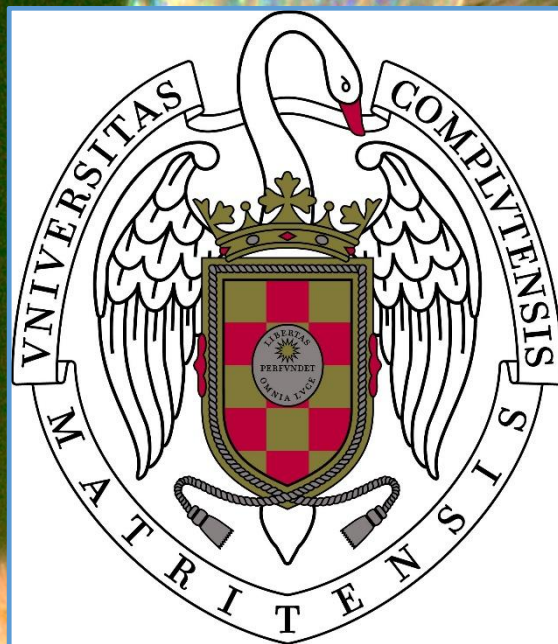


UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE FARMACIA

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA



**AVANCES EN LA TERAPIA ORAL DE LA
LEISHMANIASIS**

TFG PRESENTADO POR:

Mario Mayor Moro (02305104-K)

Tutor:

Francisco Bolás Fernández

Convocatoria de junio de 2016

ÍNDICE

1. RESUMEN	3
2. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES	3
2.1. Epidemiología	4
2.2. Ciclo biológico	4
2.3. Patogénesis	6
2.4. Clínica y sintomatología	7
2.5. Diagnóstico y tratamiento	7
3. OBJETIVOS	11
4. METODOLOGÍA	11
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	11
5.1. Sistemas de liberación controlada con anfotericina B	12
5.2. Sistemas de liberación controlada con antimoniales	13
5.3. Nitroimidazoles	13
5.4. Derivados de 4-aminoquinaldina	14
5.5. Amiodarona	14
5.6. Posaconazol	15
5.7. Arilimidamidas (AIAs)	15
5.8. Pirazinamida (PZA)	15
6. CONCLUSIONES	16
7. BIBLIOGRAFÍA	18

1. RESUMEN

La leishmaniasis hace referencia a un conjunto de diversas enfermedades olvidadas y que son producidas por protozoos parásitos intracelulares del género *Leishmania*, los cuales son transmitidos mediante la picadura de las hembras de un pequeño insecto díptero denominado la mosca de la arena. Estas enfermedades continúan siendo actualmente un grave problema de salud a lo largo del mundo, sobre todo en su forma visceral.

Uno de los grandes retos es la presencia de distintas especies de *Leishmania* y diversas manifestaciones clínicas, lo que complica la terapéutica. Hay varios fármacos antileishmania, pero el fármaco de elección aún está fuera de nuestro alcance, ya que los fármacos disponibles presentan serias limitaciones y muchos de ellos son caros, tienen graves efectos adversos o tienen una acusante baja efectividad. Además, los pacientes inmunosuprimidos requieren una especial atención, lo que supone un reto adicional.

Mientras tanto, la combinación de terapias locales y parenterales con los fármacos existentes continúa siendo una prioridad para aumentar la eficacia y recortar la duración del tratamiento. Este trabajo se ha realizado con la intención de mostrar los últimos avances realizados en la administración oral de fármacos con acción antileishmania y sus posibilidades de uso en un futuro.

2. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

La leishmaniasis es una enfermedad producida por parásitos protozoarios intracelulares del género *Leishmania*, los cuales se transmiten a través de la picadura de las hembras de flebótomos o moscas de la arena. El espectro clínico de la enfermedad puede ir desde úlceras cutáneas auto-resolutivas a una enfermedad mucocutánea mutilante, e incluso a una infección sistémica letal (1). El tratamiento en todas las formas de la enfermedad es complicado, añadiéndose a ello la dificultad de la aparición de resistencias a los fármacos.

La clasificación de la enfermedad es compleja, pero fundamentalmente se puede realizar según las manifestaciones clínicas (leishmaniasis cutánea, mucocutánea, visceral, viscerotrópica), o bien según su localización geográfica (leishmaniasis del Viejo Mundo, causada por especies de *Leishmania* encontradas en África, Este de Asia, Mediterráneo e India; o leishmaniasis del Nuevo Mundo, causada por especies de América Central y del Sur).

2.1. Epidemiología

La pobreza y la malnutrición juegan un papel importante en el aumento de la susceptibilidad a la leishmaniasis. Otro factor de riesgo es el movimiento de las poblaciones susceptibles en áreas endémicas, incluyendo la migración de poblaciones a gran escala por razones endémicas. El resurgimiento de la LV se ha producido debido a las deficiencias en el control del vector, la ausencia de una vacuna, y la falta de acceso a tratamiento médico debido a los costes y al aumento de resistencias a los medicamentos para el tratamiento de primera línea (2).

La coexistencia de leishmaniasis con VIH es un motivo de grave preocupación. La enfermedad se está extendiendo en varias zonas del mundo debido a la rápida propagación de la epidemia del SIDA. La deficiencia inmunitaria ha llevado a una mayor susceptibilidad a las infecciones, incluyendo la leishmaniasis. Las personas con SIDA corren de 100-1.000 veces más riesgo de desarrollar LV en ciertas áreas.

La distribución geográfica de la leishmaniasis se restringe generalmente a las regiones tropicales y templadas (hábitats naturales de la mosca de arena). Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), la leishmaniasis es endémica en 98 países y 4 de los 6 continentes (África, Asia, Europa y América), con una incidencia anual estimada oficial de 0,7-1,3 millones de casos de enfermedad cutánea y 0,2-0,4 millones de casos de enfermedad visceral (3).

La leishmaniasis visceral y cutánea en pacientes con SIDA se aprecia cada vez más como una infección oportunista potencial. La coinfección con el VIH ha sido reportada en más de 35 países en todo el sur de Europa, la cuenca mediterránea, América Central y del Sur, y la India. La enfermedad se produce en conjunción con inmunosupresión severa. La incidencia de la coinfección ha disminuido en los países desarrollados debido al uso generalizado de la terapia antirretroviral.

2.2. Ciclo biológico

Leishmania es transmitido a los mamíferos mediante la picadura de la hembra de los géneros *Phlebotomus* en el Viejo Mundo y *Lutzomya* en el Nuevo Mundo. Se han identificado más de 20 especies patogénicas de *Leishmania*, y cerca de 30 de las 500 especies de flebótomos conocidas son vectores de la enfermedad (4).

La leishmaniasis es considerada mayoritariamente una enfermedad zoonótica debido a la necesidad de un reservorio animal para completar el ciclo biológico. Los humanos se consideran hospedadores accidentales. La infección en animales salvajes no suele ser patogénica, a excepción de los perros, que se ven seriamente afectados por la enfermedad.

En el Viejo Mundo los hospedadores son perros, roedores, zorros y lobos, mientras que en el Nuevo Mundo son perezosos, osos hormigueros, zarigüeyas y roedores. En el caso de la enfermedad de kala-azar, los hospedadores en la India son humanos. En la India, la LV causada por *L. donovani* no parece tener un reservorio animal, por lo que se cree que se transmite solo entre el flebótomo y los humanos.

La coinfección con el VIH también ha dado lugar a la propagación de la leishmaniasis, una enfermedad típicamente rural, a las ciudades. En los pacientes infectados de VIH, la leishmaniasis acelera la aparición del SIDA por inmunosupresión acumulativa y por la estimulación de la replicación del virus. Además, puede cambiar una infección de *Leishmania* asintomática a sintomática. El uso compartido de agujas entre usuarios de drogas intravenosas puede extender tanto el VIH como la leishmaniasis.

En cuanto al ciclo biológico de *Leishmania*, la forma flagelada promastigote se encuentra en los flebótomos, la cual se transforma a la forma no flagelada amastigote en el hospedador humano o animal.

Solo la hembra infectada transmite el protozoo, inyectándolo en el torrente sanguíneo de humanos y mamíferos mediante su picadura. El parásito continúa su desarrollo en el interior del flebótomo durante 4-25 días, donde se transforma en promastigote. Se producen un gran número de estos mediante fisión binaria en el intestino medio, los cuales viajarán a las cavidades bucales del vector. Estos promastigotes son regurgitados mediante la picadura al hospedador, desembocando en la propagación de la enfermedad.

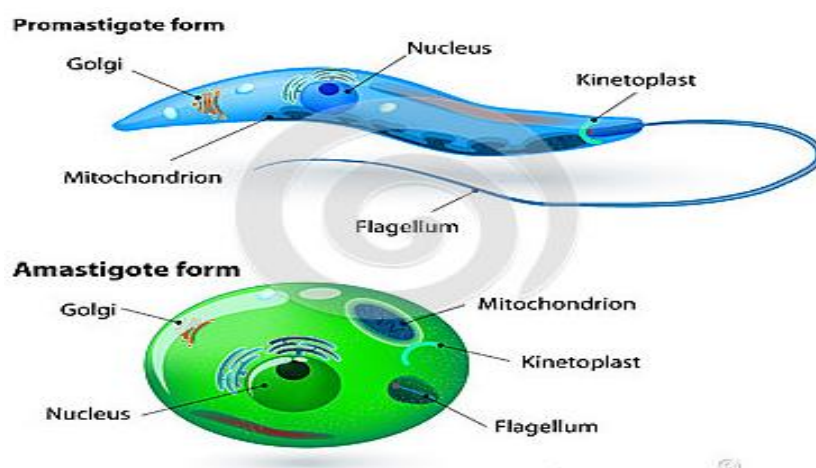


Ilustración 1. Morfología de amastigotes y promastigotes de *Leishmania*

Tras la picadura, algunos de los flagelados que entran en la circulación del hospedador son destruidos, mientras que otros entran en los lisosomas de macrófagos del sistema retículo

endotelial (SRE), donde pierden sus flagelos y se convierten a la forma amastigote. Las formas amastigotes también se multiplican por fisión binaria, y de una manera continua hasta que la célula que los contiene se rompe, liberándolos a la circulación sanguínea. Los amastigotes libres entonces invaden nuevas células, continuando el ciclo y durante el proceso, infectando el SRE. Algunos de los amastigotes libres son atraídos por el vector durante su toma de sangre, completando el ciclo.

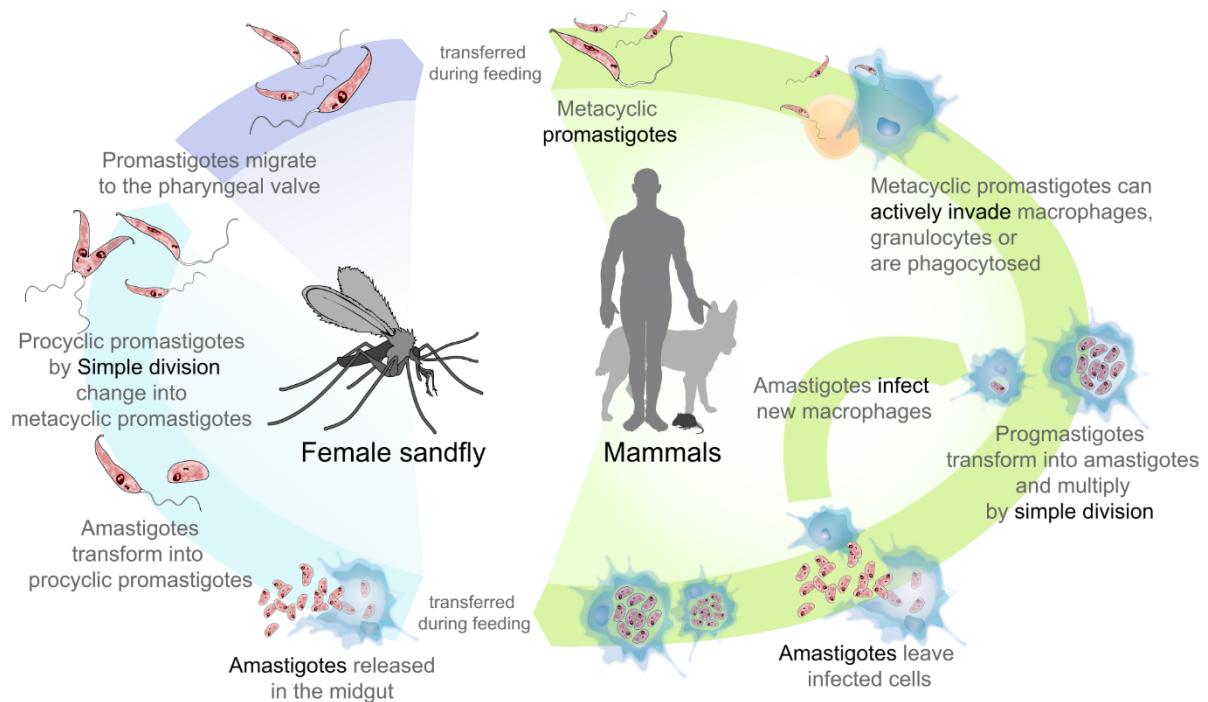


Ilustración 2. Ciclo biológico de Leishmania

2.3. Patogénesis

Tras la inoculación por el vector, los promastigotes se unen a macrófagos dérmicos. Las infecciones pueden curarse espontáneamente o pueden progresar hacia una enfermedad crónica, que a menudo desembocan en la muerte por una infección secundaria.

Los promastigotes activan la vía alternativa del complemento y son opsonizados. La función inmunológica más importante es una marcada inmunosupresión de la inmunidad celular por los antígenos del parásito. En las personas con una infección asintomática auto-resolutiva, las células Th1 predominan junto a citoquinas como IL-2, IFN- γ e IL-12, que inducen la resolución de la enfermedad.

Como ya se ha mencionado anteriormente, la leishmaniasis afecta al SRE. Los macrófagos parasitados diseminan la infección por todo el cuerpo, sobre todo a bazo, hígado y médula ósea.

En la enfermedad visceral o cutánea diseminada, los pacientes presentan anergia (incapacidad de los linfocitos de reaccionar ante la presencia de un antígeno) a *Leishmania* y presentan un alto nivel de citoquinas Th2.

2.4. Clínica y sintomatología

La leishmaniasis cutánea (LC) puede ser de varios tipos: localizada (con pápulas costrosas y úlceras en piel expuesta), difusa o diseminada (nódulos y pápulas no ulcerosas diseminadas por el cuerpo) o recidivante (lesiones recurrentes en la zona aparentemente curada hace tiempo, en las que aparece una gran pápula de centro endurecido cuya expansión genera destrucción facial). Otro tipo de LC es la leishmaniasis dérmica post kala-azar (PKDL). Se desarrollan unas máculas, nódulos y numerosas placas a los meses o años de haberse curado de una leishmaniasis visceral.

La leishmaniasis mucocutánea (LMC) comprende la destrucción progresiva de las mucosas de la orofaringe y nariz, lo que deriva en una destrucción facial del paciente. Los signos y síntomas que presenta la enfermedad son: obstrucción de fosas nasales (pico de loro), erosión de paladar, labios y faringe; ronquera, gingivitis y linfadenopatía localizada.

La leishmaniasis visceral (LV) puede ser: LV kala-azar (una enfermedad sistémica potencialmente letal caracterizada por el oscurecimiento de la piel, fiebre, pérdida de peso, hepatoesplenomegalia, pancitopenia e hipergammaglobulinemia) o leishmaniasis viscerotrópica (produce dolor abdominal inespecífico, fiebre, mialgias y hepatoesplenomegalia transitoria) (5).

2.5. Diagnóstico y tratamiento

El diagnóstico de laboratorio para la leishmaniasis incluye el aislamiento, visualización y cultivo del parásito a partir de tejido infectado. También es posible realizar una detección serológica de anticuerpos contra el antígeno recombinante K39. Las técnicas de PCR nos permiten un diagnóstico rápido de las especies de *Leishmania*. Otras posibles técnicas serían la realización de hemogramas, frotis sanguíneos, pruebas de función hepática, medición de niveles de gammaglobulinas, o la realización del test de Montenegro (6).

El tratamiento debe ser individualizado ya que, como se indicó anteriormente, hay muchas especies implicadas. Existen actualmente alrededor de 25 compuestos y formulaciones para el tratamiento de las leishmaniasis, aunque no todas ellas se usan. El inconveniente de estos compuestos es que presentan alta toxicidad o tienen problemas de resistencias por parte del

parásito, lo que hace indispensable el desarrollo de fármacos efectivos contra todas las formas de leishmaniasis.

Una solución temporal a medio-corto plazo es el empleo de una terapia combinada de fármacos antileishmania, la cual permite limitar los inconvenientes descritos de la monoterapia con estos fármacos y además consigue disminuir los costes, las dosis y el periodo de duración del tratamiento.

Por otro lado, hay que tener en cuenta la capacidad de *Leishmania* para proliferar rápidamente en caso de tumores, la inmunosupresión (VIH), el trasplante de órganos y el uso de corticoides. La gran mayoría de los casos de LV presentan un estado de coinfección con VIH, siendo un suceso extraño en el caso de la LC y LMC. El tratamiento a realizar con este tipo de pacientes coinfectados sería muy similar al de los pacientes con infección de LV, pero debiendo atender a los niveles de células TCD4⁺. La coinfección LV/VIH tiene una menor tasa de curación, una mayor tasa de recaídas y una mayor mortalidad asociada al tratamiento.

Los principales tratamientos farmacológicos disponibles actualmente son los siguientes (7):

1. Los compuestos de antimonio pentavalente (Sb^V) llevan siendo utilizados desde los años 30 para el tratamiento de todas las formas de leishmaniasis por administración intravenosa. Siguen siendo muy usados para el tratamiento de primera línea de la LV y LC, sobre todo en países en desarrollo. Dependiendo de la especie y la región, las tasas de curación oscilan entre el 80-100%. Existen dos compuestos comercializados: antimoniato de meglumina (Glucantime[®]) y estibogluconato de sodio (Pentostam[®]). Químicamente son similares, pero su toxicidad y eficacia derivan de su contenido en antimonio. El primero contiene un 8,5% de Sb^V, mientras el segundo contiene un 10% de Sb^V, lo que hace a este último más seguro y efectivo para el tratamiento de la LV. Ambos fármacos son tóxicos y producen efectos adversos como cardiotoxicidad y nefrotoxicidad, por lo que hace necesario la hospitalización del paciente para su monitorización durante la administración del fármaco.

2. La anfotericina B (AmB) es un macrólido antifúngico que originalmente se extrajo de *Streptomyces nodosus*. Presenta una elevada tasa de curación (95%) frente a todas las formas clínicas de leishmaniasis. Actualmente se usan dos formas del fármaco: el desoxicolato de anfotericina B (AmBd) y la anfotericina B liposomal (AmBisome). Debido al aumento de las resistencias a antimoniales y al resto de fármacos antileishmania, este fármaco ha pasado a ser el tratamiento alternativo más indicado para la LV. El inconveniente de este fármaco es que a

pesar de ser muy efectivo resulta caro y precisa de administración intravenosa. Además, es muy tóxico y puede generar nefrotoxicidad, hipopotasemia y miocarditis.

3. La paromomicina (PM) es un antibiótico aminoglucósido de administración parenteral. Es el tratamiento de segunda elección, solo o combinado con Sb^V. Su tasa de curación alcanza el 87% para la LC en formulación tópica. Se administra por vía intravenosa para el tratamiento de LV resistente a Sb^V, ya que su disponibilidad oral es baja. Tiene una efectividad variable, dependiente de la especie de *Leishmania* con la que se trate. Tiene una alta eficacia, es bien tolerado por los pacientes, es barata y tiene pocos efectos adversos, entre los que destaca la nefrotoxicidad y la ototoxicidad, así como dolor en el lugar de la inyección.

4. La pentamidina (Pmd) es un antimicrobiano con buena actividad antileishmania. Se usa como tratamiento de segunda línea para la LV resistente a Sb^V. Aunque su tasa de curación es elevada (93%) esta ha empezado a disminuir debido a las resistencias, por lo que actualmente se usa para tratamientos combinados. Su administración es por vía IM o IV. Como efectos adversos puede generar taquicardia, hipotensión o sabor metálico. En el 6-9% de los pacientes produce hipoglucemia como resultado de la destrucción de las células del páncreas, y excepcionalmente hiperglucemia y diabetes mellitus tipo 1.

5. La miltefosina (MF) es una alquilfosfocolina que fue desarrollada originariamente como antineoplásico, pero debido a que en los ensayos clínicos se observó que a dosis terapéuticas tenía graves efectos adversos se decidió disminuir las dosis y se comprobó que a estas no era tóxico y además ejercía un excelente papel como agente antileishmania. Es el primer fármaco oral antileishmania registrado para su uso en la India a partir de 2002. Su eficacia ronda un 97% para el tratamiento del kala-azar, y es bien tolerada para todas las formas de leishmaniasis. Sin embargo, tras una década de uso en el país, se ha duplicado la tasa de recaída y su eficacia parece haber disminuido. El inconveniente de este fármaco es su alto precio y su larga semivida (hasta 152 h).

6. Los imidazoles orales (AZO) que han demostrado su acción antileishmania son: metronidazol, ketoconazol, miconazol, cotrimazol, posaconazol, itraconazol, fluconazol y terbinafina. Son efectivos frente a la LV, solos o combinados con otros agentes antileishmania. Su tasa de curación va del 44-88%, dependiendo de la especie de *Leishmania*. Son efectivos frente a LC y LMC. El inconveniente que presentan es su baja eficacia respecto a los antimoniales y sus problemas de toxicidad.

7. La sitamaquina (SM) es una 8-aminoquinolina de la que se ha visto una potencial actividad oral para el tratamiento de la LV. En un primer momento fue sintetizada para el tratamiento de la malaria, aunque actualmente se usa como tratamiento de segunda línea frente a la LV, incluso para uso compasivo en coinfecciones LV/VIH. Se encuentra actualmente en fase II en India y Kenia, con una tasa de curación registrada del 27-87%. Su desarrollo clínico ya ha sido abandonado debido a su baja eficacia. Como efectos adversos puede producir dolor abdominal, cianosis y la disminución de los niveles de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa.

8. El alopurinol (ALO) es un análogo de purina, que en un principio fue sintetizado para el tratamiento del cáncer, pero que ahora es utilizado para el tratamiento de LC, LMC y PKDL, además de para la leishmaniasis canina. Es efectivo frente a la LV solo o combinado con imidazoles. Es barato, eficaz frente a la LC, pero con un alto porcentaje de recaídas (56%) y de eficacia respecto a los Sb^V en el tratamiento de coinfectados por LV/VIH. Este tratamiento está obsoleto.

Tabla 1. Principales fármacos usados en el tratamiento de la leishmaniasis (8)

FÁRMACO	VÍA DE ADMINISTRACIÓN	DOSIS	MECANISMO DE ACCIÓN
Sb^V	IM, IV o IL	20 mg/kg/día (28-30 días)	Inhibición de la actividad glicolítica y de oxidación de ácidos grasos del amastigote
AmB	IV	0,75-1 mg/kg/día (15-20 días, diariamente o alternado)	Fijación a esteroides de membrana y alteración de su permeabilidad, lo que lleva a la lisis celular
AmBisome	IV	3-5 mg/kg/día (5-21 días)	Similar a AmB
MF	Oral	100-150 mg/día (28 días)	Estimulación de la respuesta inmunitaria frente a <i>Leishmania</i>
PM	IM/IV (LV), oral o tópica (LC)	15 mg/día (21 días) o 20 mg/kg (17 días)	Inhibición de la síntesis proteica por bloqueo de la subunidad 30S ribosomal
Pmd	IM/IV	3 mg/kg/día IM cada 2 día con 4 inyecciones	Inhibición de la replicación y transcripción del kinetoplasto
AZO	Oral (ketoconazol, fluconazol, itraconazol) Tópico (miconazol, clotrimazol)	Variada, según el tipo de imidazol y forma clínica de la enfermedad	Inhibición de la síntesis de ergosterol en la membrana del parásito

3. OBJETIVOS

De la revisión realizada en el capítulo sobre los antecedentes y estado actual del tratamiento de la leishmaniasis, se hace patente la necesidad del descubrimiento y desarrollo de nuevos fármacos activos por vía oral pues, a excepción de la miltefosina, todos los demás son de administración parenteral, a través de posologías de larga duración y con numerosos efectos adversos.

En consecuencia, el objetivo del presente trabajo es el de ofrecer un acercamiento a los distintos tipos de actuaciones y procedimientos realizados a corto-medio plazo por distintas líneas y grupos de investigación para obtener nuevos fármacos antileishmania con actividad oral, además de valorar su eficacia y situación actual.

4. METODOLOGÍA

Para poder desarrollar este objetivo, se ha realizado una revisión bibliográfica de diversos artículos obtenidos en PubMed, Scielo, Medscape y Google Académico, los cuales presentan una antigüedad no superior a los 10 años desde 2016.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Debido a que muchos de los fármacos antileishmania actuales solo tienen actividad frente a un número limitado de especies de *Leishmania*, los nuevos fármacos o protocolos deberían ir dirigidos al espectro entero del parásito y sus enfermedades. Por un lado, como se ha comentado anteriormente, la terapia combinada y el uso conjunto de inmunoterapia con fármacos antileishmania parece ofrecer unos resultados prometedores, pero de eficacia variable. Pero, por otro lado, la falta de fármacos leishmanicidas o formulaciones destinadas a la vía oral ha hecho que la comunidad científica esté buscando nuevos caminos para poder desarrollarla y explotarla.

A lo largo de estos años, diversas líneas de investigación han trabajado para conseguir este fin. Los sistemas coloidales están teniendo mucha repercusión debido a sus ventajas en la formulación de medicamentos. También cabe destacar la importancia que están recibiendo ciertos fármacos que han sido usados con otros fines terapéuticos y que ahora se han descubierto con una potencial actividad leishmanicida. A todo esto, hay que añadir los avances que se están realizando con las técnicas de *screening* de alto rendimiento, que ponen de manifiesto una

amplia librería de moléculas candidatas a ensayos preclínicos para el tratamiento de la leishmaniasis.

Los avances más destacados que se han propuesto para su descripción son los siguientes:

5.1. Sistemas de liberación controlada con anfotericina B

El uso de sistemas de liberación controlada, tales como liposomas y nanopartículas, procuran una gran eficacia y seguridad una vez que los fármacos son adsorbidos o encapsulados en transportadores, reduciendo la dosis y los efectos adversos respecto a las formulaciones convencionales (9,10). Otra ventaja añadida es que además permiten el encapsulamiento de fármacos con problemas de solubilidad o biodisponibilidad oral, lo que abre un posible camino al uso de formulaciones orales para la leishmaniasis.

En el caso de la anfotericina B, esta presenta una baja solubilidad, inestabilidad a pH gástrico y, debido a sus propiedades fisicoquímicas, es incapaz de atravesar los enterocitos del intestino delgado. Wasan, K. *et al.* (11) realizaron un análisis de la actividad antileishmania de una formulación lipídica oral (de composición no descrita) de anfotericina B realizada por ellos para probarla en ratones BALB/c infectados por *L. donovani*. Se administraron de 10-20 mg/kg dos veces al día durante 5 días, dando como resultado una inhibición de la carga parasitaria de un 99,5-99,8% en hígado.

La eficacia de esta formulación se debe a una combinación de solubilidad aumentada, aumento de la estabilidad gastrointestinal y un aumento de la permeabilidad de membrana. Además, la formulación lipídica por vía oral es capaz de transportar el fármaco tanto por el sistema vascular como por el linfático, lo que facilita su llegada a macrófagos infectados de órganos importantes.

Se ha desarrollado una nanosuspensión de anfotericina B mediante técnicas de homogeneización de alta presión para facilitar su absorción a través del tracto gastrointestinal. Las nanosuspensiones han demostrado adherirse a la mucosa gastrointestinal, aumentando el tiempo de contacto del fármaco y aumentando sus posibilidades de absorberse (12). El uso de esta formulación en ratones BALB/c infectados de *L. donovani* mostró una mayor absorción y una reducción de la carga parasitaria, respecto a la administración oral de anfotericina B micronizada, AmBisome o Fungizone, pero sin observarse indicios de curación.

Recientemente, se llevó a cabo un estudio sobre la administración oral de anfotericina B introducida en nanopartículas de N-palmitoil-N-metil-N,N-dimetil-N,N,N-trimetil-6-O-glicol chitosán (GCPQ) para su vectorización a órganos específicos, en el que participaron profesores

de la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense de Madrid (13). Se observó que el uso de AmB-GCPQ producía unos niveles más altos de fármaco en hígado, pulmones y bazo (los órganos diana de este estudio) en perros sanos y ratones infectados de LV, y que además disminuía los niveles de fármaco en los riñones (órgano que se ve afectado por la toxicidad del fármaco) respecto a otras formulaciones como AmBisome. La solubilidad del fármaco y su absorción por los enterocitos y placas de Peyer aumentaron con esta nueva formulación, que entre sus propiedades se encontraba la de ser mucoadhesiva (14), lo que propició una biodisponibilidad oral del 24,7%. Su eficacia resultó similar a la de AmBisome administrado por vía intravenosa.

Prajapati, V. *et al.* (15) investigaron la administración oral de anfotericina B en nanotubos funcionalizados de carbono, una nueva familia de nanovectores usadas para el transporte de distintos tipos de moléculas, para analizar su eficacia leishmanicida en el tratamiento de hámsteres infectados de *L. donovani*. El fármaco acoplado a los nanotubos de carbono mostró una eficacia del 97,6% en el bazo de los animales. Este tipo de nanovectores aún no han sido aprobados para su uso en el ser humano, y la formulación debe ser optimizada, pero supone un avance en el tratamiento oral de la enfermedad.

5.2. Sistemas de liberación controlada con antimoniales

Actualmente hay trabajos en los que se está investigando la capacidad de la β -ciclodextrina, un transportador de fármacos, para mejorar la absorción oral del antimonio y promover la eficacia oral del antimoniato de meglumina frente a LC experimental. Se ha observado que la administración oral de meglumina antimoniato acomplejada en ratones proporcionó tres veces mayores niveles del fármaco en sangre que la administración del fármaco convencional (16). Además, se vio que la efectividad del complejo oral era equivalente al del fármaco administrado por vía intraperitoneal, y que la eficacia del complejo frente a la enfermedad se tradujo en una significativa baja carga parasitaria en animales tratados.

5.3. Nitroimidazoles

Los nitroimidazoles son una clase de compuestos de acción antimicrobiana frente a varios parásitos, incluyendo kinetoplastidos. Gupta *et al.* (17) evaluaron una compilación de 72 nitroimidazoles pertenecientes a cuatro clases subquímicas e identificaron la molécula DNDi-VL-2098 como candidata preclínica para el tratamiento oral de la LV. La absorción oral de este compuesto mostró ser bastante buena, gracias a su baja solubilidad en agua y su alta permeabilidad (18). Un grupo de investigadores comunicaron que los metabolitos de sulfóxido

y sulfona del fenixidazol a una dosis de 200 mg/kg por 5 días resultaban en una supresión del 98,4% en ratones BALB/c infectados de LV. Otro nitroimidazol, PA-824, fue eficaz en un modelo murino de LV, con >99% de supresión de carga parasitaria cuando se administró oral a 100 mg/kg durante 5 días (19). Tras comparar la eficacia de DNDi-VL-2098 con los nitroimidazoles existentes antileishmania, encontraron que en el enantiómero R del compuesto mostró una eficacia similar a una dosis única oral de 6,25 mg/kg por 5 días, en ratones BALB/c infectados por *L. donovani*. Un periodo de exposición de 48 h a DNDi-VL-2098 es suficiente para eliminar a la totalidad de los parásitos. Además, esta molécula tiene un marcado potencial para estimular la inmunidad del hospedador mediante la activación de la respuesta Th1.

5.4. Derivados de 4-aminoquinaldina

Esta nueva clase de moléculas presentan un gran potencial antileishmania, ejerciendo un efecto inhibitorio tanto *in vivo* como *in vitro* en los amastigotes y promastigotes de *L. donovani*. Destacan las moléculas PP-9 y PP-10 por su excelente actividad en cepas de *L. donovani* tanto resistentes como sensibles a gluconato de antimonio sódico (SAG) (20). Estos compuestos presentan una gran permeabilidad oral, lo que les hace unos candidatos idóneos para la ruta de administración oral. La PP-10 ejerce su actividad antileishmania mediante la muerte celular programada.

Palit, P. *et al.* (20) usaron los compuestos S-4, PP-2, PP-9 y PP-10 para los ensayos *in vivo* en ratones BALB/c infectados de *L. donovani* resistente y sensible a SAG. La administración oral de los compuestos en los animales dio como resultado una alta eficacia frente a ambas cepas del parásito, con una disminución de la infección de un 88-93% en hígado y 96-98% en bazo. La actividad leishmanicida en el hígado por parte de la PP-10 frente a ambas cepas resultó ser mejor que la de la miltefosina a dosis equivalentes. A dosis terapéuticas, ninguna de las moléculas mostró signos de toxicidad en órganos vitales. Al microscopio electrónico, se observó la pérdida de los flagelos de los promastigotes en aquellos que tuvieron contacto con la PP-10.

5.5. Amiodarona

Se ha demostrado recientemente que la amiodarona, un fármaco antiarrítmico ampliamente usado, administrada por vía oral es efectiva frente a *L. mexicana*, incluso a menores dosis que las requeridas para inhibir la proliferación de *T. cruzi* (21). El fármaco es efectivo frente a promastigotes y macrófagos infectados de amastigotes, con una gran efectividad. Su mecanismo de acción es a través de la disrupción de la homeostasis del Ca^{2+} en la mitocondria,

en la que alcaliniza los acidocalcisomas del orgánulo del parásito, muy similar a la miltefosina. Además, se ha comprobado que la combinación de miltefosina y amiodarona tiene un efecto sinérgico frente a la proliferación de amastigotes intracelulares de macrófagos infectados, generando una tasa de curación del 90% en modelos murinos de leishmaniasis (22). La amiodarona ha sido administrada con éxito en ensayos clínicos de LC humana.

5.6. Posaconazol

Muy recientemente, el posaconazol, un potente antifúngico, ha sido usado oralmente en LC del Viejo Mundo producida por *L. infantum* (23). En este tratamiento, se administraron oralmente 400 mg del fármaco dos veces al día durante 14 días. Debido a la corta duración del tratamiento, no se han podido observar signos de recurrencias o desarrollo visceral de la enfermedad pasados más de 15 meses desde el tratamiento con el fármaco (24).

5.7. Arilimidamidas (AIAs)

Las arilimidamidas son una nueva clase de moléculas que presentan una potente actividad leishmanicida frente a amastigotes axénicos e intracelulares de *L. donovani*, principal causante de la LV. Wang, M. Z. *et al.* (25) llevaron a cabo una caracterización *in vitro* e *in vivo* de la actividad leishmanicida de las moléculas DB745 y DB766. Demostraron ser unos excelentes candidatos preclínicos para el tratamiento oral de la LV. DB766 demostró ser más potente que DB745, similar a la anfotericina B y sustancialmente más activa que la miltefosina y paromomicina. Además, las arilimidamidas son igualmente activas frente a parásitos de *Leishmania* resistentes como no resistentes a antimonio. Los AIAs tienen unas propiedades fisicoquímicas y farmacocinéticas deseables, incluyendo moderada hidrofobicidad, biodisponibilidad oral (25%) y estabilidad metabólica, así como una distribución tisular a órganos diana adecuada.

Aunque las AIAs son análogos estructurales de la pentamidina, difieren significativamente en las propiedades fisicoquímicas y su biodisponibilidad (26). Aún es desconocido cómo las AIAs ejercen su efecto antileishmania, aunque se cree que pueden producir alteraciones en la ultraestructura del núcleo y la mitocondria (27).

5.8. Pirazinamida (PZA)

La pirazinamida es un fármaco antituberculoso usado desde 1949, del que se sugiere que produce una inhibición de las síntesis de ácidos grasos en *Leishmania* (28,29). Méndez, S. *et al.* (30) demostraron su actividad frente a *L. major* tanto *in vivo* como *in vitro*. Además, la PZA se administra oralmente, obviando la necesidad de inyecciones parenterales.

Demostraron que la PZA es eficiente en el control del crecimiento de *L. major in vitro*. Los estudios *in vivo* mostraron que el tratamiento con PZA disminuía significativamente el desarrollo de las lesiones en ratones infectados por *L. major* a las concentraciones de 900, 450 y 50 mg/ml (30). También disminuyó significativamente la carga parasitaria en el lugar de la infección. Se ha podido observar que el fármaco es efectivo, pero no tóxico a las dosis propuestas para humanos, por lo que ahora se buscaría posología adecuada para modelos de infección visceral y cutánea.

6. CONCLUSIONES

A pesar de que en la última década se han producido grandes avances en el desarrollo de nuevos agentes quimioterápicos frente a la leishmaniasis, el tratamiento definitivo aún no se ha logrado. Los antimoniales pentavalentes permanecen como el tratamiento de primera elección, a pesar de sus graves efectos adversos, y cuando estos fallan, la anfotericina B, la pentamidina o la paromomicina constituyen el tratamiento de segunda elección para la LV, con cierto grado de eficacia para la LMC. El tratamiento se ve afectado por múltiples factores como la especie del parásito, la forma de infección, el estado inmunológico del paciente o la localización geográfica de la enfermedad adquirida.

Tomando en consideración que todos los agentes antileishmania disponibles comparten muchos inconvenientes, sorprendentemente el tratamiento combinado parece ser bien tolerado por los pacientes, además de presentar una mayor eficacia y disminuir la duración del tratamiento respecto a la monoterapia. Por otro lado, nos encontramos con casos de coinfección de leishmaniasis visceral y VIH, lo que complica el tratamiento y hace necesario el uso combinado de antirretrovirales y fármacos antileishmania.

Sin embargo, lo más llamativo surge al descubrir que la vía de administración oral para el tratamiento de la leishmaniasis continúa siendo un terreno difícil de explorar. De los fármacos comercializados, solo la miltefosina se usa por esta vía, ya que todos los demás sufren problemas de biodisponibilidad oral.

Afortunadamente, el desarrollo formulaciones de nanopartículas y otros compuestos coloidales para fármacos antileishmania preexistentes y nuevos reportan unos resultados que en primera instancia aparentan prometedores. Por otro lado, las nuevas estrategias para la identificación de nuevas dianas farmacológicas en parásitos y células hospedadoras mediante técnicas de

screening de alto rendimiento están aportando un amplio catálogo de moléculas, las cuales son serias candidatas a ser investigadas en estudios preclínicos para el tratamiento oral de la enfermedad.

Por tanto, continúa siendo de obligada necesidad la investigación y el desarrollo de nuevas formulaciones de los fármacos actuales, así como el descubrimiento de principios activos, entender sus mecanismos de acción farmacológicos y, definitivamente, facilitar el tratamiento y la curación del paciente mediante el logro de una ruta de administración oral más segura y efectiva que la vía parenteral mayoritariamente empleada.

Pero lo más destacado es que a pesar de que la administración oral de estos fármacos todavía sigue siendo algo minoritario respecto a formulaciones tópicas y parenterales, van apareciendo nuevos protocolos y técnicas que parecen resultar prometedores para conseguir esta meta, gracias al uso de nanopartículas y otros compuestos coloidales. Esto hace que de manera progresiva se vayan realizando nuevos pasos hacia un fármaco seguro y activo por vía oral.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. **Leishmaniasis: Practice Essentials, Background, Pathophysiology** [Internet]. Emedicine.medscape.com. 2016 [citado 2 de junio de 2016]. Disponible en: <http://emedicine.medscape.com/article/220298-overview>
2. **Leishmaniasis** [Internet]. World Health Organization. 2016 [citado 2 de junio de 2016]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs375/en/>
3. **CDC - Leishmaniasis - Epidemiology & Risk Factors** [Internet]. Cdc.gov. 2016 [citado 2 de junio de 2016]. Disponible en: <http://www.cdc.gov/parasites/leishmaniasis/epi.html>
4. **WHO | The disease and its epidemiology** [Internet]. Who.int. 2016 [citado 2 de junio de 2016]. Disponible en: http://www.who.int/leishmaniasis/disease_epidemiology/en/
5. **Leishmaniasis: Clinical Presentation** [Internet]. Emedicine.medscape.com. 2016 [citado 2 de junio de 2016]. Disponible en: <http://emedicine.medscape.com/article/220298-clinical>
6. **Control de las leishmaniasis.** [Geneva]: Organización Mundial de la Salud; 2012.
7. **Elmahallawy E, Agil A.** Treatment of Leishmaniasis: A Review and Assessment of Recent Research. CPD. 2015;**21(17)**:2259-2275.
8. **de Menezes J, Guedes C, Petersen A, Fraga D, Veras P.** Advances in Development of New Treatment for Leishmaniasis. BioMed Research International. 2015;**2015**:1-11.
9. **Hamidi M, Azadi A, Rafiei P.** Hydrogel nanoparticles in drug delivery. Advanced Drug Delivery Reviews. 2008;**60(15)**:1638-1649.
10. **Petitti M, Vanni M, Barresi A.** Controlled release of drug encapsulated as a solid core: Theoretical model and sensitivity analysis. Chemical Engineering Research and Design. 2008;**86(11)**:1294-1300.
11. **Wasan K, Wasan E, Gershkovich P, Zhu X, Tidwell R, Werbovetz K et al.** Highly Effective Oral Amphotericin B Formulation against Murine Visceral Leishmaniasis. The Journal of Infectious Diseases. 2009;**200(3)**:357-360.
12. **Golenser J, Domb A.** New Formulations and Derivatives of Amphotericin B for Treatment of Leishmaniasis. MRMC. 2006;**6(2)**:153-162.

- 13. Serrano D, Lalatsa A, Dea-Ayuela M, Bilbao-Ramos P, Garrett N, Moger J *et al.*** Oral Particle Uptake and Organ Targeting Drives the Activity of Amphotericin B Nanoparticles. *Mol Pharmaceutics*. 2015;**12(2)**:420-431.
- 14. Siew A, Le H, Thiovolet M, Gellert P, Schatzlein A, Uchegbu I.** Enhanced Oral Absorption of Hydrophobic and Hydrophilic Drugs Using Quaternary Ammonium Palmitoyl Glycol Chitosan Nanoparticles. *Mol Pharmaceutics*. 2012;**9(1)**:14-28.
- 15. Prajapati V, Awasthi K, Yadav T, Rai M, Srivastava O, Sundar S.** An Oral Formulation of Amphotericin B Attached to Functionalized Carbon Nanotubes Is an Effective Treatment for Experimental Visceral Leishmaniasis. *Journal of Infectious Diseases*. 2011;**205(2)**:333-336.
- 16. Demicheli C, Ochoa R, da Silva J, Falcao C, Rossi-Bergmann B, de Melo A *et al.*** Oral Delivery of Meglumine Antimoniate- β -Cyclodextrin Complex for Treatment of Leishmaniasis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2003;**48(1)**:100-103.
- 17. Gupta S, Yardley V, Vishwakarma P, Shivhare R, Sharma B, Launay D *et al.*** Nitroimidazo-oxazole compound DNDI-VL-2098: an orally effective preclinical drug candidate for the treatment of visceral leishmaniasis. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2014;**70(2)**:518-527.
- 18. Mukkavilli R, Pinjari J, Patel B, Sengottuvelan S, Mondal S, Gadekar A *et al.*** In vitro metabolism, disposition, preclinical pharmacokinetics and prediction of human pharmacokinetics of DNDI-VL-2098, a potential oral treatment for Visceral Leishmaniasis. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2014;**65**:147-155.
- 19. Patterson S, Wyllie S, Stojanovski L, Perry M, Simeons F, Norval S *et al.*** The R Enantiomer of the Antitubercular Drug PA-824 as a Potential Oral Treatment for Visceral Leishmaniasis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2013;**57(10)**:4699-4706.
- 20. Palit P, Hazra A, Maity A, Vijayan R, Manoharan P, Banerjee S *et al.*** Discovery of Safe and Orally Effective 4-Aminoquinoline Analogues as Apoptotic Inducers with Activity against Experimental Visceral Leishmaniasis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2011;**56(1)**:432-445.
- 21. Serrano-Martín X, García-Marchán Y, Fernández A, Rodríguez N, Rojas H, Visbal G *et al.*** Amiodarone Destabilizes Intracellular Ca^{2+} Homeostasis and Biosynthesis of Sterols in *Leishmania mexicana*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2009;**53(4)**:1403-1410.

- 22. Serrano-Martín X, Payares G, De Lucca M, Martínez J, Mendoza-León A, Benaim G.** Amiodarone and Miltefosine Act Synergistically against *Leishmania mexicana* and Can Induce Parasitological Cure in a Murine Model of Cutaneous Leishmaniasis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2009;**53(12)**:5108-5113.
- 23. Benaim G, García C.** Targeting calcium homeostasis as the therapy of Chaga's disease and leishmaniasis – a review. *Tropical Biomedicine*. 2011;**28(3)**:471-481.
- 24. Paniz Mondolfi A, Stavropoulos C, Gelanew T, Loucas E, Perez Alvarez A, Benaim G et al.** Successful Treatment of Old World Cutaneous Leishmaniasis Caused by *Leishmania infantum* with Posaconazole. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2011;**55(4)**:1774-1776.
- 25. Wang M, Zhu X, Srivastava A, Liu Q, Sweat J, Pandharkar T et al.** Novel Arylimidamides for Treatment of Visceral Leishmaniasis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2010;**54(6)**:2507-2516.
- 26. Mathis A, Bridges A, Ismail M, Kumar A, Francesconi I, Anbazhagan M et al.** Diphenyl Furans and Aza Analogs: Effects of Structural Modification on In Vitro Activity, DNA Binding, and Accumulation and Distribution in Trypanosomes. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2007;**51(8)**:2801-2810.
- 27. Silva C, Meuser M, De Souza E, Meirelles M, Stephens C, Som P et al.** Cellular Effects of Reversed Amidines on *Trypanosoma cruzi*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2007;**51(11)**:3803-3809.
- 28. Lee S., Stephens J, Paul K, Englund P.** Fatty Acid Synthesis by Elongases in Trypanosomes. *Cell*. 2006;**126(4)**:691-699.
- 29. Roberts C, McLeod R, Rice D, Ginger M, Chance M, y Goad L.** Fatty acid and sterol metabolism: potential antimicrobial targets in apicomplexan and trypanosomatid parasitic protozoa. *Molecular and Biochemical Parasitology*. 2003;**126(2)**:129-142.
- 30. Méndez S, Traslavina R, Hinchman M, Huang L, Green P, Cynamon M et al.** The Antituberculosis Drug Pyrazinamide Affects the Course of Cutaneous Leishmaniasis In Vivo and Increases Activation of Macrophages and Dendritic Cells. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2009;**53(12)**:5114-5121.