



Aportes científicos en el enfrentamiento a la leishmaniasis, una enfermedad desatendida

UNIDAD EJECUTORA PRINCIPAL: Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí

AUTORES PRINCIPALES: Ana Margarita Montalvo¹, Lianet Monzote¹, Jorge Fraga¹

Otros autores: Marley García¹, Lisset Fonseca¹, Luis Fonte¹, Ivón Montano¹, Abel Piñón, Cecilia Torres¹, Esteban Alberti², Orestes Blanco¹, Daniel González¹, Virginia Capó¹, Yaxsier de Armas¹, Carlos Fonseca¹, María Elena Rodríguez¹, Iliana Santisteban¹, Ramón Scull³

Colaboradores científicos: Iván Darío Vélez, José María Requena, Jorge Alvar, Jean-Claude Dujardin, Gert Van der Auwera, Carlos Muskus, Braulio Valencia, Jorge Arévalo, Lynn Soong, Andrea Boggild, Lars Gille, William N. Setzer, Paul Cos, Wilmer Perera, Sergio Sifontes, Osmany Cuesta-Rubio, Wagner Vilegas, Jan Jacob.

Filiación: ¹Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí (IPK). ²Centro Internacional de Restauración Neurológica (CIREN). ³Instituto de Farmacia y Alimentos, Universidad de la Habana (IFAL)

RESUMEN

Palabras clave

leishmaniasis; inmunización con ADN desnudo; diagnóstico molecular; genotipificación; terapéutica

La leishmaniasis es una parasitosis emergente que pertenece al grupo de enfermedades desatendidas, según criterios de la Organización Mundial de la Salud (OMS), que propone como meta para el año 2030 su eliminación. Adaptar las prioridades investigativas sobre esta enfermedad para su enfrentamiento en el contexto cubano y aportar resultados que contribuyan a este propósito global han constituido el eje de nuestro accionar en el período 1997-2017. Se describen los aportes científicos de investigaciones básicas y aplicadas, relacionadas con algunos de los principales problemas no resueltos de esta parasitosis: 1) inmunización con ADN desnudo en modelos animales como vía de protección inmunológica, donde se demostró la validez de la vacunación con ADN obtenido de genotecas de expresión para lograr la inmunoprotección en un modelo murino; 2) desarrollo e implementación de procedimientos para el diagnóstico molecular y genotipificación, que permitió disponer de un conjunto de procedimientos moleculares para detectar e identificar las principales especies de *Leishmania* de importancia médica, con utilidad para el diagnóstico, la orientación del tratamiento y el seguimiento al paciente, y 3) búsqueda de nuevas alternativas terapéuticas, donde se establecieron protocolos para el ensayo *in vitro* e *in vivo* de productos de diverso origen que permitieron el análisis de 1000 productos y la identificación de 16 productos líderes. Todo lo anterior se evidenció en un estudio bibliométrico que confirmó el aporte científico en publicaciones y se relatan los aportes a la capacitación docente de pregrado y posgrado.

La leishmaniasis forma parte del grupo de enfermedades tropicales olvidadas o desatendidas que representan pobreza y desventaja social, según criterios de la Organización Mundial de la Salud (OMS). Los datos globales más recientes informan la transmisión en 98 países y 3 territorios de 5 continentes, con 350 millones de personas en riesgo de contraer la enfermedad (Alvar *et al.*, 2012). La prevalencia continúa en ascenso por diversos factores ligados a la actividad y el movimiento humanos, así como al cambio climático (WHO, 2017).

La falta de atención ocurre también a nivel investigativo y de desarrollo, pues el incentivo para desarrollar nuevas herramientas diagnósticas, drogas o vacunas es muy bajo debido a que no existe un mercado interesado en los grupos sociales que padecen leishmaniasis, ligada por lo general a la pobreza, la inequidad y las malas condiciones de vida. La inexistencia de vacunas profilácticas, la falta de disponibilidad de métodos diagnósticos de certeza en los laboratorios de países endémicos y los problemas asociados al tratamiento (inasequible para la mayoría, alto costo, administración parenteral y monitoreo hospitalario, junto a la resistencia y falla terapéutica) permiten comprender el panorama desolador que caracteriza a esta enfermedad a nivel global e imponen un gran reto a los investigadores.

En este contexto, el objetivo aquí fue evidenciar los aportes científicos de distintas investigaciones realizadas en Cuba, en tres temas relacionados con algunos de los problemas no resueltos de la leishmaniasis, los cuales han constituido importantes contribuciones al conocimiento básico y aplicado sobre esta parasitosis, tanto para Cuba en el enfrentamiento y manejo de los casos importados, como para países endémicos.

Inmunización con ADN desnudo en modelos animales como vía de protección inmunológica

Se construyeron y evaluaron las primeras genotecas de expresión de *Leishmania amazonensis*, lo cual resultó una aproximación de vanguardia en la búsqueda de inmunoprotección contra *Leishmania*. Estudios de inmunización con ADN demostraron el control de las lesiones en modelos experimentales y la validez de la propuesta. La obtención de una segunda genoteca permitió la inmunización con subgenotecas y se logró una protección parcial. Se clonó una nueva proteína en *Leishmania* (HSP20), que se ensayó también como vacuna de ADN, pero no se demostró capacidad protectora contra el resto de manera individual.

Desarrollo e implementación de procedimientos para el diagnóstico molecular y genotipificación

Tras la transferencia tecnológica se perfeccionó un protocolo de PCR-RFLP, que permitió detectar 16 especies de *Leishmania* e identificarlas toda de manera individual o por complejos. Con el fin de mejorar su sensibilidad diagnóstica, se diseñaron, desarrollaron y evaluaron 3 nuevos procedimientos, más sensibles, específicos y eficientes, que se utilizan en relación con la región geográfica de procedencia. Más adelante se diseñó y normalizó un nuevo protocolo para la detección de género, con buena sensibilidad diagnóstica, que permite la identificación de especies mediante secuenciación.

Todo lo anterior se basó en la obtención y análisis de secuencias de los genes *hsp20* y *hsp70*, realizada por el grupo de trabajo. Estas herramientas se implementaron en el Laboratorio de Referencia del IPK, así como en Colombia, Perú y Bolivia, y han permitido dar respuesta a los casos importados, realizar la tipificación de aislamientos y muestras clínicas diversas. Se cuenta con grupo de procedimientos que permiten abordar el diagnóstico, y aplicarlos a estudios epidemiológicos relacionados también con el estudio de vectores y reservorios.

Búsqueda de nuevas alternativas terapéuticas

Se establecieron protocolos para el ensayo *in vitro* e *in vivo* de productos de diverso origen, tomando en cuenta las dificultades de los tratamientos reconocidos. Se analizaron 1000 productos sintéticos y naturales, estudios de citotoxicidad, efecto combinado, unión a inmunomoduladores, análisis de posibles mecanismos de acción. Todo ello permitió la selección de productos líderes. Se realizó un estudio bibliométrico relacionado con *Leishmania*/leishmaniasis en Cuba, que evidenció la importante contribución científica en revistas nacionales y de impacto que tuvieron estos aportes. Se muestra la contribución general a la capacitación docente ofrecida en niveles de pregrado y posgrado, tanto dentro como fuera del ámbito institucional.

En conclusión, se construyeron las primeras genotecas de expresión y preparados vacunales con ADN desnudo, con resultados alentadores en la búsqueda de inmunoprotección contra la leishmaniasis. La obtención y análisis de secuencias del gen *hsp70* permitió ubicarlo como uno de los líderes más reconocidos para el diagnóstico y la genotipificación en todas las áreas geográficas.

El desarrollo de nuevos protocolos para detectar e identificar especies de *Leishmania* basados en los genes *hsp70* y *hsp20* marcó un punto de giro en el diagnóstico, implementándose en el IPK, así como en Perú, Bolivia y Colombia. Se dispone de diversos modelos para la evaluación antileishmanial de productos sintéticos o naturales que pueden constituir la base de nuevas opciones terapéuticas. Fueron estudiados más de 1000 productos: 186 orgánicos, 1080 naturales, 16 formulaciones, y se identificaron productos líderes que conti-

núan en estudio. Se realizaron aportes al estudio básico de la mitocondria como diana terapéutica.

AUTOR PARA LA CORRESPONDENCIA

Ana Margarita Montalvo Álvarez. Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí. Autopista Novia del Mediodía km 6½ . La Lisa. La Habana, Cuba. Correos electrónicos: amontalvo@ipk.sld.cu y mmontal@infomed.sld.cu