a quienes considero mis referentes. A mis queridos profesores, tanto de secundaria como José Antonio Almendros, como de universidad, los profesores Enrique Herrero y Rafael Sentandreu. Este último Académico de Número de esta institución, quien me animó a presentar mi candidatura a Académico Correspondiente, y quien ha realizado un cariñosa presentación de mi trayectoria durante el acto de toma de posesión. Todos ellos me abrieron la mente hacia la investigación. A la Dra. María Victoria Elorza, "Toyi", con quien inicié mi tarea investigadora, su ejemplo de tesón y perseverancia todavía me siguen inspirando. Gracias a mis compañeros de tesis doctoral en el Departamento de Microbiología de la Facultad de Farmacia de la Universitat de València, quienes siempre han sido siempre un estímulo. Gracias a los compañeros de estancia postdoctoral en Estados Unidos, a los compañeros del Área de Parasitología de la Universitat de València, con el Profesor Santiago Mas-Coma a la cabeza, que me abrieron nuevos campos de investigación.

Gracias especiales a referentes científicos que me han ido acompañando en lo laboral y en lo personal durante estos años, Dres. Pascual Sanz, Eulogio Valentín, Lucas Del Castillo y Pedro Pérez-Bermúdez. Gracias a mis compañeros de la Unidad Mixta de investigación en el IIS La Fe, liderados por los Dres. Francisco Merino y José Miguel Soriano. Gracias a mis compañeros y amigos de la Facultat de Farmàcia de la Universitat de València.

Muchas gracias especialmente a mis queridos compañeros del grupo de investigación ParaSalut, profesores y estudiantes de

doctorado, que me han hecho y hacen muy fácil el trabajo diario, compartiendo y enseñándome al mismo tiempo.

Y dejo para el final el inmenso agradecimiento a mis familias en plural: la de origen, la familia de Albacete, un recuerdo especial a mis padres, Antonio y María Josefa, quienes desde su humilde condición me enseñaron el valor del esfuerzo y la constancia; y a mis hermanos, que siempre me ayudaron y confiaron en mí.

A mi segunda familia, los amigos, personas que aun estando geográficamente lejos, siempre han estado cerca, en mi caso desde la infancia y la adolescencia.

Y finalmente, la tercera familia. Mi eterno agradecimiento a mi familia Valenciana, mis padres adoptivos Matilde y Pepe, siempre dispuestos a hacernos la vida más fácil. A mis hijos Jordi, Pau y Xavier, quienes han sufrido muchas de mis ausencias. Y gracias especialmente a Mati, mi compañera de vida, sin cuyo constante estímulo, apoyo y buen hacer, nada hubiese sido posible.

Concluyo con un viejo proverbio africano anónimo, que hago mío en esta ocasión, y que reza así: "Si quieres llegar rápido viaja solo, si quieres llegar lejos ve acompañado". Muchas gracias.

6. REFERENCIAS

1. Liu Y. In search of Darwin's imaginary Gemmules. *Adv Genet.* 2018;101:87-114. doi: 10.1016/bs.adgen.2018.05.004. Epub 2018 Jul 17. PMID: 30037394.
2. Harding C, Heuser J, Stahl P. Receptor-mediated endocytosis of transferrin and recycling of the transferrin receptor in rat reticulocytes. *J Cell Biol.* 1983 Aug;97(2):329-39. doi: 10.1083/jcb.97.2.329. PMID: 6309857; PMCID: PMC2112509.
3. Pan BT, Johnstone RM. Fate of the transferrin receptor during maturation of sheep reticulocytes in vitro: selective externalization of the receptor. *Cell.* 1983 Jul;33(3):967-78. doi: 10.1016/0092-8674(83)90040-5. PMID: 6307529.
4. Drurey C, Coakley G, Maizels RM. Extracellular vesicles: new targets for vaccines against helminth parasites. *Int J Parasitol.* 2020 Aug;50(9):623-633. doi: 10.1016/j.ijpara.2020.04.011. Epub 2020 Jul 11. PMID: 32659278.
5. Gutiérrez-Vázquez C, Villarroja-Beltri C, Mittelbrunn M, Sánchez-Madrid F. Transfer of extracellular vesicles during immune cell-cell interactions. *Immunol Rev.* 2013 Jan;251(1):125-42. doi: 10.1111/imr.12013. PMID: 23278745; PMCID: PMC3740495.
6. Gholizadeh S, Shehata Draz M, Zarghooni M, Sanati-Nezhad A, Ghavami S, Shafiee H, Akbari M. Microfluidic approaches for isolation, detection, and characterization of extracellular vesicles: Current status and future directions. *Biosens Bioelectron.* 2017 May 15;91:588-605. doi: 10.1016/j.bios.2016.12.062. Epub 2016 Dec 30. PMID: 28088752; PMCID: PMC5323331.



7. Yáñez-Mó M, Siljander PR, Andreu Z, Zavec AB, Borràs FE, Buzas EI, Buzas K, Casal E, Cappello F, Carvalho J, Colás E, Cordeiro-da Silva A, Fais S, Falcon-Perez JM, Ghobrial IM, Giebel B, Gimona M, Graner M, Gursel I, Gursel M, Heegaard NH, Hendrix A, Kierulf P, Kokubun K, Kosanovic M, Kralj-Iglic V, Krämer-Albers EM, Laitinen S, Lässer C, Lener T, Ligeti E, Lin E, Lipps G, Llorente A, Lötvall J, Manček-Keber M, Marcilla A, Mittelbrunn M, Nazarenko I, Nolte H, Hoen EN, Nyman TA, O'Driscoll L, Oliván M, Oliveira C, Pállinger É, Del Portillo HA, Reventós J, Rigau M, Rohde E, Sammar M, Sánchez-Madrid F, Santarém N, Schallmoser K, Ostenfeld MS, Stoorvogel W, Stukelj R, Van der Grein SG, Vasconcelos MH, Wauben MH, De Wever O. Biological properties of extracellular vesicles and their physiological functions. *J Extracell Vesicles*. 2015 May 14;4:27066. doi: 10.3402/jev.v4.27066. PMID: 25979354; PMCID: PMC4433489.
8. Hotez PJ, Brindley PJ, Bethony JM, King CH, Pearce EJ, Jacobson J. Helminth infections: the great neglected tropical diseases. *J Clin Invest*. 2008 Apr;118(4):1311-21. doi: 10.1172/JCI34261. PMID: 18382743; PMCID: PMC2276811.
9. Hotez PJ, Pecoul B, Rijal S, Boehme C, Aksoy S, Malecela M, Tapia-Conyer R, Reeder JC. Eliminating the Neglected Tropical Diseases: Translational Science and New Technologies. *PLoS Negl Trop Dis*. 2016 Mar 2;10(3):e0003895. doi: 10.1371/journal.pntd.0003895. PMID: 26934395; PMCID: PMC4774924.
10. Mathivanan S, Ji H, Simpson RJ. Exosomes: extracellular organelles important in intercellular communication. *J Proteomics*. 2010 Sep 10;73(10):1907-20. doi: 10.1016/j.jprot.2010.06.006. Epub 2010 Jul 1. PMID: 20601276.
11. Marcilla A, Trelis M, Cortés A, Sotillo J, Cantalapiedra F, Minguez MT, Valero ML, Sánchez del Pino MM, Muñoz-Antoli C, Toledo R, Bernal D. Extracellular vesicles from parasitic helminths contain specific excretory/secretory proteins and are internalized in intestinal host cells. *PLoS One*. 2012;7(9):e45974. doi: 10.1371/journal.pone.0045974. Epub 2012 Sep 24. PMID: 23029346; PMCID: PMC3454434.
12. Bernal D, Trelis M, Montaner S, Cantalapiedra F, Galiano A, Hackenberg M, Marcilla A. Surface analysis of *Dicrocoelium dendriticum*. The molecular characterization of exosomes reveals the presence of miRNAs. *J Proteomics*. 2014 Jun 13;105:232-41. doi: 10.1016/j.jprot.2014.02.012. Epub 2014 Feb 21. PMID: 24561797.
13. Hoffmann KF, Hokke CH, Loukas A, Buck AH. Helminth extracellular vesicles: great balls of wonder. *Int J Parasitol*. 2020 Aug;50(9):621-622. doi: 10.1016/j.ijpara.2020.07.002. PMID: 32771117.
14. Sánchez-López CM, Trelis M, Jara L, Cantalapiedra F, Marcilla A, Bernal D. Diversity of extracellular vesicles from different developmental stages of *Fasciola hepatica*. *Int J Parasitol*. 2020 Aug;50(9):663-669. doi: 10.1016/j.ijpara.2020.03.011. Epub 2020 Jun 10. PMID: 32531305.
15. Cwiklinski K, de la Torre-Escudero E, Trelis M, Bernal D, Dufresne PJ, Brennan GP, O'Neill S, Tort J, Paterson S, Marcilla A, Dalton JP, Robinson MW. The Extracellular Vesicles of the Helminth Pathogen, *Fasciola hepatica*: Biogenesis Pathways and Cargo Molecules Involved in Parasite Pathogenesis. *Mol Cell Proteomics*. 2015 Dec;14(12):3258-73. doi: 10.1074/mcp.M115.053934. Epub 2015 Oct 20. PMID: 26486420; PMCID: PMC4762619.
16. Trelis M, Galiano A, Bolado A, Toledo R, Marcilla A, Bernal D. Subcutaneous injection of exosomes reduces symptom severity and mortality induced by *Echinostoma caproni* infection in BALB/c mice. *Int J Parasitol*. 2016 Nov;46(12):799-808. doi: 10.1016/j.ijpara.2016.07.003. Epub 2016 Aug 30. PMID: 27590846.
17. Buck AH, Cookley G, Simbari F, McSorley HJ, Quintana JF, Le Bihan T, Kumar S, Abreu-Goodger C, Lear M, Hargus Y, Ceroni A, Babayan SA, Blaxter M, Ivens A, Maizels RM. Exosomes secreted by nematode parasites transfer small RNAs to mammalian cells and modulate innate immunity. *Nat Commun*. 2014 Nov 25;5:5488. doi: 10.1038/ncomms6488. Erratum in: *Nat Commun*. 2015;6:8772. PMID: 25421927; PMCID: PMC4263141.
18. Montaner S, Galiano A, Trelis M, Martín-Jaular L, Del Portillo HA, Bernal D, Marcilla A. The role of extracellular vesicles in modulating the host immune response during parasitic infections. *Front Immunol*. 2014 Sep 8;5:433. doi: 10.3389/fimmu.2014.00433. PMID: 25250031; PMCID: PMC4157553.
19. Roig J, Saiz ML, Galiano A, Trelis M, Cantalapiedra F, Monteagudo C, Giner E, Giner RM, Recio MC, Bernal D, Sánchez-Madrid F, Marcilla A. Extracellular vesicles from the helminth *Fasciola hepatica* prevent DSS-induced acute ulcerative colitis in a T-lymphocyte independent mode. *Front Microbiol*. 2018 May 23;9:1036. doi: 10.3389/fmicb.2018.01036. PMID: 29875750; PMCID: PMC5974114.
20. Eichenberger RM, Ryan S, Jones L, Buitrago G, Polster R, Montes de Oca M, Zuvelek J, Giacomini PR, Dent LA, Engwerda CR, Field MA, Sotillo J, Loukas A. Hookworm secreted extracellular vesicles interact with host cells and prevent inducible colitis in mice. *Front Immunol*. 2018 Apr 30;9:850. doi: 10.3389/fimmu.2018.00850. PMID: 29760697; PMCID: PMC5936971.
21. Gao X, Yang Y, Liu X, Wang Y, Yang Y, Boireau P, Liu M, Bai X. Extracellular vesicles derived from *Trichinella spiralis* prevent colitis by inhibiting M1 macrophage polarization. *Acta Trop*. 2021 Jan;213:105761. doi: 10.1016/j.actatropica.2020.105761. Epub 2020 Nov 19. PMID: 33221281.



Si desea citar nuestro artículo:
Vesículas extracelulares en la comunicación hospedador-helmintho: aplicaciones biomédicasw

Antonio Marcilla Díaz
An Real Acad Farm [Internet].
An. Real Acad. Farm. Vol. 87, nº 3 (2021) · pp 351-360
DOI: <http://>