

TEMA 27: LEISHMANIA



Alberto López Goñi, Emanuel Sandu, Carolina Verdugo Flores,
Isaac Yunta Cantarero, Alexia de María Sánchez Reque

Microbiología clínica

Grado en Bioquímica
Departamento de Biología Molecular
JMRR-UAM © 2025

ÍNDICE

| | |
|---|--------------|
| 1. Introducción..... | 4-7 |
| 2. Principales tipos de leishmaniosis..... | 7-10 |
| 2.1 Leishmaniosis cutánea (LC) o Botón de Oriente..... | 8 |
| 2.2 Leishmaniosis mucocutánea o Espundia..... | 8 |
| 2.3 Leishmaniosis visceral (LV) o Kala-azar..... | 8-10 |
| 3. Ciclo de vida..... | 11-18 |
| 4. La superficie de <i>Leishmania</i>..... | 18-22 |
| 4.1 El lipofosfoglicano (LPG)..... | 18-20 |
| 4.2 La proteinasa de superficie Gp63 o MSP (<i>Major Surface Protease</i>)..... | 20-22 |
| 5. Evasión del sistema de complemento..... | 23 |
| 6. Entrada de <i>Leishmania</i> en las células hospedadoras y los receptores implicados..... | 24-27 |
| 7. Supervivencia del parásito dentro de células fagocíticas..... | 27-37 |
| 7.1 Supresión de la síntesis de moléculas leishmanicidas..... | 27-34 |
| 7.2 Modulación de la apoptosis del macrófago..... | 34 |
| 7.3 Adquisición de hierro en el fagosoma..... | 34-37 |
| 8. Respuesta inmunitaria frente a la infección por <i>Leishmania</i>.... | 37-44 |
| 9. Persistencia del parásito e inmunidad..... | 44-47 |
| 10. Interacción <i>Leishmania</i>- HIV..... | 47-49 |
| 11. Tratamientos frente a leishmaniasis..... | 49-53 |
| 11.1 Antimoniales..... | 50-51 |
| 11.2 Anfotericina..... | 51-52 |
| 11.3 Pentamidina..... | 52 |
| 11.4 Miltefosina..... | 52-53 |

| | |
|---|--------------|
| 11.5 Paromomicina..... | 53 |
| 11.6 Otros fármacos utilizados en la clínica..... | 53 |
| 12. Amplificación génica como mecanismo de resistencia a fármacos..... | 54-56 |
| Referencias..... | 57-59 |

1. Introducción

Los parásitos del género *Leishmania* fueron descritos simultáneamente en 1903, pero de forma independiente, por William Leishman y Charles Donovan. El apellido del primero se utilizó para nombrar al género *Leishmania*, y el del segundo para nombrar la especie más virulenta en humanos, *Leishmania donovani*. Si bien, ahora se sabe que la primera descripción del parásito en lesiones de pacientes fue realizada en 1898 por el médico ruso Piotr Fokich Borovsky. Pero sus hallazgos permanecieron durante muchos años ignorados por los investigadores del campo, posiblemente por haber sido publicados en una revista rusa de poca difusión.

La enfermedad, no obstante, aparece ya descrita en documentos de la cultura asiria, escritos unos siete siglos antes de nuestra era. Y restos del genoma del parásito se han encontrado en momias egipcias de hace unos 4000 años, pudiendo haber sido la infección del parásito la causa de su muerte.

La infección de *Leishmania* produce un grupo de enfermedades conocidas globalmente bajo el nombre de leishmaniosis. Es una enfermedad que afecta a humanos y se estima que se producen unos 2 millones de casos nuevos cada año y que unos 400 millones de personas están en disposición o riesgo de sufrir la infección. Actualmente, la leishmaniosis ocupa la novena posición entre las enfermedades infecciosas de acuerdo con los casos de enfermedad existentes a nivel mundial. Y su incidencia continúa aumentando como consecuencia de los movimientos de refugiados y el cambio climático, que está favoreciendo la expansión de los vectores (y el parásito) a latitudes más altas.

Son parásitos intracelulares en la fase amastigote de varios mamíferos. En general, los cánidos y roedores actúan de reservorios y se transmiten al hombre mediante insectos de los géneros *Phlebotomus* y *Lutzomyia*, en los que adoptan la forma de promastigote. Estos artrópodos se infectan al adquirir amastigotes de la piel o circulantes en la sangre del reservorio.

Existen más de 20 especies de *Leishmania*. Aunque las especies de *Leishmania* exhiben una morfología similar, difieren en aspectos biológicos y serológicos, y aspectos clínicos de las enfermedades que producen.

Existe una dificultad en la definición de especie dentro del género, lo que ha conducido a proponer variados esquemas de clasificación. Esto transciende a la misma literatura científica, algunos autores consideran algunos de estos organismos como especies separadas mientras que otros los consideran como una sola especie con amplia distribución geográfica. Si existe un acuerdo en dividir el género en dos secciones o subgéneros, de acuerdo con la localización del parásito en el insecto vector:

- 1) Sección SUPRAPYLARIA (Subgénero *Leishmania*). Cuando los parásitos se localizan en el intestino medio de la mosca.
- 2) Sección PERIPYLARIA (Subgénero *Viannia*). Cuando se localizan en el intestino posterior de la mosca.

La expansión de los vectores provocada por el cambio climático incrementa las posibilidades de mezclar especies diferentes debido a la coexistencia de sus vectores. Hay evidencia de la existencia de hibridación natural entre especies de *Leishmania*, ya sean cercanas o lejanas evolutivamente.

La primera sospecha de hibridación en *Leishmania* apareció en 1981 y se basó en la detección de enzimas heterocigotas que sugerían la hibridación de *L. infantum* y *L. aethiopica*, aunque los resultados se consideraron como inconclusos. Posteriormente, análisis isoenzimáticos y genómicos dieron evidencia de hibridación entre *L. major* y *L. arabica* en aislados encontrados en animales salvajes de Arabia Saudí, de la hibridación entre *L. braziliensis* y *L. peruviana* en Perú, e incluso de *L. infantum* y *L. major* en Portugal. Tras analizar estos genotipos recombinados se observó la distribución de ambos alelos parentales a través del genoma, indicando una posible hibridación completa de genoma.

Actualmente, la gravedad del problema impuestos por estos nuevos híbridos es incierta ya que la viabilidad de la descendencia obtenida de cruces *in vitro* de *L. donovani* es mucho menor en comparación a la obtenida con *L. major*. Tampoco está claro si los híbridos tienen una capacidad de virulencia o de transmisión alterada, sin embargo, los híbridos obtenidos *in vitro* de *L. braziliensis / L. peruviana* son más resistentes y tienen mayor virulencia en comparación con sus cepas parentales. También se ha observado que los híbridos *L. infantum / L. major* tienen una

mayor transmisión por el vector.

Los híbridos de *Leishmania* anteriormente mencionados son supuestamente productos de eventos de apareamiento cruzado natural, ya sea en la misma especie o entre diferentes especies, con el requerimiento de que la mosca de arena esté coinfectada con dos linajes de parásitos distintos. La coinfección puede ocurrir si las moscas se alimentan de animales infectados por dos cepas de *Leishmania*, o por alimentarse de animales diferentes, cada uno infectado con una cepa. Esto no es algo extraño, ya que la infección mixta en humanos está bien documentada.

La primera demostración de intercambio genético en *Leishmania* se obtuvo empleando el método experimental utilizado en *T. cruzi*: dos marcadores fluorescentes de resistencia a fármacos fueron integrados en el genoma nuclear, y las células con resistencia dual fueron seleccionadas. Tras la coinfección de las moscas de la arena con dos cepas modificadas de *L. major* resistentes a higromicina o a nourseotricina, 18 clones doble resistentes fueron aislados. Tras un análisis de SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms), cada clon de la progenie obtenida por dicha hibridación era heterocigoto para el marcador alélico fluorescente presente en los siete cromosomas del genoma. Es decir, los clones híbridos eran heterocigotos y por tanto, distintos a los parentales, que eran homocigotos. Esto es una fuerte evidencia de hibridación completa de genoma.

Como la mayoría de los híbridos presentaban somías cercanas a 2n o a 3n, se sugirió un proceso de hibridación muy flexible, que puede ser por fusión de células con somía 1n (análogas a gametos), o de estas con una célula diploide, respectivamente. Este intercambio genético se ha observado que tiene lugar preferentemente en el intestino de los flebótomos, ya que los intentos de obtener hibridaciones en ratones fueron fallidas, aunque no se descarta que puedan ocurrir en huéspedes mamíferos.

Se han observado también ciertas condiciones celulares y ambientales que favorecen este proceso de hibridación: acúmulo de promastigotes embebidos en PSG en el intestino de los vectores insecto, la aglomeración y proximidad de células competentes a través de anticuerpos IgM que activa posibles vías de apareamiento desconocidas a través de *quorum sensing*, e incluso estrés genotóxico que desencadena respuestas meióticas para reparar el DNA.

Aunque no se han observado gametos dimórficos, los análisis genómicos muestran la existencia de recombinación entre cromosomas homólogos, descendencia heterocigota para marcadores donde las cepas parentales eran homocigotos para distintos alelos, y presencia de alelos recombinados. Todo esto implica necesariamente un proceso de meiosis, recombinación homóloga y segregación nuclear ordenada. Aunque se han propuestos mecanismos parosexuales alternativos similares a los descritos en hongos, en los que células diploides se fusionan para generar células tetraploides que pierden aleatoriamente cromosomas hasta volver a 2n. Estos supuestos intermediarios tetraploides parosexuales se han identificado ocasionalmente en moscas como híbridos 4n.

2. Principales tipos de leishmaniosis

A continuación, se indican las manifestaciones clínicas y principales especies que producen los distintos tipos de leishmaniosis (Fig. 1). Aunque existe una asociación bastante clara entre el tipo de leishmaniasis y la especie de *Leishmania* infectante, un mismo parásito, dependiendo de la respuesta inmunitaria del hospedador puede generar infecciones asintomáticas, lesiones autocurantes o enfermedad grave.

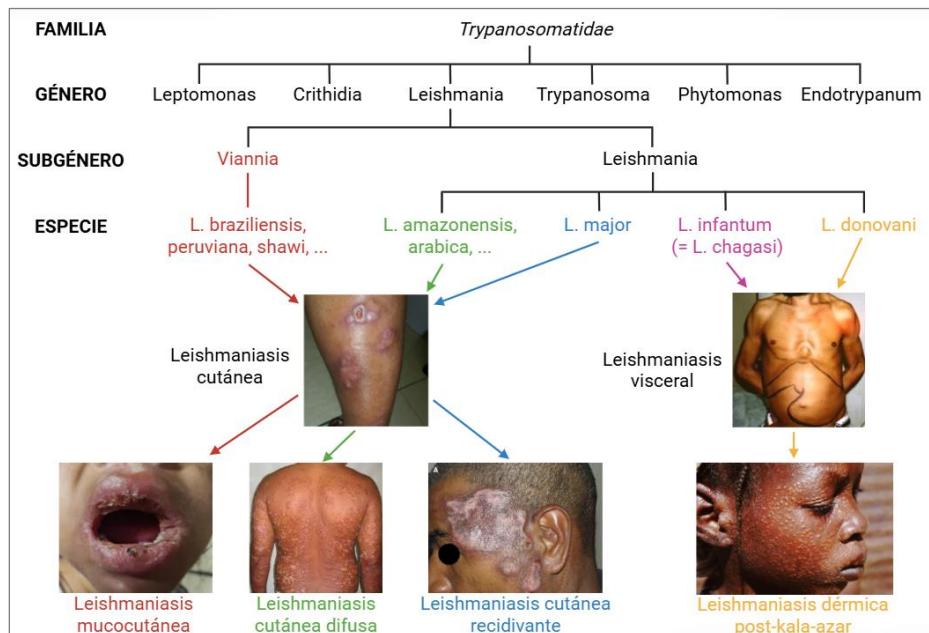


Figura 1. Árbol filogenético representativo de algunas especies del parásito *Leishmania*. Figura inspirada en Alvar et al. (2006) y modificada con BioRender.

2.1. Leishmaniosis cutánea (LC) o Botón de Oriente

La incidencia anual se estima en 1,5 millones de casos. El 90% de los casos ocurren en Irán, Afganistán, Siria, Arabia Saudí, Brasil y Perú.

Se manifiesta como pequeñas lesiones cutáneas desarrolladas en los sitios de la picadura del insecto. Normalmente esas lesiones se curan espontáneamente en pocos meses sin necesidad de tratamiento. Sin embargo, estas lesiones con frecuencia dejan cicatrices desfigurantes antiestéticas. Entre las especies que producen este tipo de afección están: *L. major*, *L. panamensis*, *L. braziliensis*, *L. tropica*, *L. aethiopica* y *L. peruviana*.

En individuos con una respuesta inmunitaria celular deficiente se desarrolla una variante que es la leishmaniosis cutánea difusa. Las lesiones cutáneas no curan y se van diseminando, dando la apariencia de un proceso lepromatoso. Se producen recaídas al interrumpirse el tratamiento.

2.2. Leishmaniosis mucocutánea o Espundia

Es producida por la infección de *L. braziliensis*, en la que tras la aparente resolución de la lesión cutánea, a veces, muchos años después, aparecen lesiones metastásicas en las mucosas bucal y nasal. Las mucosas y el cartílago asociados son deteriorados hasta que se produce la desfiguración de la cara, incluso con mutilación de la nariz y otras estructuras faciales.

2.3. Leishmaniosis visceral (LV) o Kala-azar

Es la forma más grave y se produce una afección sistémica que se manifiesta con anemia, esplenomegalia, hepatomegalia y caquexia progresiva. El desenlace es fatal si no se trata a tiempo, y aun con un tratamiento correcto resulta mortal en un 15% de los casos.

Las especies que la producen son: *L. donovani* (en África, India y Asia), *L. infantum* (en el

litoral Mediterráneo y el Sudeste asiático) y *L. chagasi* (en Latinoamérica). Anualmente se producen 500.000 casos clínicos de LV y unas 70000 muertes, la mayoría son producidos por la infección de *L. donovani*. Además, con cierta frecuencia estas especies viscerotrópicas producen epidemias con alta mortalidad. Por ejemplo, a principios de los 90, en el sur de Sudán se dio una epidemia que causó 100.000 muertos sobre una población de 1 millón.

Después de la recuperación de la LV causada por *L. donovani*, y con menos frecuencia en algunos casos de infecciones asintomáticas (15-20%), cierto número de personas desarrollan una leishmaniosis cutánea crónica que se llama leishmaniosis dermal post-Kala azar (PKDL, *Post Kala azar Dermal Leishmaniasis*). En la piel de estos pacientes aparecen un gran número de pápulas donde se acumulan los parásitos; por este motivo, se piensa que estas personas van a favorecer la transmisión del parásito. El periodo entre la cura de la LV y el desarrollo de la afección PKDL puede ir desde 2 hasta 10 años. No existe una razón clara que explique por qué en algunas personas se desarrolla PKDL y no en otras. Sin embargo, se han postulado ciertos factores como favorecedores del proceso. Así, por ejemplo, se ha planteado que la expresión aumentada en algunas cepas del parásito de ciertas proteínas, como Gp63 o la PSA2 (*Promastigote surface antigen 2*), podrían ser factores que aumenten el dermotropismo y favorezcan, en consecuencia, el desarrollo de PKDL. Por otro lado, dado que las lesiones suelen desarrollarse en las zonas del cuerpo más expuestas a la luz, se ha planteado que la luz UV podría favorecer el desarrollo de PKDL. Existen datos que sugieren un efecto inmunosupresor por parte de la luz UV. Actualmente no se sabe el mecanismo de transición de VL a PKDL. Pero se tiene claro que los pacientes muestran un entorno cutáneo con Th2, Treg y macrófagos M2, que expresan IL-10, TGF-β y enzimas que reducen especies reactivas, lo que permite la persistencia del parásito. Y es precisamente la exposición UV la que puede favorecer una posible inducción de citoquinas Th2 y supresión local de la inmunidad celular. Y finalmente, también se han sugerido las características genéticas de los individuos como factores que pueden condicionar el desarrollo del PKDL.

Muchos autores consideran a *L. infantum* y *L. chagasi* como la misma especie, y se postula que esta última fue introducida por los perros que los españoles llevaron a la conquista de América. Para estas dos especies el reservorio principal del parásito es el perro, mientras que los humanos son el único reservorio conocido para *L. donovani*.

En los últimos años se está haciendo patente el hecho de que mucha gente que es infectada nunca desarrolla la enfermedad; algunos estudios indican que más del 95% de las infecciones nunca progresan a enfermedad. Esto es particularmente cierto para las infecciones de *L. infantum*. Su nombre hace referencia a que las infecciones con este parásito estaban prácticamente restringidas a niños, siendo una enfermedad relativamente frecuente en la Europa mediterránea. Después de la segunda guerra mundial, al mejorarse la nutrición de los niños, su sistema inmunitario se fortaleció, y la LV en niños prácticamente ha desaparecido.

Sin embargo, la enfermedad re-emergió, tanto en Europa como en Sudamérica, debido a su asociación con la inmunosupresión que produce el SIDA. En el periodo 1990-98 se reportaron varios miles de casos, y la mayoría de ellos en España. Como ambos, HIV y *Leishmania*, pueden invadir y replicar dentro de macrófagos, existen datos que indican que las interacciones entre ambos patógenos pueden exacerbar los correspondientes procesos de infección. Afortunadamente, con la introducción de la terapia antirretroviral sumamente activa, se ha observado una clara reducción en el número de casos de co-infección *L. infantum/HIV*.

En resumen, la patogénesis va a ser el resultado de factores relacionados con el parásito y con el sistema inmunitario del hospedador. En la figura 2 se muestra un diagrama en el que las distintas manifestaciones clínicas de la infección se relacionan con un balance específico entre el parásito y el sistema inmunitario.

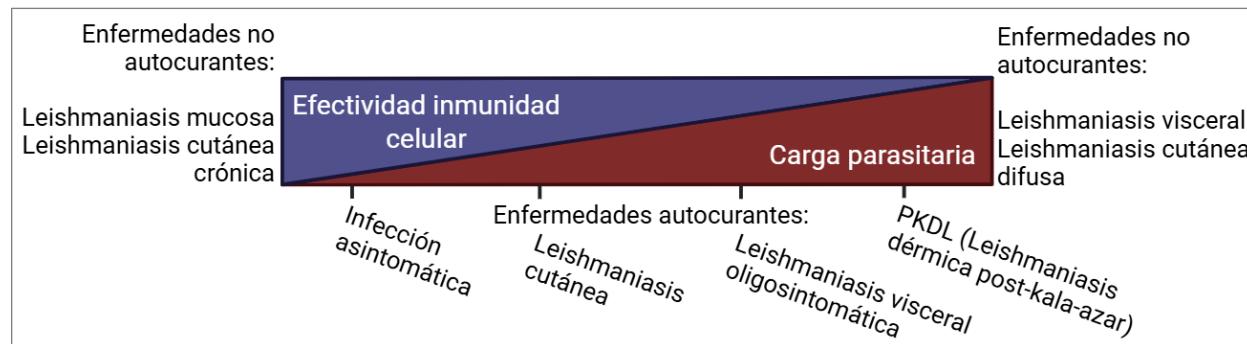


Figura 2. Las diferentes relaciones entre el sistema inmune y el protozoo *Leishmania* son la causa de diferentes enfermedades. Figura inspirada en Murray et al. (2005) y modificada con BioRender.

3. Ciclo de vida

El ciclo de vida de todas las especies de *Leishmania* es muy similar (Fig. 3).

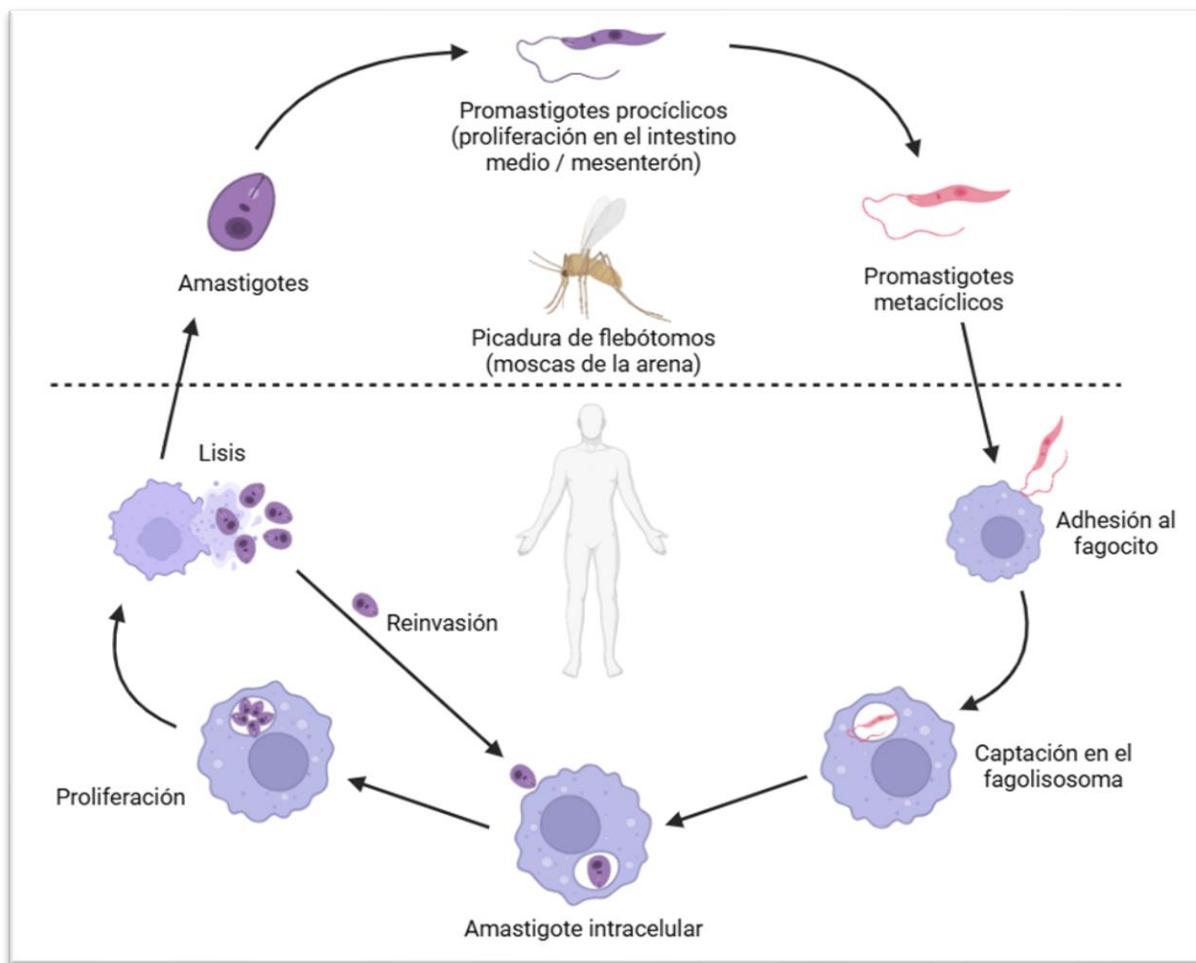


Figura 3. Ciclo de vida del parásito *Leishmania*. Figura inspirada en Kaye et al. (2011) y modificada con BioRender.

El promastigote es la forma infectiva para humanos. El flebotomo infectado transmite el parásito al inyectar los promastigotes en la piel del hospedador mamífero, junto con las secreciones salivares cuando está alimentándose de la sangre.

Los promastigotes son rápidamente fagocitados por los macrófagos presentes en el sitio de la picadura. Al menos para las infecciones con *L. major*, se ha encontrado que la presencia de

parásitos apoptóticos en el inóculo es crucial para establecer la infección en el mamífero; si estos se eliminan del inóculo infectante se observa una eliminación completa del parásito como fuerte de la fuerte respuesta inmunitaria generada. Esta mortalidad en la población de parásitos ocurre de forma natural en el intestino del vector y se observa la presencia de promastigotes con características apoptóticas, como es la presencia de fosfatidil-serina (PS) en la superficie celular. El reconocimiento de PS sobre las células apoptóticas por parte de las células fagocíticas conduce a una respuesta no agresiva en la que se la respuesta inflamatoria es acallada a través de la secreción de TGF- β , IL-10 y PGE₂, que son moléculas que ejercen un efecto tolerogénico sobre el sistema inmunitario.

Recientemente, se ha sugerido que los neutrófilos podrían resultar también infectados, ya que son células que son reclutadas por la respuesta inflamatoria local, asociada a la inoculación del parásito. Así, el daño sobre los capilares y tejidos adyacentes producidos por la picadura del insecto conducen a la producción de alarminas endoteliales, tales como la interleuquina 33 (IL-33), que promueve el reclutamiento de neutrófilos. Los neutrófilos son muy activos en la fagocitosis del parásito, y éstos últimos sobreviven dentro del fagosomas. Además, los neutrófilos infectados experimentan apoptosis y terminan siendo fagocitados por los macrófagos a través de receptores que no activan las respuestas de defensa del macrófago. Así, el parásito pasaría desde el neutrófilo al macrófago sin sufrir daño. No obstante, algunos neutrófilos podrían ser destruidos como consecuencia de la infección del parásito, lo que libera las alarminas HMGB1 (*high mobility group protein B1*) e IL-1 β , que son quimioatrayentes de células dendríticas derivadas de monocitos (moDCs, *monocyte-derived DCs*). Al llegar al sitio de infección, estas células van a ser infectadas, actuando de vehículo para el transporte del parásito hacia los nódulos linfáticos drenantes. Las células dendríticas también actúan como vehículos para alcanzar los nódulos linfáticos, aunque son infectadas más tarde que los neutrófilos y macrófagos. Sin embargo, al ser infectadas, las células dendríticas producen IL-12, que activa la respuesta Th1 y la producción de IFN- γ , que activa a los macrófagos para generar NO. La internalización del parásito no activa estas vías en macrófagos, lo que indica que las células dendríticas son clave para iniciar una respuesta protectora, mientras que su infección más tardía puede dar tiempo al parásito para establecerse antes de la activación Th1 (Fig. 4).

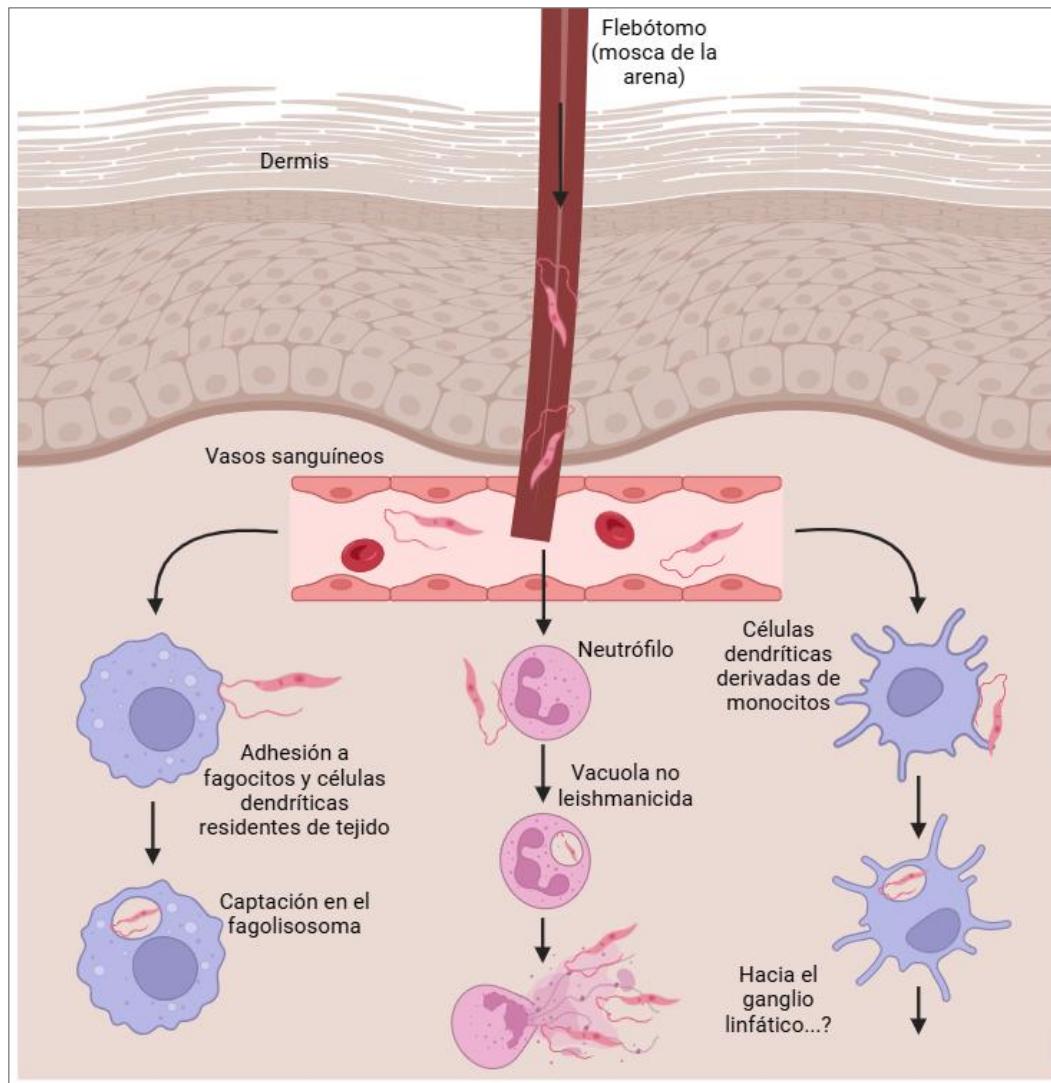


Figura 4. Diferentes tipos celulares que son infectados por el protozoo *Leishmania*. Figura inspirada en Kaye et al. (2011) y modificada con BioRender.

En el interior de las células, los promastigotes se transforman en amastigotes. Contrario a *L. tropica*, *L. mexicana* o *L. braziliensis*, los amastigotes de *L. donovani* o *L. infantum* no quedan restringidos a la piel, sino que son transportados hacia las vísceras donde infectan nuevos macrófagos. La replicación subsiguiente que conlleva la muerte de la célula hospedadora produce la expansión de la infección dentro del sistema reticuloendotelial (es decir, el bazo, la médula ósea y el hígado). Aunque anteriormente se ignoraban las células no fagocíticas en el proceso infectivo

de *Leishmania*, actualmente se tiene constancia de que el parásito puede infectar múltiples tipos celulares no fagocíticos. Lo destacable de esto, es que, al no poder eliminar eficazmente al parásito de su interior, estas células actúan como reservorios de larga duración, promueven inflamación y sirven de señuelos o “caballos de Troya” que permiten la reinfección de macrófagos.

La mosca adquiere la infección al ingerir un macrófago infectado con la ingesta de sangre. Al lisar el macrófago, los amastigotes se transforman inicialmente en promastigotes procíclicos y luego en promastigotes nectomonados, que se van a escapar de la matriz peritrófica y van a interdigitar su flagelo con los microvillis de las células del epitelio intestinal del insecto para evitar ser excretados junto a los restos de la ingesta.

A continuación, los nectomonados migran hacia la válvula estomodeal, donde se transforman en promastigotes leptomonados. Los leptomonados, a su vez, van a generar dos posibles formas: los promastigotes metacíclicos, con capacidad para infectar a los hospedadores mamíferos, y los promastigotes haptomonados, que se anclan a la válvula estomodeal (Fig. 5). El fuerte anclaje de los haptomonados a la estructura quitinosa de la válvula estomodeal impide que pasen junto a los metacíclicos al hospedador mamífero, y de esta manera podrían ser también los responsables de que el insecto vector permanezca infectado de por vida. Se ha observado que una segunda ingesta de sangre por el flebótomo induce una “metacilogénesis inversa” en el parásito, de manera que los promastigotes metacíclicos se desdiferencian a leptomonas, retoman la división, aumentando así la carga parasitaria y produciendo vectores “superinfectivos”.

Las distintas formas de promastigotes se definen en base a características morfológicas y de tamaño. Así, los promastigotes procíclicos tienen una longitud del cuerpo entre 6,5 y 11,5 μm , y un flagelo más corto que el cuerpo; el cuerpo de los nectomonados tiene una longitud mayor a 12 μm ; los leptomonados tienen una longitud del cuerpo entre 6,5 y 11,5 μm , pero un flagelo más largo que el cuerpo; los promastigotes metacíclicos tienen una longitud del cuerpo inferior a 8 μm (anchura de 1 μm) y un flagelo más largo que el cuerpo.

Aunque a primera vista las formas promastigote y amastigote parecen ser muy diferentes, la estructura celular está muy conservada (Fig. 5). Por delante del núcleo se encuentra el kinetoplasto, que es una región de la mitocondria donde se localiza el DNA mitocondrial formado

por miles de moléculas circulares concatenadas. El kinetoplasto está conectado con el cuerpo basal del que emerge el flagelo. En la base de flagelo se encuentra una invaginación de la membrana celular que recibe el nombre de bolsillo flagelar, lugar especializado en los procesos de endocitosis y exocitosis y que está conectado con el aparato de Golgi.

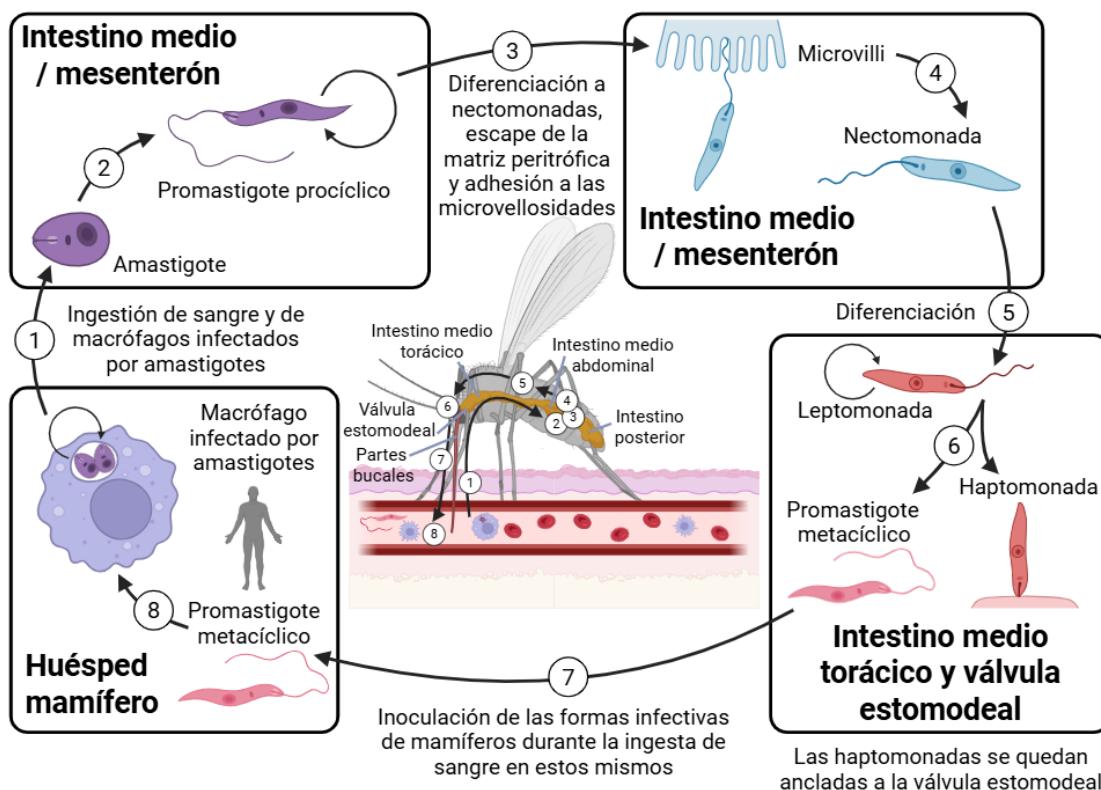
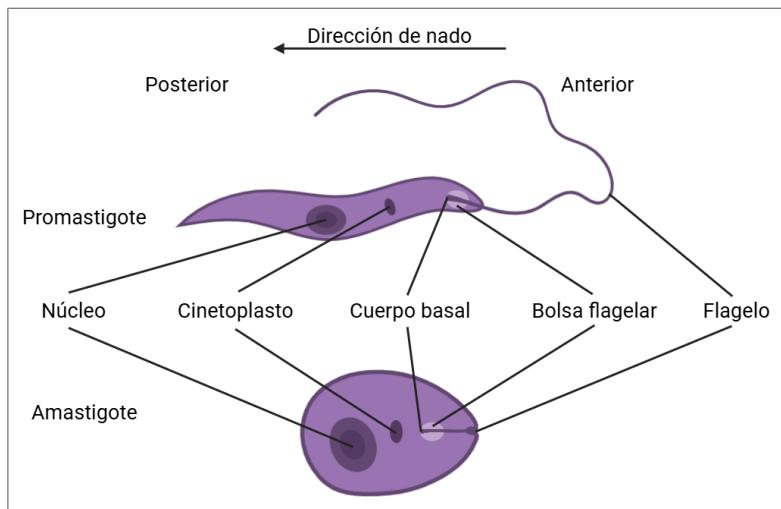


Figura 5. Partes del parásito *Leishmania* en su forma morfológica promastigote (arriba) y amastigote (abajo) y su ciclo de vida con sus diferentes ciclos celulares. En el centro de la figura se muestra el orden y el lugar donde ocurre el ciclo de vida del parásito dentro del flebótomo. Figura inspirada en Sunter et al. (2017) y modificada con BioRender.

El tiempo que necesitan los parásitos para completar su desarrollo en el mosquito es de 6-9 días, dependiendo de las especies. Las condiciones del tubo digestivo de los insectos son bastante inhóspitas y *Leishmania* ha tenido que evolucionar sistemas que le permitan sobrevivir. Por ejemplo, estos parásitos secretan una gran cantidad y variedad de fosfoglicanos, que van a modular la actividad de las enzimas digestivas. También estos parásitos secretan filamentos de proteofosfoglicano (fPPG), que forman una estructura similar a un gel donde quedan embebidos los parásitos y que se conoce como PSG (*promastigote secretory gel*) y que llena el lumen del intestino medio, lo que dificulta la alimentación del insecto (Fig. 6).

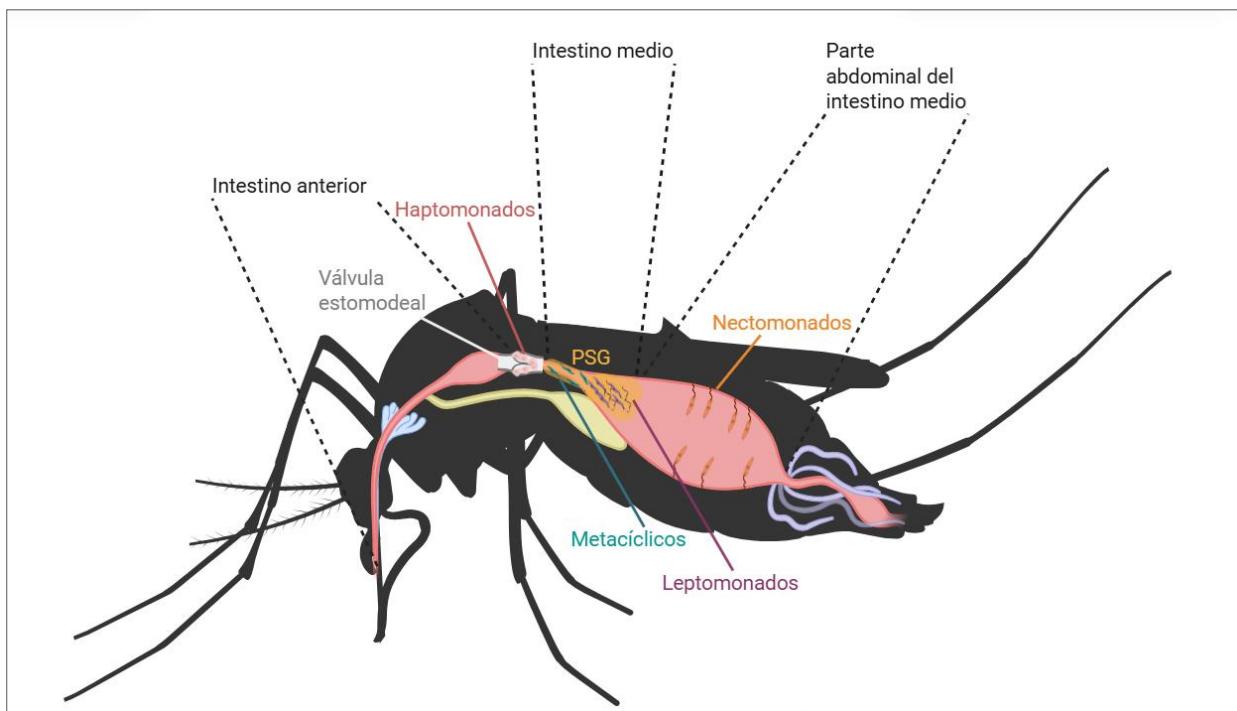


Figura 6. Distintas formas de promastigotes a lo largo del ciclo de vida en el vector. Figura inspirada en Kamhawi (2006) y elaborada con BioRender.

Esta formación va a favorecer la transmisión del parásito, pues en sus intentos de alimentarse va a regurgitar promastigotes metacíclicos en los lugares de la picadura (Fig. 7). Además, se ha visto que el fPPG, inoculado junto a los parásitos va a favorecer la exacerbación de la enfermedad en animales de experimentación. Los fPPG son secretados por *Leishmania* tanto en el insecto vector como en cultivo. Están compuestos fundamentalmente por fosfoglicanos similares a LPG anclados a través de serinas a un esqueleto proteico, tal que cada dos aminoácidos se ancla una molécula de fosfoglicano. La glicosilación de fPPG supone aproximadamente el 75% de la masa molecular. Su producción está asociada al proceso de metaciclogénesis.

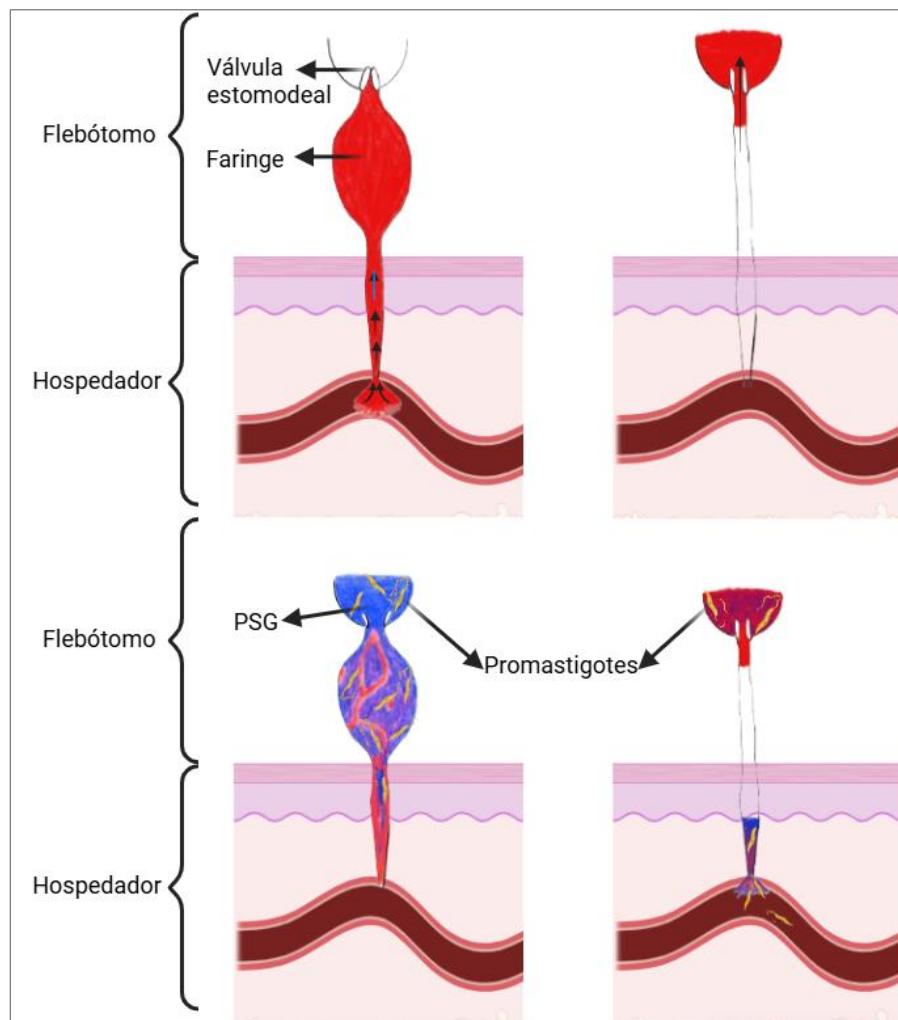


Figura 7. Modelo regurgitativo de transmisión de *Leishmania*. Figura inspirada en Rogers (2012) y elaborada con BioRender.

La transmisión eficaz de los parásitos por el insecto vector es favorecida por el proceso degenerativo inducido por el parásito en la mosca. Así, una actividad quitinolítica producida por los parásitos daña la válvula estomodeal (cardias o cibarial) del sistema alimentario de la mosca lo que conduce al reflujo de la ingesta sanguínea (regurgitación), lo que favorece la transmisión del parásito.

4. La superficie de *Leishmania*

La superficie de la forma promastigote de todas las especies de *Leishmania* estudiadas hasta ahora presenta dos moléculas muy abundantes: el lipofosfoglicano (LPG) y la proteasa de superficie gp63. Se estima que existen unas $2-5 \cdot 10^6$ copias de LPG y $5 \cdot 10^5$ copias de gp63 por célula. Estas moléculas son los componentes mayoritarios del glicocalix que recubre a los promastigotes. Tanto el LPG como la gp63 van a verse enriquecidos en la membrana de los promastigotes metacíclicos, permitiendo una mayor eficiencia en la infección. Los promastigotes procíclicos se transforman en metacíclicos a través del proceso llamado metaciclogénesis, que ocurre en el intestino de los flebótomos.

La caracterización de la superficie de la forma amastigote ha sido de alguna forma descuidada, sin embargo, es relativamente pobre en proteínas, y posee formas estructuralmente distintas de lipofosfoglicanos fosforilados, llamadas GIPL (glicosil-inositol-fosfolípidos).

Obviamente, la superficie de estas dos etapas tiene otras proteínas tales como moléculas transportadoras para la captación de nutrientes.

4.1. El lipofosfoglicano (LPG)

La estructura del LPG varía entre las distintas especies de *Leishmania*; sin embargo, en todos los aislados caracterizados presenta una estructura donde se distinguen cuatro dominios (Fig. 8):

- i) Un anclaje lipídico de fosfatidilinositol.
- ii) Un "core" de glicano que contiene residuos de galactosa, manosa y glucosamina.
- iii) Una cadena de unidades de fosfodisacárido repetidas.

iv) Una pequeña capucha ("cap") oligosacáridica.

Mientras que el anclaje lipídico y el “core” de glicano son idénticos en todas las especies de *Leishmania*, se observan polimorfismos en la estructura “cap” y en las unidades de repetición, las que pueden estar no sustituidas, como en *L. donovani*, o sustituidas en diferente grado con cadenas laterales oligosacáridicas en otras especies.

La estructura de este LPG experimenta alteraciones estructurales durante el ciclo de vida del parásito lo que altera de forma marcada el comportamiento del parásito. Los promastigotes de *L. major* modulan la estructura de su LPG variando el número de sus repeticiones sacáridicas, y sus azúcares terminales, aumentando la longitud del LPG durante la transformación de los promastigotes (que se dividen) no infectivos hasta los promastigotes metacíclicos infectivos (que no se dividen). El número de repeticiones pasa de ser unas 15 en los promastigotes a unas 30 en las formas metacíclicas. Esta alteración es responsable de la liberación de los promastigotes del intestino medio y su habilidad para re-adherirse a zonas de la boca de la mosca de la arena.

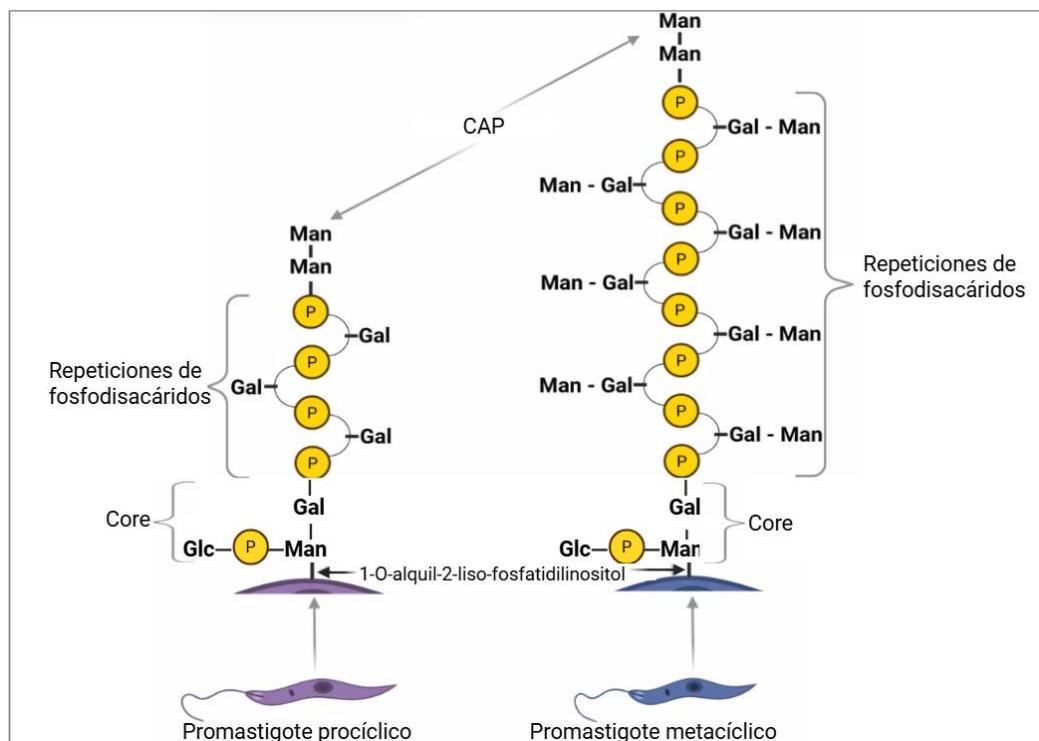


Figura 8. Estructura de LPG en promastigotes antes y después de la metacilogénesis. Figura inspirada en Ho et al y elaborada con Biorender.

La elongación y las modificaciones químicas del LPG de las formas metacíclicas son importantes en conferir resistencia al complemento. Mientras que los organismos procíclicos de cultivos en fase logarítmica son extremadamente sensibles a la lisis mediada por complemento a través de la vía alternativa.

El LPG sirve como una molécula aceptora del complemento, siendo C3b el principal producto de fijación. La estructura elongada del LPG maduro lleva a la formación de complejos C5b-C9 demasiado lejos de la superficie para permitir la inserción dentro de la membrana del parásito.

También se ha implicado al LPG en la interacción con el macrófago a través de otros receptores como son el receptor de la fibronectina y el receptor manosa-fucosa (ver más adelante).

El LPG se ha encontrado que modula activamente el comportamiento del macrófago interfiriendo con los mecanismos de activación del macrófago y retirando radicales reactivos de oxígeno que pudieran ser dañinos para el parásito. Esta atenuación del macrófago se consigue mediante la interacción del LPG con los receptores TLR 2 y 4 presentes en macrófagos y NK, donde desencadena una señalización mediada por ERK y p38 MAPK que modula la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y de óxido nítrico (NO). Al mismo tiempo suprime la liberación de citoquinas proinflamatorias.

4.2. La proteinasa de superficie Gp63 o MSP (*Major Surface Protease*)

Esta zinc-metaloproteasa es una proteína de superficie muy abundante que supone alrededor del 1% del total de proteínas en la fase promastigote, siendo menor su abundancia en la forma amastigote (~0,1%).

Esta proteasa pertenece a la clase de las metzincinas cuyos miembros presentan el motivo HExxHxxGxxH, y un pro-péptido N-terminal que mantiene a la pro-enzima inactiva durante la traducción, y es retirado durante la maduración y activación.

Muchas, pero no todas, de las MSPs se encuentran ancladas a la cara externa de la membrana plasmática a través de un anclaje a GPI (*glycosylphosphatidylinositol*) por un residuo

de asparagina que queda expuesto tras la escisión de los 17 aminoácidos C-terminales.

Algunas MSPs se encuentran localizadas en el interior de los promastigotes y otras son liberadas al medio.

La mayoría de las moléculas de MSP están expuestas en la superficie del parásito y en menor medida son liberadas. Las proporciones dependen del estadio del promastigote (procíclico o metacíclico). La liberación de MSP al medio ocurre tanto por la vía secretora como mediante auto-proteólisis en la membrana. Las moléculas de MSP secretadas por el bolsillo flagelar no cuentan con el anclaje GPI. Ocasionalmente, unas moléculas MSP pueden proteolizarse a sí mismas, separándose del anclaje GPI y quedando libres en el medio.

Entre las funciones desempeñadas por las MSPs están (Fig. 9):

- A) Resistencia a la lisis mediada por complemento. Se ha visto que estas proteasas van a romper el componente C3b generando el fragmento C3bi, que es inactivo en la lisis mediada por complemento.
- B) Facilitar la fagocitosis de los promastigotes por los macrófagos a través de la interacción con receptores específicos del macrófago (ver más adelante).
- C) Degradación de la matriz extracelular. Cuando son inoculados por el vector, los promastigotes quedan depositados en la dermis y deben abrirse paso a través de la matriz extracelular. La MSP es activa en la degradación de componentes de la matriz extracelular tales como la fibronectina y el colágeno.
- D) Resistencia a la muerte mediada por péptidos antimicrobianos (AMPs, *antimicrobial peptides*). Los AMPs son unos componentes importantes de la inmunidad innata. Estos péptidos van a alterar los potenciales de membrana de los microorganismos, lo que conduce a la muerte celular. La expresión de MSP se correlaciona con la resistencia de *Leishmania* al efecto de algunos AMPs.
- E) Supervivencia de los amastigotes en el interior del macrófago. Aunque se estima que los niveles de MSPs en los amastigotes supone el 0,1% del total de proteínas (frente al 1% en las formas

promastigote), la mayoría son secretadas como formas solubles y van a actuar neutralizando actividades proteolíticas presentes en los lisosomas y liberadas en las vacuolas fagolisosomales.

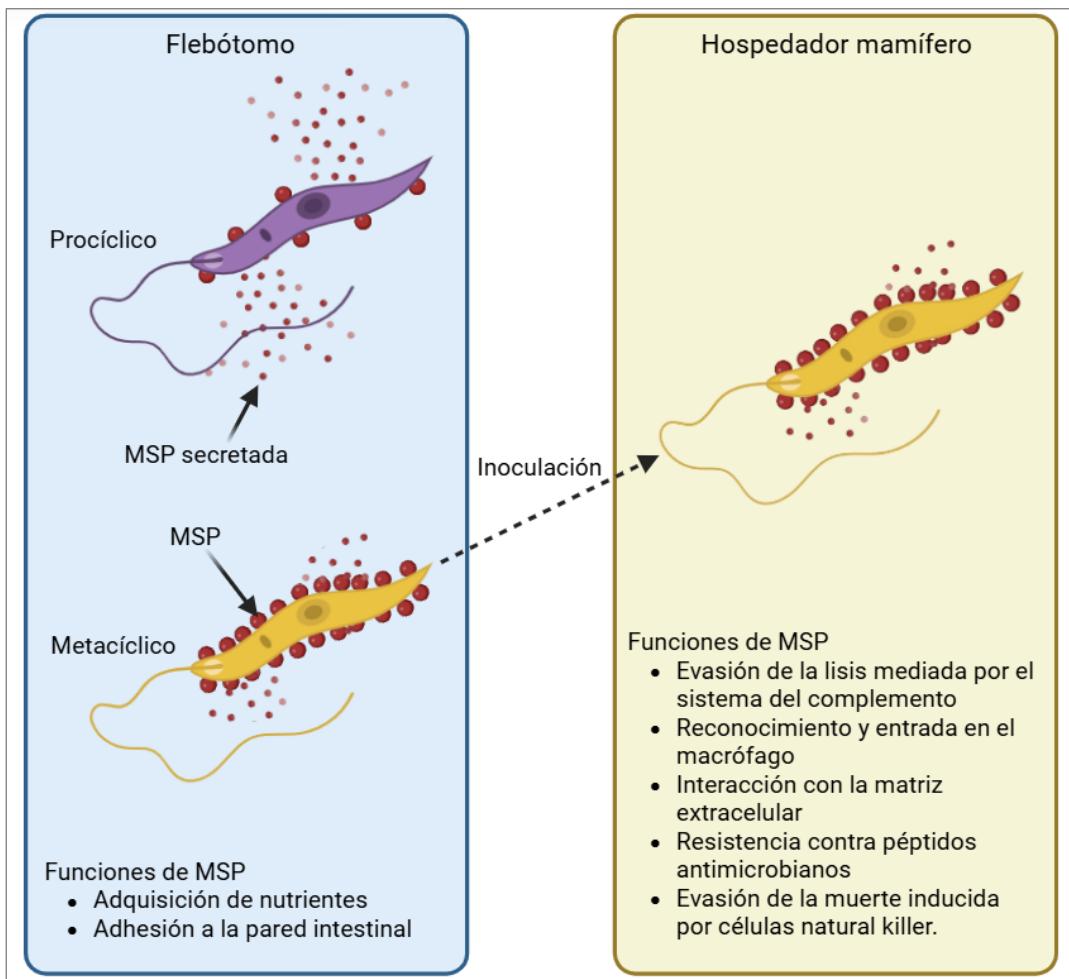


Figura 9. Enriquecimiento de MSP según estado del promastigote y funciones asociadas. Figura inspirada en Yao (2010) y elaborado con BioRender.

Experimentos con mutantes de delección para gp63 en *L. major* han demostrado que esta proteína es un factor de virulencia cuando el parásito se encuentra en el hospedador vertebrado, mientras que parece no ser necesaria para el desarrollo en el intestino del mosquito.

5. Evasión del sistema de complemento

Las formas promastigotes, extracelulares no infectivas (procíclicas) son sensibles a la lisis directa por el sistema del complemento. Los promastigotes metacíclicos, que son las formas altamente infectivas transmitidas por las moscas, en cambio, son relativamente resistentes a la lisis por complemento.

Esto se explica por la liberación espontánea de los complejos C5b-C9 de la superficie del parásito, que puede estar unido a la elongación de las cadenas de fosfodisacarídicas del LPG que se observa durante la metaciclogénesis.

Además, ciertas protein-quinasas, cuya expresión aumenta en las formas metacíclicas, se han implicado en la fosforilación de algunos componentes del sistema del complemento (C3, C5 y C9) con la subsiguiente inhibición de las vías clásica y alternativa del complemento.

La metaloproteína de superficie gp63, más abundante también en las formas metacíclicas, también parece estar implicada en la resistencia a la lisis mediada por complemento. Además, gp63 acelera la conversión de C3b a C3bi.

Leishmania asegura esta conversión mediante otro mecanismo. Es capaz de reclutar el factor H y el factor I, que van a convertir el C3b depositado en membrana en C3bi.

C3bi, además de impedir la formación de la convertasa C5 y bloquear la cascada del complemento, funciona como una opsonina para *Leishmania* y facilita su unión al receptor del complemento tipo 3 (CR3) de los macrófagos, el receptor predominante para la entrada de los metacíclicos. El anclaje y entrada vía CR3, en lugar de CR1, tiene una ventaja para el parásito, ya que inhibe la producción de IL-12 y no se dispara la producción de radicales de oxígeno durante la fagocitosis.

6. Entrada de *Leishmania* en las células hospedadoras y los receptores implicados

Tras la inoculación de *Leishmania* en la piel del mamífero por la picadura del insecto vector, los promastigotes metacíclicos infecciosos son rápidamente reconocidos y fagocitados por neutrófilos y macrófagos locales, que les proporcionan un refugio temporal. Estas células son las primeras que migran al sitio de inoculación, probablemente en respuesta a componentes de la saliva del flebótomo. En su interior, los parásitos pueden sobrevivir y ser transportados a otros tejidos.

Leishmania es un parásito intracelular obligado con una marcada preferencia por células mieloides, incluyendo monocitos, macrófagos, células dendríticas y neutrófilos.

En modelos murinos, se ha descrito que los neutrófilos capturan inicialmente a los promastigotes en el sitio de la picadura y posteriormente son fagocitados por macrófagos y monocitos, transfiriendo el parásito a estas células. Este mecanismo, conocido como el modelo del “caballo de Troya”, facilita la entrada silenciosa del parásito en los macrófagos, considerados las células hospedadoras definitivas.

Aunque los fagocitos representan el nicho principal del parásito, se ha demostrado que otros tipos celulares (como fibroblastos, linfocitos B y células madre mesenquimales) pueden infectarse. Estas células generan cantidades reducidas de óxido nítrico (NO), especies reactivas de oxígeno (ROS) y otras moléculas microbicidas, lo que las convierte en ambientes relativamente seguros para el parásito. No obstante, se considera que estas células funcionan principalmente como nichos secundarios o reservorios silenciosos.

Los macrófagos ocupan un papel central en la respuesta del huésped frente a la infección por *Leishmania*. Por un lado, constituyen la célula en la que el parásito puede sobrevivir y replicarse; por otro, son efectores clave del sistema inmune, cuentan con una potente capacidad microbicida mediada por la producción de ROS y NO y por la degradación lisosomal. Además, los macrófagos procesan antígenos para su presentación por MHC-I y MHC-II, y expresan moléculas coestimuladoras como CD80 (B7-1) y CD86 (B7-2), lo que les confiere la capacidad de

activar linfocitos T CD4+ y CD8+ específicos de antígeno, actuando como puente entre la inmunidad innata y la adaptativa.

Algunos estudios sugieren que el flagelo participa en la interacción inicial del promastigote con el macrófago, este podría actuar como punto de anclaje facilitando el contacto con la superficie celular. Sin embargo, la entrada de *Leishmania* en las células hospedadoras ocurre principalmente mediante fagocitosis. Este es uno de los motivos que explica la preferencia de *Leishmania* (y otros muchos patógenos) por los macrófagos como huéspedes.

El mecanismo fagocítico específico varía en función de la especie del parásito, el estadio (promastigote o amastigote) y el tipo de célula infectada. En términos generales, *Leishmania* evita receptores altamente proinflamatorios y utiliza preferentemente receptores que inducen una señalización inflamatoria y microbicida atenuada, creando un entorno favorable. En este contexto, la fagocitosis no depende de una única interacción receptor-ligando, sino de la participación coordinada y redundante de múltiples receptores del huésped y moléculas de superficie del parásito (en ocasiones mediadas por opsoninas derivadas del hospedador).

Entre los receptores más relevantes implicados en la entrada de *Leishmania* destacan los receptores del complemento. Especialmente CR3, que reconoce fragmentos de complemento inactivados como iC3b. La conversión de C3b en iC3b acelerada por gp63 favorece la fagocitosis vía CR3, que se asocia con una activación inflamatoria limitada, permitiendo una entrada “silenciosa”. En contraste, CR1 se une con C3b y participa en la captación de microorganismos opsonizados de forma clásica, pero esta vía se asocia con una respuesta más proinflamatoria que puede ser menos ventajosa para *Leishmania*. De este modo, gp63 no sólo favorece la interacción de *Leishmania* con el macrófago y su consecuente fagocitosis, sino que también promueve su evasión del sistema inmune.

Otros receptores implicados incluyen el receptor de manosa (MR) y DC-SIGN, una lectina tipo C expresada en macrófagos y células dendríticas. Estos reconocen glicoconjungados ricos en manosa presentes en la superficie de *Leishmania* (como LPG). Asimismo, gp63 puede interaccionar de forma directa o indirecta (a través de la unión a fibronectina) con el receptor de la fibronectina del huésped.

Además, *Leishmania* modula activamente la respuesta fagocítica mediante la exposición de fosfatidilserina (PS) en su superficie, una señal típica de células apoptóticas. El reconocimiento de PS por receptores específicos del huésped induce una fagocitosis asociada a señales antiinflamatorias, caracterizada por la producción de citocinas como TGF- β e IL-10, contribuyendo a la generación de un entorno intracelular permisivo.

En fases más tardías de la infección, cuando se ha establecido una respuesta humoral, los receptores Fc γ adquieren mayor relevancia. Los amastigotes, que expresan niveles reducidos de LPG y gp63, son opsonizados por anticuerpos IgG (principalmente IgG1) y su entrada en los macrófagos es mediada preferentemente por receptores Fc γ . (Fig. 10)

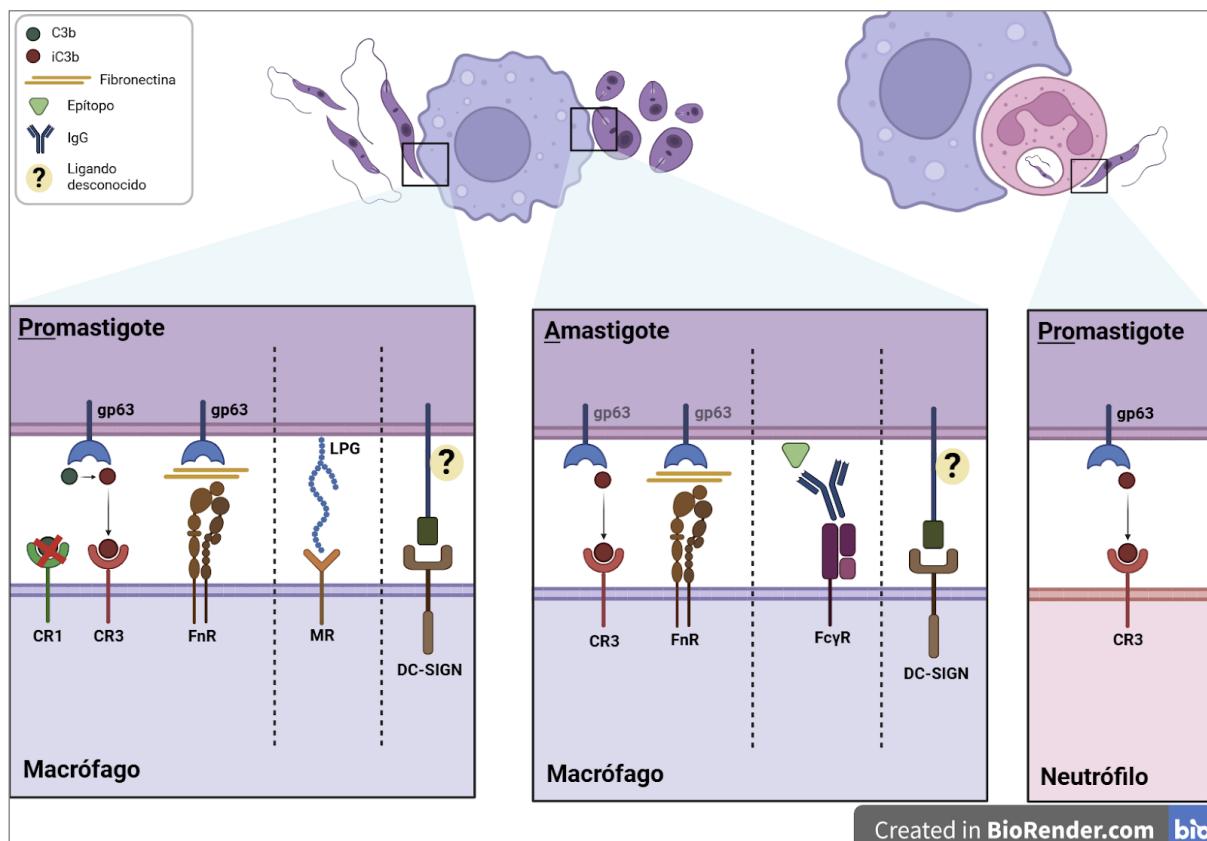


Figura 10. Vías de entrada de Leishmania en células huésped. Los promastigotes y amastigotes de *Leishmania* utilizan múltiples receptores para entrar en macrófagos (principalmente) y neutrófilos. Figura inspirada en Petersen-Kaiser y Descoteaux (2015), elaborada con BioRender.

Por último, cabe destacar que, aunque la fagocitosis es la vía predominante, en modelos murinos se ha demostrado que *Leishmania* también puede internalizarse mediante vías alternativas, como endocitosis dependiente de caveolina.

7. Supervivencia del parásito dentro de las células fagocíticas

Tras su fagocitosis, *Leishmania* queda confinada en un compartimento intracelular, la vacuola parasitófora (VP), dentro de la cual completa su ciclo de vida. La biogénesis de la VP representa una adaptación evolutiva clave que permitió a *Leishmania*, un parásito originalmente extracelular, vivir y multiplicarse en un hábitat poco hospitalario. Lejos de ser un simple refugio, la VP es un nicho dinámico que el parásito remodela activamente en función de sus requerimientos metabólicos y de supervivencia.

También, existen diferencias estructurales dependientes que reflejan adaptaciones específicas de especie. Por ejemplo, mientras que algunas como *L. donovani* se desarrollan en una vacuola única y compacta, otras como *L. mexicana* inducen la formación de grandes vacuolas expansivas capaces de albergar numerosos amastigotes.

7.1. Supresión de la síntesis de moléculas leishmanicidas

Durante la fagocitosis, la formación de la VP depende de la maquinaria de la célula huésped. *Leishmania* recluta componentes del retículo endoplásmico (RE) y del aparato de Golgi hacia la membrana vacuolar, incorporando proteínas residentes del RE como calnexina y calreticulina, así como proteínas SNARE (por ejemplo, Sec22b y sintaxina-5), que contribuyen a la biogénesis y expansión de la vacuola (Fig. 11).

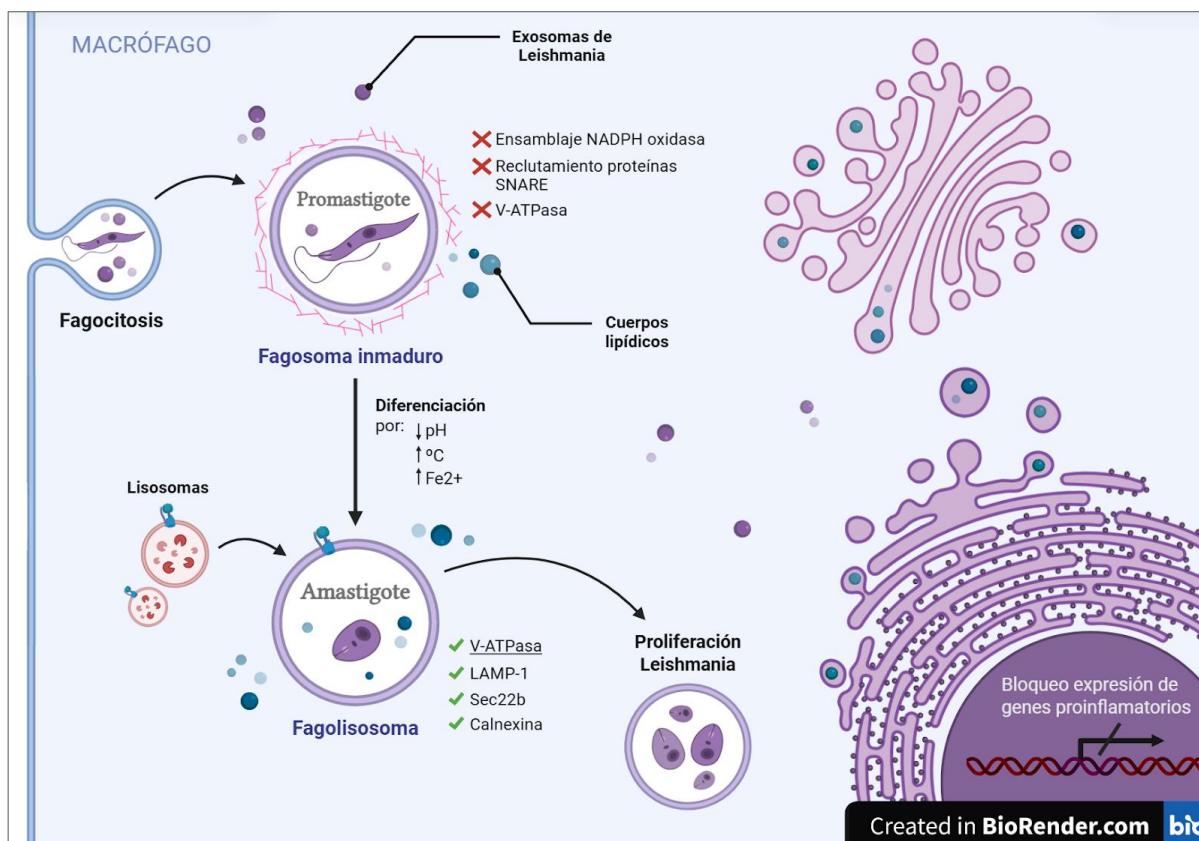


Figura 11. Formación y maduración de la vacuola parasitófaga de Leishmania en macrófagos. Tras la fagocitosis del promastigote, Leishmania retrasa la maduración del fagosoma. Cambios en el pH, la temperatura y la disponibilidad de hierro favorecen la diferenciación a amastigote y su proliferación. Figura inspirada en Pedinovskaia y Descoteaux (2015), elaborada con BioRender.

Inicialmente, los promastigotes metacíclicos inducen un retraso transitorio en la maduración de la VP, un paso crítico que permite su diferenciación hacia la forma amastigote (Fig. 12). En *L. donovani*, este proceso se asocia con la retención de marcadores de endosoma temprano como Rab5.

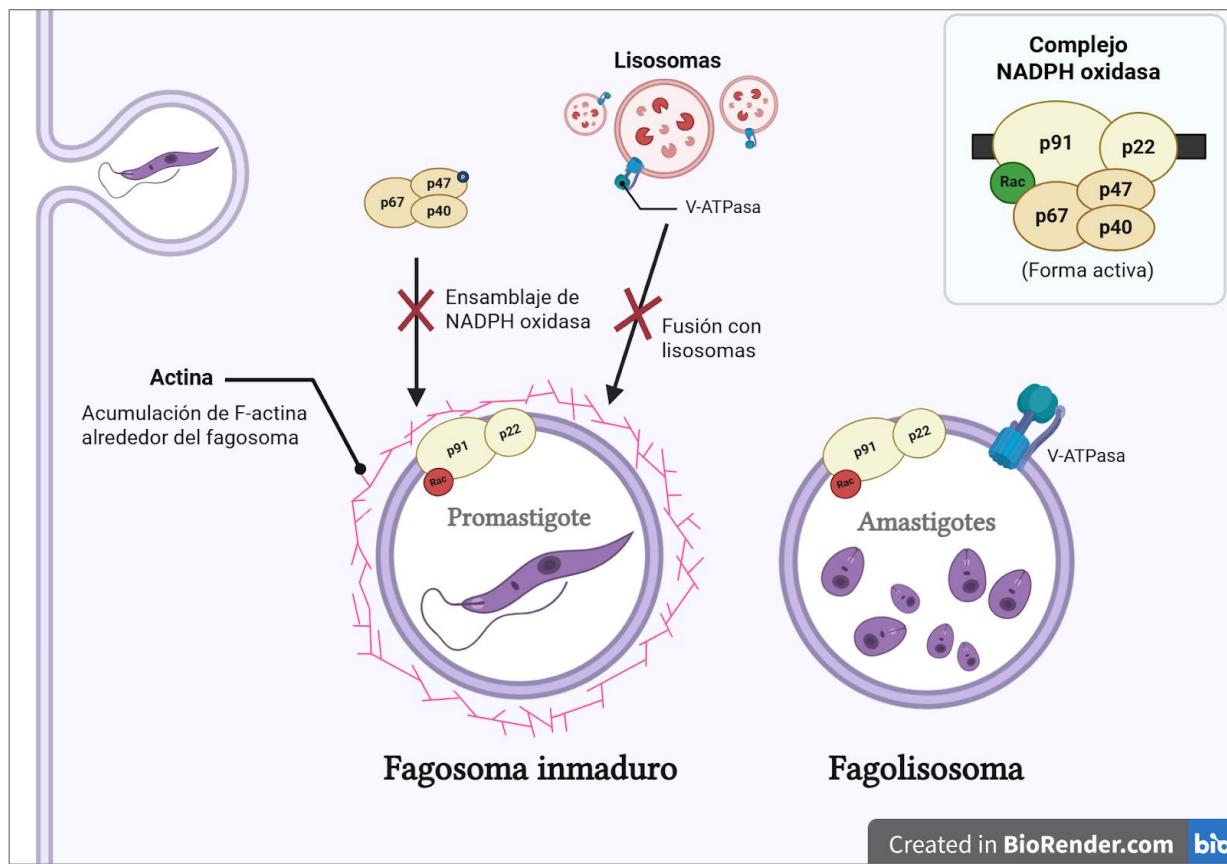


Figura 12. Modulación de la maduración del fagosoma por Leishmania. Los promastigotes retrasan la maduración del fagosoma mediante acumulación de F-actina, exclusión de la V-ATPasa e inhibición del ensamblaje de la NADPH oxidasa. Figura inspirada en Moreno y Descoteaux (2012), elaborada con BioRender.

El lipofosfoglicano (LPG), altamente expresado en la superficie de los promastigotes, desempeña un papel crucial. Tras la internalización, el LPG se transfiere rápidamente desde la superficie del parásito a la membrana de la VP, donde altera sus propiedades fusogénicas. En concreto, interfiere con la interacción de proteínas clave en la maduración fagolisosomal, como la sinaptotagmina V, la catepsina D y la ATPasa vesicular, limitando la acidificación y la exposición a enzimas hidrolíticas. Además, el LPG induce la acumulación de actina-F alrededor de la VP, generando una barrera física que dificulta la fusión con lisosomas. Esto último se debe a la retención de la GTPasa Cdc42 en el fagosoma y el reclutamiento de la maquinaria de polymerización de actina (WASP, Arp2/3 y otras).

El retraso en la formación del fagolisosoma es una estrategia temporal que permite al promastigote completar su diferenciación a amastigote, una forma considerablemente más resistente al pH ácido y a las enzimas del fagolisosoma.

Una vez completada la diferenciación, la VP se acidifica (pH 4.7-5.2) y adquiere marcadores lisosomales (Rab7 y LAMP-1, entre otros). A diferencia de la mayoría de los microorganismos, los amastigotes de *Leishmania* están exquisitamente adaptados a este entorno, siendo metabólicamente más activos a pH ácido que a pH neutro.

Esta adaptación permite al parásito aprovechar el gradiente de protones generado a través de la membrana de la VP para facilitar la captación de glucosa, aminoácidos y otros nutrientes esenciales. En esta etapa, la expresión de LPG disminuye notablemente, mientras que se incrementa la presencia de moléculas específicas de la forma amastigote, como las amastinas, cuya expresión se ha relacionado con la morfología y el volumen de la vacuola.

Para resistir la acción de las hidrolasas lisosomales y otros mecanismos microbicidas, los amastigotes producen formas secretadas de gp63 activas a pH ácido, capaces de inactivar enzimas proteolíticas del huésped. De forma complementaria, *Leishmania* expresa y secreta enzimas antioxidantes (como peroxidinas y superóxido dismutasas), que neutralizan especies reactivas de oxígeno y nitrógeno, principales moléculas leishmanicidas del macrófago.

Asimismo, se ha visto que los macrófagos infectados acumulan cuerpos lipídicos en su citoplasma, que pueden ser utilizados por el parásito como fuente de energía. Por ejemplo, en *L. donovani*, se ha descrito que gp63 al escindir Dicer, provoca una desregulación de microARNs que favorece la biogénesis de estos cuerpos lipídicos y su posterior reclutamiento a la vacuola parasitófora, contribuyendo al aporte de recursos metabólicos esenciales para la supervivencia y proliferación del amastigote. En conjunto, la fusión de lisosomas y de vesículas derivadas del RE y del aparato de Golgi con la VP es una vía adicional para la adquisición de nutrientes.

Para que la infección se establezca y persista, *Leishmania* debe interferir con los principales mecanismos leishmanicidas del macrófago: la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) mediada por la NADPH oxidasa, y la síntesis de óxido nítrico (NO), catalizada por la iNOS (Fig.

13).

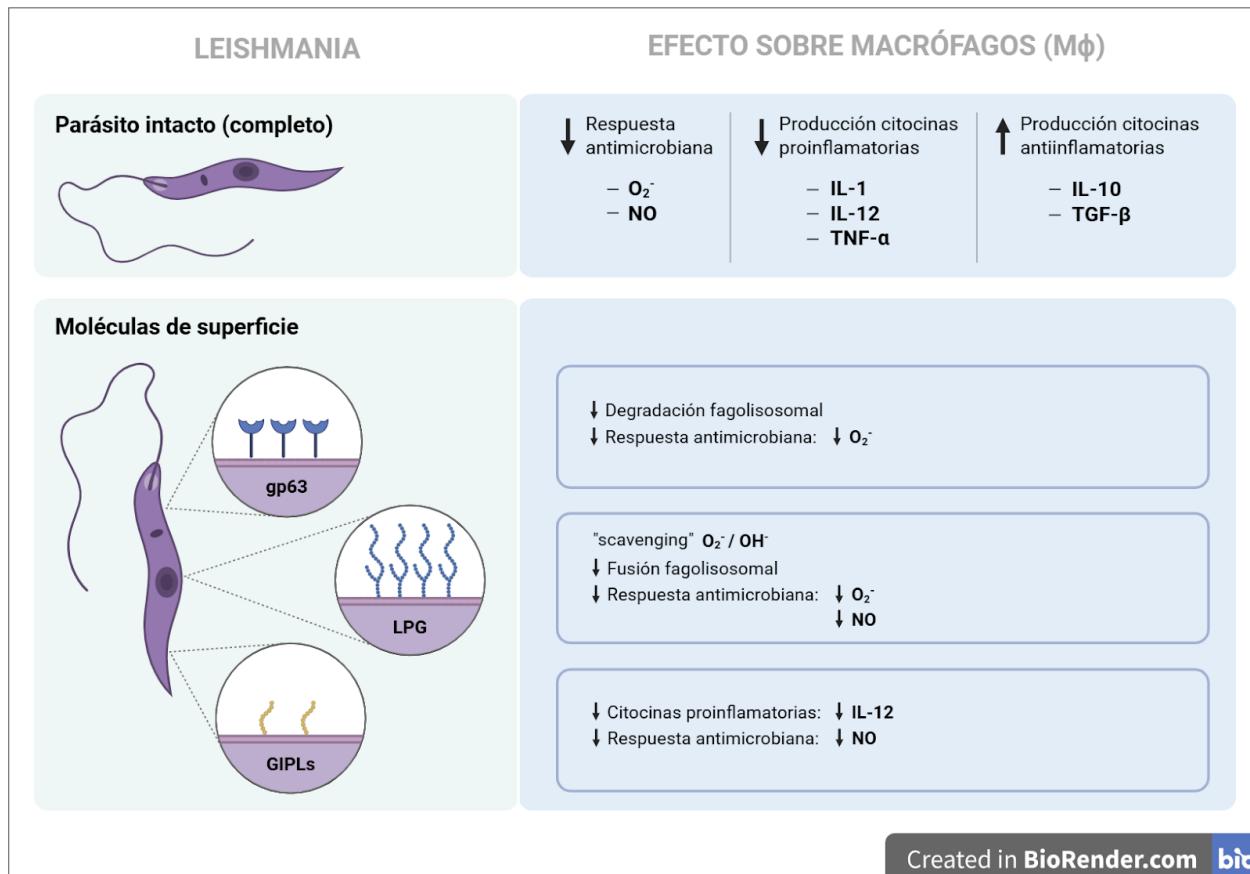


Figura 13. Efectos de Leishmania sobre la respuesta del macrófago. Figura inspirada en Bogdan y Röllinghoff (1998), elaborada con BioRender.

El LPG inhibe la activación de la proteína quinasa C (PKC), alterando la fosforilación de proteínas implicadas en el ensamblaje del complejo NADPH oxidasa e impidiendo su correcta localización en la membrana del fagosoma. Como consecuencia, la producción de ROS disminuye significativamente. De forma complementaria, gp63 también contribuye a la supresión del estrés oxidativo mediante la escisión de PKC y otros componentes reguladores de la NADPH oxidasa.

En relación con la producción de NO, diversos factores interfieren con la expresión y actividad de iNOS. Gp63 puede acceder al citosol del macrófago y activar la fosfatasa SHP-1, un regulador negativo de la señalización inducida por IFN- γ y de la transcripción de iNOS. Además,

glicolípidos relacionados con el LPG (como las GIPLs, y proteínas asociadas como KMP-11) actúan como inhibidores directos o indirectos de la iNOS, reforzando la supresión de este mecanismo microbicida.

A nivel de señalización, el LPG activa la vía ERK1/2, promoviendo un perfil antiinflamatorio en el macrófago. Este estado se caracteriza por la supresión de mediadores clave como IL-12, TNF- α e iNOS, esenciales para el control de la infección. Además, el LPG interfiere con la señalización dependiente de TLR4 (mediante la inhibición de IRAK), bloqueando la translocación nuclear de NF- κ B y, con ello, la activación de respuestas proinflamatorias.

Además, aunque parezca contradictorio, se ha descrito que el LPG puede activar la vía no canónica del inflamasoma a través de caspasa-11 y NLRP3, induciendo una liberación controlada de IL-1 β . No obstante, esta respuesta inflamatoria resulta insuficiente para eliminar al parásito y podría contribuir al establecimiento de una inflamación crónica compatible con la persistencia de la infección.

Más allá de la inhibición de mecanismos microbicidas, la supervivencia intracelular de *Leishmania* depende de una profunda reprogramación funcional del macrófago, orientada a crear un entorno inmunológico permisivo para el parásito.

A nivel de señalización, el lipofosfoglicano (LPG) activa la vía ERK1/2, promoviendo un perfil antiinflamatorio caracterizado por la supresión de mediadores clave como IL-12, TNF- α e iNOS, esenciales para el control de la infección. De forma complementaria, el LPG interfiere con la señalización dependiente de TLR4 (mediante la inhibición de IRAK), bloqueando la translocación nuclear de NF- κ B y comprometiendo la activación de respuestas proinflamatorias.

De manera aparentemente contradictoria, se ha descrito que el LPG puede activar la vía no canónica del inflamasoma a través de caspasa-11 y NLRP3, induciendo una liberación controlada de IL-1 β . No obstante, esta respuesta inflamatoria resulta insuficiente para eliminar al parásito. Algunos estudios consideran que podría contribuir a establecer una inflamación crónica compatible con la persistencia de la infección.

En paralelo, gp63 escinde múltiples proteínas del huésped, incluyendo componentes de

mTORC1, MARCKS y proteínas asociadas al citoesqueleto, alterando el tráfico vesicular y la organización de la actina. La inhibición de la vía mTORC1/4EBP1 conduce a una supresión global de la síntesis proteica del hospedador, limitando la producción de factores antimicrobianos.

Asimismo, gp63 interfiere con la señalización inducida por IFN- γ mediante la inhibición de STAT1, bloqueando la transcripción de genes clave como IL-12 y MHC-II. Además, inactiva IRAK-1 y escinde directamente la subunidad p65 de NF- κ B, reforzando la inhibición de vías proinflamatorias dependientes de TLRs. Estos efectos a su vez se ven potenciados por el factor de elongación eEF-1 α del parásito, que activa la fosfatasa SHP-1 e inhibe de forma coordinada las vías MAPK y STAT1.

Adicionalmente, la degradación de c-Jun compromete la actividad del factor de transcripción AP-1, reforzando la disminución de la expresión de iNOS, de componentes del complejo NADPH oxidasa y de citocinas proinflamatorias como IL-12 y TNF- α .

Como resultado de todos estos mecanismos, el macrófago pierde progresivamente su capacidad microbicida y de presentación antigenica, convirtiéndose en un nicho permisivo para la supervivencia y proliferación del parásito.

Además de la acción directa de sus factores de virulencia, *Leishmania* utiliza mecanismos de comunicación vesicular para regular su entorno. Los promastigotes metacíclicos explotan la vía secretora clásica del huésped (RE–Golgi) y el bolsillo flagelar para liberar vesículas extracelulares, o exosomas, que contienen proteínas (como gp63 y LPG), ARN y complejos ribonucleoproteicos. Experimentalmente, se ha constatado un aumento en la liberación de exosomas cuando los promastigotes se incuban a 37°C y pH bajo (condiciones en las que se encuentra el parásito tras la inoculación por parte del insecto vector en el hospedador mamífero).

Estas vesículas pueden actuar tanto sobre la célula infectada como sobre células vecinas no infectadas, alterando la función de macrófagos y células dendríticas, y favoreciendo un entorno inmunológico permisivo. Estudios recientes han demostrado que los exosomas presentan firmas proteicas específicas de especie y cepa, e incluyen componentes asociados a la resistencia a fármacos. En determinadas especies, estas vesículas pueden actuar como vehículos para el virus

ARN de *Leishmania* (LRV1), amplificando la transmisión y virulencia parasitaria mediante el aumento de factores como gp63 y la supresión de mediadores proinflamatorios (IL-12, IL-1 β , IL-18 y NLRP3).

En conjunto, la comunicación vesicular contribuye a extender y sostener la evasión inmunitaria más allá de la célula inicialmente infectada, reforzando la persistencia de *Leishmania* en el huésped.

7.2. Modulación de la apoptosis del macrófago

Durante la infección por *Leishmania*, el macrófago desempeña un papel dual: un potencial agente microbicida altamente efectivo y un nicho intracelular para el desarrollo del parásito. En este contexto, las alteraciones en la velocidad del proceso apoptótico del macrófago pueden ser determinantes para la supervivencia del parásito *in vivo*.

En el caso de *L. donovani*, se ha observado que macrófagos derivados de médula ósea infectados con promastigotes o tratados con LPG presentan una supervivencia prolongada en comparación con macrófagos control. El efecto protector del LPG sobre la apoptosis mimetiza el efecto observado con la adición de TNF- α y GM-CSF (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor). Curiosamente y, de forma consistente, ambas citoquinas son inducidas en macrófagos tras la infección por *L. donovani*, contribuyendo a la protección frente a la apoptosis tanto de los macrófagos infectados como a los que se encuentran en las proximidades.

7.3. Adquisición de hierro en el fagosoma

El hierro es esencial en muchas vías metabólicas, pero es tóxico si está en exceso debido a sus propiedades oxidorreductoras. La remarcable capacidad que tiene el hierro para perder o ganar un electrón, oscilando entre los estados ferroso y férrico, le hace ser un cofactor frecuente de muchas enzimas y proteínas. En *Leishmania*, el hierro es importante en las siguientes enzimas. El

citocromo b5 (CytB5) actúa como un componente del sistema de las desaturasas de ácidos grasos. En la síntesis del ergosterol, un componente esencial en las membranas de este parásito, interviene la esterol-14- α -desmetilasa CYP51, que tiene como cofactor al citocromo p450 (que contiene un grupo hemo). El citocromo c mitocondrial es una hemoproteína que desempeña un papel clave en la transferencia de electrones durante la fosforilación oxidativa. La superóxido dismutasa dependiente de hierro (Fe-SOD) ayuda a proteger al parásito del estrés oxidativo al catalizar la dismutación de los radicales superóxido en H₂O₂ y O₂. El hierro es también un cofactor de las ribonucleótido-reductasas de *Leishmania*, enzimas clave para la biosíntesis de novo de desoxinucleótidos que son necesarios para la síntesis de DNA.

La forma más frecuente de encontrar el hierro inorgánico es el ión férrico (Fe³⁺), pero es insoluble a pH fisiológico. En los mamíferos, el ión férrico es transportado unido a la proteína transferrina. Las células contienen receptores para la transferrina, que van a mediar su internalización mediante endocitosis; cuando la vacuola endocítica se acidifica, el Fe³⁺ queda libre. Para cruzar la membrana el Fe³⁺ tiene que ser reducido a Fe²⁺, una forma altamente reactiva cuya concentración debe estar muy controlada. La reducción es realizada por una reductasa férrica y el Fe²⁺ es translocado al citosol a través del transportador de membrana endosomal Nramp1/DMT1 (también llamado Slc11a1 o Lsh). De hecho, existen estudios que han asociado ciertos polimorfismos en el gen Slc11a1 y la susceptibilidad a leishmaniasis, lo que sugiere un papel relevante de este transportador en cuanto al resultado de la infección por *Leishmania*.

El acceso al hierro es fundamental para la supervivencia de *Leishmania* en el fagosoma (Fig. 14). Los amastigotes pueden utilizar el ión ferroso (Fe²⁺) al igual que la hemina (hemo oxidado a Fe³⁺) y la hemoglobina. Para la captación del hierro, *Leishmania* posee la proteína LFR1, una reductasa férrica asociada a la membrana plasmática que se va a encargar de reducir el Fe³⁺ a Fe²⁺. Este último va a ser translocado al citoplasma internalizado por su propio transportador de hierro, LIT1. La expresión de LFR1 y de LIT1 está regulada por la disponibilidad de hierro, aumentándose cuando la concentración de este ión es muy baja. Líneas de parásitos carentes de estos genes son incapaces de sobrevivir en las vacuolas parasitóforas del macrófago.

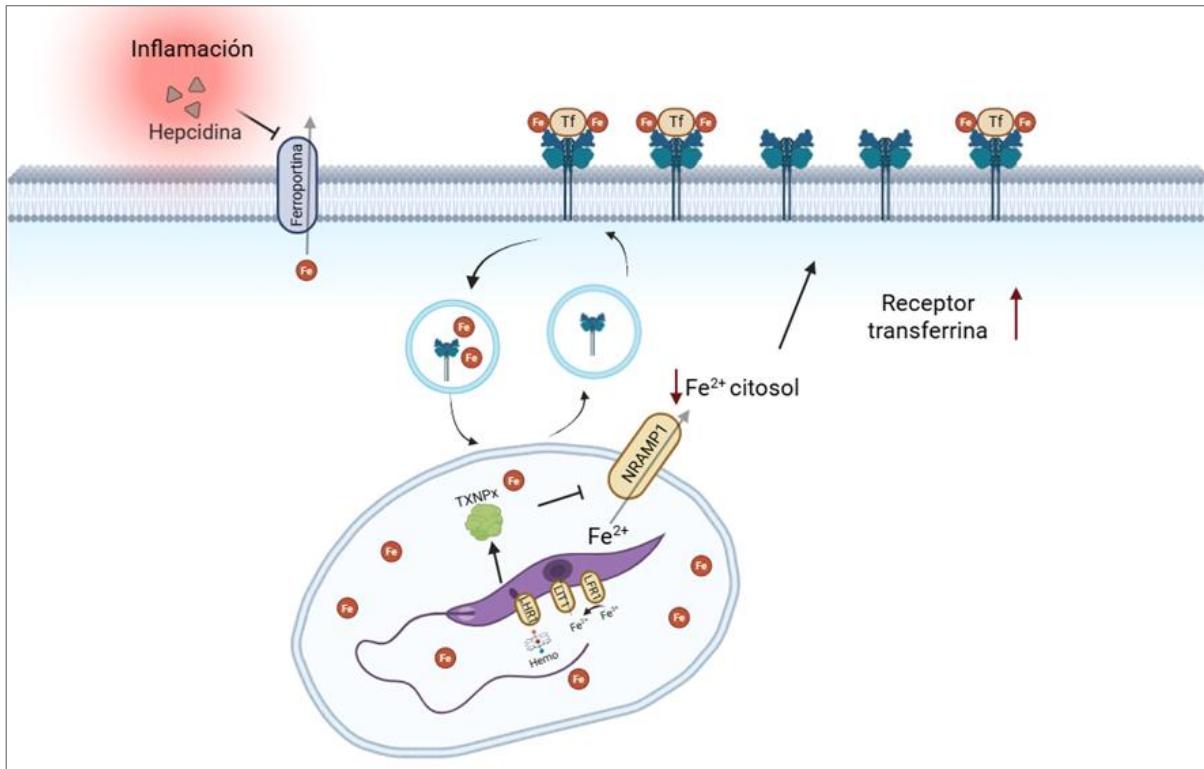


Figura 14. Mecanismos de adquisición de hierro por *Leishmania* en el interior de los macrófagos. Figura inspirada en Podinovskaia & Descoteaux (2015) y modificada con Biorender.

Leishmania posee también un transportador de hemo, LHR1, un receptor de hemoglobina (HbR) y una proteína de la familia ABC, LABCG5, con capacidad de translocar el grupo hemo al citoplasma. Cabe indicar que *Leishmania* carece de la capacidad de sintetizar de novo el grupo hemo.

Por otro lado, *Leishmania* produce TXNPx (triparredoxina peroxidasa), que inhibe al transportador de cationes Nramp en su labor de sacar hierro fuera de la vacuola parasitófora y, en consecuencia, la concentración de hierro en el fagosoma no disminuirá. Al mismo tiempo, al no llegar el hierro al citoplasma, se activa la expresión del receptor de la transferrina (TfR) en la membrana, lo que conduce a incrementar la captación de hierro unido a transferrina que, a través de la vía endocítica, terminará en la vacuola parasitófora.

Además, la respuesta inflamatoria inducida por la infección del parásito va a promover la

expresión aumentada de la hormona hepcidina, cuyo efecto será el de promover la degradación del exportador de hierro, ferroportina, lo que tendrá como efecto una retención del hierro en los macrófagos, lo que redunda en una mayor disponibilidad de hierro para *Leishmania*. Existen datos que han implicado a la citoquina IL-6 como necesaria, y suficiente, para inducir la producción de hepcidina durante la respuesta inflamatoria que acompaña a la infección. La interacción de IL-6 con IL-6R (receptor de IL-6) activa STAT3 que se une al promotor de hepcidina e induce su producción.

Aunque el hierro es necesario para el crecimiento del parásito, también es tóxico y altamente reactivo, por lo tanto, su acumulación dentro de las células requiere un control meticuloso lo que lleva a *Leishmania* a mantener un equilibrio delicado. Esta afirmación se sustenta en la observación de que el suministro de suplementos de hierro a ratones infectados resulta en una reducción de la carga parasitaria, limitando así el desarrollo de la leishmaniasis cutánea y visceral. De hecho, se ha informado que la sobrecarga de hierro confiere una defensa contra la infección por *L. major* mediante una producción excesiva de estallido oxidativo (*oxidative burst*).

8. Respuesta inmunitaria frente a la infección por *Leishmania*

La infección con *Leishmania* puede conducir bien a un proceso infeccioso clínicamente silente o a un espectro de enfermedades, dependiendo de la especie del parásito y de las características genéticas del hospedador.

La infección de cepas de ratón con *L. major* constituye un modelo excepcionalmente bien estudiado para la immunorregulación que ocurre durante una respuesta mediada por células frente a un patógeno intracelular.

Los ratones de la mayoría de las cepas (p. ej., C3H/He, CBA, C57BL/6, 129/Sv/Ev) resuelven espontáneamente sus lesiones cutáneas (ratones resistentes). En cambio, algunas cepas de ratones (p. ej., BALB/c) desarrollan enfermedad cutánea severa, una multiplicación descontrolada del parásito y una diseminación sistémica a distintos órganos (ratones susceptibles).

El hallazgo principal que se ha obtenido con este modelo es la observación de que el control de la infección se correlaciona con una fuerte respuesta celular Th1 que asegura la producción de citoquinas activadoras del macrófago, particularmente IFN- γ por parte de los linfocitos T CD4 $^{+}$ (Fig. 15).

La susceptibilidad de la cepa BALB/c se asocia con un desarrollo de una respuesta celular Th2 que es incapaz de mediar la activación del macrófago y que suprime activamente las acciones de las citoquinas derivadas de la respuesta Th1. La respuesta Th2 potencia una respuesta humoral.

En un número grande de estudios, se ha visto que el IFN- γ recombinante es capaz de activar a macrófagos infectados tanto de ratones susceptibles como resistentes para matar a *L. major* *in vitro*. Estudios *in vitro* han mostrado claramente que la función efectora anti-*Leishmania* de las células Th1 es mediada por IFN- γ . Se sabe que esta citoquina (en sinergia con el TNF- α producido endógenamente por los macrófagos) induce la síntesis de la iNOS (Fig. 15).

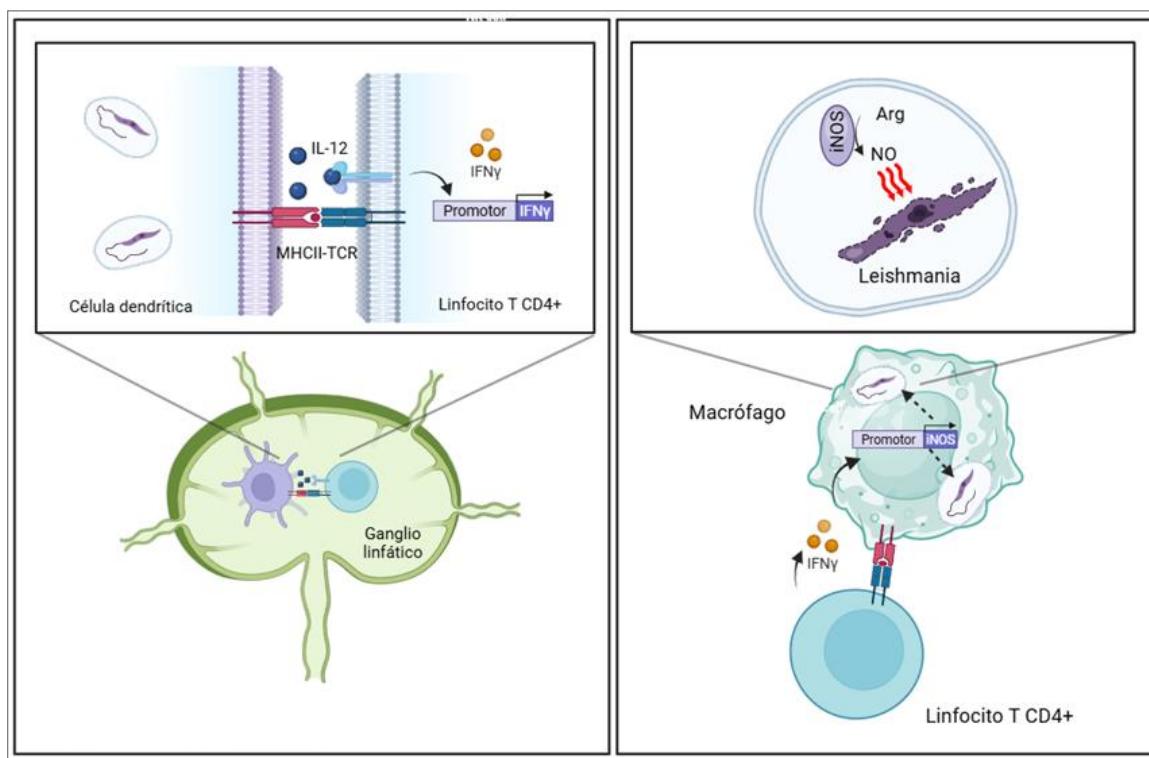


Figura 15. Mecanismos de la respuesta inmunitaria tipo Th1 frente a *Leishmania*. Figura inspirada en Olekhnovitch & Bousso (2015) y modificada con Biorender.

La actividad de las células NK y la producción de IFN- γ en los ratones resistentes a *L. major* es absolutamente dependiente de la presencia de IL-12. IL-12 parece conferir protección no sólo a través de la inducción de IFN- γ sino también por la supresión de la producción de IL-4 y la diferenciación de Th2.

Como un refuerzo a la importancia de IL-12 en la protección frente a la infección de *Leishmania* está el hecho experimental de que la inmunización con una combinación de antígenos de *Leishmania* e IL-12 conduce al desarrollo de una respuesta tipo Th1 en ratones BALB/c susceptibles y, consecuentemente, a un llamativo nivel de protección frente a la infección del parásito.

La IL-4 se encuentra entre las citoquinas anti-protectoras en el modelo ratón y *L. major*, dado que se asocia con la expansión de las células Th2 que están relacionadas con un resultado desfavorable de la infección.

Hasta ahora se considera que ni las células B ni los anticuerpos específicos de *Leishmania* desarrollan funciones protectoras significativas en leishmaniasis humanas o de ratón. En cambio, las células B y los anticuerpos más bien contribuyen a la progresión de la enfermedad. Así, la administración pasiva de anticuerpos IgG frente a antígenos de *Leishmania* conduce al desarrollo de lesiones más graves en ratones BALB/c, lo que se acompaña con la producción de altos niveles de IL-10. De hecho, existe una correlación entre altos niveles de anticuerpos anti-*Leishmania* y la rápida progresión a enfermedad.

La susceptibilidad y resistencia a la infección por *Leishmania* en el modelo ratón también se asocia con la aparición de una subserie de linfocitos T llamados T reguladores (Treg) y con los niveles de la citoquina IL-10. Los ratones BALB/c deficientes en IL-10 son resistentes a la infección, lo que asocia la presencia de esta citoquina a la progresión de la infección.

Los linfocitos Treg, a través de la producción de IL-10, ejercen un efecto supresor de la respuesta celular, en general, y la específica de antígenos de *Leishmania*, en particular, lo que favorece la multiplicación del parásito.

Además, IL-10 es un potente inhibidor de la producción de IFN- γ y, por otro lado, su presencia favorece la persistencia del parásito en los sitios de inoculación.

La vía común que media la destrucción del parásito por los macrófagos de ratón implica la producción de óxido nítrico (NO) por la óxido-nítrico sintasa inducible (iNOS). De hecho, los ratones deficientes en iNOS no tienen capacidad para controlar la infección por *L. major*. Además, por otro lado, la inhibición de la producción de NO hace que el macrófago sea incapaz de restringir la replicación de *L. major* *in vitro*, y la administración de inhibidores de iNOS a, de otra forma, ratones resistentes suprime la capacidad para controlar la infección (Fig. 16). Así, se piensa que una vez que las lesiones clínicas son curadas, la producción de NO controla la multiplicación de los pocos parásitos que persisten asintomáticamente en la piel y en los nódulos linfáticos.

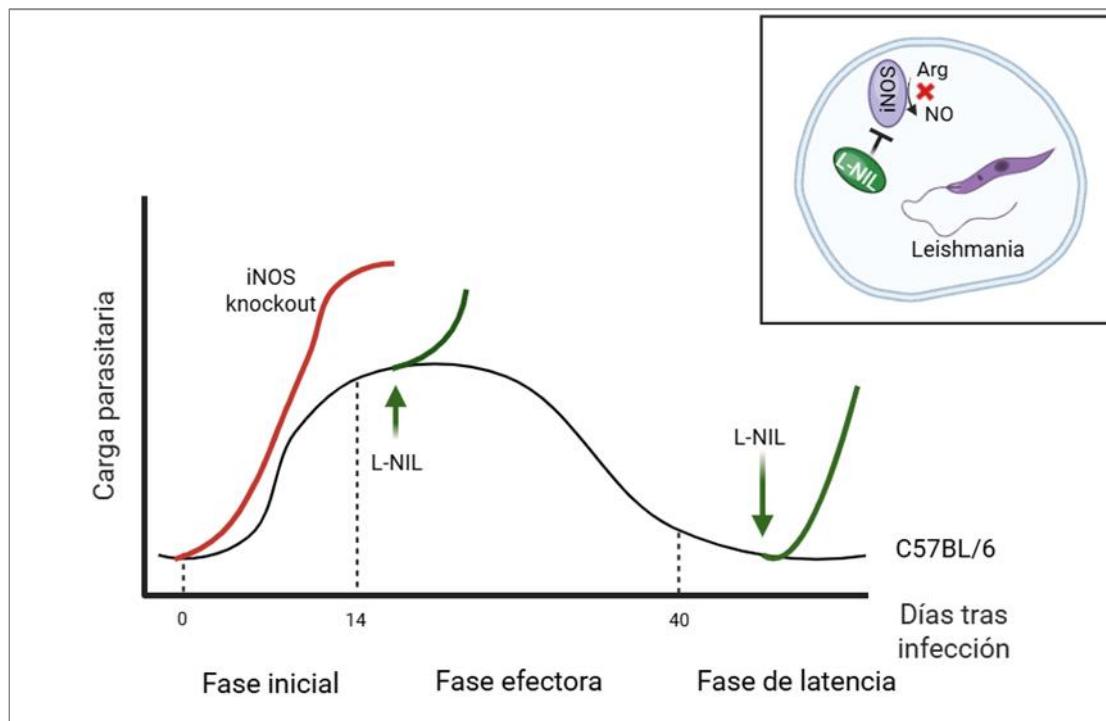


Figura 16. Dinámica de la carga parasitaria de *Leishmania* en ratones C57BL/6 bajo distintas condiciones experimentales. L-NIL: L-N6-(1-iminoetil)lisina. Figura inspirada en Olekhnovitch & Bousso (2015) y modificada con Biorender.

Sin embargo, la respuesta inmunitaria a la infección y durante la progresión a enfermedad en humanos infectados con *Leishmania* no parece seguir unos patrones tan definidos como en el ratón, al menos para la leishmaniasis visceral. Así, aunque la ausencia de una respuesta Th1

específica de antígeno en las células monocíticas de sangre periférica de pacientes con LV se piensa que está relacionada con la progresión a enfermedad, el descubrimiento de que estos pacientes presentan niveles elevados de IFN- γ en los tejidos dañados, al igual que niveles elevados de citoquinas proinflamatorias (IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, IL-15, IP-10 (*IFN- γ -inducible protein 10*), MIG (*monokine induced by IFN- γ*), IFN- γ y TNF- α) en el suero, indica que el defecto inmunitario no se puede explicar simplemente por una tolerancia inmunitaria o una polarización Th2. De hecho, la pérdida de peso, que es una característica de la LV, se relaciona con la sobreproducción de citoquinas con actividad catabólica tales como la IL-1 y el TNF- α .

Se piensa que la mayoría de las personas que son infectadas por especies viscerotrópicas de *Leishmania* nunca desarrollan la enfermedad. Hay estudios que relacionan la VL con ciertos polimorfismos del gen NRAMP1/SLC11IA, gen que se implica en la capacidad de los macrófagos para controlar la replicación de patógenos intracelulares, incluida *Leishmania*. También se ha asociado con polimorfismos en el gen IL-2R β , que regula la activación de linfocitos T.

Por otro lado, la LV suele afectar a poblaciones con un déficit nutricional, en los que infecciones con helmintos es muy común. La malnutrición es causa de disminución tanto de la inmunidad innata como de la función de los linfocitos T, y la exposición a helmintos puede balancear el equilibrio Th1/Th2 a favor de *Leishmania*. Además, tras la pubertad, se observa un incremento en los casos de LV en hombres, lo que sugiere que cambios hormonales pueden influir en la susceptibilidad. De hecho, experimentalmente, se ha demostrado que la testosterona aumenta la replicación del parásito.

La regulación de la producción de TNF- α parece importante para el proceso de formación y mantenimiento de los granulomas (Fig. 17). Sin embargo, cuando se produce a niveles muy elevados, el TNF- α puede tener un efecto exacerbante de la enfermedad. Niveles elevados de TNF- α podrían promover la generación de linfocitos T productores de IL-10 como una respuesta homeostática a la excesiva inflamación.

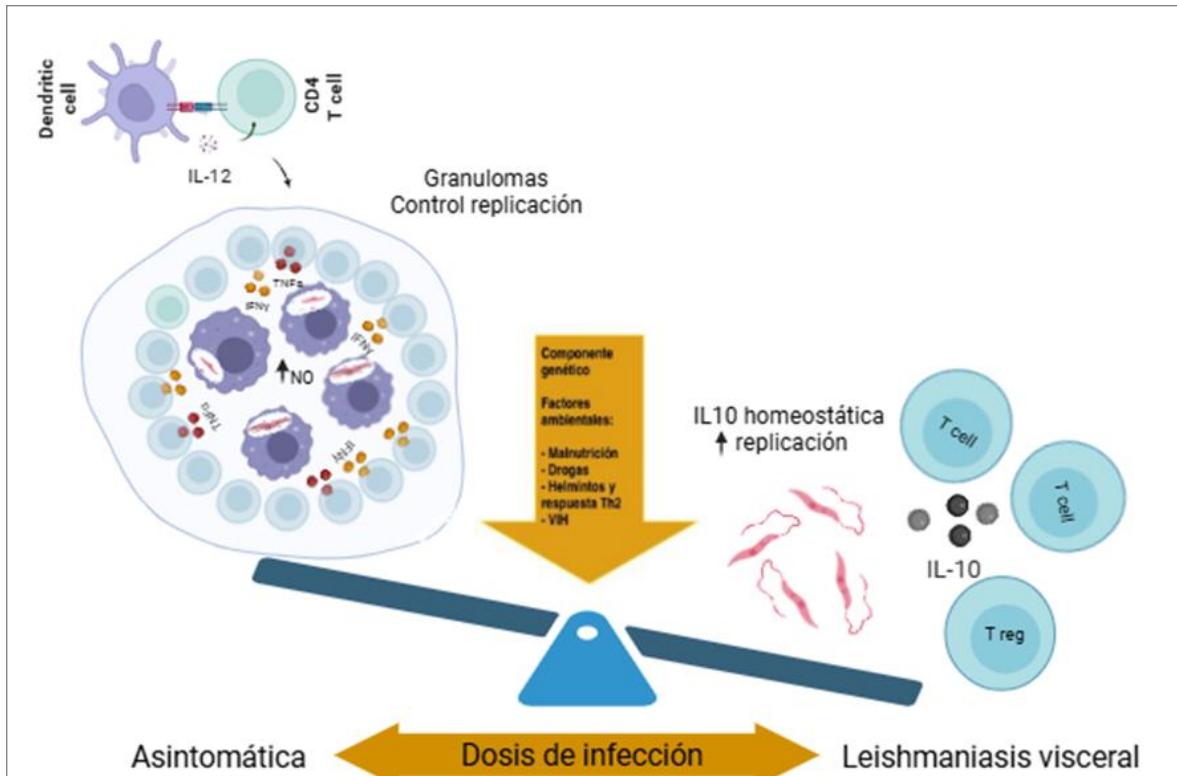


Figura 17. Balance inmunológico e infección por *Leishmania*. Figura inspirada en Nylén & Sacks (2007) y modificada con Biorender.

Existe una clara asociación entre la producción de IL-10 y la LV. Así, los pacientes con enfermedad activa tienen niveles elevados de IL-10 en el suero. IL-10 es una citoquina reguladora que puede ser producida por células T, células B, macrófagos, células dendríticas y células epiteliales. Tiene efectos moduladores que mitigan la respuesta innata y adquirida. Se piensa que IL-10 es inducida como parte de la red homeostática que protege a los tejidos de un daño colateral causado por una inflamación excesiva.

Aunque los altos niveles de IL-10 observados en pacientes con LV podrían ayudar a limitar las patologías mediadas por el sistema inmunitario, especialmente en el hígado, los efectos immunosupresores van a promover la replicación del parásito y la progresión de la enfermedad (Fig. 18). IL-10 hace que los macrófagos no respondan a las señales de activación e inhibe la destrucción de los amastigotes al disminuir la producción de TNF- α y óxido nítrico. IL-10 también inhibe la función de presentación de antígeno en células dendríticas y en macrófagos. Esta

citoquina inhibe la maduración de las células dendríticas a partir de los monocitos, disminuye la expresión de moléculas MHC-II y moléculas co-estimuladoras y, además, inhibe la producción de IL-12. De hecho, la falta de respuesta observada en los PBMCs de pacientes con LV, en cuanto a la proliferación de linfocitos T y la producción de IFN- γ , puede ser recuperada tras tratamiento con anticuerpos anti-IL-10.

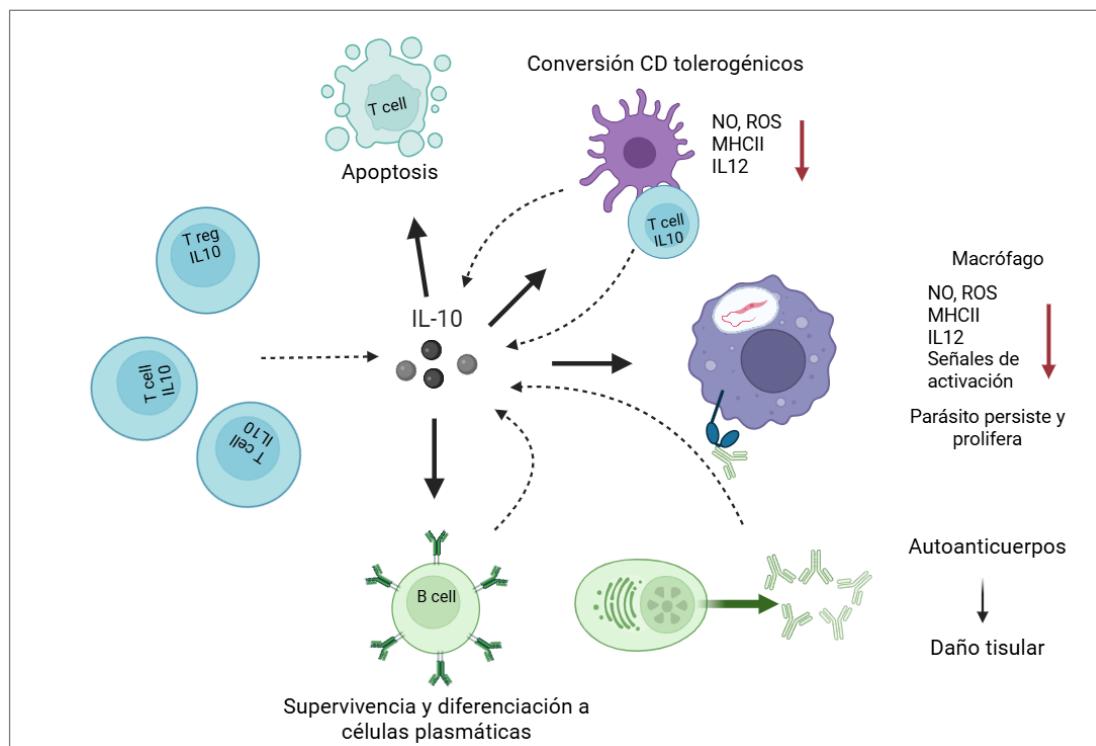


Figura 18. Efectos de IL10 en los diferentes elementos del sistema inmunitario. Figura inspirada en Nylén & Sacks (2007) y modificada con Biorender.

Leishmania es capaz de asegurar su replicación y persistencia dentro de las células del hospedador mediante la expresión de factores de virulencia que interfieren en la transducción celular de señales. Estos factores de virulencia influyen significativamente en cuán virulenta puede ser una cepa pues interfieren en múltiples procesos esenciales del parásito como la adhesión y entrada a los macrófagos, en resistir el estrés oxidativo y en modular la respuesta inmunitaria al suprimir respuestas proinflamatorias. EF1- α es un factor de virulencia secretado por *L.infantum* a través de exosomas y es capaz de modular la respuesta inmunitaria. Este factor interactúa con la

fosfatasa SHP-1 del hospedador, bloqueando la inducción de iNOS y suprimiendo respuestas proinflamatorias mediadas por IFN- γ e IL-12. Además de los factores de virulencia derivados del parásito, *Leishmania* también explota moléculas derivadas del hospedador que, cuando son manipuladas para favorecer la supervivencia del parásito y la supresión inmunitaria, funcionan como factores de virulencia indirectos. La infección por *Leishmania* sobreexpresa la fosfatasa MTMR6 asociada a canales iónicos, la cual podría regular negativamente la función de los linfocitos T. Su silenciamiento mediante el shRNA Lv-MTMR6 en ratones BALB/c infectados, reduce la cantidad de IL-10 y aumenta la inmunidad mediada por IL-12 e IFN- γ , reduciendo la infección.

9. Persistencia del parásito e inmunidad

Después de la curación clínica de la leishmaniasis cutánea en ratones resistentes, un pequeño número de parásitos persiste en nódulos linfáticos, el bazo y, en algunos casos, también en el sitio donde estuvo la lesión inicial en la piel. Estos parásitos causantes de las infecciones persistentes, se encuentran en células presentadora de antígeno, principalmente macrófagos y células dendríticas donde *Leishmania* puede mantener niveles bajos de replicación

Esta persistencia contribuye a la inmunidad concomitante, el sistema inmunitario está siendo activado de forma constante con el antígeno parasitario, manteniéndose una memoria protectora sin causar enfermedad.

Las células más estudiadas como hospedadoras de *Leishmania* son los fagocitos, macrófagos, células dendríticas, pero no solo estas células del linaje mieloide pueden hospedar al parásito. También células epiteliales, hepatocitos, fibroblastos y tejido adiposo marrón se encuentran entre los “sitios seguros” donde el parásito persiste durante mucho tiempo en el organismo.

El tratamiento de ratones resistentes clínicamente curados mucho tiempo después de la infección con un inhibidor de la iNOS conduce a una masiva replicación de los parásitos en el

tejido y provoca el recrudecimiento de la leishmaniasis cutánea. Así, el NO no es sólo crítico para resolver la infección aguda, sino también para el control a largo tiempo del parásito, su producción continua es necesaria para mantener el balance y evitar que la infección reaparezca. Estos hallazgos hablan de una interacción sostenida entre *Leishmania* y el sistema inmunitario del hospedador.

Células T reguladoras (Treg), sobre todo las que expresan CD4 y CD25 y producen IL-10, parecen ser esenciales para la persistencia prolongada del parásito. Se piensa que esta citoquina es la responsable de suprimir la respuesta inmunitaria frente al parásito, favoreciendo la persistencia de este último (Fig. 19). Aunque, posiblemente su función es la de limitar la inmunopatología. IL-10 inhibe la expresión de iNOS (también la NADPH oxidasa) e induce la actividad arginasa I, que produce el precursor de poliaminas ornitina, que es un factor de crecimiento para el parásito. IL-10 no regula solo a las células efectoras, sino que también influye en el estado de activación de los macrófagos, así limitan su capacidad de matar al parásito.

Además, las células T activadas, tanto CD4 como CD8 producen IFN γ que junto a IL-1 β llavan a la producción de IL-27 por los macrófagos (infectados por leishmania). Esta IL-27 inhibe la generación de células Th17 protectoras (con un papel pro-inflamatorio en el sistema inmune, ayudando a combatir infecciones bacterianas). Además, junto con IL-21, promueven la secreción de IL-10 por los linfocitos T reguladores. IL-10 influirá en la activación de los macrófagos, puesto que por un lado, disminuirá; la expresión de IL-12 en estas células, la expresión de MHC II y de moléculas co-estimuladoras y por último, volverá a los macrófagos menos sensibles a señales activadoras como IFN γ . Todo esto, favorecerá la persistencia del parásito en los macrófagos.

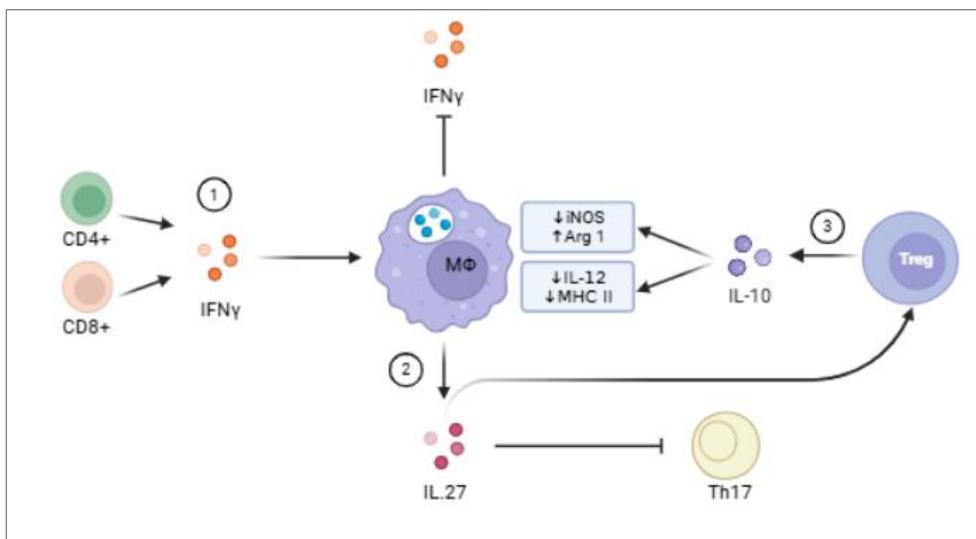


Figura 19: Mecanismo de persistencia de *Leishmania* en macrófagos. Figura creada con biorender.

La persistencia de *Leishmania*, por tanto, es un tema al que hay que prestar una atención especial dado el número de pacientes con SIDA, o que son tratados con agentes immunosupresores está aumentando y la leishmaniosis en estos casos es ya un problema médico.

Además, la inmunidad observada en ratones que han controlado una infección primaria parece depender de la persistencia del parásito. Quizás sea éste el beneficio para el hospedador y la razón por la que este último no persigue la total erradicación del parásito. La persistencia, clínicamente asintomática, de un patógeno lleva a una estimulación antigénica continua del sistema inmunitario tanto innato como específico o adaptado. En este sentido, es de destacar que ratones IL-10^{-/-} o ratones tratados con anticuerpos frente al receptor de IL-10, desarrollan una curación esterilizante de la infección primaria con *L. major*, pero no muestran resistencia a la reinfección por el mismo parásito. Así, la persistencia del parásito se requiere para mantener una memoria de linfocitos T y una inmunidad frente a la reinfección. En consecuencia, mientras el sistema inmunitario, mediante los linfocitos T y los macrófagos, se mantenga plenamente funcional, no parece que la persistencia del patógeno sea perjudicial para el hospedador.

Hasta el momento se han llevado a cabo varios ensayos de vacunación empleando promastigotes de *Leishmania* destruidos por calor. En su conjunto, los resultados han sido descorazonadores. Estudios similares en ratones han mostrado que aunque parásitos tratados con

calor o proteínas recombinantes de *Leishmania*, utilizados como inmunógenos, inducen una respuesta Th1 y protección, la inmunidad no se mantiene y se desvanece con el tiempo.

En cambio, tras la recuperación de infecciones activas o deliberadas (leishmanización), tanto en ratón como en humanos, se produce una inmunidad de larga duración. La leishmanización es una práctica por la que los individuos son infectados con organismos vivos para protegerlos de procesos más complicados asociados a la infección natural. La leishmanización ha sido practicada durante centurias y aún sigue siendo empleada en algunos países como Uzbekistán, Afganistán, Iraq e Irán. Si bien, la falta de estandarización en la producción de la vacuna ha llevado a dejar de emplearse en otros muchos lugares, pues en algunas ocasiones se desarrollaron procesos infecciosos serios.

Estos datos han llevado a preguntarse si para el desarrollo de una vacuna efectiva habría que contar con el desarrollo de una infección persistente del parásito. Esto ha llevado a ensayar parásitos genéticamente modificados para crear vacunas atenuadas frente a la leishmaniasis.

10. Interacción *Leishmania*-HIV

Ambos, *Leishmania* y el virus de la inmunodeficiencia humana (HIV) pueden infectar y multiplicarse en macrófagos, y ambos desregulan el sistema inmunitario. Estudios recientes indican que *Leishmania* puede inducir la activación de HIV en monocitos y células T infectados de forma latente. En particular, se ha visto que el LPG de *L. donovani* induce la transcripción de HIV en células CD4, a través de la activación de la vía NF-κB.

Por otro lado, HIV puede aumentar el crecimiento intracelular de *Leishmania* en los macrófagos. La razón parece estar en que el virus va a disminuir las funciones efectoras de los macrófagos, tales como la actividad microbicida y la producción de citoquinas. Además, la proteína Tat (transactivador transcripcional esencial para la replicación del VIH) del virus, secretada en grandes cantidades por las células infectadas por HIV-1, estimula la secreción de múltiples citoquinas, entre ellas el TGF-β, que tiene un efecto positivo sobre el crecimiento del parásito en macrófagos.

Se genera un ciclo de potencialización de ambas enfermedades, ya que la presencia de leishmania provoca un aumento de replicación de VIH-1 y esto deriva en una mayor producción y liberación de la proteína Tat que induce la replicación del parásito.

La destrucción de las células T ayudadoras (Th) CD4+ es un hecho fundamental en el declive de las funciones inmunitarias que ocurre durante la progresión de la infección HIV. Este defecto del sistema inmunitario hace que el hospedador infectado sea más susceptible al desarrollo de infecciones oportunistas graves.

Tanto *Leishmania* como HIV alteran el balance Th1-Th2. Así, se ha propuesto que un cambio del patrón de citoquinas Th1 al de Th2 se asocia con la progresión de la infección HIV, de forma similar a lo descrito para la infección por *Leishmania* (Figura 20)

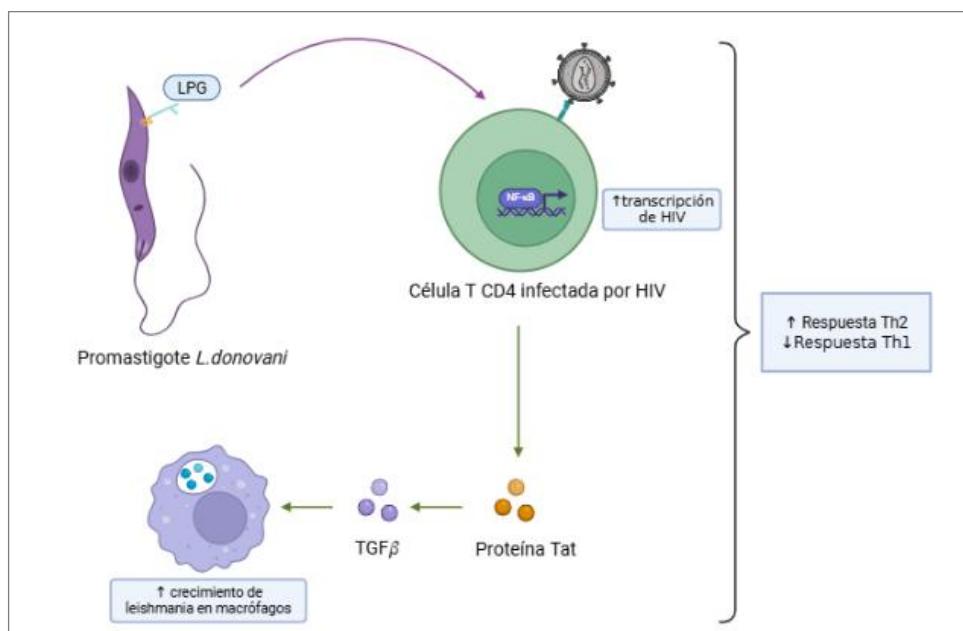


Figura 20: Interacción *Leishmania*-HIV. Figura creada con biorender.

La co-infección *Leishmania*-HIV se puede calificar de enfermedad infecciosa emergente, algo que inicialmente se puso de manifiesto en los países del sur de Europa; en el periodo 1981-1996, alrededor del 70% de los casos en adultos de leishmaniasis visceral (LV) se dieron en pacientes HIV/SIDA y alrededor del 7% de los pacientes de SIDA sufrieron de LV. En los países

europeos, desde la introducción de la terapia HAART para combatir el SIDA en 1997, la incidencia de coinfecciones *Leishmania*-HIV ha disminuido de una forma sustancial.

Sin embargo, los casos de co-infección HIV-*Leishmania* siguen aumentando en los países del Este de África y en la India. Se estima que la infección por HIV aumenta el riesgo de desarrollar LV en un factor mayor de 100, disminuye la probabilidad de éxito terapéutico, y aumenta la probabilidad de recaída. Alrededor del 90% de LV en pacientes infectados por HIV se desarrollan cuando los pacientes tienen menos de 200 linfocitos T CD4+ por μl . Asimismo, la mortalidad en los pacientes coinfecados por *Leishmania*-HIV es mucho mayor que en los pacientes con LV.

11. Tratamientos frente a las leishmaniasis

Actualmente no existe ninguna vacuna que pueda prevenir la infección, por lo que la forma de luchar frente a la infección está basada en el empleo de fármacos (Figura 21). Sin embargo, el número de fármacos actualmente utilizados es pequeño, con frecuencia producen efectos secundarios y en muchos casos se han descrito parásitos resistentes.

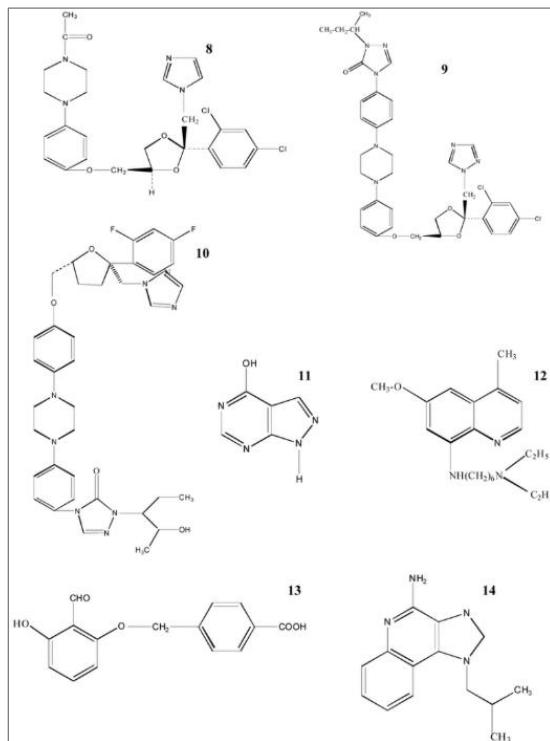


Figura 21: Compuestos más usados contra Leishmania: 1: Estibogluconato de sodio; 2: Antimonato de meglumina 3: Anfotericina B; 4: Pentamidina; 5: Miltefosina; 6: Paromomicina; 7: Fluconazol; 8: Ketoconazol; 9: Itraconazol; 10: Posaconazol; 11: Alopurinol; 12: Sitamaquina; 13: Tularesol; 14: Imiquimod. Figura obtenida de Monzote,L (2009)

11.1. Antimoniales

Se empezaron a utilizar en los primeros años del siglo XX, cuando se encontró que el tartrato de potasio y antimonio (III) era efectivo frente a la leishmaniasis mucocutánea. Luego se empezó a utilizar para tratar casos de leishmaniasis visceral, pero su uso fue limitado debido a la gran toxicidad asociada. El antimonio pentavalente (SbV), una forma menos tóxica, fue desarrollado varias décadas después, y desde entonces se viene utilizando como fármaco de primera elección frente a la leishmaniasis visceral.

Actualmente, los preparados más empleados son el estibogluconato de sodio (*sodium stibogluconate*, Pentostam; Fig. 21) y el antimonato de meglumina (*meglumine antimoniate*, Glucantime; Fig. 21).

Todavía no está muy claro el mecanismo de acción de los antimoniales. Van a actuar como profármacos que son reducidos a la especie trivalente más tóxica y eficaz ya que destruye los amastigotes dentro de los fagolisosomas macrofágicos. Existe consenso de que su efecto tóxico sobre el parásito requiere de la reducción de la forma Sb-V a la forma Sb-III. Se piensa que el antimonio va a afectar a diversas vías bioenergéticas (glucolisis, beta oxidación de ácidos grasos, etc.), aunque posiblemente sea el resultado de una alteración del potential tiol-redox al afectar el balance de oxidoreducción del tripanotion y otras moléculas con grupos tiol, lo que conduce a que los parásitos sean más sensibles al estrés oxidativo.

También se ha propuesto que el Sb(III) podría actuar inhibiendo a la tripanotion-reductasa, una enzima que recicla el tripanotion oxidado a su forma reducida. La cristalización de la proteína en presencia de Sb(III) avala una directa interacción del antimonio con el enzima.

En líneas de parásitos fármacosensibles, Sb-III induce una salida rápida de la tripanotiona y glutatión desde las células e inhibe la reductasa de tripanotiona, con lo que causa una disminución

efectiva de tioles reducidos dentro del parásito.

Es decir, el mecanismo de acción de los antimoniales se basa en desequilibrar el sistema redox de *Leishmania*.

Un inconveniente de este fármaco es que se requiere de largos tratamientos, y el fármaco se termina acumulando en el hígado y el bazo, entre otros órganos, lo puede causar efectos secundarios: náuseas, dolor abdominal, mialgias, inflamación pancreática, arritmia cardiaca y hepatitis. En estos casos, es preciso detener el tratamiento. Por otro lado, en los últimos años se ha descrito la emergencia de tasas muy significativas de resistencia en varias cepas del parásito.

11.2. Anfotericina

La anfotericina B (*amphotericin B*, AmpB; Fig. 21) es un macrólido poliélico, producido por la bacteria *Streptomyces nodusus*, y que fue identificado en 1956 por sus propiedades antifúngicas. Y, de hecho, la AmpB sigue empleándose para el tratamiento de infecciones con *Candida albicans* o *Aspergillus fumigatus*, resultando especialmente eficaz para combatir estas infecciones fúngicas en pacientes con inmunodeficiencias. Si bien, su uso requiere una gran vigilancia de los pacientes, debido a que produce efectos secundarios como nefrotoxicidad y hematotoxicidad.

A principio de los años 60s del siglo pasado, se demostró que tenía actividad leishmanicida, y desde entonces se viene utilizando. Sus efectos tóxicos resultan disminuidos al administrarse en formulaciones lipídicas. En estos momentos hay tres formulaciones lipídicas que están disponibles comercialmente: anfotericina B en liposomas (AmBisome), en complejos lipídicos (Abelcet) y en dispersiones coloidales (Amphocil). Probablemente sean estos los fármacos leishmanicidas más eficaces actualmente. Así, una sola dosis de AmBisome administrada por vía intravenosa resulta curativa en el 95% de los pacientes con leishmaniasis visceral. Sin embargo, su alto coste hace que este fármaco no pueda ser utilizado en pacientes de países en desarrollo.

Su selectividad se basa en la afinidad que la AmpB tiene por el ergosterol, presente en la membrana de los hongos y de *Leishmania*, y no por el colesterol de los mamíferos. Esta

interacción, de naturaleza hidrofóbica, va a favorecer que la AmpB se inserte en la membrana del parásito y genere poros en la bicapa lipídica, lo que conduce a la muerte del parásito debido a la salida de componentes intracelulares. Es esencial el control de los estados de agregación de esta medicación ya que condiciona su actividad y su toxicidad.

11.3. Pentamidina

La pentamidina (Fig. 21) y otras diamidinas aromáticas fueron sintetizadas en los años 30 del siglo pasado como fármacos hipoglicémicos. Poco después se empezó a utilizar para el tratamiento de la enfermedad del sueño y en 1939 se demostró su actividad frente a *Leishmania*.

Aunque su mecanismo de acción no ha sido establecido, probablemente esté relacionado con la interferencia de la replicación del DNA del kinetoplasto dadas su capacidad para intercalarse entre las cadenas de DNA.

En la actualidad, el uso de este fármaco es cada vez más infrecuente dada su baja eficacia, su toxicidad y la aparición de cepas resistentes.

11.4. Miltefosina

La actividad leishmanicida de la miltefosina (Fig. 21), un derivado de la lisofosfatidilcolina, fue reportada en 1987. En el 2002 fue aprobada para su uso en la India y posteriormente en otros países, convirtiéndose en el primer fármaco de administración oral frente a la leishmaniasis. Su mecanismo de acción no está definido, probablemente afecte a diversas vías de señalización, y se postula un efecto apoptótico sobre el parásito, al igual que ocurre en células tumorales, donde este fármaco se muestra también efectivo. También se ha encontrado que la miltefosina produce una despolarización del potencial de membrana de la mitocondria y una inhibición de la citocromo-c-oxidasa, lo que probablemente pueda desencadenar el proceso de muerte por apoptosis del parásito.

Este fármaco se ha mostrado muy eficaz para el tratamiento de la leishmaniasis visceral. Sin embargo, muchas especies del Nuevo mundo (*L. braziliensis*, *L. guyanensis* y *L. mexicana*) son poco sensibles a sus efectos. Por otro lado, se ha encontrado que la miltefosina es teratogénica, por lo que está contraindicada durante el embarazo.

11.5. Paromomicina

La paromomicina (aminosidina; Fig. 21), un compuesto aminoglicosídico producido por *Streptomyces riomosus* (var. *Paromomycinus*), fue aislada en 1956. Este fármaco se ha mostrado efectivo frente a muchas bacterias y protozoos (amebas y criptoporidios). A mediados de los años 60 del siglo pasado se reportó su actividad leishmanicida. Ensayos clínicos de fase IV en India indicaron que su administración parenteral en pacientes con leishmaniasis visceral tiene una tasa de curación del 95%.

Su principal efecto parece ser la inhibición de la síntesis de proteínas, aunque su mecanismo preciso no ha sido establecido.

11.6. Otros fármacos utilizados en clínica

Los imidazoles y trizoles, agrupados bajo el nombre de azoles, son inhibidores de la 14- α -demetilasa, una enzima clave de la vía biosintética de los esteroles. El Fluconazol y el ketoconazol (Fig. 21) se han mostrado efectivos frente a algunas especies de *Leishmania*.

El allopurinol, un análogo de purinas, muy utilizado para otro tipo de dolencias, como es la gota (causada por acumulación de ácido úrico), se ha venido empleando para el tratamiento de leishmaniasis desde hace varias décadas, aunque sus datos de eficacia no son contundentes. Con frecuencia, este fármaco se prescribe en los tratamientos prolongados de la leishmaniasis canina.

La sitamaquina (Fig. 21), un derivado de 8-aminoquinolina, fue aplicada inicialmente para el tratamiento de la malaria. Estudios en animales mostraron una buena eficacia frente a la leishmaniasis visceral, aunque los ensayos clínicos no han sido tan concluyentes.

12. Amplificación génica como mecanismo de resistencia a fármacos

La única vía de control de las infecciones por *Leishmania* actualmente es la quimioterapia. Sin embargo, además de las limitaciones de efectividad de estas drogas, el desarrollo de procesos de resistencia está aumentando y constituye un serio impedimento a una terapia exitosa. Dentro de los mecanismos de resistencia estudiados hasta el momento, la mayoría están asociados a procesos de amplificación génica de bien los blancos de la droga o bien de sistemas de transporte encargados de expulsar la droga al exterior (ver Tabla 1).

| Drug | Gene | Function | Resistance mechanism |
|-------------------|---------------|-------------------------------------|----------------------------|
| Heavy metals | <i>pgpA</i> | ABC transporter | drug efflux |
| | <i>gshl</i> | glutathione biosynthesis | drug conjugation |
| | <i>odc*</i> | polyamine biosynthesis | drug conjugation |
| | <i>orfSbV</i> | unknown | unknown |
| DFMO | <i>odc</i> | polyamine biosynthesis | overproduction of target |
| Mycophenolic acid | <i>impdh</i> | inosine monophosphate dehydrogenase | overproduction of target |
| Vinblastine | <i>mdr1</i> | ABC transporter | drug efflux |
| Tunicamycin | <i>nagt</i> | N-acetylglucosaminyl-transferase | overproduction of target |
| Methotrexate | <i>dfr-ts</i> | dihydrofolate reductase | overproduction of target |
| | <i>ptr1</i> | pteridine reductase | by-pass mechanism |
| | <i>bt1*</i> | biopterin transport | increased folate synthesis |
| | <i>tor</i> | transcription like factors | unknown |
| Purine analogs | | | |
| Amphotericin B | (in progress) | | |

Tabla 1: Genes sobreexpresados en mutantes de *Leishmania* resistentes a fármacos debido a amplificación génica. Tabla obtenida de Papadopoulou, B., Roy, G. & Ouellette, M. (1992)

Amplificaciones génicas se han descrito en diversos organismos como mecanismos de resistencia a drogas. Así, por ejemplo, en *Plasmodium* o en células cancerosas es relativamente frecuente el desarrollo de resistencia por la amplificación intracromosomal que conduce a la sobreexpresión del gen responsable de esa resistencia. Sin embargo, la estrategia seguida por *Leishmania* muestra unas características más particulares.

Por la relativa baja complejidad genómica de *Leishmania* ha resultado fácil demostrar los fenómenos de amplificación génica en este protozoo. Además, este parásito parece tener una

capacidad intrínseca para desarrollar estos fenómenos. Así, por ejemplo, la amplificación génica en *T. brucei* es muy rara y sólo se ha reportado un caso, en el que un cromosoma entero resultaba amplificado.

Los mecanismos de amplificación génica han sido estudiados con cierto detalle en *Leishmania* y parecen implicar una recombinación entre secuencias repetidas para generar amplicones circulares o lineares. Los requerimientos de secuencia para la expresión, replicación y mantenimiento de las secuencias extracromosomales no están definidos, pero cabe señalar que plásmidos bacterianos sin DNA de *Leishmania* son capaces de replicarse en el interior de este parásito. Sin embargo, esto último no ocurre ni en *T. brucei* ni en otros protozoos, lo que habla de la facilidad que tiene *Leishmania* para amplificar cualquier secuencia que confiera una ventaja al crecimiento celular.

Esta facilidad para la amplificación de regiones del genoma de *Leishmania*, viene dada por la plasticidad de su genoma, (variaciones en el número de cromosomas e inestabilidad genómica), permitiendo al parásito modificar el genoma para adquirir mecanismos de supervivencia en condiciones de estrés.

Se ha descrito poliploidía en ciertos cromosomas de *Leishmania*, la amplificación genómica es una de las principales alteraciones que causan este fenómeno.

Entre las amplificaciones más comunes se encuentran las que afectan a genes implicados en la resistencia a antimoniales. Se amplifican genes que codifican para transportadores ABC (MRPA, MDR1, ABCI4) que actúan expulsando al fármaco del parásito.

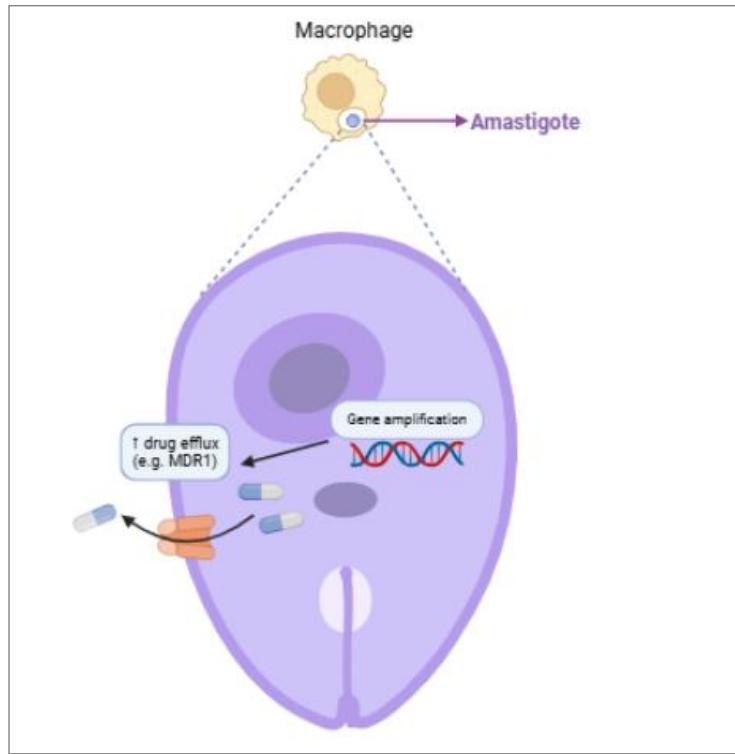


Figura 22: Mecanismo de resistencia a fármacos por amplificación génica usado por *Leishmania*. Figura inspirada en Moncada-Díaz *et al.*, (2024) y modificada con *biorender*.

13. Referencias

- Akhoundi, M., Downing, T., Votýpka, J., Kuhls, K., Lukes, J., Cannet, A., Ravel, C., Marty, P., Delaunay, P., Kasbari, M., Granouillac, B., Gradoni, L., & Sereno, D. (2017). Leishmania infections: Molecular targets and diagnosis. *Molecular aspects of medicine*, 57, 1-29.
- Alvar, J., Aparicio, P., Aseffa, A., Den Boer, M., Cañavate, C., Dedet, J.P., Gradoni, L., Ter Horst, R., Lopez-Velez, R. and Moreno, J. (2008). The relationship between leishmaniasis and AIDS: the second 10 years. *Clin Microbiol Rev* 21: 334-359.
- Alvar, J., Croft, S. and Olliaro, P. (2006) Chemotherapy in the treatment and control of leishmaniasis. *Adv. Parasitol.* 61: 223-274.
- Ashford, R.W. (2000) The leishmanias as emerging and reemerging zoonoses. *Int. J. Parasitol.* 30: 1269-1281.
- Assouab, A., Kihel, A., Rouahi, M., Larribau, M., Karim, Z. y Akarid, K. (2024). Cutaneous leishmaniasis and iron metabolism: current insights and challenges. *Frontiers in Immunology*, 15: 1488590.
- Bates, P.A. (2007). Transmission of *Leishmania* metacyclic promastigotes by phlebotomine sand flies. *Int. J. Parasitol.* 37: 1097-1106.
- Batista, M.F., Nájera, C.A., Meneghelli, I. & Bahia, D. (2020). The parasitic intracellular lifestyle of trypanosomatids: parasitophorous vacuole development and survival. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 8: 396.
- Bogdan, C. (2008). Mechanisms and consequences of persistence of intracellular pathogens: leishmaniasis as an example. *Cell. Microbiol.* 10: 1221-1234.
- Bogdan, C., Gessner, A., Solbach, W. y Röllinghoff, M. (1996) Invasion, control and persistence of *Leishmania* parasites. *Cur. Op. Immunol.* 8: 517-525.
- Bogdan, C. and Röllinghoff, M. (1998) The immune response to *Leishmania*: mechanisms of parasite control and evasion. *Int. J. Parasitol.* 28: 121-134.
- Bogdan, C. and Röllinghoff, M. (1999) How do protozoan parasites survive inside macrophages? *Parasitol. Today* 15: 22-28.
- Burza, S., Croft, S.L. and Boelaert, M. (2018). Leishmaniasis. *Lancet* 392, 951-970.
- Catta-Preta, C. M. C., & Sacks, D. L. (2025). Genetic Exchange in *Leishmania*: Understanding the Cryptic Sexual Cycle. *Annual review of microbiology*, 79(1), 105-128.
- Conde, L., Maciel, G., de Assis, G.M., Freire-de-Lima, L., Nico, D., Vale, A., Freire-de-Lima, C.G. and Morrot, A. (2022). Humoral response in leishmaniasis. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 12: 1063291.
- Descoteaux, A. and Turco, S.J. (2002) Functional aspects of the *Leishmania donovani* lipophosphoglycan during macrophage infection. *Microbes Infect.* 4: 975-981.
- Dhulipalla, M. & Chouhan, G. (2024). The nexus between Leishmania & HIV: Debilitating host immunity and Hastening Comorbid disease burden. *Experimental Parasitology*, 265: 108826.
- Fernandes, J.C.R. & Zamboni, D.S. (2024). Mechanisms regulating host cell death during Leishmania infection. *mBio*, 15(11): e0198023.
- Flannery, A.R., Renberg, R.L. and Andrews, N.W. (2013). Pathways of iron acquisition and utilization in Leishmania. *Curr Opin Microbiol* 16: 716-721.
- Forestier, C.L., Gao, Q. and Boons, G.J. (2015). *Leishmania* lipophosphoglycan: how to establish structure-activity relationships for this highly complex and multifunctional glycoconjugate? *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 4: 193.
- Fraser, M., Matuschewski, K. & Maier, A.G. (2023). The enemy within: lipid asymmetry in intracellular parasite-host interactions. *Emerging Topics in Life Sciences*, 7(1): 67-79.
- Gabriel, Á.M., Galué-Parra, A., Pereira, W.L.A., Pedersen, K.W. & da Silva, E.O. (2021). Leishmania 360°: guidelines for exosomal research. *Microorganisms*, 9(10): 2081.
- Gurjar, D., Bodhale, N., Shukla, D., Nayak, D., Lenka, N. y Saha, B. (2025). Manipulation of macrophage signaling by Leishmania virulence factors. *Virulence*, 16(1): 2549802.
- Handman, E. (2000) Cell biology of *Leishmania*. *Adv. Parasitol.* 44: 1-39.
- Kamhawi, S. (2006). Phlebotomine sand flies and Leishmania parasites: friends or foes? *Trends. Parasitol.*

22: 439-445.

- **Kaye, P. and Scott, P.** (2011). Leishmaniasis: complexity at the host-pathogen interface. *Nat Rev Microbiol* 9: 604-615.
- **Lindoso, J.A.L., Cunha, M.A., Queiroz, I.T. & Moreira, C.H.V.** (2016). Leishmaniasis-HIV coinfection: current challenges. *HIV/AIDS (Auckland, N.Z.)*, 8: 147–156.
- **Lodi, L., Voarino, M., Stocco, S., Ricci, S., Azzari, C., Galli, L., & Chiappini, E.** (2024). Immune response to viscerotropic *Leishmania*: a comprehensive review. *Frontiers in immunology*, 15, 1402539.
- **McGwire, B.S., O'Connell, W.A., Chang, K.P. and Engman, D.M.** (2002). Extracellular release of the glycosylphosphatidylinositol (GPI)-linked *Leishmania* surface metalloprotease, gp63, is independent of GPI phospholipolysis: implications for parasite virulence. *J. Biol. Chem.* 277: 8802–8809.
- **Moncada-Diaz, M.J., Rodríguez-Almonacid, C.C., Quiceno-Giraldo, E., Khuong, F.T.H., Muskus, C. & Karamysheva, Z.N.** (2024). Molecular Mechanisms of Drug Resistance in *Leishmania* spp. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, 13(10): 835.
- **Monzote, L.** (2009). Current Treatment of Leishmaniasis: a review. *The Open Antimicrobial Agents Journal* 1: 9-19.
- **Moradin, N. and Descoteaux, A.** (2012). *Leishmania* promastigotes: building a safe niche within macrophages. *Front. Cell Infect. Microbiol.* 2: 121.
- **Murray, H.W., Berman, J.D., Davies, C.R. and Saravia, N.G.** (2005) Advances in leishmaniasis. *Lancet* 366: 1561-1577.
- **Nylen, S. and Sacks, D.** (2007). Interleukin-10 and the pathogenesis of human visceral leishmaniasis. *Trends Immunol.* 28: 378-384.
- **Okwor, I. and Uzonna, J.** (2008). Persistent parasites and immunologic memory in cutaneous leishmaniasis: implications for vaccine designs and vaccination strategies. *Immunol. Res.* 41: 123-136.
- **Olekhnovitch, R. and Bousso, P.** (2015). Induction, Propagation, and Activity of Host Nitric Oxide: Lessons from *Leishmania* Infection. *Trends Parasitol* 31: 653-664.
- **Olivier, M., Gregory, D.J. and Forget, G.** (2005) Subversion mechanisms by which *Leishmania* parasites can escape the host immune response: a signaling point of view. *Clin. Microbiol. Rev.* 18: 293-305.
- **Olivier, M., Atayde, V.D., Isnard, A., Hassani, K. and Shio, M.T.** (2012). *Leishmania* virulence factors: focus on the metalloprotease GP63. *Microbes Infect.* 14: 1377-1389.
- **Panaro, M.A., Panunzio, M., Jirillo, E., Marangi, A. y Brandonisio, O.** (1995) Parasite escape mechanisms: the role of *Leishmania* lipophosphoglycan on the human phagocyte functions. A review. *Immunopharmacol. Immunotoxicol.* 17: 595-605.
- **Papadopoulou, B., Roy, G. & Ouellette, M., 1992.** A novel antifolate resistance gene on the amplified H circle of *Leishmania*. *EMBO Journal*, 11(10), pp.3601–3608.
- **Papadopoulou, B., Kündig, C., Singh, A. and Ouellette, M.** (1998) Drug resistance in *Leishmania*: similarities and differences to other organisms. *Drug Resistance Updates* 1: 266-278.
- **Podinovskaia, M. and Descoteaux, A.** (2015). *Leishmania* and the macrophage: a multifaceted interaction. *Future Microbiol* 10: 111-129.
- **Ponte-Sucre, A., Gamarro, F., Dujardin, J., Barrett, M.P., López-Vélez, R., García-Hernández, R., Pountain, A.W., Mwenechanya, R. & Papadopoulou, B.** (2017). Drug resistance and treatment failure in leishmaniasis: A 21st century challenge. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 11(12): e0006052.
- **Reiner, S.L. y Locksley, R.M.** (1995) The regulation of immunity to *Leishmania major*. *Annu. Rev. Immunol.* 13: 151-177.
- **Reis, T.C., Yagi, A.C.L., Ramos, A.L.D., Velásquez, A.M.A., Coelho, N.C.C. and Graminha, M.A.S.** (2025). Surface molecules of *Leishmania*: from virulence determinants to therapeutic and vaccine targets. *Mol. Biochem. Parasitol.* 264: 111702.
- **Rogers, M.E.** (2012). The role of leishmania proteophosphoglycans in sand fly transmission and infection of the mammalian host. *Front. Microbiol.* 3: 223.
- **Romero Álvarez, E.** (2015). La anfotericina B en el tratamiento de la Leishmaniosis.
- **Sharma, U. and Singh, S.** (2009). Immunobiology of leishmaniasis. *Indian J. Exp. Biol.* 47: 412-423.
- **Silva-Moreira, A. L., Serravite, A. M., Rios-Barros, L. V., de Menezes, J. P. B., Horta, M. F., & Castro-Gomes, T.** (2025). New insights into the life cycle, host cell tropism, and infection amplification of

- Leishmania* spp. *Infection and immunity*, 93(7), e0012325.
- **Steverding, D.** (2017). The history of leishmaniasis. *Parasites & vectors* 10: 82.
 - **Tremblay, M., Olivier, M. and Bernier, R.** (1996) *Leishmania* and the pathogenesis of HIV infection. *Parasitol. Today* 12: 257-261.
 - **Ueno, N. and Wilson, M.E.** (2012). Receptor-mediated phagocytosis of *Leishmania*: implications for intracellular survival. *Trends Parasitol* 28: 335-344.
 - **Valigurová, A. & Kolářová, I.** (2023). Unrevealing the Mystery of Latent Leishmaniasis: What Cells Can Host Leishmania? *Pathogens (Basel, Switzerland)*, 12(2): 246.
 - **Vannier-Santos, M.A., Martiny, A. and de Souza, W.** (2002) Cell biology of *Leishmania* spp.: invading and evading. *Curr. Pharm. Des.* 8: 297-318.
 - **Wilson, M.E., Jeronimo, S.M.B. and Pearson, R.D.** (2005) Immunopathogenesis of infection with the visceralizing *Leishmania* species. *Microb. Pathog.* 38: 147-160.
 - **Wolday, D., Berhe, N., Akuffo, H. and Britton, S.** (1999) *Leishmania*-HIV interaction: immunopathogenic mechanisms. *Parasitol. Today* 15: 182-187.
 - **Yao, C.** (2010). Major surface protease of trypanosomatids: one size fits all? *Infect. Immun.* 78: 22-31.

En la red:

- <http://archive.bmn.com/supp/part/swf012.html> [Animación sobre el ciclo de vida de Leishmania]
- <http://www.inbeb.org.br/conteudo.asp?idsecao=313> [Video sobre el ciclo de vida en el hospedador mamífero]
- <http://www.inbeb.org.br/conteudo.asp?idsecao=314> [Video sobre el ciclo de vida en el insecto vector]
- <http://www.inbeb.org.br/conteudo.asp?idsecao=312> [Video sobre la estructura de la forma promastigote]
- <https://www.youtube.com/watch?v=GPBIOvTi6Tg> [Video sobre la estructura de la forma promastigote]
- <http://www.inbeb.org.br/conteudo.asp?idsecao=311> [Video sobre la estructura de la forma amastigote]
- <https://www.youtube.com/watch?v=6gUWLrzejfM> [Video sobre la estructura de la forma amastigote]