



**FACULTAD DE FARMACIA  
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

**TRABAJO FIN DE GRADO  
TÍTULO: SITUACIÓN ACTUAL DE LA  
ENFERMEDAD DEL SUEÑO.**

Autor: M<sup>a</sup> Dolores Canales Sigüero

D.N.I.: 47028797 - F

Tutor: Mercedes Martínez Grueiro

Convocatoria: Junio 2016

## ÍNDICE

RESUMEN.....	3
<i>ABSTRACT</i> .....	3
INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES .....	3
OBJETIVOS .....	4
METODOLOGÍA.....	5
RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	5
Aspectos epidemiológicos .....	5
• Aspectos generales .....	5
• Factor lítico de tripanosomas (TLF).....	7
Aspectos biológicos .....	10
• Glicoproteína variable de superficie (VSG).....	10
• Factor inductor de formas gruesas (SIF).....	12
• Proteínas asociadas a la diferenciación (PAD) .....	14
Aspectos farmacológicos.....	15
CONCLUSIONES .....	18
BIBLIOGRAFÍA.....	18

## **RESUMEN**

Este trabajo consiste en una revisión bibliográfica que tiene como objetivo conocer los aspectos más recientes de la enfermedad del sueño en lo referente al tratamiento, la epidemiología y la biología del parásito. En él, se describe porque *Trypanosoma brucei gambiense* y *Trypanosoma brucei rhodesiense* consiguen infectar al hombre y porque otras especies no pueden hacerlo. También se detalla cómo el parásito consigue mantenerse en sangre y llegar al sistema nervioso central, los procesos de diferenciación y de apoptosis que regulan los niveles de parasitemia y el desarrollo de formas capaces de proseguir el ciclo biológico en el vector. En cuanto a la terapia, se especifican los nuevos tratamientos que se encuentran en ensayo clínico y nuevas formulaciones del tratamiento clásico que evaden la resistencia al fármaco o disminuyen los efectos adversos.

**Palabras clave:** *Trypanosoma brucei*, factor lítico de tripanosomas, glucoproteína variable de superficie, factor inductor de formas gruesas, terapia, fexinidazol.

## **ABSTRACT**

This work consists of a bibliographic review that aims to know the latest aspects of sleeping sickness in relation to treatment, epidemiology and biology of the parasite. In it, it is described why *Trypanosoma brucei gambiense* and *Trypanosoma brucei rhodesiense* get to infect humans and why other species cannot. It also detailed how the parasite manages to stay in blood and reach the central nervous system, the processes of differentiation and apoptosis that regulate the levels of parasitemia and the development of forms capable of continuing the biological cycle in the vector. Regarding therapy, there are specified the new treatments that are in clinical trials and new formulations of classical treatment that evade drug resistance or reduce the adverse effects.

## **INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES**

La enfermedad del sueño (ES) o tripanosomiasis africana humana es una enfermedad parasitaria cuyo agente etiológico son dos subespecies de *Trypanosoma brucei*: *Trypanosoma brucei gambiense* (ES de África occidental y central) y *Trypanosoma brucei rhodesiense* (ES de África oriental). Forma parte de las enfermedades tropicales desatendidas <sup>(13)</sup>. Está restringida al continente africano, entre el paralelo 14° norte y el 29° sur, <sup>(1)</sup> y se estima que aproximadamente 60 millones de personas se encuentran en riesgo <sup>(1)</sup> en 36 países del África Subsahariana <sup>(3)</sup>.

Ambos parásitos son morfológicamente indistinguibles y la clínica que producen es similar. No obstante, se diferencian en el curso de la enfermedad, mientras que la

tripanosomiasis producida por *T. b. gambiense* tiende a cronificar y se desarrolla durante varios años, la producida por *T. b. rhodesiense* evoluciona rápidamente y puede ser letal en seis meses <sup>(1)</sup>.

En la clínica se pueden diferenciar dos fases; la primera, en la que los tripanosomas se encuentran en sangre y linfa, denominada fase hemolinfática (HL) y una segunda, en la que los parásitos ya han atravesado la barrera hematoencefálica, denominada meningoencefálica (ME).

Durante la fase HL, los signos y síntomas que se producen son inespecíficos y dificultan el diagnóstico, se produce: fiebre intermitente, dolor de cabeza, prurito y otros problemas dermatológicos, linfadenopatías, astenia, anemia, cardiopatías, alteraciones endocrinas, dolor muscular, hepatomegalia y esplenomegalia. La fase ME va a ser muy característica y permite un diagnóstico rápido; se producen alteraciones neurológicas entre las que se incluyen las alteraciones del sueño que dan nombre a esta parasitosis. Además de estos síntomas, es frecuente en el caso de la ES occidental, la aparición del signo de Winterbottom; linfadenopatía de los ganglios linfáticos de la región cervical posterior del cuello. <sup>(1,6)</sup>

En cuanto al ciclo biológico, en ambos casos es el mismo. El vector se alimenta de sangre humana en la que se encuentran los tripomastigotes. En el intestino medio del vector, los tripanosomas (formas gruesas) se transforman en tripomastigotes procíclicos, estos últimos se multiplican y finalmente se transforman en epimastigotes que migran a las glándulas salivales, en esta localización, se dividen por simetrogonia aunque también se ha descrito alguna forma de reproducción sexual (más frecuente en *T. b. rhodesiense*) <sup>(6)</sup>. Después, se produce la última transformación en el vector a tripomastigotes metacíclicos, que son las formas infectantes para el hospedador definitivo.

Cuando el vector se vuelve a alimentar de sangre humana introduce con su saliva los tripomastigotes en el torrente circulatorio. En la sangre, los tripomastigotes se multiplican por simetrogonia. Se diferencian las formas esbeltas de tripomastigotes y las formas gruesas, estas últimas son las que van a cerrar el ciclo cuando un vector vuelva a alimentarse, ya que son capaces de sobrevivir en el intestino medio del vector y multiplicarse.

## **OBJETIVOS**

El objetivo fundamental de este trabajo es conocer los avances recientes sobre la enfermedad del sueño en sus aspectos epidemiológicos, biológicos y farmacológicos.

## **METODOLOGÍA**

Para elaborar el trabajo se ha realizado una búsqueda bibliográfica de publicaciones científicas en dos bases de datos: PubMed y BUCea (biblioteca UCM). La búsqueda se ha restringido a publicaciones de libre acceso publicadas en los últimos 15 años, en español e inglés.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **Aspectos epidemiológicos**

Bajo este epígrafe se describen, en primer lugar, aspectos generales de epidemiología y después un mecanismo de inmunidad innata que actúa frente a los tripanosomas, el factor lítico de tripanosomas, estudiado en los últimos años.

- **Aspectos generales**

La ES se produce en focos específicos en los que se dan las condiciones adecuadas para mantener vectores, reservorios y parásitos y, por lo tanto, la transmisión. Se han descrito aproximadamente 360 focos. <sup>(6)</sup>

El 98% de los casos se deben a *T. b. gambiense* y se producen en aproximadamente 300 focos de 24 países de África occidental y central<sup>(3)</sup>: Angola, Benín, Burkina Faso, Camerún, Chad, Republica de Centroáfrica, Congo, Costa de Marfil, República Democrática del Congo, Guinea Ecuatorial, Gabón, Gambia, Ghana, Guinea, Guinea-Basau, Liberia, Mali, Níger, Nigeria, Senegal, Sierra Leona, Uganda, Togo y el sur de Sudán.<sup>(5)</sup> Actualmente, la incidencia está descendiendo. Esta variante es endémica en determinados países y en ocasiones puede provocar epidemias. En 1920 se produjo una gran epidemia a raíz de la cual se implantaron medidas basadas en el control del vector, cribado de la población y tratamiento de los casos diagnosticados. Esto fue suficiente para que en la década de los años sesenta se obtuvieran las cifras de prevalencia más bajas de la historia, pero, una vez que disminuyó el control, la prevalencia volvió a aumentar hasta un máximo de 37385 casos en el año 1998 <sup>(6)</sup>. En consecuencia, se volvieron a implantar medidas de control y está disminuyendo tanto la incidencia como la prevalencia, de forma que en 2014 los casos diagnosticados fueron 367 <sup>(7)</sup>.

Se transmite fundamentalmente a través de la picadura de moscas del género *Glossina*, tanto de los machos como de las hembras, debido a que ambos son hematófagos; una vez que la mosca se infecta, permanece infectada toda su vida. En este género hay varios grupos de especies: grupo morsitans, grupo palpalis y grupo fusca. En condiciones de laboratorio, los tres grupos son capaces de transmitir la enfermedad, pero en la naturaleza solo lo hacen las

especies del grupo palpalis, especialmente *Glossina fuscipes* y *Glossina palpalis* <sup>(2)</sup> y en menor medida, *Glossina morsitans* <sup>(6)</sup>.

Aunque la transmisión mayoritaria es la vectorial, también existen otras posibilidades. Entre 1993 y 2010 se han publicado 13 casos de transmisión congénita <sup>(4)</sup>, un caso de transmisión sexual <sup>(8)</sup> y varios casos de transmisión asociados a accidentes de laboratorio y transfusiones de sangre.

El ciclo se mantiene fundamentalmente entre el vector y el hombre. No obstante, en algunos focos no se ha conseguido eliminar la enfermedad mediante el diagnóstico y tratamiento de los enfermos. Hay varias hipótesis que intentan explicar por qué; una de ellas, se basa en la existencia de portadores sanos en los que no se detecta la parasitemia, pero que si dan positivo mediante una PCR, de estos individuos se dice que han desarrollado “tripanotolerancia” <sup>(3,6)</sup>. Otra hipótesis se basa en evidencias de la existencia de reservorios animales <sup>(5)</sup>, entre ellos tiene mucha importancia el cerdo <sup>(12)</sup>.

El factor de riesgo más importante es el contacto con el vector. El vector necesita para su desarrollo encontrarse en zonas próximas al agua. En zonas húmedas se relaciona un mayor riesgo con actividades como la caza y por tanto, en los varones la prevalencia es mayor. En zonas secas, las actividades que tienen un mayor riesgo son las que requieren contacto con el agua: la pesca, la colada, etc.

En el caso de *T.b. rhodesiense* se han descrito 60 focos de esta enfermedad en 13 países africanos (Botsuana, Burundi, Etiopia, Kenia, Malawi, Mozambique, Namibia, Ruanda, Suazilandia, Tanzania, Uganda, Zambia, Zimbabue). Se diferencian los focos en los que se transmite a partir de los animales salvajes, en donde se registra algún caso cada varios años, y los focos donde se transmite a partir del ganado, en los que se produce un mayor número de casos. <sup>(6)</sup>

Esta enfermedad tiene una incidencia baja, aunque los casos que se producen son muy graves; en 2014, fueron 117 <sup>(7)</sup>. La incidencia tiende a disminuir, pero, al tratarse de una zoonosis, que se mantiene fundamentalmente por animales salvajes, su control es más difícil. <sup>(3)</sup>

La transmisión se produce a través de la picadura de *G. fuscipes*, *G. palpalis* y *G. morsitans* <sup>(6)</sup> y no se puede descartar la transmisión congénita <sup>(2)</sup>. El ciclo se mantiene entre los reservorios animales (antílopes, jirafas, hienas, cebras) y el vector y solo, ocasionalmente, interviene el hombre. En los focos en los que no son abundantes los animales salvajes, los animales domésticos, ganado porcino o bovino, son los principales reservorios. <sup>(2,6)</sup>

Se asocian un mayor riesgo las actividades como la recolección de madera y miel, la caza, la pesca, etc., en las áreas en las que conviven los reservorios y vectores. <sup>(2)</sup>

En cuanto a los casos importados, entre 1902 y 2012, se han notificado un total de 244 casos en áreas no endémicas. Cabe destacar que ha cambiado el patrón con el que se produce la enfermedad. Mientras que antes de 1960, el 74,3% de los casos se producían en expatriados, misioneros y soldados por *T. b. gambiense*, después de esta fecha se producen en un 72.8% en turistas por *T. b. rodhesiense*. Este cambio se debe a un aumento del turismo a áreas del Este y del Sur-Este de África, a parques naturales donde se encuentra el vector, sobre todo en Tanzania. <sup>(37)</sup>

- **Factor lítico de tripanosomas (TLF)**

Las dos especies de tripanosomas que infectan al hombre proceden de *Trypanosoma brucei brucei*. Esta especie es responsable de la enfermedad conocida con el nombre de “nagana” en el ganado <sup>(14)</sup>, pero no puede infectar al hombre. Se debe a un mecanismo de inmunidad innata formado por los factores líticos de tripanosomas, que presentan el hombre y otros primates, como los gorilas <sup>(10)</sup>.

Hay descritos dos: factor lítico del tripanosoma 1 (TLF – 1) y 2 (TLF – 2). El TLF – 1 es un tipo de lipoproteína de alta densidad (HDL) que contiene: apolipoproteína L1 (ApoL1), apolipoproteína A1 (ApoA1) y una proteína relacionada con la haptoglobina (Hrp) <sup>(9,10)</sup>. El TLF – 2 se compone de: anticuerpos IgM policlonales, ApoL1, ApoA1 y Hrp <sup>(9)</sup>. LA Hrp es una proteína con una secuencia idéntica en el 91% a la de la haptoglobina (Hp) <sup>(15)</sup>. La ApoL1 es una proteína que tiene varios dominios entre los que se encuentra un dominio BH3, relacionado con la regulación de la muerte celular <sup>(10)</sup>. Estas dos proteínas van a ser fundamentales para la acción del TLF.

En el tripanosoma existe una zona, la bolsa flagelar, donde se concentran los receptores que posee el parásito para la endocitosis de distintas moléculas <sup>(16)</sup>. Es una invaginación de la membrana plasmática de la que emerge el flagelo <sup>(16)</sup>. Allí se encuentran dos receptores relacionados con TLF: el receptor de haptoglobina – hemoglobina (HpHbR) y un receptor para la endocitosis de lípidos.

El HpHbR es necesario para captar el grupo hemo que el parásito no es capaz de sintetizar y que requiere para sintetizar hemoproteínas y hacer frente al estrés oxidativo que le supone permanecer en sangre (provocado por especies reactivas de oxígeno y nitrógeno, producidas por los macrófagos) <sup>(1, 15, 17)</sup>. Este receptor, de naturaleza proteica, formado por 3  $\alpha$ - hélices y una pequeña cabeza donde se encuentra el sitio de unión al ligando <sup>(11,16)</sup>, muestra en su

secuencia alguna similitud con las VSG (glucoproteína variable de superficie, que se describirá más adelante) y se encuentra unido por su extremo C- terminal, mediante un resto glucosil fosfatidil inositol (GPI), a la membrana del parásito <sup>(11)</sup>. Este receptor se une a la hemoglobina unida a la haptoglobina y, debido a la similitud de la haptoglobina con la Hrp, también se une a la Hrp unida a la hemoglobina <sup>(9, 10, 15, 17)</sup>.

Del receptor para la endocitosis de lípidos se sabe menos, sirve para captar los lípidos a partir de HDL y LDL ya que el parásito los necesita para renovación continua de su membrana. TLF – 1 usa mayoritariamente el HpHbR para entrar en el tripanosoma, pero también se puede unir a este receptor con menor afinidad <sup>(15,10)</sup>.

La HRP se une a la hemoglobina formando un complejo que se va a unir al HpHbR <sup>(9,10)</sup>. Al unirse, se produce la endocitosis de TLF – 1, y una vez que el endosoma se fusiona con el lisosoma (acidificación), se produce un cambio conformacional en la ApoL1, de forma que se expone el dominio BH3, y se forman poros en el lisosoma. Esto produce cambios en el equilibrio osmótico de la célula y como consecuencia, la lisis del parásito. <sup>(9,10)</sup>

El TLF – 2 también contiene ApoL1, pero el mecanismo de entrada no está tan claro <sup>(1, 9)</sup>; podría estar relacionado con una interacción entre la IgM del TLF – 2 con las VSG <sup>(10)</sup>.

*T. b. gambiense* y *T. b. rodhesiense* resisten la acción lítica de los TLF mediante distintos mecanismos. En el caso de *T. b. gambiense* cabe diferenciar entre dos grupos 1 y 2 <sup>(9, 18)</sup>. *T. b. gambiense* tipo 1 es la especie que provoca más casos de ES y se caracteriza por tener una resistencia al TLF constitutiva <sup>(9, 18)</sup>. Tiene varios mecanismos de resistencia: reducción de la entrada del TLF <sup>(9, 18, 19)</sup>, expresión de una glucoproteína específica de *T. b. gambiense* (TgsGP) <sup>(9, 10, 14, 19)</sup> y una tercera posibilidad menos estudiada consiste en la degradación de las partículas de TLF o de la ApoL1 por proteasas de cisteína que se encuentran en los endosomas o lisosomas <sup>(9, 10, 19)</sup>.

El parásito puede disminuir la entrada de TLF mediante dos mecanismos. El primero consiste en una menor expresión del receptor, debido a cambios en la secuencia de ADN que hacen que disminuya la estabilidad del ARNm y se degrade en el citoplasma <sup>(9, 16, 18)</sup>. El segundo mecanismo consiste en polimorfismos en la secuencia del ADN, que hacen que disminuya la afinidad por el ligando; un cambio en un aminoácido en el receptor puede reducir la afinidad 20 veces <sup>(9, 16, 18)</sup>.

La TgsGP se localiza en los endosomas, anclada a la membrana por GPI, funciona alterando la fluidez de la membrana de forma que evita la acción de ApoL1, pero no interacciona con ella <sup>(9, 14)</sup>. Esta glucoproteína es exclusiva de *T. b. gambiense* tipo 1; no es

capaz de proporcionar resistencia en *T. b. brucei* que contiene en su genoma una secuencia relacionada <sup>(14)</sup>.

En cuanto a *T. b. gambiense* tipo 2, la resistencia no es estable, el TLF penetra en el interior del parásito, pero no se conoce exactamente el mecanismo de resistencia <sup>(9)</sup>.

En el caso de *T. b. rhodesiense* la resistencia la confiere una única proteína asociada a la resistencia al suero (SRA). SRA está formada por aproximadamente 360 aminoácidos <sup>(19)</sup> y está unida por GPI a la membrana por el extremo C – terminal <sup>(19)</sup>, tiene una estructura muy similar a las VSG con una delección en el extremo N – terminal <sup>(10)</sup>. El gen que expresa SRA se encuentra localizado en un lugar de expresión de una VSG (ESAG). Los ESAG se encuentran dentro de los lugares de expresión de las formas sanguíneas (BES), son policistronicos, es decir, tienen un único promotor para la expresión de varios genes. En el tripanosoma, solo hay un BES activo en un momento dado que expresa la VSG activa <sup>(10)</sup>. Para que *T. b. rodhesiense* sea resistente al suero, el gen que expresa SRA debe estar en el BES activo en los primeros momentos de la infección. Por tanto, la resistencia no es constitutiva.

SRA se localiza en la superficie de la bolsa flagelar y durante la endocitosis del TLF o durante el recambio de VSG también se van a endocitar y va a encontrarse en los endosomas y en los lisosomas <sup>(18, 10)</sup>. Actúa uniéndose a una  $\alpha$  – hélice del extremo C – terminal de la ApoL1, de forma que la inhibe e impide la lisis del parásito <sup>(14, 15)</sup>. Al contrario que la TgsGP, SRA por si misma sí va a ser capaz de producir la resistencia a los TLF; si se incluye este gen en *T. b. brucei* se consigue que sea resistente <sup>(10, 18)</sup>. También se han encontrado casos en los que *T. b. rodhesiense* no expresa SRA pero sigue siendo resistente al suero <sup>(18)</sup>.

El TLF ha evolucionado de forma distinta en los homínidos (hombre y gorila) y en los cercopitécidos (chimpancé y macacos). Mientras que los primeros son sensibles a *T. b. gambiense* y *T. b. rodhesiense*, los segundos solo van a ser sensibles a *T. b. gambiense* <sup>(10)</sup>. En el hombre, también se han detectado mutaciones en el gen que codifica ApoL1 que le van a hacer resistente a *T. b. rodhesiense* aunque exprese SRA, en concreto dos alelos: G1 y G2 <sup>(10, 20)</sup>. Tanto G1 como G2 van a dar lugar a una APOL1, con una modificación en la zona de unión con SRA, que impide que SRA se una a la APOL1 de forma que no será bloqueada <sup>(10)</sup>. Estos alelos son más frecuentes en personas con antepasados africanos y están relacionados con un mayor riesgo para padecer enfermedades renales como glomeruloesclerosis focal segmental y la hipertensión asociada a la insuficiencia renal <sup>(10, 20)</sup>. También es posible que existan mutaciones en el hombre que proporcionen resistencia frente a *T. b. gambiense*, está

menos estudiado, pero en la República Democrática del Congo se cree que hay una menor susceptibilidad <sup>(10)</sup>.

### **Aspectos biológicos**

En este epígrafe se van a describir algunos aspectos biológicos, útiles para la supervivencia del parásito, que se han conocido con mayor detalle en los últimos años.

- **Glucoproteína variable de superficie (VSG)**

Las VSG son homodímeros de naturaleza proteica con restos de azúcares que se encuentran unidas a la membrana del parásito por GPI y forman una capa de 12 - 15 nanómetros de espesor <sup>(25)</sup>. Representan el 95% de las proteínas de membrana y un 15% de las totales del parásito; 20% del genoma está dedicado a las VSG y se pueden expresar hasta 1700 VSG distintas <sup>(25)</sup>. Probablemente se encuentren unidas a la membrana por GPI para alcanzar una mayor densidad; además, eso permite que cuando los tripanosomas se diferencian a formas procíclicas o recambian las VSG, las puedan eliminar mediante escisión de la VSG con el GPI mediante una fosfolipasa C específica de GPI y una metaloproteasa de zinc (TbMSP-B) <sup>(25)</sup>. Las proteínas van a estar unidas en determinadas posiciones de nitrógeno a oligosacáridos como los formados por manosa u otros, esto sirve para aumentar el volumen de las VSG de forma que protegen mejor al parásito <sup>(25)</sup>. Las zonas carboxi y amino terminal de las VSG son muy conservadas, hay 3 tipos de estructuras para el dominio N-terminal y 6 tipos para el dominio C – terminal y todas sus combinaciones son posibles <sup>(25)</sup>. Hay otras proteínas de superficie que también tienen un dominio N – terminal similar al de las VSG tales como las glucoproteínas invariables de superficie (ISG), el receptor de transferrina y la SRA, pero no se conoce bien la relación entre las VSG y estas proteínas <sup>(25)</sup>.

Durante la infección, el sistema inmunitario del hospedador va a formar anticuerpos específicos frente a la VSG que expone el parásito. No obstante, cuando estos anticuerpos vayan a actuar, una parte de la población habrá cambiado de VSG de forma que no serán eficaces. También actúan impidiendo que el sistema inmune origine anticuerpos frente a otras proteínas de superficie como las ISG por que forman una barrera densa de hasta 15 nm y solo se crean anticuerpos frente a los epítomos que se encuentran en los últimos 6 -8 nanómetros de esa capa. La mayoría de las proteínas, como algunos transportadores, tienen dominios extracelulares pequeños y, por tanto, los anticuerpos no tienen acceso a ellas. Otras proteínas como las ISG o el receptor de transferrina si tienen un tamaño similar a las VSG. En el caso del receptor de transferrina, este se limita a la bolsa flagelar y los anticuerpos no tienen acceso a esta zona. Las ISG se encuentran repartidas por la superficie de todo el parásito, pero en un

número muy inferior a las VSG y se ha observado que cuando hay anticuerpos frente a estas glucoproteínas, los tripanosomas no son susceptibles a la respuesta mediada por estos. <sup>(25, 26)</sup>

Hay dos procesos importantes para la variación antigénica: primero se deben producir cambios genéticos o epigenéticos que cambien la VSG que se expresa y después otros mecanismos tienen que asegurar la expresión monoalélica de ese gen para que solo se exprese una VSG <sup>(25)</sup>. La variación antigénica se produce de forma independiente al hospedador, solo depende de factores intrínsecos del parásito y de la densidad de población de formas gruesas <sup>(25)</sup>.

Los genes que expresan VSG se encuentran en cuatro tipos de *loci*: BES (*bloodstream expression site*), MES (*metacyclic expression site*), minicromosomas y “*arrays*” subteloméricos <sup>(25)</sup>. En cuanto a los BES, hay al menos diez en el genoma y solo uno es activo al mismo tiempo, cada BES tiene un promotor y varios genes asociados al sitio de expresión (ESAG) que corresponden a los genes de distintas proteínas que se expresan a la vez que la VSG, son sitios de expresión policistronicos <sup>(25, 27)</sup>. La mayoría de los BES contienen ESAG6 y 7 que corresponden a las dos subunidades del receptor de transferrina <sup>(25, 26)</sup>. En el caso de *T. b. rhodesiense*, el BES que se está expresando debe contener el gen que expresa SRA para poder infectar al hombre <sup>(25)</sup>. El gen que expresa la VSG suele encontrarse separado de los ESAG por un bloque de unos 70 pb repetitivos <sup>(27)</sup> y al final del BES, cerca de los telómeros porque en esa zona es donde hay una mayor probabilidad de recombinación mitótica <sup>(25)</sup>. Los MES solo son activos en las formas metacíclicas, también tienen un promotor, pero son monocistronicos y no se expresan una vez que las formas metacíclicas se diferencian a las formas sanguíneas <sup>(25, 27)</sup>. Los minicromosomas y los “*arrays*” subteloméricos van a formar el repertorio silencioso o inactivo de las VSG <sup>(25)</sup>. Los subtelómeros tienen aproximadamente 1500 genes para VSG en secuencias de 5 a 150 genes; de estos, solo el 4% son genes intactos, el 65% son pseudogenes, el 21% fragmentos de genes y el 9% genes que codifican VSG no funcionales <sup>(25)</sup>. En los minicromosomas hay aproximadamente 200 genes para VSG <sup>(25)</sup>.

El cambio en el gen que se transcribe responsable de la variación antigénica, se produce con una frecuencia de  $10^{-2}$  veces por división mitótica, <sup>(27)</sup> mediante tres mecanismos: conversión de genes, intercambio telomérico y cambio transcripcional <sup>(25)</sup>. La conversión de genes consiste en el cambio en el BES del gen de la VSG por una copia de un gen de otra VSG que suele proceder de una secuencia subtelomérica <sup>(25)</sup>. El intercambio telomérico se produce cuando se intercambia el telómero del BES por otro telómero de un minicromosoma <sup>(25)</sup>. El cambio transcripcional se produce cuando cambia el BES activo; este último mecanismo es el único que no requiere recombinación génica <sup>(25)</sup>.

A diferencia de la mayoría del genoma, los genes de las VSG y los de las prociclinas se transcriben mediante la RNA polimerasa I <sup>(26)</sup>. Se ha propuesto un mecanismo mediante el cual se regula la expresión de VSG o prociclinas en función de las proteínas asociadas a la transcripción <sup>(26)</sup>. En las formas esbeltas, las proteínas asociadas a la transcripción se encuentran en ESB y se produce la transcripción de la VSG <sup>(26)</sup>. En las formas gruesas también, pero cuando se produce la señal de diferenciación, las proteínas asociadas a la transcripción pasan a los *loci* donde se encuentran los genes que codifican para prociclinas y se transcriben estos <sup>(26)</sup>. Este mecanismo explicaría como la expresión de VSG excluye la de prociclinas y al contrario <sup>(26)</sup>.

No se conoce exactamente como un BES pasa de ser activo a ser inactivo o viceversa <sup>(27)</sup>. Se ha comprobado que la estructura de la cromatina y las modificaciones de las histonas pueden contribuir al control de la expresión monoalélica de la VSG <sup>(27)</sup>. Por ejemplo, una disminución de la histonas H3 y H1 hace que dejen de estar reprimidos los promotores de las BES que no se estaban expresando <sup>(27)</sup>.

En el núcleo se van a poder diferenciar los genes de VSG activos de los inactivos <sup>(26, 27)</sup>. En las formas esbeltas, el BES activo se encuentra en una región especializada denominada cuerpo asociado al sitio de expresión (ESB), esta región está claramente diferenciada del nucléolo y no tiene una localización preferente en el núcleo <sup>(26)</sup>. Para los BES que no se están expresando y el resto de *loci* de VSG no se encuentran estructuras diferenciadas, y se encuentran agrupados en distintos puntos distribuidos por el nucleoplasma <sup>(26)</sup>. En las formas gruesas y prociclicas, no se localiza el ESB y los telómeros se encuentran distribuidos por la periferia del núcleo <sup>(26)</sup>.

- **Factor inductor de formas gruesas (SIF)**

En sangre aparecen distintas formas de tripomastigotes: esbeltas, gruesas e intermedias. Las formas esbeltas son las que se multiplican (simetrogonia) y liberan SIF, cuando éste llega a una concentración determinada en sangre, induce la transformación a formas gruesas, que no se dividen y disminuye la parasitemia. De esta forma, se producen ondas de parasitemia que son independientes de la respuesta inmune del hospedador <sup>(22)</sup>. Es un mecanismo que sirve para prolongar la supervivencia del hospedador porque se controla la proliferación de los tripanosomas y para mantener la transmisión ya que las formas gruesas están pre – adaptadas para sobrevivir en el vector <sup>(21)</sup>.

No se ha identificado a SIF, solo sabemos que es una molécula de bajo peso molecular (<500 Da <sup>(23)</sup>), soluble y termoestable <sup>(22, 23)</sup>. Aún no está claro como SIF produce los cambios

necesarios para la transformación. Se pensaba que el AMPc actuaba como segundo mensajero, ya que al aumentar la concentración de SIF aumenta el AMPc <sup>(23)</sup>, pero ahora se conocen otros derivados de adenosina que *in vitro* también inducen el cambio a formas gruesas <sup>(21, 22, 23)</sup>. En la vía de señalización que induce el SIF se piensa que hay moléculas que actúan manteniendo las formas esbeltas y otras que inducen la transformación a de formas gruesas, y que el balance entre ambas va a controlar la diferenciación <sup>(23)</sup>. También se sabe que intervienen diferentes fosfatasa, entre ellas serín/treonín fosfatasa de tipo 1 <sup>(23)</sup>.

Las formas gruesas son formas quiescentes en la fase G<sub>1</sub>/G<sub>0</sub> del ciclo celular y solo si se ponen en contacto con las señales ambientales presentes en el vector van a poder seguir el ciclo celular <sup>(21, 22, 23)</sup>

Mientras que las formas esbeltas proliferativas tienen una mitocondria afuncional y no expresan factores de diferenciación (PAD), las formas gruesas que no se multiplican tienen una mitocondria pre – funcional y expresan PAD <sup>(21)</sup>. Estas no son las únicas diferencias; la expresión de proteínas es distinta en ambas formas: los enzimas relacionados con la reparación del ADN, las proteínas del citoesqueleto y las relacionadas con el metabolismo de los glicosomas están menos expresados en formas gruesas <sup>(23)</sup>. Al contrario, se expresan más en estas formas: proteínas que modifican el citoesqueleto, proteínas de membrana y para la biosíntesis de lípidos, RNA helicasas que se ha demostrado que son importantes en la diferenciación y enzimas mitocondriales <sup>(23)</sup>. Todas estas diferencias son debidas a que el parásito se prepara para pasar al vector donde debe resistir el medio ácido del intestino medio y debe tener una mitocondria funcional para poder producir energía <sup>(21, 22, 23)</sup>.

Las formas gruesas no cambian las VSG, pero se ha propuesto otro posible mecanismo para evadir el sistema inmune: el uso de “fuerzas de flujo hidrodinámico” que eliminan los anticuerpos de la superficie del parásito; el flagelo se mueve de forma que los inmunocomplejos llegan al bolsillo flagelar, se endocitan y degradan <sup>(23)</sup>.

Las formas gruesas mueren, por senectud o por mecanismos inmunitarios, pero también hay mecanismos para el autocontrol de estas poblaciones; son capaces de inducir su muerte celular por apoptosis. Los tripanosomas secretan al medio la prostaglandina D<sub>2</sub> (PGD<sub>2</sub>) que en las formas gruesas (sensibles a la PGD<sub>2</sub>) va a inducir la formación de especies reactivas de oxígeno que afectan a la integridad de la membrana de la mitocondria y producen la liberación de la endonucleasa G (Endo G). La Endo G se transloca al núcleo y produce la activación de un mecanismo independiente de caspasas que induce la apoptosis. Mediante este mecanismo, las formas gruesas van a entrar en apoptosis y no van a provocar daño en el hospedador. En el líquido cefalorraquídeo (LCR) se detecta una mayor concentración de

PGD<sub>2</sub>, esto indica que en esa localización hay un mayor control de la población, es importante ya que ésta es especialmente sensible a la presencia de los tripanosomas. <sup>(35, 37)</sup>

Respecto a cómo los tripanosomas invaden el sistema nervioso central (SNC) se conocen pocos detalles. Tradicionalmente se ha considerado que la entrada al SNC se producía porque los tripanosomas atravesaban la BHE; en estudios recientes, en ratas, se ha observado que la invasión se producía por que los tripanosomas atravesaban la barrera entre la sangre y el LCR <sup>(37)</sup>. Así, ahora se consideran las dos vías. En estos estudios, también se ha comprobado que la infección en LCR también se produce en ondas de parasitemia; al igual que en sangre y linfa <sup>(37, 38)</sup>. Los tripanosomas aparecen en el LCR un día después de un pico de parasitemia en sangre, sin causar daño en el endotelio porque no aparecen eritrocitos en el estroma. De esta forma, puede que al aumentar la parasitemia sea más probable que invadan el SNC o que, sean necesarias las formas gruesas para entrar <sup>(38)</sup>. Esta última idea, está respaldada por el hecho de que las formas gruesas tienen unas proteasas en su membrana (MSP – A, MSP – B, MSP – C) que podrían usar para abrir la lámina basal de la barrera entre la sangre y el líquido cefalorraquídeo; las formas esbeltas, entrarían junto con las formas gruesas <sup>(38)</sup>.

- **Proteínas asociadas a la diferenciación (PAD)**

Las PAD son una familia de proteínas que se expresan fundamentalmente en las formas gruesas y en las formas procíclicas, se conocen dos: PAD1 y PAD2. Son transportadores de carboxilato y actúan permitiendo la entrada al tripanosoma de la señal de diferenciación, el citrato – *cis* – aconitato (CCA) <sup>(21, 23,24)</sup>.

En el hombre, las formas gruesas van a presentar en la membrana PAD1 y PAD2 en la bolsa flagelar <sup>(21)</sup>. Cuando el vector se alimenta, tanto las formas delgadas como las formas gruesas pasan a su intestino medio y se exponen a proteasas y a cambios en el pH, que solo las formas gruesas van resistir. Al producirse el cambio de temperatura, de 37° en el hombre a 20° en el vector, PAD2 se moviliza a la membrana y permiten que las formas gruesas detecten la señal de diferenciación, se transformen a formas procíclicas y sobrevivan al ambiente digestivo en el vector <sup>(21, 22, 24)</sup>. Es importante que la sensibilidad a CCA esté condicionada por la temperatura porque, de lo contrario, se podría producir la diferenciación a formas procíclicas en el hombre <sup>(21)</sup>.

Para la transducción de la señal son importantes dos proteínas: TbPIP39 y TbPTP1 <sup>(24)</sup>. TbPIP39 es una serín/treonín fosfatasa, que se puede detectar en concentraciones pequeñas en las formas esbeltas y gruesas, pero sobre todo en las formas procíclicas; depende de magnesio para su actividad y está regulada por la TbPTP1, una tirosín fosfatasa <sup>(24)</sup>. En

ausencia de CCA, TbPIP39 se encuentra desfosforilada por que TbPTP1 actúa sobre ella y en esta forma es inactiva. Cuando aumenta la concentración de CCA, éste inhibe a TbPTP1, se activa TbPIP39 y actúa desfosforilando distintos sustratos aún no identificados en el glicosoma y produce la diferenciación a formas procíclicas <sup>(23, 24)</sup>.

### **Aspectos farmacológicos**

Actualmente el tratamiento de la tripanosomiasis africana se limita a cuatro fármacos: pentamidina, suramina, melarsoprol y la combinación de eflornitina – nifurtimox. El tratamiento que se aplique va a ser distinto en función de la etapa de la enfermedad y de la especie que la cause <sup>(28, 30)</sup>.

La pentamidina es una diamina aromática cargada positivamente que es efectiva durante la primera etapa de la ES causada por *T. b. gambiense*; fue usada por primera vez en 1940 <sup>(28)</sup>. Normalmente se aplica por vía intramuscular en dosis de 4 mg/kg, todos los días durante un periodo de 7 a 10 días <sup>(28)</sup>. En cuanto a su farmacocinética, se une con elevada afinidad a proteínas plasmáticas y tiene una semivida de 22 a 47 horas <sup>(28)</sup>. Los principales efectos adversos que provoca son: hipotensión, hipoglucemia y nefrotoxicidad, también puede causar alteraciones en la función hepática y pancreática y provoca el síndrome de Stevens – Jhonson pero estos efectos adversos son raros <sup>(28)</sup>. Una de las principales ventajas de este fármaco es que no se ha observado resistencia natural <sup>(28)</sup>. Se puede generar resistencia en el laboratorio; se produce por una menor expresión de los transportadores que el fármaco utiliza para entrar en el tripanosoma: el transportador de purinas 2 (P2) y la acuagliceroporina 2 (AQP2) <sup>(29)</sup>, esta resistencia es cruzada con el melarsoprol <sup>(33)</sup>. Una posibilidad para evadir esta resistencia se ha desarrollado recientemente con una nueva formulación en la que la pentamidina se introduce en nanopartículas cubiertas con “nanocuerpos” que entran en el tripanosoma mediante endocitosis y de esta forma eluden la resistencia <sup>(33)</sup>. Entre sus inconvenientes se encuentra el hecho de que no es efectivo frente a *T. b. rhodesiense* y tampoco en la fase ME de la ES debido a que no atraviesa la BHE <sup>(28)</sup>.

La suramina es una naftilamina polisulfonada usada, desde 1922, en la fase HL de la enfermedad causada por *T. b. rhodesiense* <sup>(28)</sup>. Normalmente se administra por vía intravenosa (5 inyecciones en dosis de 20 mg/kg cada 3 – 7 días en un periodo total de 4 semanas) debido a que no se absorbe por vía oral y por vía intramuscular produce irritación <sup>(28)</sup>. Tiene una vida media de 44 – 54 días y se une a las proteínas plasmáticas en un 99.7% <sup>(28)</sup>. Los principales efectos adversos que produce son: fatiga, neuropatías, problemas renales, anemia, náuseas y shock anafiláctico <sup>(28)</sup>. Entra en la célula mediante receptores asociados a la endocitosis y

produce la inhibición de enzimas del glicosoma y de la ruta de las pentosas-fosfato (como la 6 – fosfogluconato deshidrogenasa) <sup>(28)</sup>. Actualmente, no se han desarrollado resistencias probablemente debido a que inhibe múltiples enzimas <sup>(28)</sup>. El principal inconveniente de este fármaco es que no es efectivo en la segunda fase de la ES ya que no es capaz de atravesar la BHE <sup>(28)</sup>.

El melarsoprol es un derivado del arsénico sintetizado por primera vez en 1947. Actualmente, se emplea en la fase ME de la ES de África oriental <sup>(28)</sup>. Se administra por vía intravenosa, disuelto en propilenglicol, con distintas posologías; la más usada en los últimos años: 2,2 mg/kg/día de fármaco durante 10 días <sup>(28, 31)</sup>. No se conoce exactamente el mecanismo por el que produce la lisis del parásito; inhibe la glucólisis e interfiere el equilibrio redox del parásito, porque forma un aducto con el tripanotión que es el principal antioxidante de los tripanosomas <sup>(28, 31, 33)</sup>. Es un fármaco muy tóxico que produce en un 5 – 10% de los pacientes una encefalopatía reactiva (cuyos síntomas son: convulsiones, dolor de cabeza, fiebre, náuseas, vómitos y mareos) que produce la muerte en un 50% de los casos <sup>(28, 31)</sup>. No se conoce la causa, pero podría deberse al propilenglicol <sup>(28)</sup> y también en parte a la presencia de arsénico en el sistema nervioso central (SNC) <sup>(32)</sup>. Con el fin de mejorar la seguridad y la posología, se estudia una nueva formulación en la que el melarsoprol se encuentra formando un complejo con ciclodextrinas <sup>(32)</sup>. En modelo murino, se ha comprobado que esta formulación mejora la biodisponibilidad por vía oral, mantiene la eficacia y disminuye la toxicidad porque se produce una liberación controlada al SNC más lenta que con la administración del preparado convencional <sup>(32)</sup>. En los últimos años han aparecido resistencias en regiones endémicas de Angola, República Democrática del Congo, Sudán y Uganda <sup>(28)</sup>. Se ha relacionado la resistencia con una menor captación del fármaco por los tripanosomas <sup>(33)</sup>. El fármaco usa el transportador de P2 y la AQP2 para acceder al parásito y también emplea un transportador ABC (MRPA) para eliminar el aducto formado por melarsoprol – tripanotión <sup>(33)</sup>. Una menor expresión de P2 y AQP2 y una sobreexpresión de MRPA se relacionan con la resistencia <sup>(33)</sup>.

La eflornitina ( $\alpha$ -diflurorometilornitina, DFMO) es eficaz en los dos estados de la ES causada por *T. b. gambiense* y su uso está aprobado desde 1990 para la fase ME <sup>(28, 30)</sup>. Se administran 56 dosis por vía intravenosa de 100 mg/kg cada 6 horas, durante 14 días <sup>(28)</sup>. Esta posología tan compleja es necesaria porque tiene una vida media muy corta, entre 1.5 y 5 horas <sup>(28)</sup>. Tiene efecto tripanostático porque inhibe de forma irreversible la ornitina descarboxilasa (ODC) al unirse al centro catalítico, de esta manera inhibe la síntesis de poliaminas y se reduce la proliferación del parásito <sup>(28, 31)</sup>. Afecta a *T. b. gambiense* y no a

*T. b. rhodesiense* ni al hombre por que la ODC de los tripanosomas que causan la ES en África occidental tienen un recambio proteico más lento <sup>(28)</sup>. Los principales efectos adversos que produce son: diarrea, mareos, dolor de cabeza y convulsiones <sup>(28)</sup>. Desde 2009, se aplica la terapia combinada de Nifurtimox – Eflornitina (NECT) <sup>(30)</sup>. El nifurtimox se administra por vía oral, es eficaz en los dos estados de la ES provocada por *T. b. gambiense* pero se usa en la fase meningoencefálica <sup>(28)</sup>. Es un profármaco que al activarse por una nitroreductasa forma un nitrilo reactivo tóxico para los tripanosomas <sup>(31)</sup>. La NECT es más efectiva que los fármacos en monoterapia, tiene una mejor posología y además reduce el coste <sup>(28)</sup>.

Actualmente, se buscan fármacos más seguros y al ser posible que se puedan administrar por vía oral para mejorar el tratamiento de la ES. A este respecto, se están estudiando varias moléculas, entre ellas, las que están en investigaciones más avanzadas son: fexinidazol y oxaborol SCYX-7158 <sup>(28, 39, 31)</sup>.

El fexinidazol es un profármaco de la familia de los nitroimidazoles que se puede administrar por vía oral y es efectivo en las dos etapas de la ES tanto en África oriental como occidental <sup>(28, 30)</sup>. Desde octubre del 2012 se encuentra en la fase II/III de ensayo clínico, en la República Democrática del Congo y en la República Centroafricana; actualmente se está preparando la documentación para el registro <sup>(34)</sup>. El fexinidazol se metaboliza rápidamente (por dos vías metabólicas) mediante el citocromo P450 y la flavina monooxigenasa se transforma en fexinidazol sulfoxido y fexinidazol sulfona que son los metabolitos activos. El más activo es la sulfona y tiene una vida media en el plasma de 24 horas, lo que permite su administración una vez al día <sup>(31)</sup>. Se administra en una dosis de 1800 mg diarios durante los cuatro primeros días y después, 1200mg durante otros seis días <sup>(30)</sup>. A dosis elevadas de 3600 mg se han detectado efectos adversos leves como vómitos y dolor de cabeza que se resuelven espontáneamente <sup>(30)</sup>.

El oxaborol SCYX-7158 es un compuesto activo por vía oral frente a las dos fases de la ES en el modelo murino <sup>(30, 31)</sup>. Estudios farmacocinéticos apuntan a que con una sola dosis al día es suficiente para mantener la eficacia <sup>(30, 31)</sup>. Los ensayos preclínicos con esta molécula terminaron en 2011, pero después se vio que tenía una mayor semivida de la esperada en el hombre y se hicieron más ensayos en animales y en individuos sanos, estos ensayos terminaron en 2015 y en 2016 se espera empezar a ensayar la molécula en pacientes con ES en la República Democrática del Congo <sup>(28, 34)</sup>.

Además de esos dos fármacos, también se han encontrado otras dos moléculas eficaces frente a los tripanosomas: SCYX – 1330682 y SCYX – 1608210. Son derivados de la familia de oxaborol SCYX – 7158, que han demostrado eficacia en la fase ME en modelo murino. El

desarrollo de estos dos fármacos se encuentra interrumpido en estudios pre – clínicos a la espera de continuar el estudio clínico, en el caso de que los resultados con el oxaborol SCYX – 7158 no sean satisfactorios. <sup>(34)</sup>

## **CONCLUSIONES**

Durante los últimos años, se han hecho algunos avances en la descripción de la biología de los tripanosomas y también se están desarrollando nuevos tratamientos prometedores. Los avances y las medidas de control implantadas por la OMS permiten que los casos registrados cada año sean menores. Debido a esto, la OMS ha planteado como objetivo que en 2020 la ES no sea un problema de salud pública <sup>(3)</sup>.

## **BIBLIOGRAFÍA**

- (1) G E Kennedy P. Clinical features, diagnosis, and treatment of human African trypanosomiasis (sleeping sickness). *Lancet Neurol* 2013; 12: 186-94
- (2) World Health Organization. *Control and Surveillance of Human African Trypanosomiasis. Report of WHO Expert Committee. WHO technical Report Series 984.* Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2013.
- (3) Organización Mundial de la Salud [Sede Web]. 2016 [acceso 10 de Abril de 2016]. La tripanosomiasis africana. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs259/es/>
- (4) Linder AK, Priotto G. The unknown risk of vertical transmission in sleeping sickness - a literatura review. *PloS Negl Trop Dis* 2010; 4 (12): 1-5.
- (5) Cordon-Obras C et al. Molecular evidence of a Trypanosoma brucei gambiense sylvatic cycle in the human african trypanosomiasis foci of Equatorial Guinea. *Front. Microbiol* 2015; 6:765.
- (6) Franco et al. Epidemiology of human African tripanosomiasis. *Clinical Epidemiology* 2014; 6:257-275
- (7) World Health Organization [Sede Web]. 2015 [acceso 10 de Abril de 2016]. Number of new reported cases (T.b. gambiense) Data by country. Disponible en: <http://apps.who.int/gho/data/node.main.A1636?lang=en>
- (8) Rocha G, Martins A, Gama G, Brandão F, Atouguia J. Possible cases of sexual and congenital transmission of sleeping sickness. *Lancet.* 2004; 363(9404):247.
- (9) Cnops J, Magez S, De trez C. Escape mechanisms of African trypanosomes: why trypanosomosis is keeping us awake. *Parasitology.* 2015; 142: 417-427.

- (10) Capewell et al. A co-evolutionary arms race: trypanosomes shaping the human genome, humans shaping the trypanosome genome. *Parasitology*. 2015; 142, S108-S119.
- (11) Structure of the trypanosome haptoglobin – hemoglobin receptor and implications for nutrient uptake and innate immunity. *PNAS*. 2013; 110: 1905-1910.
- (12) Simo et al.: Challenges towards the elimination of Human African Trypanosomiasis in the sleeping sickness focus of Campo in southern Cameroon. *Parasites & Vectors*. 2014 7:374.
- (13) World Health Organization [Sede Web]. 2015 [Acceso 8 de Mayo de 2016]. Notas descriptivas: enfermedades tropicales desatendidas. Disponible en: [http://www.who.int/topics/tropical\\_diseases/factsheets/neglected/es/](http://www.who.int/topics/tropical_diseases/factsheets/neglected/es/)
- (14) Uzureau et al. Mechanism of *Trypanosoma brucei* gambiense resistance to human serum. *Nature*. 2013; 501: 430-434.
- (15) Wheeler R. The trypanolytic factor-mechanism, impacts and applications. *Trends in Parasitology*. 2010; 26: 457-464.
- (16) Lane-Serff et al. Structural basis for ligand and innate immunity factor uptake by the trypanosome haptoglobin-haemoglobin receptor. *eLife*.
- (17) Pays et al. Mutual self-defence: the trypanolytic factor story. 2008;10: 985-989.
- (18) Capewell P, Veitch NJ, Turner CMR, Raper J, Berriman M, et al. (2011) Differences between *Trypanosoma brucei* gambiense Groups 1 and 2 in their Resistance to Killing by Trypanolytic Factor 1. *PLoS Negl Trop Dis*
- (19) Bart et al. Localization of serum resistance-associated protein in *Trypanosoma brucei* rhodesiense and transgenic *Trypanosoma brucei* brucei. *Cellular Microbiology*. 2015; 17; 1523-1535.
- (20) Genovese et al. Association of Trypanolytic ApoL1 Variants with Kidney Disease in African – Americans. *Science*. 2010; 329: 841 – 845.
- (21) MacGregor P, Matthews K. New discoveries in the transmission biology of sleeping sickness parasites: applying the basis.
- (22) Mony B, Matthews K. Assembling the components of the quorum sensing pathway in African trypanosomes. *Molecular Microbiology*. 2015; 96: 220 – 232.
- (23) Rico et al. Bloodstream form pre – adaption to the tsetse fly in *Trypanosoma brucei*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2013; 3: 1 – 13.
- (24) Matthews et al. A novel phosphatase cascade regulates differentiation in *Trypanosoma brucei* via a glycosomal signaling pathway. *Genes & Development*. 2010; 24: 1306-1316.

- (25) Carrington M, Schwede A. Bloodstream form trypanosome plasma membrane proteins: antigenic variation and invariant antigens. *Parasitology*. 2010; 137: 2029-2039.
- (26) Pays et al. Antigenic variation in *Trypanosoma brucei*: facts, challenges and mysteries. *Current Opinion in Microbiology*. 2004; 7: 369-374.
- (27) Lover et al. Antigenic variation in African trypanosomes: the importance of chromosomal and nuclear context in VSG expression control. 2013; 15: 1984-1993.
- (28) Babokhov et al. A current analysis of chemotherapy strategies for the treatment of human African trypanosomiasis. *Pathogenes and Global Health*. 2013; 107. 242-252.
- (29) Unciti-Broceta et al. (2015) Specific cell targeting therapy bypasses drug resistance mechanisms in African Trypanosomiasis. *PLOS Pathogenes* 11(6): e1004942.
- (30) Jones A, Avery V. (2015) Future treatment options for human African trypanosomiasis. *Expert Review of Anti-infective Therapy*, DOI: 10.1586/14787541.2015.1094374
- (31) Gilles Eperon et al. Treatment options for second-stage gambiense human African trypanosomiasis. *Expert Review of Anti-infective Therapy*. 2014; 12: 1407-1417.
- (32) Rodgers J et al. (2011) Melarsoprol cyclodextrin inclusion complexes as promising oral candidates for the treatment of Human African Trypanosomiasis. *PloS Negl Trop Dis* 5(9):e1308. doi:10.1371/journal.pntd.0001308.
- (33) Baker et al. Drug resistance in African trypanosomiasis: the melarsoprol and pentamidine story. *Trends in Parasitology*. 2013; 29: 110-117.
- (34) Drugs for Neglected Diseases initiative [Sede Web] [Acceso 8 de mayo de 2016]. Disponible en: <http://www.dndi.org/diseases-projects/hat/portfolio/>
- (35) Barth et al. Life and Death of *Trypanosoma brucei*: New Perspectives for Drug Development. En: T. Jäger, O. Koch and L. Flohé. *Trypanosomatid Disease: molecular Routes to Drug Discovery*. 1 Ed. 261- 277.
- (36) Neuberger et al. (2014) The changing epidemiology of Human African Trypanosomiasis among patients from nonendemic countries -1902-2012. *PloS ONE* 9(2): e88647.
- (37) Mogk et al. (2014) Cyclical appearance of African Trypanosomes in the cerebrospinal fluid: new insights in how trypanosomes enter the CNS. *PloS ONE* 9 (3): e91372. doi:10.1371/journal.pone.0091372.
- (38) Mogk et al. The lane to the brain: how African trypanosomes invade the CNS. *Trends in Parasitology*. 2014; 30: 470 – 477.