

## TRATAMIENTOS PARA LA LEISHMANIASIS

Zoraya De Guglielmo<sup>1</sup>, Noris Rodríguez<sup>2</sup>, Henry Oviedo<sup>3</sup>.

---

**RESUMEN:** *Se presenta una revisión sobre las distintas alternativas terapéuticas utilizadas para tratar las distintas formas de leishmaniasis, las cuales incluyen quimioterapia, vacunas profilácticas y terapéuticas, tratamientos físicos (crioterapia, termoterapia, fototerapia) y uso de plantas o sus extractos con actividad leishmanicida, haciendo comparaciones entre los diferentes procedimientos y destacando su aplicación en la actualidad.*

**Palabras claves:** *leishmaniasis, tratamientos, vacunas, quimioterapia, plantas, termoterapia*

**ABSTRACT:** *This is a review about the different therapeutic alternatives used, to treat the different forms of leishmaniasis, which include chemotherapy, prophylactic and therapeutic vaccines, physical treatments (cryotherapy, thermotherapy and phototherapy) and the use of plants or their extracts with leishmanicida activity, making comparison between the procedures and highlighting their application at the present time.*

**Key words:** *leishmaniasis, treatments, vaccines, chemotherapy, plants, thermotherapy*

1. Doctor en Ciencias. Laboratorio de Ingeniería Genética. Instituto de Biomedicina. Universidad Central de Venezuela.

2. Profesor Titular. PHD. Jefe del Laboratorio de Ingeniería Genética. Instituto de Biomedicina. Universidad Central de Venezuela.

3. Licenciado en Salud Pública. Laboratorio de Ingeniería Genética. Instituto de Biomedicina. Universidad Central de Venezuela.

Recibido: 03-10-18

Aprobado:10-12-18

### INTRODUCCIÓN

La leishmaniasis es una enfermedad de transmisión vectorial con gran diversidad de parásitos, reservorios y vectores involucrados en la transmisión.

A nivel mundial se encuentra entre las diez enfermedades tropicales desatendidas con más de 12 millones de personas infectadas y 0,9 a 1,6 millones de nuevos casos. Se estiman entre 20.000 y 30.000 defunciones anuales y 350 millones

de personas en riesgo de infectarse. Entre los 10 países del mundo con mayor número de casos de leishmaniasis cutánea, 3 se ubican en las Américas (Brasil, Colombia y Perú).

Los países que concentran el mayor número de casos de leishmaniasis visceral son India, Sudán del Sur, Sudán, Brasil, Etiopía y Somalia. En las Américas, actualmente se registra un promedio de 56.000 casos de leishmaniasis cutánea y mucosa y 3.800 casos de leishmaniasis visceral al año, con letalidad media de 7%. La leishmaniasis cutánea se registra en 20 países, siendo endémica en 18 de ellos (Colombia, Costa Rica, Brasil, Argentina, Ecuador, Venezuela, Bolivia, Perú, Paraguay, El Salvador, Honduras, Nicaragua, Panamá, Guyana, Surinam, Guatemala, Guyana Francesa y México) y la leishmaniasis visceral en 12 países (Brasil, Argentina, Paraguay, Colombia, Venezuela, Costa Rica, Guatemala, Honduras, Nicaragua, Bolivia, Guyana y México). En la Región, 27% de casos de leishmaniasis cutánea se presentan en zonas fronterizas<sup>1</sup>. A la fecha, se han probado distintos tratamientos para las diferentes formas de la enfermedad. Esto se relaciona directamente al hecho de que las especies de *Leishmania* difieren en la sensibilidad *in vitro* o *in vivo* a

los medicamentos disponibles, con el riesgo de desarrollar complicaciones y mayor tiempo para la curación. Así, para optimizar la eficacia del tratamiento de la leishmaniasis, deben considerarse el diagnóstico clínico del paciente, la especie de *Leishmania* involucrada y los aspectos geográficos del sitio de la infección<sup>2</sup>.

Según el Comité de Expertos de la OMS sobre el control de las leishmaniasis, para establecer el tratamiento; primero se debe determinar la extensión de la infección concomitante, pues ello puede influir en la elección del tratamiento, que a su vez, debe seguir las directrices nacionales y regionales. Generalmente, el tratamiento de apoyo consiste en la rehidratación o los suplementos nutricionales antes de iniciar el tratamiento específico, que ha de administrarse bajo supervisión médica<sup>3</sup>. Se ha reportado que sectores de la población afectada tienen poco acceso al tratamiento, otros son intolerantes a los fármacos disponibles y muchos pacientes abandonan el tratamiento cuando este es prolongado o causa efectos secundarios indeseables; por otra parte, han aparecido cepas resistentes o poco sensibles a un medicamento dado. Estos factores han estimulado la búsqueda de alternativas terapéuticas que sean

económicas, sin efectos adversos y con resultados cosméticos favorables.

En tal sentido y dada la importancia epidemiológica de la leishmaniasis, esta revisión aborda distintos tratamientos y estrategias, desarrollados para su tratamiento.

## **ESTRATEGIAS PARA EL TRATAMIENTO DE LA LEISHMANIASIS**

### **Drogas convencionales**

Antimoniales pentavalentes. Incluyen el antimonio de meglumina y el estibogluconato de sodio. Químicamente son similares y su toxicidad y eficacia están relacionadas con el contenido de antimonio  $Sb^{5+}$ : la solución de antimonio de meglumina contiene un 8,1% (81 mg/ml), mientras que la solución de estibogluconato de sodio contiene un 10% (100 mg/ml). Se administran mediante inyección vía intramuscular o intravenosa en infusión (en 5–10 ml) o inyección lenta con aguja fina (calibre 23–25; 0,6–0,5 mm) para evitar todo riesgo de trombosis. Estos fármacos ejercen un reconocido efecto leishmanicida, por lo que han sido durante mucho tiempo el tratamiento de referencia para la leishmaniasis. Sin embargo, se ha reportado la aparición de resistencia por parte del

parásito, además de que causa efectos adversos que incluyen anorexia, vómitos, náuseas, dolor abdominal, malestar, mialgias, artralgias, cefaleas, sabor metálico y letargo; las alteraciones electrocardiográficas dependen de la dosis y de la duración del tratamiento, siendo las más frecuentes la inversión de la onda T, la prolongación del intervalo QT y arritmias. Estos efectos colaterales pueden reducirse en el caso de la leishmaniasis cutánea, con la administración directa en las lesiones (inyección intralesional). La dosis recomendada es de 20 mg /día durante 20 días para la leishmaniasis cutánea ó 28 días para las formas mucocutánea y visceral de la enfermedad<sup>4</sup>. En cuanto a su mecanismo de acción, estos compuestos pueden inhibir la actividad oxidativa del ácido glicolítico y los ácidos grasos del parásito, resultando en la disminución de la síntesis de ATP y GTP. El proceso eventualmente conduce a la muerte del parásito; también se ha sugerido que la activación de células T es requerida para la acción de antimoniales pentavalentes y Miltefosina<sup>3, 5</sup>.

Anfotericina B. Es un antibiótico poliénico que se administra en forma de desoxicolato de anfotericina B, con efectos tóxicos considerable como fiebre alta, escalofríos, tromboflebitis de la vena inyectada y, más

graves, nefro toxicidad, hipo potasemia y miocarditis, que requieren la hidratación adecuada y la administración de suplementos de potasio y han llevado a la interrupción del tratamiento en algunos pacientes. Se recomienda la aplicación de una dosis de prueba de 1mg en infusión, seguida de una dosis plena 4 horas después, bajo el monitoreo de personal especializado <sup>3</sup>. Tiene una gran actividad leishmanicida debido a su unión con los precursores de ergosterol de la membrana, que trae como consecuencia su ruptura y la muerte del parásito. Su toxicidad se ha reducido a través de formulaciones lipídicas del antibiótico, como la amfotericina B liposomal, el complejo lipídico de amfotericina B o la dispersión coloidal de amfotericina B que se administran en infusión intravenosa durante 2 horas y tienen un mayor tiempo de vida media en el plasma que la droga original, pero resultan muy costosas y por tanto poco accesibles para gran parte de la población afectada. En estudios comparativos, se ha reportado una eficacia del 66,3% en el tratamiento con este antibiótico, respecto a 75,6 % en el tratamiento con antimoniales y 67,5% en el tratamiento con rifampicina <sup>6,7</sup>.

Miltefosina. Es un alquil fosfolípido (hexadecil fosfocolina) desarrollado inicialmente como antineoplásico oral. Su

mecanismo de acción consiste en inhibir la biosíntesis de los esteroides y fosfolípidos del parásito, afectando la permeabilidad de la membrana. Desde el 2002 se usa en India para tratar la leishmaniasis visceral y en América se emplea para lesiones cutáneas y mucocutánea, aunque con recaídas, especialmente en casos de Kala-Azar, y resultados excelentes pero transitorios en casos de leishmaniasis cutánea diseminada <sup>8,9</sup>. La Miltefosina produce episodios breves y transitorios de efectos gastrointestinales, tales como anorexia, náuseas, vómitos (38%) y diarrea (20%). También se pueden observar casos de alergia cutánea, elevación de las transaminasas hepáticas y, raramente, insuficiencia renal. Es potencialmente teratogénico y no debe utilizarse en embarazadas ni en mujeres en edad de procrear en las que no se pueda garantizar la anticoncepción durante el tratamiento y tres meses después del mismo. Este compuesto es administrado por vía oral, en un esquema con una dosis de 133-150 mg/día por 28 días, es especialmente efectivo contra infecciones por *L. panamensis* y contraindicado para *L. mexicana* debido a que ha generado resistencia. Su eficacia varía entre 66 y 93% <sup>10</sup>.

Isotionato y Mesilato de Pentamidina. Es un potente anti-protozoario y anti-fúngico. Su

uso es limitado debido a reacciones adversas graves, que incluyen pancreatitis (y la inducción de diabetes), nefrotoxicidad, alteraciones cardíacas (miocarditis), hipoglucemia grave y mialgias. Se aplica particularmente para el tratamiento de leishmaniasis cutánea en el Viejo Mundo y en Oriente Medio, bien sea en inyección, infusión intravenosa o pomada, especialmente para casos poco complicados, de corta evolución y sin riesgo de llegar a infecciones diseminadas y mucosas. Se han reportado porcentajes de curación de hasta 90%, pero hay estudios que reportan el surgimiento de resistencia que ha hecho necesario su uso en dosis más altas <sup>11, 12</sup>.

**Paramomicina.** La Paramomicina o Aminosidina es un antibiótico aminoglucósido que se administra generalmente por vía intramuscular en dosis de 15 mg/kg y 20 mg/kg como sulfato, ó 11 mg/kg y 15 mg/kg como base. Los efectos adversos son pocos: dolor leve en el lugar de la inyección, ototoxicidad reversible, nefrotoxicidad, hepatotoxicidad. La Paramomicina tópica parece tener actividad terapéutica contra la leishmaniasis cutánea del Viejo y del Nuevo Mundo, con reacciones locales aumentadas cuando se combina con cloruro de metilbenzetonio <sup>3</sup>. Se ha reportado que su aplicación tópica en mono terapia tiene un

efecto similar al de los antimoniales pentavalentes intralesionales en el tratamiento de la enfermedad del Viejo Mundo, al contrario de lo observado para la del Nuevo Mundo, donde, sin embargo, la eficacia fue similar pero en aplicación parenteral <sup>13</sup>.

### **Tratamientos físicos**

Debido a los efectos adversos y a las limitaciones reportadas en los tratamientos sistémicos o localizados con fármacos e inmunoterapia, se han desarrollado tratamientos físicos basados principalmente en la aplicación temporal y localizada de frío o calor, los cuales ocasionan pocos o nulos efectos nocivos y contraindicaciones.

**Termoterapia.** Se basa en la restricción de la multiplicación de los amastigotes a través de calor. Esto es posible debido a la sensibilidad del parásito a la temperatura, especialmente las especies *L. major*, *L. trópica* y *L. mexicana*. Para ello existen distintos métodos que incluyen compresas calientes, rayos infrarrojos alternados con luz ultravioleta y ultrasonido. Actualmente se dispone de un dispositivo que permite controlar perfectamente el calor aplicado; Thermomed TM es un aparato que genera temperaturas de hasta 50 °C. Los ensayos clínicos con esta terapia reportan porcentajes

de curación entre 70-98%, a través de sesiones que se realizan generalmente por 10 días consecutivos, durante los cuales (previa asepsia y administración de anestesia local con lidocaína al 2% sin epinefrina) los electrodos del aparato se colocan directamente sobre la lesión durante 10 a 30 segundos, permitiendo que las ondas de calor producidas mediante la tecnología de radiofrecuencia lleguen a las capas más profundas de la piel y los alrededores de la lesión, causando la destrucción de los amastigotes; seguidamente, se aplica un antibiótico (pomada de ácido fusídico) y se cubre la lesión con una gasa para prevenir infecciones secundarias<sup>14, 15, 16</sup>. Al comparar los resultados de este tratamiento con los del suministro de Miltefosina oral en pacientes colombianos, se observó que era más eficiente para el tratamiento de la leishmaniasis localizada, sin los efectos gastrointestinales adversos causados por la droga; los pacientes solo reportaron dolor en el área tratada, que pasó a los pocos días<sup>17</sup>. Este aparato ha sido aprobado por la FDA y se ha usado para el tratamiento de leishmaniasis cutánea y mucocutánea, no ocasiona cambios en la pigmentación de la piel ni la formación de queloides<sup>18</sup>.

Crioterapia. Para esta terapia se usa nitrógeno líquido, el cual se aplica

directamente sobre la lesión mediante un spray durante 10-15 segundos para asegurar la formación de hielo en el interior de las células, lo cual las destruye y produce necrosis isquémica local; esto se ha considerado como un efecto adverso, junto a la hipo pigmentación (en pacientes con pieles oscuras) o hiper pigmentación, eritema y edema de la zona circundante a la lesión. El número de sesiones varía dependiendo del tamaño y número de las lesiones, pudiendo llegar hasta 7 sesiones<sup>19, 20</sup>. Este tratamiento se recomienda en lesiones de poco tiempo (menos de tres meses) para asegurar una mayor eficacia, la cual, según distintos estudios, abarca entre 52,5% y 100%, alcanzando los porcentajes más altos cuando se le combina con antimoniales pentavalentes (estibogluconato sódico) intralesional<sup>21</sup>. Sin embargo, algunos investigadores han encontrado mejores resultados con la crioterapia que con el glucantime, sin los efectos secundarios adversos asociados al fármaco, señalando también que su efectividad es mayor al tratar lesiones cutáneas producidas por *L. major* y *L. donovani*<sup>19, 20, 22</sup>. El esquema combinado de crioterapia con glucantime intralesional también se ha propuesto para el tratamiento de la leishmaniasis producida por *L. infantum*, *L. chagasi* y *L. mexicana*, siempre

que el paciente sea inmuno- competente y no exista riesgo de que la enfermedad avance a la forma mucocutánea <sup>2</sup>.

Terapia fotodinámica o Fototerapia. Esta técnica se ha usado desde hace décadas para el tratamiento de cáncer, herpes, vitíligo y psoriasis, entre otras patologías dermatológicas; de allí que se haya probado para el tratamiento de lesiones localizadas de leishmaniasis. Combina un foto sensibilizador que se activa con luz a longitudes de onda de 600-800 nm, intensidades de 150 mW/cm<sup>2</sup>, interaccionando con el oxígeno molecular, originando foto oxidación y, en consecuencia, especies reactivas de oxígeno que interfieren con el funcionamiento normal de la célula y causan la citólisis de las leishmanias. Entre los agentes foto sensibilizadores que se han probado destacan el ácido delta-amino-levulínico, las ftalocianinas, las porfirinas y las fenotiaccinas <sup>23, 24</sup>. Particularmente, las fenotiaccinas han demostrado la estimulación de la respuesta inmune TH1 <sup>25</sup>. Otro foto sensibilizador que ha sido probado en hámsters es el azul de metileno, el cual ha mostrado baja toxicidad, activado con luz LED para el tratamiento de Leishmaniasis Cutánea Americana, observándose la reducción de las lesiones y de la carga parasitaria tras su aplicación <sup>26</sup>.

La fototerapia se ha usado para tratar leishmaniasis cutánea, especialmente en el Viejo Mundo. Recientemente, se realizó un estudio *in vitro* en un modelo murino, donde se evaluó el efecto de la fototerapia con luz UV y de nano-partículas de plata (obtenidas a partir de una solución de nitrato de plata); se encontró que la combinación de ambos factores tenía un mayor efecto anti-*Leishmania* que cuando se les usaba por separado, evidenciado a partir de la reducción de la carga parasitaria, del crecimiento de las lesiones de leishmaniasis cutánea y de la tasa de progresión a la forma visceral de la enfermedad <sup>27</sup>. Otros estudios compararon la fototerapia con la aplicación tópica de Paramomicina en el tratamiento de leishmaniasis cutánea del Viejo Mundo, reportando un porcentaje de curación mucho más alto con la primera (aproximadamente 90%) que con el antibiótico <sup>28, 29</sup>.

Láser de CO<sub>2</sub> fraccionado. Esta técnica está incluida dentro de la tecnología láser y foto termólisis fraccional, usada desde hace décadas para corregir imperfecciones de la piel. El láser fraccionado de CO<sub>2</sub> emite minúsculos haces de luz que penetran en la piel hasta la dermis en forma de cientos de columnas térmicas. Funciona mediante dióxido de carbono y emisión de calor concentrado en puntos muy pequeños que

evaporan las moléculas de agua del interior de la piel. Ha sido usado con éxito para suavizar las escaras, consecuencia de la leishmaniasis cutánea<sup>30</sup> y también solo o en combinación con otras terapias para el tratamiento de la enfermedad. En este sentido, Meymandi y cols.<sup>31</sup>, encontraron que la aplicación de esta terapia en pacientes con leishmaniasis cutánea era más efectiva, rápida y con menos efectos secundarios que la aplicación de crioterapia en combinación con glucantime intralesional<sup>31</sup>. Por su parte, Jaffary y cols.<sup>5</sup> reportaron que la efectividad fue similar en pacientes tratados con glucantime combinado con láser y glucantime combinado con ácido tricloro acético y láser (87 y 90 %, respectivamente), con el porcentaje más bajo en los pacientes tratados solo con el antimonial (38,5%) y que además el uso del láser aceleró el proceso de cicatrización<sup>5</sup>.

### Compuestos naturales

En la búsqueda de tratamientos con bajo costo, sin efectos secundarios y alta efectividad contra la leishmaniasis, se han probado distintas plantas en modelos *in vitro* y murinos, aplicando extractos crudos completos de origen vegetal o fracciones derivadas de esos extractos. Tal es el caso del *Tanacetum parthenium* (conocida como

matricaria, manzanilla criolla, hierba de Santa María, migraneta); de esta planta se han evaluado varias fracciones que mostraron efectos leishmanicida al ser inyectadas intralesionalmente, evidenciados a partir de la reducción de lesiones en las patas de ratones experimentales. Estos efectos también se observaron en modelos *in vitro*, tanto en promastigotes como en amastigotes, con baja toxicidad para macrófagos<sup>32, 33</sup>. Resultados similares se obtuvieron en modelos *in vitro* con las hojas del árbol tropical *Calophyllum brasiliense*, al aplicar el extracto crudo o la fracción correspondiente a la cumarina, compuesto fenólico sintetizado por las plantas para su defensa. Esta debe ser usada en forma tópica ya que la ingesta puede resultar severamente tóxica<sup>34</sup>.

Además de la cumarina, dentro de los compuestos orgánicos de origen vegetal, se han probado con éxito el parthenolide (partenolida) y el bisabolol, extraídos de distintas plantas (como la mencionada *Tanacetum parthenium*), los cuales tienen efecto sobre promastigotes y amastigotes intracelulares de *Leishmania amazonensis*. Se ha observado que afectan la membrana mitocondrial, lo que sugiere que actúan inhibiendo la actividad metabólica de los parásitos y el efecto tóxico en



macrófagos es bajo <sup>35, 36</sup>. La partenolida también tiene efectos anti-cancerígenos.

Otro compuesto vegetal probado para el tratamiento de la leishmaniasis es la artemisina, extraída de *Artemisia vulgaris* y *Artemisia annua* (artemisa, altamisa, hierba de San Juan); inicialmente, se ha usado con éxito para tratar el paludismo, incluso el resistente a la cloroquina. Varios investigadores han probado análogos de la artemisina para tratar la leishmaniasis, encontrando que son efectivos *in vitro*, en concentraciones micro molares, contra promastigotes y contra amastigotes infectando macrófagos de ratón, destacando que no tuvieron efecto en la viabilidad de los macrófagos. Igualmente se ha reportado la reducción de lesiones plantares en ratones BALB/C infectados con *L. major*, asociada a la reducción de la carga parasitaria. Aunque la administración por vías oral e intramuscular resultó efectiva, el mejor efecto se ha observado con la inyección intralesional. Otros compuestos aislados de *Artemisa sp* y evaluados para tratar la leishmaniasis son el artemether (arteméter) y el artesunato, de los cuales solo el primero tuvo efecto leishmanicida <sup>37, 38</sup>. Se ha propuesto que el mecanismo de acción de la artemisina y sus derivados contra el paludismo se asocia a la presencia de un

puente peróxido inusual en su estructura química que le permite alterar el equilibrio redox de las células; particularmente, en *Tripanosoma cruzi* y *Tripanosoma brucei rhodesiense*, la artemisina inhibió el crecimiento *in vitro* y la actividad ATPasa calcio-dependiente de las membranas de los parásitos, lo que sugiere un mecanismo de acción vía bombas de membrana para este compuesto <sup>39</sup>.

En Brasil se evaluó la actividad leishmanicida de *Arrabidaea chica* (carayurú, bejuco de hierro), una planta medicinal usada para distintas enfermedades en ese país. Se encontró que varias fracciones del extracto hexánico causaron importantes alteraciones ultra estructurales en promastigotes y amastigotes de *Leishmania amazonensis* y *L. infantum*, especialmente inflamación mitocondrial con pérdida del contenido de la matriz y la presencia de vesículas en el interior del organelo, acompañadas de la pérdida de viabilidad de los parásitos. Una de las fracciones (B2) inhibió completamente la actividad peptidasa de los promastigotes a pH 5.5 <sup>40</sup>.

También se ha reportado actividad farmacológica de alcaloides extraídos de *Ervatamia coronaria* (Jacq) (jasmín crepé, flor del molinete) contra amastigotes de *L.*

*braziliensis*, en concentraciones muy bajas, sin toxicidad para macrófagos <sup>41</sup>.

En zonas rurales de Venezuela afectadas por esta enfermedad, se han usado infusiones, cataplasmas y cocimientos (para lavar las lesiones) de distintas plantas típicas. Esto se refleja en un estudio realizado por Rojas y cols.<sup>42</sup> en el estado Trujillo, quienes explican que de 26 plantas usadas por los pacientes, la única con efecto leishmanicida comprobado fue el ajo (*Allium sativum*); el resto mostró actividad analgésica, anti-inflamatoria, bactericida y/o cicatrizante, destacando la sábila, la manzanilla y el romero que han sido recomendados como complementarios para la limpieza de las lesiones <sup>42</sup>.

### Vacunas

La vacunación ha sido considerada como la estrategia más apropiada para la prevención y tratamiento seguro de todas las formas de la leishmaniasis, por lo que el desarrollo de una vacuna segura, eficaz y asequible es para muchos el enfoque más prometedor y una de las prioridades mundiales en salud pública <sup>43</sup>. Se han desarrollado distintos tipos de vacunas. Las primeras, consistían en parásitos completos o fragmentos de los mismos, luego se aplicó la tecnología ADN recombinante para

producir vacunas basadas en proteínas combinadas con adyuvantes y finalmente se evalúan vacunas basadas en ADN.

Considerando que el vector inyecta saliva junto con el parásito y que ésta modifica el medio ambiente en el sitio de la inoculación, se comenzó a probar el efecto de la saliva o de preparados con glándulas salivares de los insectos en la respuesta a la infección por *Leishmania*. Se observó que ratones inmunizados con el homogenato de glándulas salivares de *Phlebotomus papatasi* (vector del parásito en el Viejo Mundo) eran protegidos contra la infección con *L. major*, mientras que la inmunización con el homogenato de las glándulas de *Lutzomyia intermedia* (vector en el Nuevo Mundo) exacerbó la infección con *L. braziliensis*. Entonces, se construyó y secuenció cDNA de las glándulas salivares de *Lutzomyia intermedia* y se identificaron los transcritos y proteínas más abundantes para evaluar su inmunogenicidad, observando que el plásmido denominado Linb-11, codificando a una proteína de 4.5 kDa, inducía la respuesta inmune celular y confería protección contra la infección por *L. braziliensis*; esta protección se correlacionó con una menor carga de parásitos y una mayor producción celular de IFN- $\gamma$ . Estudios con resultados similares se realizaron con la saliva y glándulas salivares

de *Lu. longipalpis*, sugiriendo que estos preparados con glándulas o proteínas particulares de la saliva de vectores pueden ser usados en vacunas contra la leishmaniasis <sup>44, 45, 46</sup>.

También se han elaborado vacunas con parásitos vivos o atenuados, extractos de parásitos o parásitos enteros muertos. De esta manera se desarrollaron vacunas contra la leishmaniasis cutánea en Brasil, Colombia, Ecuador, República Islámica de Irán y Venezuela, así como contra la leishmaniasis visceral en Sudán. Destacan la vacuna Mayrink elaborada con *L. amazonensis* en Brasil, la vacuna Convit elaborada con *L. mexicana* en Venezuela y la vacuna del Instituto Razi elaborada con *L. major* en la República Islámica de Irán, las cuales han tenido resultados poco satisfactorios a nivel de profilaxis pero muy favorables a nivel terapéutico <sup>3</sup>.

Particularmente, en el Instituto de Biomedicina bajo la dirección del Dr. Jacinto Convit, se elaboraron esquemas de inmunización con promastigotes de *Leishmania braziliensis* autoclavados más bacilos de Calmette-Guerin (BCG), con fines profilácticos y terapéuticos. Los investigadores responsables explicaron que este protocolo fue usado por el Ministerio del Poder Popular para la Salud (MPPS) como

tratamiento de primera elección ante la leishmaniasis cutánea durante más de dos décadas y que su efectividad estaba modelada por factores demográficos, clínicos, inmunológicos y de adherencia al tratamiento, con una trama relacional entre ellos; sin embargo, en términos generales, conducía a altos porcentajes de curación, además de ser económico, con escasos efectos colaterales y de buena aplicación operacional. Esta inmunoterapia resultó de años de experimentación y observaciones en esta enfermedad y en lepra. Se observó la estimulación del sistema inmunológico de los pacientes, a partir de la respuesta tipo Th1, la producción de IFN- $\gamma$  y la ausencia de IL-4, con un tiempo promedio de curación de 5,3 meses. A pesar de que este tiempo en pacientes tratados con Glucantime fue menor (2,5 meses), los investigadores resaltan las ventajas de la inmunoterapia sobre la droga, especialmente el menor costo y la eliminación de efectos secundarios <sup>47, 48, 49, 50</sup>.

Con promastigotes vivos y virulentos se realizaron protocolos de vacunación en Unión Soviética e Israel, en un proceso conocido como leishmanización que resultó relativamente exitoso; sin embargo, fue suspendido en la década de los 90 debido a los problemas que presentaba, incluyendo el desarrollo de numerosas lesiones en piel así

como lesiones que no sanaban, inmunosupresión, exacerbación de psoriasis y otras enfermedades dérmicas en algunos pacientes <sup>51</sup>.

Vacunas basadas en parásitos atenuados bioquímicamente o con radiación han sido probadas en modelos animales (ratones y hámster), observándose que conferían buena protección contra la enfermedad debido a la generación de una respuesta inmune robusta en el hospedador. Tal respuesta es consecuencia de que la incorporación de los parásitos atenuados por parte de las células hospedadoras ocurre de manera similar a la de los parásitos vivos, pero con una mayor persistencia y sin el riesgo de replicación, aunque se ha considerado la posibilidad de recuperación de la virulencia, limitando o restringiendo la aplicación de este tipo de vacunas en humanos <sup>52</sup>. Sin embargo, esta limitación puede ser eliminada con el desarrollo de parásitos mutantes. En este sentido, como estrategia profiláctica y terapéutica, se han producido leishmanias modificadas genéticamente (en las que se eliminan o bloquean genes de virulencia) que apenas causan infección o enfermedad, demostrándose que la vacunación con este material induce una respuesta protectora frente a la exposición a parásitos vivos en modelos murinos, por lo que los

investigadores destacan el potencial beneficio que pudiera tener para la prevención de la enfermedad en humanos. Otra de las ventajas de las inmunizaciones con este material es que implican muchos más antígenos del parásito que aquellas basadas en fracciones, subunidades o antígenos recombinantes, pero tienen la desventaja de la logística e inversión para su producción a gran escala y la distribución en el campo. Las secuencias eliminadas en estas leishmanias modificadas genéticamente incluyen la dihidrofolato reductasa, la biopterina reductasa y cisteín-proteasas <sup>53, 54, 55, 56</sup>.

Las vacunas terapéuticas también se han usado en combinación con quimioterapia, ya que al efecto leishmanicida de la droga se suma el estímulo de la respuesta inmunitaria. En Venezuela, se probó la administración de tres inyecciones de la vacuna Convit (*L. mexicana* autoclavada y mezclada con BCG), seguida por quimioterapia con glucantime (aplicado en dosis menores a las establecidas) en aquellos pacientes con baja respuesta a la vacuna, observando altas tasas de curación de la forma cutánea de la enfermedad. En Brasil, el esquema consiste en dosis diarias repetidas de la vacuna Mayrink junto con una pequeña dosis de antimoniales (8 mg/kg/día) durante 10 días,

seguidas de 10 días de descanso; esta vacuna se ha registrado en Brasil como complemento de la quimioterapia con dosis bajas, reportando incremento de la respuesta inmunológica y la reducción de los efectos secundarios provocados por las dosis establecidas de antimoniales<sup>3</sup>.

Por su parte, Soudi y cols.<sup>57</sup> probaron el efecto profiláctico de la administración de promastigotes autoclavados de *L. major* en combinación con aluminio como adyuvante, un mes después de la aplicación rectal o subcutánea de BCG en ratones BALB/c. Tres semanas después de la vacunación, inocularon promastigotes vivos en la almohadilla plantar de los ratones vacunados. Observaron que este esquema de administración de BCG (particularmente en forma rectal) en combinación con los promastigotes autoclavados estimuló la respuesta inmunológica tipo 1 contra la infección con *L. major*, sin efectos secundarios considerables, resaltando su potencial para la prevención de infecciones en poblaciones humanas de riesgo<sup>57</sup>. Se ha señalado que el éxito de estas vacunas basadas en parásitos muertos o atenuados puede depender de las prácticas de manufactura, del tiempo y las condiciones de almacenamiento del material<sup>58</sup>.

Sin embargo, Rezvan y Moafi<sup>43</sup>, mencionan que este tipo de inmunizaciones no siempre es exitoso y que ha habido casos donde la respuesta frente a la coadministración de BCG y promastigotes de *Leishmania* no difiere de aquella frente a la administración de BCG solo<sup>43</sup>. Otros investigadores reportaron que el efecto profiláctico es mayor al administrar fracciones de los promastigotes, especialmente antígenos de membrana, en lugar de promastigotes completos, combinadas con adyuvantes de baja o nula toxicidad como un lipopolisacárido de la bacteria *Salmonella minnesota* (monohosphoryl Lipid A) o liposomas catiónicos<sup>59, 60</sup>.

Así mismo, se ha evaluado la inmunización con una glicoproteína de membrana de 63 KDa (gp63) que es reconocida por receptores presentes en macrófagos, células dendríticas y células *natural killer*, incluida en la activación de la respuesta inmune innata ante la infección por el parásito. Al probar la efectividad de la inmunización con esta proteína en sus formas nativa y recombinante (rgp63), un grupo de investigadores encontró que la forma nativa no estimuló la proliferación de linfocitos T protectores, al contrario de la forma recombinante, tanto en la enfermedad

activa como en la curada; otros investigadores señalan a la forma nativa de esta glicoproteína como un buen material para inmunización si se usa en combinación con el adyuvante apropiado, especialmente liposomas catiónicos, ya que de esta manera estimula la producción de IFN- $\gamma$ , la disminución de IL-4 implicada en la diferenciación de clonas Th2 (para la exacerbación de la enfermedad) y la activación de células T cito tóxicas CD8+, lo cual se reflejó experimentalmente en el control de la progresión de la enfermedad y de la carga parasitaria en ratones vacunados<sup>61, 62</sup>. El mismo efecto se ha observado en modelos murinos con vacunas basadas en la proteína LACK (*Leishmania* homologue receptors of activated C kinase), expresada tanto en amastigotes como en promastigotes de *Leishmania*, la cual parece estar implicada en la unión del parásito a los macrófagos, y también con la proteína de fusión GP46/M2 desarrollada a partir de la GP46 de función desconocida y el antígeno 2 de superficie del parásito PSA-2<sup>63, 64, 65, 66</sup>.

En general, la inconsistencia en cuanto a eficacia o, bien, las variaciones en la respuesta observada en distintos estudios pueden deberse a las diferencias en los protocolos de vacunación, incluyendo adyuvantes, dosis, fracción o antígeno

usado, tipo de leishmaniasis y especie de *Leishmania*, además de las condiciones del paciente y el tiempo de evolución de la enfermedad.

Actualmente, se dispone de una vacuna basada en ADN que ha avanzado en las pruebas para su validación y aplicación en esquemas de vacunación. Se trata de la Leish 111 ó Leish-f1 desarrollada en "The Infectious Disease Research Institute" (IDRI, Seattle, USA).

LEISH-F1 es una proteína de fusión compuesta por tres poli péptidos en tándem, estabilizados en un liposoma (monofosforil lípido A, MPL-SE); el homólogo del antioxidante específico de tiol eucariota (TSA) de *L. major*, la proteína-1 inducible por estrés de *L. major* (LmSTI1) y el factor de iniciación y elongación de *L. braziliensis* (LeIF); en consecuencia, estas proteínas están presentes en muchas especies de *Leishmania*, incluyendo *L. donovani* y *L. chagasi* del Viejo Mundo y *L. braziliensis*, del Nuevo Mundo. Los ensayos de fase I con esta vacuna se completaron en los Estados Unidos, Colombia, Brasil, Perú e India, y demostraron seguridad e inmunogenicidad en poblaciones endémicas y no endémicas. Además, su administración acorta el tiempo de curación cuando se aplica en combinación con la quimioterapia convencional. En vista

de estos resultados, IDRI mejoró el diseño de la vacuna eliminando una cola de histidina N-terminal para acercarla más a la molécula a su forma natural y adecuarla a los requerimientos de las agencias reguladoras, pasando a la fase II de ensayos clínicos. Por otra parte, actualmente, se está evaluando en fase I la vacuna LEISH-F3 en la que se fusionan los marcos abiertos de lectura del gen nucleósido hidrolasa (NH) de *L. donovani* y esterol 24-c-metiltransferasa (SMT) de *L. infantum*, formulada en una nanoemulsión estable en agua de gluco-piranosil lípido A y el “Toll-like 4 TH1 (T helper 1) receptor” como adyuvante, que lleva por siglas GLA-SE, la cual ya había sido probada en modelos murinos y ha mostrado ser segura e inmunogénica contra la leishmaniasis visceral, con la ventaja de que requiere ser aplicada en dosis más bajas que sus antecesoras<sup>63, 64, 67, 68, 69</sup>.

Otra vacuna de tercera generación evaluada en humanos, consiste en el adenovirus de simio ChAd63 para la co-expresión de dos antígenos de *Leishmania*, cuya eficacia ha sido demostrada en modelos preclínicos: La proteína de superficie acilada hidrófila B (HASP B), altamente inmunogénica, contra la que se producen anticuerpos en los sueros de pacientes con leishmaniasis cutánea y

visceral y la proteína de membrana 11 (KMP11), altamente conservada, presente en todos los miembros de la familia Kinetoplastidae, que se expresa en promastigotes y amastigotes y se perfila como una fuerte candidata para la prevención y tratamiento de la forma visceral de la enfermedad. Los investigadores señalan que la vacuna es segura e induce altos niveles de células T CD8+, correspondiente a una respuesta inmune innata que involucra células dendríticas activadas<sup>70, 71</sup>.

Una estrategia alternativa para la prevención de esta enfermedad ha sido a través del control en reservorios. En este sentido, en Brasil se desarrolló y probó una vacuna canina en un área endémica para leishmaniasis visceral. La vacuna recombinante Leish-Tec(®) basada en el antígeno A2 específico del estadio amastigote de *Leishmania donovani*, demostró ser significativamente efectiva para la profilaxis de la leishmaniasis visceral canina, a partir de la marcada reducción del número de casos observado en el grupo vacunado en comparación al grupo placebo<sup>72</sup>.

### CONCLUSIONES

Dada la importancia de la Leishmaniasis en salud pública alrededor del mundo, son de gran interés los estudios e investigaciones en torno a su tratamiento. Las distintas estrategias desarrolladas tienen ventajas pero también limitaciones derivadas de diversos factores que incluyen el estado inmunológico del paciente, tipo de leishmaniasis, número, tamaño y tiempo de evolución de las lesiones, parásito involucrado, costo del tratamiento y accesibilidad para los pacientes y la toxicidad de las drogas. Estos factores determinan la factibilidad y eficacia de aplicación de terapias físicas, así como de las distintas drogas leishmanicidas. De ello dependerá el éxito de una monoterapia o de terapias combinadas en las que, por ejemplo, se empleen dos fármacos, un fármaco y una terapia física o un esquema de inmunización combinado con la administración de quimioterapia. En general los tratamientos físicos en aquellos casos donde su uso no está contraindicado (cuando no hay riesgo de diseminación de los parásitos o de progreso a formas de leishmaniasis más complejas), han resultado exitosos, especialmente contra especies del Viejo Mundo, eliminando efectos nocivos de las drogas leishmanicidas; estos efectos nocivos se han

reducido cuando es posible la aplicación intralesional o el uso combinado de los fármacos con terapias físicas, ya que se reduce la concentración de la droga y el tiempo de aplicación o número de dosis. Sin embargo, la mayor desventaja de la quimioterapia es el desarrollo de resistencia por parte del parásito. En este punto, es importante destacar las ventajas de las vacunas frente a la generación de esta resistencia, las cuales, además, han sido desarrolladas con fines profilácticos y terapéuticos para actuar sobre distintas especies del parásito y/o tipo de leishmaniasis, y han sido objeto de varias modificaciones con el paso del tiempo para eliminar las limitaciones o desventajas que presentaban inicialmente respecto a los riesgos de generación de virulencia a partir de su aplicación. Como se mencionó, se han aplicado solas o en combinación con quimioterapia; actualmente, las pruebas clínicas de vacunas recombinantes están muy avanzadas y las principales limitaciones de esta herramienta contra la leishmaniasis residen en la logística para su elaboración, aplicación en campo, estabilidad y el costo que implican. Por otra parte, son abundantes los estudios realizados con especies vegetales tóxicas para las leishmanias debido a su bajo costo e inocuidad para el



hospedador mamífero; la mayoría de estos compuestos son usados para tratar otras patologías, incluyendo cáncer, probablemente debido a que su mecanismo de acción implica la activación o fortalecimiento de la respuesta inmunológica del paciente así como la inhibición del proceso de inflamación crónica, subyacente en distintas enfermedades. En base a las características y resultados de los distintos tratamientos, una aproximación eficiente implica la combinación de la activación o fortalecimiento de la respuesta inmune ante la infección por *Leishmania* y el uso simultáneo de un compuesto con actividad leishmanicida, lo cual dificultaría el desarrollo de resistencia por parte del parásito.

## REFERENCIAS

1. Organización Panamericana de la Salud (OPS). Leishmaniasis en las Américas para los trabajadores de salud pública; 2017.
2. Hodiamont C, Kager P, Bart A, de Vries H, van Thiel P, Leenstra T, de Vries P, van Vugt M, Grobusch M, van Gool T. Species-directed therapy for leishmaniasis in returning travellers: a comprehensive guide. PLoS Negl Trop Dis [Internet]. 2014 [citado Enero 2018]; 8(5):e2832. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24787001>.
3. Organización Mundial de la Salud (OMS). Serie de Informes Técnicos 949 Informe del Comité de Expertos de la OMS sobre las leishmaniasis; 2010.
4. Herwaldt B, Berman J. Recommendations for treating leishmaniasis with sodium stibogluconate (Pentostam) and review of pertinent clinical studies. Am J Trop Med Hyg. 1992; 46: 296-306.
5. Jaffary F, Nilforoushzadeh M, Siadat A, Haftbaradaran E, Ansari N, Ahmadi E. A Comparison between the Effects of Glucantime, Topical Trichloroacetic Acid 50% Plus Glucantime, and Fractional Carbon Dioxide Laser Plus Glucantime on Cutaneous Leishmaniasis Lesions. Dermatology Research and Practice [Internet]. 2016[Citado Enero 2018]; 2016: 6462804. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4842369/>
6. López L, Higuera L, Cardona J. Eficacia de Anfotericina B y Rifampicina en el Tratamiento de la Leishmaniasis Cutánea: Metanálisis. Archivos de Medicina [Internet]. 2016 [Citado Enero 2018]; 12(4:7). Disponible en: <https://www.archivosdemedicina.com/medicina-de-familia/eficacia-de-anfotericina-b-y-rifam...>
7. Hernández F, Morales A, Zamora Ch. Leishmaniasis visceral tratada con anfotericina B. Bol Med Hosp Infant Mex. 2007; 64: 43-48.
8. Rai K, Cuyppers B, Raj Bhattarai N, Uranw S, Berg M, Ostyn B, Dujardin JC, Rijal S, Vanaerschota M. Relapse after Treatment with Miltefosine for Visceral Leishmaniasis Is Associated with Increased Infectivity of the Infecting *Leishmania donovani* Strain. mBio [Internet]. 2013 [Citado Enero 2018]; 4(5):

- e00611-13. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3791894/>
- 9.Ordaz A, Muñoz F, Sevilla F, Arana A, Ocampo J, Treviño N, Becker I, Camacho A. Case Report: Transient Success Using Prolonged Treatment with Miltefosine for a Patient with Diffuse Cutaneous Leishmaniasis Infected with *Leishmania mexicana mexicana*. *Am J Trop Med Hyg.* 2013; 88(1):153–156.
- 10.Soto J, Toledo J, Gutierrez P, Nicholls R, Padilla J, Engel J, Fischer C, Voss A, Berman J. Treatment of American Cutaneous Leishmaniasis with Miltefosine. An Oral Agent. *Clin Infect Dis.* 2001; 33: 57-61.
- 11.van der Meide W, Sabajo L, Jensema A, Peekel I, Faber W, Schallig H, Fat R. Evaluation of treatment with pentamidine for cutaneous leishmaniasis in Suriname.*Int J Dermatol.* 2009;48(1):52-58.
- 12.Fat E, Vrede M, Soetosenojo R, Fat R.Pentamidine, the drug of choice for the treatment of cutaneous leishmaniasis in Surinam.*Int J Dermatol.* 2002; 41(11):796-800.
- 13.Kim D, Chung H, Bleys J, Ghohestani R.Is paromomycin an effective and safe treatment against cutaneous leishmaniasis? A meta-analysis of 14 randomized controlled trials.*PLoS Negl Trop Dis* [Internet]. 2009 [Citado Enero 2018].;3(2):e381.Disponible en: <https://journals.plos.org/plosntds/article?id=10.1371/journal..>
- 14.Reithinger R, Mohsen M, Wahid M, Bismullah M, Quinnell R, Davies C, Kolaczinski J, David J. Efficacy of thermotherapy to treat cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania tropica* in Kabul, Afghanistan: a randomized, controlled trial. *Clin Infect Dis.* 2005; 40(8): 1148-1155.
- 15.López L, Robayo M, Vargas M, Vélez I. Thermotherapy. An alternative for the treatment of American cutaneous leishmaniasis. *Trials* [Internet]. 2012 [Citado Enero 2018]; 13:58. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22594858>
- 16.Bumb RA, Prasad N, Khandelwal K, Aara N, Mehta RD, Ghiya BC, Salotra P, Wei L, Peters S, Satoskar AR. Long-term efficacy of single-dose radiofrequency-induced heat therapy vs. intralesional antimonials for cutaneous leishmaniasis in India. *Br J Dermatol.* 2013; 168: 1114-1119.
- 17.López L, Cruz C, Godoy G, Robledo S, Vélez I. Thermotherapy effective and safer than miltefosine in the treatment of cutaneous leishmaniasis in Colombia. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 2013; 55(3):197-204.
- 18.Cardona-Arias J, Vélez I, López-Carvajal I. Efficacy of Thermotherapy to Treat Cutaneous Leishmaniasis: A Meta-Analysis of Controlled Clinical Trials. *PLoS One* [Internet]. 2015 [Citado Enero 2018]; 10(5): pp. e0122569. Disponible en: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone..>
- 19.Mosleh I, Geith E, Natsheh L, Schönian G, Abotteen N, Kharabsheh S. Efficacy of a weekly cryotherapy regimen to treat *Leishmania major* cutaneous leishmaniasis. *J Am Acad Dermatol.* 2008; 58: 617-624.

20. Ranawaka R, Weerakoon H, Opathella N. Liquid nitrogen cryotherapy on *Leishmania donovani* cutaneous leishmaniasis. *J Dermatolog Treat.* 2011; 22: 241-245.
21. Gurei M, Tatli N, Ozbilge H, Erel O, Seyrek A, Kocyigit A, Ulukanligil M. Efficacy of cryotherapy and intralesional pentostam in treatment of cutaneous leishmaniasis. *J Egypt Soc Parasitol.* 2000; 30(1):169-76.
22. Layegh P, Pezeshkpoor F, Soruri A, Naviafar P, Moghiman T. Efficacy of Cryotherapy versus Intralesional Meglumine Antimoniate (Glucantime) for Treatment of Cutaneous Leishmaniasis in Children. *Am J Trop Med Hyg.* 2009; 80: 172-175.
23. Taylor V, Cedeño D, Robledo S. Fototerapia para el tratamiento de la leishmaniasis cutánea. *Infectio.* 2011; 15(4): 277-288.
24. Enk C, Fritsch C, Jonas F, Nasereddin A, Ingber A, Jaffe C, Ruzicka T. Treatment of Cutaneous Leishmaniasis With Photodynamic Therapy. 2003. *Arch Dermatol.* 2003; 139(4):432-434.
25. Akilov O, Kosaka S, O'Riordan K, Hasan T. Photodynamic therapy for cutaneous leishmaniasis: the effectiveness of topical phenothiaziniums in parasite eradication and Th1 immune response stimulation. *Photochem Photobiol Sci.* 2007; 6(10):1067- 1075.
26. Peloi L, Guerino C, Kimura E, Politi M, Campana M, Alessi S, Coeli R, Gomes T, Hioka N. Photodynamic therapy for American cutaneous leishmaniasis: The efficacy of methylene blue in hamsters experimentally infected with *Leishmania* (*Leishmania*) *amazonensis*. *Experimental Parasitology.* 2011; 128: 353-356.
27. Mayelifar K, Taheri A, Rajabi O, Sazgarnia A. Ultraviolet B efficacy in improving antileishmanial effects of silver nanoparticles. *Iran J Basic Med Sci.* 2015; 18: 677-683.
28. Gardlo K, Horska Z, Enk C, Rauch L, Megahed M, Ruzicka T, Fritsch C. Treatment of cutaneous leishmaniasis by photodynamic therapy. *J Am Acad Dermatol.* 2003; 48:893- 896.
29. Asilian A, Davami M. Comparison between the Efficacy of Photodynamic Therapy and Topical Paromomycin in the Treatment of Old World Cutaneous Leishmaniasis: A Placebo-Controlled, Randomized Clinical Trial. *Clinical and Experimental Dermatology.* 2006; 31(5): 634-637.
30. Alghamdi K. Successful Treatment of Atrophic Scars from Cutaneous Leishmaniasis using a Fractional Laser. *Journal of Cutaneous Medicine and Surgery.* 2010; 14(6): 303-306.
31. Meymandi S, Zandi S, Aghaie H, Heshmatkhah A. Efficacy of CO(2) Laser for Treatment of Anthroponotic Cutaneous Leishmaniasis, Compared with Combination of Cryotherapy and Intralesional Meglumine Antimoniate. *JEADV.* 2011; 25(5): 587-591.
32. Rabito M, Britta E, Pelegri B, Scariot D, Almeida M, Nixdorf S, Nakamura C, Ferreira I. *In vitro* and *in vivo* antileishmania activity of sesquiterpene lactone-rich dichloromethane fraction obtained from *Tanacetum parthenium* (L.) Schultz-Bip. *Exp Parasitol.* 2014; 143:18-23.

33. da Silva B, Cortez D, Violin T, Dias B, Nakamura C, Ueda-Nakamura T, Ferreira I. Antileishmanial activity of a guaianolide from *Tanacetum parthenium* (L.) Schultz Bip. *Parasitol International*. 2010; 59(4): 643-646.
34. Brenzan M, Nakamura C, B, Ueda-Nakamura T, Young M, Garcia A. Antileishmanial activity of crude extract and coumarin from *Calophyllum brasiliense* leaves against *Leishmania amazonensis*. 2007; *Parasitology Research*, 101(3): 715-722.
35. Rottini M, Amaral A, Ferreira J, Silva J, Taniwaki N, Souza S, d'Escoffier L, Almeida F, Haroim J, Gonçalves S, Calabrese S. In vitro evaluation of (-)- $\alpha$ -bisabolol as a promising agent against *Leishmania amazonensis*. *Exp Parasitol*. 2015;148: 66-72.
36. Tiuman T, Ueda T, Alonso A, Nakamura C. Cell death in amastigote forms of *Leishmania amazonensis* induced by parthenolide. *BMC Microbiol* [Internet]. 2014 [Citado Enero 2018];14:152. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24913205>
37. Avery M, Muraleedharan K, Desai P, Bandyopadhyaya A, Furtado M, Tekwani B. Structure-activity relationships of the antimalarial agent artemisinin. Design, synthesis, and CoMFA studies toward the development of artemisinin-based drugs against leishmaniasis and malaria. *J Med Chem*. 2003; 46:4244–4258.
38. Yang D, Liew F. Effects of qinghaosu (artemisinin) and its derivatives on experimental cutaneous leishmaniasis. *Parasitology*. 1993; 106:7–11.
39. Mishina Y, Krishna S, Haynes R, Meade J. Artemisinins Inhibit *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma brucei rhodesiense* In Vitro Growth. *Antimicrobial agents and Chemotherapy*. 2007; 51(5): 1852-1854.
40. Rodrigues I, Azevedo M, Chaves F, Alviano C, Alviano D, Vermelho A. *Arrabidaea chica* Hexanic Extract Induces Mitochondrion Damage and Peptidase Inhibition on *Leishmania* spp. *BioMed Research International* [Internet]. 2014 [Citado Enero 2018]; 2014: 985171. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24818162>
41. Rodríguez A, Robles J, Bello F. Actividad *in vitro* de la mezcla de alcaloides de *Ervatamiacoronaria* (Jacq) Staff. *Apocynaceae* sobre amastigotes de *Leishmania braziliensis*. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*. 2008; 18(3): 350-355.
42. Rojas E, Morales C, Juárez E, Pineda N. Tratamiento de la leishmaniasis cutánea con plantas medicinales en trujillo, Venezuela. *Academia*. 2006; 19-25.
43. Rezvan H, Moafi M. An overview on *Leishmania* vaccines: A narrative review article. *Veterinary Research Forum*. 2015; 6 (1): 1–7.
44. De Moura T, Oliveira F, Carneiro M, Miranda J, Clarencio J, Barral-Netto M, Brodskyn C, Barral A, Ribeiro J, Valenzuela J, de Oliveira C. Functional transcriptomics of wild-caught *Lutzomyia intermedia* salivary glands: Identification of a protective salivary protein against *Leishmania braziliensis* infection. *PLoS Negl Trop Dis* [Internet]. 2013 [Citado Enero

- 2018]; 7(5): e2242. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23717705>.
45. Marzouki S, Ben Ahmed M, Boussoffara T, Abdeladhim M, Ben Aleya-Bouafif N, Namane A, Hamida N, Ben Salah A, Louzir H. Characterization of the antibody response to the saliva of *Phlebotomus papatasi*, in people living in endemic areas of cutaneous leishmaniasis. *Am J Trop Med Hyg.* 2014; 84: 653-661.
46. Carregaro V, Costa D, Brodskyn C, Barral AM, Barral-Netto M, Cunha F, Silva J. Dual effect of *Lutzomyia longipalpis* saliva on *Leishmania braziliensis* infections mediated by distinct saliva-induced cellular recruitment into Balb/c mice ear. *BMC Microbiol* [Internet]. 2013 [Citado Enero 2018]; 13:102. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3655920/>
47. Rojas M, Quiñones A, Rondón A, Landaeta M. Comparación del tratamiento Glucantime y/o Inmunoterapia en distintos grupos de edades con Leishmaniasis Tegumentaria Americana. *Derm Venez.* 1997; 35:137-141.
48. Convit J, Ulrich M, Castellanos P, Castés M, Pinardi M, De Lima H, Zerpa O, Hernández N, Herz A. Desarrollo de inmunoterapia de la leishmaniasis cutánea americana en el Instituto de Biomedicina. *Gac Méd.* 1996; 104(3):232-246.
49. Cabrera M, Blackwell J, Castes M, Trujillo D, Convit J, Shaw M. Immunotherapy with live BCG plus heat killed *Leishmania* induces a T helper 1-like response in American cutaneous leishmaniasis patients. *Parasite Immunol.* 2000; 22:73–79.
50. Carrero J, Borges R, Convit J, Avilán J, De Lima H. Inmunoterapia de la leishmaniasis cutánea: factores que influyen su efectividad. *Bol Mal Salud Amb.* 2011, 51(1): 25-33.
51. Handman E. Leishmaniasis: current status of vaccine development. *Clin Microbiol Rev.* 2001; 14, 229–243.
52. Rivier D, Bovay P, Shah R, Didisheim S, Mauel J. Vaccination against *Leishmania major* in a CBA mouse model of infection: role of adjuvants and mechanism of protection. *Parasite Immunol.* 1999; 21(9): 461-473.
53. Veras P, Brodskyn C, Balestieri F, Freitas L, Ramos A, Queiroz A, Barral A, Beverley S, Barral M. A dhfr-ts-*Leishmania major* knockout mutant cross-protects against *Leishmania amazonensis*. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1999; 94: 491–496.
54. El Fadili A, Kundig C, Roy G, Ouellette M. Inactivation of the *Leishmania tarentolae* Pterin Transporter (BT1) and Reductase (PTR1) Genes Leads to Viable Parasites with Changes in Folate Metabolism and Hypersensitivity to the Antifolate Methotrexate. *J Biol Chem.* 2004; 279(18):18575-18582.
55. Carrión J, Folgosa C, Soto M, Fresno M, Requena J. *Leishmania infantum* HSP70-II null mutant as candidate vaccine against leishmaniasis: a preliminary evaluation. *Parasites and Vectors.* 2011, 4:150.
56. Pereira L, Abbehusen M, Teixeira C, Cunha J, Nascimento IP, Fukutani K, Washington dos-Santos, Aldina Barral, Camila Indiani de Oliveira,

- Manoel Barral-Netto, Manoel Soto, Cláudia Ida Brodskyn. Vaccination with *Leishmania infantum* Acidic Ribosomal P0 but Not with Nucleosomal Histones Proteins Controls *Leishmania infantum* Infection in Hamsters. PLoS Negl Trop Dis [Internet]. 2015 [Citado Enero 2018]; 9(2): e0003490. Disponible en: <https://journals.plos.org/plosntds/article?id=10.1371/journal...>
57. Soudi S, Hosseini A, Hashemi S. Co-administration of rectal BCG and autoclaved *Leishmania major* induce protection in susceptible Balb/c mice. Parasite Immunol. 2011; 33: 561-571.
58. De Luca P, Mayrink W, Alves C, Coutinho S, Oliveira M, Bertho A, Toledo V, Costa C, Genaro O, Mendonça S. Evaluation of the stability and immunogenicity of autoclaved and non autoclaved preparations of a vaccine against American tegumentary leishmaniasis. Vaccine. 1999; 17(9-10):1179-1185.
59. Ravindran R, Bhowmick S, Das A, Ali N. Comparison of BCG, MPL and cationic liposome adjuvant systems in leishmanial antigen vaccine formulations against murine visceral leishmaniasis. BMC Microbiol [Internet]. 2010 [Citado Enero 2018]; 10:181. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20576102>
60. Wang W, Singh M. Selection of adjuvants for enhanced vaccine potency. World J Vaccines. 2011; 1:33-78.
61. Basyoni M. *Leishmania* vaccines updates. Parasitol United J. 2011;5(1):1-10.
62. Bhowmick S, Ravindran R, Ali N. Gp63 in stable cationic liposomes confers sustained vaccine immunity to susceptible Balb/c mice infected with *Leishmania donovani*. Infect Immun. 2008;76(3):1003-1015.
63. Hugentobler F, Yam KK, Gillard J, et al. Immunization against *Leishmania major* infection using LACK-and IL-12-expressing *Lactococcus lactis* induces delay in footpads swelling. PLoSOne. 2012; 7:e30945.
64. Hezarjaribi HZ, Ghaffarifar F, Dalimi A, et al. Effect of IL-22 on DNA vaccine encoding LACK gene of *Leishmania major* in Balb/c mice. Exp Parasitol 2013; 134(3):341-348.
65. Sinha S, Kumar A, Sundaram S.A comprehensive analysis of LACK (*Leishmania* homologue of receptors for activated C kinase) in the context of Visceral Leishmaniasis. Bioinformatics. 2013;9(16):832- 837.
66. McMahon-Pratt D, Rodriguez D, Rodriguez J, Zhang Y, Manson K, Bergman C, Rivas L, Rodriguez JF, Lohman K, Ruddle N, Esteban M. Recombinant vaccinia viruses expressing GP46/M-2 protect against *Leishmania* infection. Infect Immun. 1993; 61:3351–3359.
67. Beaumier C, Gillespie P, Hotez P, Bottazzi M. New vaccines for neglected parasitic diseases and dengue. Transl Res: J Lab Clin Med. 2013;162:144–155.
68. Chakravarty J, Kumar S, Trivedi S, Rai V, Singh A, Ashman J, Laughlin E, Coler R, Kahn S, Beckmann A, Cowgill K, Reed S, Sundar S, Piazza F. A clinical trial to evaluate the safety and immunogenicity of the LEISH-F1 + MPL-SE

vaccine for use in the prevention of visceral leishmaniasis. *Vaccine*. 2011; 29:3531–3537.

69. Coler R, Duthie M, Hofmeyer K, Guderian J, Jayashankar L, Vergara J, Rolf T, Misquith A, Laurance J, Raman V, Bailor H, Cauwelaert N, Reed S, Vallur A, Favila M, Orr M, Ashman J, Ghosh P, Mondal D, Reed S. From mouse to man: safety, immunogenicity and efficacy of a candidate leishmaniasis vaccine LEISH-F3+GLA-SE. *Clin Transl Immunology* [Internet]. 2015 [Citado Enero 2018].10: 4(4); e35.

Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26175894>

70. Osman M, Mistry A, Keding A, Gabe R, Cook E, Forrester S, Wiggins R, Di Marco S, Colloca S, Siani L, Cortese R, Smith D, Aebischer T, Kaye P, Lacey C. A third generation vaccine for human visceral leishmaniasis and post kala azar dermal leishmaniasis: First-in-human trial of ChAd63-KH. *PLoS Negl Trop Dis* [Internet]. 2017 [Citado Enero 2018]; 11(5): e0005527. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28498840>.

71. Mortazavidehkordi N, Farjadfar A, Khanahmad H, Ghayour Z, Hashemi N, Fallah A, Najafi A, Kia V, Hejazi S. Evaluation of a novel lentiviral vaccine expressing KMP11-HASPB fusion protein against *Leishmania infantum* in BALB/c mice. *Parasite Immunol*. 2016; 38(11):670-677.

72. Regina-Silva S, Feres A, França-Silva J, Dias E, Michalsky É, de Andrade H, Coelho E, Ribeiro G, Fernandes A, Machado-Coelho G. Field randomized trial to evaluate the efficacy of the Leish-Tec® vaccine against canine visceral

leishmaniasis in an endemic area of Brazil. *Vaccine*. 2016; 34(19): 2233-2239.

**CORRESPONDENCIA:** Noris Rodríguez. Laboratorio de Ingeniería Genética. Instituto de Biomedicina. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela. Teléfono: 0212 8648626 /0212 8625326 Ext. 1118. Dirección de correo electrónico: nmrodriguez@gmail.com.