Presentación de proyectos de investigación

Estudio 12

Estudio metaproteómico de la microbiota intestinal y oral: identificación de un panel de especies biomarcadoras capaz de distinguir controles y pacientes con COVID persistente.

García Durán, Carmen, Gómez Leticia, de la Cámara Samuel, Zapico Inés, Marín Patricia, González-Escalada Alba, Azcárate Isabel, Gil Concha, Monteoliva Lucía.

Introducción

Un alto porcentaje de las personas que padecen COVID-19 posteriormente desarrollan COVID persistente. Este síndrome postviral actualmente no presenta un diagnóstico claro ni tratamiento efectivo. La alteración de la microbiota se ha sugerido como un posible mecanismo de la fisiopatología de la enfermedad, sin embargo, no existen estudios metaproteómicos de dicha microbiota en estos individuos.

Objetivos

Análisis metaproteómico de la microbiota intestinal y oral de pacientes de COVID persistente para identificar biomarcadores de diagnóstico y desequilibrios microbianos que puedan tratarse mediante el empleo de probióticos específicos.

Metodología

Se analizaron muestras de heces y saliva de una cohorte de 95 enfermos de COVID persistente y 29 controles (personas recuperadas de COVID-19 y con diagnóstico negativo para COVID persistente). Las muestras se procesaron siguiendo un protocolo publicado [1]. Se obtuvo el extracto proteico de los microorganismos y posteriormente los péptidos. Estos fueron procesados en un espectrómetro TIMsTOF Pro2. La identificación de péptidos y proteínas se realizó mediante MSFragger y Metalab empleando tres bases de datos diferentes, dos específicas para cada nicho y otra para la identificación de proteínas humanas. El análisis posterior (taxonómico y funcional) se realizó utilizando los paquetes phyloseq, vegan y microbiome en RStudio.

Resultados

El análisis comparativo de los grupos reveló una reducción de la diversidad alfa en la microbiota intestinal de los pacientes y una diferencia significativa en diversidad beta. En la microbiota oral, sin embargo, no se observaron diferencias. Asimismo, el análisis

Wilcoxon identificó taxones diferenciales entre ambos grupos, algunos descritos anteriormente. Para averiguar la eficacia diagnóstica predictiva del conjunto de especies identificadas, se realizó un análisis Random Forest encontrando una AUC muy elevada (0.89) para la microbiota intestinal y algo menor (0.72) para la oral. Con el objetivo de obtener un panel más reducido de especies biomarcadoras se realizó una aproximación multiconsenso con tres análisis específicos de microbiota (LEfSe, ANCOMBC y MaAsLin2). Mediante esta estrategia se identificaron 6 especies diferenciales entre grupos y comunes en los 3 análisis en la microbiota intestinal y 3 especies diferenciales en la microbiota oral. Hay que destacar que se identificaron 2 especies de Bifidobacterium en la microbiota intestinal y dos especies de Neisseria en la microbiota oral con abundancia disminuida en los pacientes. Estos paneles de biomarcadores consiguieron AUCs de 0.76 y 0.67 para la microbiota intestinal y oral, respectivamente. Además, la microbiota de los individuos con COVID persistente presentó una reducción de la abundancia de proteínas implicadas en vías de producción de energía, como son la glucólisis y la fosforilación oxidativa. Con respecto a las proteínas humanas, se encontró un enriquecimiento significativo de proteínas implicadas en inmunidad en el COVID persistente.

Discusión y conclusiones

Mediante el análisis metaproteómico de la microbiota intestinal y oral se pudo obtener una visión global de las comunidades en el COVID persistente. La microbiota intestinal presenta una alteración elevada a nivel taxonómico, con disminución de especies de Bifidobacterium en los pacientes. Se identificó un panel biomarcador de 6 especies eficaz para diferenciar los individuos del grupo control y del grupo de COVID persistente, presentando la microbiota intestinal global una capacidad predictiva elevada. Por su parte, la microbiota oral no presenta una alteración taxonómica tan marcada y, aunque se identifican especies diferenciales, la capacidad predictiva de la comunidad es baja. Sin embargo, en ambas comunidades, los microorganismos de los pacientes con COVID persistente son ineficientes en la obtención de energía, observándose también un ambiente inflamatorio. El trabajo realizado presenta resultados novedosos en el estudio de la microbiota en los pacientes que pueden ser muy beneficiosos para un mejor manejo eficaz de la enfermedad en el futuro.

Referencias

[1] García-Durán C, Martínez-López R, Zapico I, Pérez E, Romeu E, Arroyo J, Hernáez ML, Pitarch A, Monteoliva L and Gil C (2021) Distinct Human Gut Microbial Taxonomic Signatures Uncovered With Different Sample Processing and Microbial Cell Disruption Methods for Metaproteomic Analysis. Front. Microbiol. 12:618566. doi: 10.3389/fmicb.2021.618566

Presenta: Carmen García Durán. Departamento de Microbiología, Facultad de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid.