

El aporte de la proteómica al estudio de las enfermedades infecciosas

Como ha sido ampliamente desarrollado, el plasma humano es el mejor ejemplo de un ámbito proteómico, reflejo de múltiples acciones genómicas y de un número desconocido, pero cada vez más amplio, de proteínas sintetizadas por acción genómica.

En el caso de las infecciones virales o bacterianas existe una verdadera batalla donde las armas son las proteínas, que son consecuencia de una interacción genómica entre el huésped y los patógenos, virales o bacterianos.

La estrategia de las bacterias patógenas y de los virus está basada en la expresión proteica de los genomas bacterianos y virales, en la interacción proteína/proteína que ocurre dentro de la célula huésped, en la subversión del sistema de señales del mismo y en el escape a las defensas del huésped en la búsqueda y localización del nicho y la etapa de traslación hacia otros huéspedes.

Las estrategias de las bacterias patógenas y de los virus son extremadamente variadas y el huésped emplea dos sistemas básicos de defensa. La inmunidad innata o adquirida, humoral y celular y un proceso dinámico homeostático en el que existe una movilización y producción de proteínas, llamadas de fase aguda, vinculadas en la primera etapa a una alteración de la complejidad de la reacción, en la que intervienen los factores, que a través del hipotálamo, producen la liberación de citoquinas que se vincula a la elevación del cortisol.

Mapas por electroforesis bidimensional (DIGE) en la respuesta de las proteínas de la fase aguda

Un procedimiento que ha permitido identificar un amplio espectro de marcadores consiste en efectuar la comparación de electroforesis bidimensionales en sueros normales y en pacientes infectados. En el caso del H. influenzae tipo b comparando con el programa Swiss 2D (<http://www.expasy.org/ch2d/>) se pueden detectar como reactantes positivos a la ceruloplasmina, factor de complemento B, β 1- α -glicoproteína, α 1-antiquimiotripsina, α 1-antitripsina, haptoglobina, α y β , orosomucoide1, complemento C₄ y reactantes negativos (albúmina, α ₂-HS-glicoproteína, transtiretina y proteína sérica unida al retinol).

Dos proteínas muy importantes han sido identificadas: la proteína amiloide A sérica (SAA) y la proteína C reactiva (PCR), identificadas por immunoblotting con anticuerpos específicos, ausentes en el gel de referencia Swiss 2D PAGE de pacientes sanos.

Monitoreo clínico de las proteínas por DIGE

Las proteínas de la fase aguda (PFA) han sido consideradas durante mucho tiempo como marcadores inespecíficos de inflamación. Uno de los componentes de las PFA, la PCR, ha sido considerada como marcador de la severidad de la inflamación a los efectos de la terapia y como un parámetro superior al de la prueba de sedimentación eritrocitaria.

La resolución de 2-DE gel permite detectar simultáneamente y distinguir infecciones bacterianas de infecciones virales. Se ha probado que la proteína sérica amiloide se encuentra altamente presente en las infecciones bacterianas respecto de las infecciones virales.

Por otra parte, la concentración de los reactantes α 1-antiquimiotripsina, haptoglobina, α ₂-glicoproteína sérica rica en leucina, transtiretina y proteína ligante de retinol, varía simultáneamente durante el curso de las enfermedades bacterianas, pero en el caso de una enfermedad viral las mismas proteínas se alteran en forma espaciada y alternada.

Esta diferencia entre ambos procesos fue confirmada por valoración inmunológica cuantitativa (immunometría) para diferentes casos de proteínas de la fase aguda como PCR, procalcitonina, 2'-5' oligoadenilato sintetasa.

Con el empleo de la separación bidimensional (2DIGE), la visualización posterior con coloración argéntica y la identificación con Western blot, se ha podido comprobar la respuesta de los pacientes con una enfermedad crónica inducida por una cepa de Chlamydia trachomatis que produce un perfil inmunorreactivo de proteínas características y que difieren de pacientes sanos usados como control.

Los perfiles proteicos de sueros humanos infectados son similares a los perfiles obtenidos en ratones infectados con la misma cepa de Chlamydia, dependiendo de la severidad de la infección.

Es posible determinar y monitorear una gran cantidad de proteínas en forma simultánea y luego identificar el componente aislado por su presencia o ausencia en el área del mapa proteico obtenido empleando la secuencia 2DIGE y Western blot con anticuerpos monoclonales fluorescentes, y la posterior secuenciación con espectroscopía de MS y comparación con una base de datos.

Resulta evidente que la sofisticación analítica es cada vez más avanzada y que pueden emplearse instancias como el uso de microarreglos para péptidos y proteínas que permiten rápidamente acceder a resultados confiables, rápidos y cuantitativos para un elevado número de proteínas.

El conocimiento de estas técnicas, su alcance, sensibilidad, permitirán determinar precozmente el grado de infección producida en una transmisión global, así como la adaptación bacteriana e infección emergente, facilitada por la circulación de grupos de turistas o de pasajeros en los distintos medios de transporte.

Estos estudios han permitido el aislamiento de marcadores biológicos que ha trascendido a través del desarrollo de procedimientos específicos para identificar antígenos bacterianos empleando reactivos con oro coloidal sobre tiras cromatográficas.

Con la tecnología DIGE gel aplicada, la coloración argéntica y el análisis de las imágenes surge que:

- 1) *Las infecciones bacterianas y virales pueden ser monitoreadas por los reactantes de fase aguda (SAA, haptoglobina, α_1 -antitripsina, α -glicoproteína rica en leucina, transtiretina y proteína ligante del retinol.*

globina, α_1 -antitripsina, α -glicoproteína rica en leucina, transtiretina y proteína ligante del retinol.

- 2) *La haptoglobina puede ser empleada como un marcador de sepsis perinatal, pues esta proteína en el adulto no ofrece variaciones significativas en relación con la evolución de la enfermedad.*
- 3) *Las isoformas del amiloide SAA 1 α pueden ser utilizadas para determinar el pronóstico de la enfermedad infecciosa.*

Bibliografía sugerida

SERUM Proteins in Clinical Medicine.

Ritchie RF Editor - Fundation Blood Research. Ritchie RF Editor - Scarborough Maineme 04070-0190-USA. 1999. The acute phase response Pag. 105-122.

Biomedical Applications of Proteomics

Editor Sanchez JC, Corthals GL, Hochstrasser DF. Proteome Approach to Infectious Diseases. P. 227-243. Wiley - VCH Verlag GmbH & Co. 2004.

DR. JUAN MIGUEL CASTAGNINO

Director

Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana