

# LEISMANIOSIS CANINA, ESTRATEGIAS DE UN PARÁSITO PARA EVADIR LAS RESPUESTAS DEL HOSPEDADOR

EXCMO. SR. DR. D. SANTIAGO HERNÁNDEZ RODRÍGUEZ

Discurso de Ingreso en la Real Academia de Ciencias Veterinarias de Andalucía Oriental como Académico Correspondiente

## 1. INTRODUCCIÓN

Las leishmaniosis son padecimientos comunes al hombre y a los animales que se conocen desde la antigüedad por ser recogidos en fuentes escritas egipcias como el papiro de Ebers de la época de Amenofis I, sobre el año 1500 a.C. Se le supone la mejor fuente de información sobre la medicina egipcia; en él se hace referencia a un tipo de lesión conocida como “grano egipcio”, que según el decir de los expertos pudiera tratarse de un signo clínico de la leishmaniosis cutánea.

En los libros del Antiguo Testamento se indica que Yahvé enviaría males incurables para los hombres y los animales tales como úlceras, sarpullidos, forúnculos, tumores, escorbuto, para los que ninguno tendría remedio. Se piensa que tales afecciones (llagas, forúnculos, úlceras, sarpullidos, etc) no serían otra cosa que las lesiones propias de una leishmaniosis cutánea que con toda probabilidad pudiera tratarse de la enfermedad producida por *L. major*.

La referencia de semejantes procesos recogidos en fuentes escritas ancestrales pertenecen a civilizaciones, muchas desaparecidas, y otras, permanecen aún como asentamientos urbanos habitados con una antigüedad superior a los 7000 años. Ciudades como Alepo, Damasco y Jericó, situadas, como otras ya desaparecidas a lo largo de la historia, en el oriente fértil que florecieron en torno a los ríos Nilo, Jordán, Barada, Orontes, Tigris y Éufrates y sus afluentes, se disputan en el momento presente

el título de ciudad más antigua del mundo. Desde entonces algunas denominaciones de la enfermedad tales como “botón de Alepo”, “botón de oriente” o “rosa de Jericó” hacen referencia a los localismos de la zona.

En el Nuevo Mundo, representaciones precolombinas de lesiones de piel y deformaciones faciales, representadas en cerámica preincaicas de Perú y Ecuador datadas en el siglo I de nuestra era, evidencian la presencia de afecciones cutáneas y mucocutáneas. En escritos de los siglos XV y XVI, durante la colonización española, se hace mención al tipo de riesgos que corren los trabajadores agrícolas que transitan desde zonas de los Andes a los valles, adonde llegan infectados con pequeñas úlceras en la piel, padecimientos que denominaban “enfermedad de los valles” o “enfermedad andina”, que se transformaban más tarde en lesiones desfigurantes oronasales y ulcerosas, propias de las leishmaniosis mucocutáneas y cutáneas sudamericanas. Hoy se conocen con los nombres vernáculos de “espundia”, “uta”, “verruga peruana”, “úlceras del chiclero”, “nariz de anta”, etc., designaciones utilizadas para las afecciones más comunes de la leishmaniosis en América Central y del Sur.

A pesar de conocerse las manifestaciones clínicas de la enfermedad, pasarían muchos años para que se realizara la primera observación del parásito, que tuvo lugar en la India a finales del siglo XIX. Se citó como *Sporozoa forunculosa*, por la creencia de que las numerosas formas intracelulares observadas al microscopio no eran otra cosa que “esporas”, si bien ya había algunos investigadores que le atribuían una naturaleza protozoaria. En 1903 se producen numerosos acontecimientos relevantes: en Europa, se observaron en el citoplasma de células reticulares de bazo del cadáver de un oriundo de China, inclusiones intracelulares, que fueron tomadas como restos celulares sobrevenidos a un proceso de cariólisis. En la India, Leishman, en mayo y Donovan, en julio, indican que la enfermedad conocida como “fiebre dum-dum” o “kala-azar” (enfermedad negra) pudiera estar producida por un tipo de corpúsculos parecidos a las formas esféricas (amastigotas) de tripanosomas. Ciertos fenómenos observados, como el de ofrecer cierta tendencia a adherirse a los hematíes, hizo que Laveran y Mesnil, en noviembre de ese año, le dieran el nombre de *Piroplasma donovani*. Finalmente en esa misma fecha, Ross propone el nombre de *Leishmania donovani*.

En USA se identifican, a partir de una lesión cutánea forunculosa procedente de un paciente infantil oriundo de Armenia, parásitos parecidos morfológicamente a los del kala-azar. Son considerados en un principio como microsporidios, dándoseles el nombre de *Helcosoma tropicum*. Poco tiempo después Wright lo rebautiza con el nombre de *Leishmania tropica*. Un año más tarde se confirma que ambas especies (*L. donovani* y *L. tropica*) son los agentes etiológicos del kala-azar indio y del botón de oriente respectivamente. En 1904 Cathoire y Laveran encuentran el primer caso de leishmaniosis

visceral en la cuenca mediterránea. Nicolle y Compte, en 1908, en el Instituto Pasteur de Túnez, aíslan el parásito de un niño afectado de kala-azar mediterráneo y creen que se trata de una especie distinta de la de la India por lo que proponen el nombre de *Leishmania infantum* como especie nueva. Macerados de vísceras procedentes del mencionado caso clínico son inoculados a un perro que desarrolla la enfermedad. En esa fecha, Nicolle, realiza también la primera cita de leishmaniosis natural de un perro en la cuenca mediterránea. En España es Pittaluga quien diagnostica por primera vez un caso de kala-azar en 1912. La primera cita de leishmaniosis canina espontánea que se reporta en el continente europeo se realiza en 1913 en la ciudad de Marsella.

En los albores del siglo XX irrumpe la metodología experimental, orientada a conocer con más detalles aspectos relacionados con la invasión, difusión y patogenicidad de las leishmanias mediante el empleo de inoculaciones en animales de experimentación como el perro y diversas especies de roedores. También se ensayan distintos medios de cultivo que posibiliten el crecimiento y mantenimiento *in vitro* del parásito, de donde se extrajo un extracto proteico soluble, la leishmanina que fue utilizado por vez primera por Montenegro en 1926 como prueba intradérmica en el diagnóstico de la leishmaniosis tegumentaria de las Américas, la prueba se basada en una reacción cutánea de hipersensibilidad de tipo retardado. En 1925 se produce un hecho importante en el conocimiento de la biología de estos parásitos y es cuando se identifica como hospedador intermediario-vector de las leishmanias a *Phlebotomus papatasi*.

En la actualidad la leishmaniosis humana constituye un complejo patológico constituido por procesos cutáneos, mucocutáneos y viscerales, causados por distintas especies del género *Leishmania*, que afectan a un total de 14 millones de personas distribuidas en 88 países, estimándose en 2 millones el número de casos nuevos anuales: 1,5 millones para las leishmaniosis cutáneas y 0,5 millones para la forma visceral. En Europa se presentan de forma endémica dos tipos de leishmaniosis humana, cutánea y visceral, aunque con baja prevalencia. La única especie de la cuenca mediterránea es *Leishmania infantum* cuyo principal reservorio es el perro que se manifiesta clínicamente bajo formas cutáneas, viscerales y viscerocutáneas. Se trata, por tanto, de una parasitosis canina con una doble repercusión en relación con la salud pública, dado el carácter zoonótico del proceso y el papel del perro como reservorio y con la medicina veterinaria por ser sujeto de una enfermedad altamente problemática.

La prevalencia media de parasitación en la población canina de Europa es muy variable y se ha estimado que en el suroeste de Europa existen al menos 2,5 millones de perros infectados. En España la seroprevalencia mediante el test ELISA es variable

según la región, así en las Islas Baleares es del 13%, en Madrid oscila entre el 5-8%, en Cataluña sobre el 20%, en la región de Levante el 22%, en las Alpujarras el 13%, en Andalucía Oriental sobre el 7% y en Galicial es del 3,7%. Sin embargo cuando el diagnóstico se realiza por PCR los valores de prevalencia son mucho mayores, así, en Barcelona se han encontrado valores del 30% y en Mallorca del 44%.

## 2. BIOLOGÍA Y EPIDEMIOLOGÍA

Las leishmanias son protozoos tripanosomátidos que presentan varios tipos morfológicos a lo largo de su ciclo biológico. Se presentan como formas extracelulares flageladas (promastigotas) en la luz del tracto digestivo del vector (flebotominos) o como formas amastigotas, no flageladas, intracelulares, inmóviles, localizadas en el sistema mononuclear fagocítico de los hospedadores vertebrados, su forma es redonda u oval, de 2-4  $\mu\text{m}$  de diámetro, con un núcleo vesiculoso en posición central y un orgánulo muy basófilo adyacente a él denominado cinetoplasto.

El **promastigote** es la forma que se presenta en los medios de cultivo y en el aparato digestivo del flebótomo, cumplen su ciclo extracelular en el lumen intestinal y sobreviven a las condiciones hidrolíticas del intestino del mosquito gracias a los constituyentes glucoconjugados estructurales que se expresan en toda la superficie del parásito incluido el flagelo, su función es la de resistir la destrucción del parásito durante el proceso de digestión y hacer que se adhieran al intestino para que no sea eliminado con los alimentos. Las formas infectantes para el hospedador definitivo son los **promastigotes metacíclicos**, localizados en las piezas bucales y en la proboscis de los insectos, son una población diferenciada al final del ciclo intravectorial, más pequeños, extremadamente activos y móviles y con un flagelo muy largo. El tiempo requerido para completar el ciclo en el insecto es variable, dependiendo de la especie de *Leishmania*, del vector y de las condiciones ambientales, aunque, por lo general, oscila entre 6-14 días. Los promastigotes metacíclicos son inoculados al mamífero por la picadura del insecto, siendo rápidamente fagocitados por los MΦs, en su interior tiene lugar la transformación de promastigotes en amastigotes, le sigue un proceso de multiplicación por fisión binaria y cuando el número de parásitos es lo suficiente importante se produce la rotura del MΦ. Los **amastigotes** liberados son fagocitados por otros MΦs que se distribuyen por la sangre a los distintos órganos y tejidos incluida la piel, desde donde son captados por el insecto vector en el momento de la picadura.

Los **vectores naturales** de *Leishmania* son insectos de la subfamilia Phlebotomiinae, familia Psychodidae, de la que se reconocen hoy día más de seiscientas especies

distribuidas por todas las zonas zoogeográficas del mundo. En Europa, los vectores de *L. infantum*, único agente etiológico de la leishmaniosis de la cuenca mediterránea humana y canina, son siempre especies del género *Phlebotomus*, siendo *P. perniciosus* y *P. ariasi* las que están más involucradas en la transmisión. Los flebotomos, conocidos en España como «viuditas» o «beatillas», son dípteros de pequeño tamaño (2-4 mm), peludos y con un sólo par de alas funcionales. Su ciclo biológico incluye las fases de huevo, larva, pupa y adulto. Los condicionantes ambientales para el desarrollo del ciclo no son muy estrictos., en general necesitan temperaturas medias entre 15-20 °C, protección de la luz solar directa, humedad moderada y abundancia de detritus orgánicos. Los mosquitos adultos muestran actividad de forma estacional, en los meses de primavera y verano, permaneciendo las fases larvarias en diapausa durante la estación fría. Su distribución es muy amplia, encontrándose en hábitats muy diversos, desde zonas húmedas a zonas áridas y desde el nivel del mar hasta los 2000 m de altitud. Se adaptan a numerosos microhábitats naturales y domésticos: refugios de animales, oquedades del suelo y de la vegetación, edificaciones, viviendas y construcciones pecuarias (establos, gallineros), etc. Durante el día permanecen en estos lugares al abrigo de la luz y es en las horas del ocaso y nocturnas cuando los mosquitos muestran actividad. Los machos se alimentan exclusivamente de jugos vegetales, sólo las hembras son hematófagas y por tanto las únicas implicadas en la transmisión, sobreviven unos 30 días y una vez infectadas son capaces de inocular leishmanias durante toda su vida.

La leishmaniosis aparece en **nichos ecológicos** que permiten la coexistencia de poblaciones de parásitos, insectos vectores y hospedadores vertebrados, de tal manera que se garantice el desarrollo completo y continuo del ciclo del parásito. Se presenta en focos ecológicos bien definidos y delimitados, tanto geográfica como biológicamente, donde se mantienen de manera constante los mismos hospedadores intermediarios y definitivos. Un foco se corresponde, por tanto, a un determinado hábitat en el que se configura un patrón concreto en la transmisión. En España la leishmaniosis canina se describen dos tipos de ciclos epidemiológicos interrelacionados, peridoméstico o rural y doméstico o urbano. En España los principales reservorios del ciclo silvestre son el zorro y la rata, aunque recientemente se han hallado otras especies con prevalencias importantes tales como el lobo, el meloncillo, la gineta, el gato montés y la marta. Los ciclos domésticos y peridomésticos tienen como hospedador principal al perro y al gato, siendo los perros vagabundos y asílvestrados los reservorios que mantienen la conexión con el ciclo silvestre. La transmisión entre animales y entre éstos y los humanos siempre se realiza a través de la picadura de los hospedadores

intermediarios vectores. La transmisión zoonótica se realiza generalmente de manera peridoméstica o doméstica.

En cada nicho ecológico, la epidemiología de la leishmaniosis funciona como una cadena de transmisión que se inicia en los hospedadores definitivos infectados (primer eslabón), que son la fuente de parásitos para los insectos vectores, protagonistas principales de la transmisión (segundo eslabón), completándose la cadena al contagiarse nuevos hospedadores definitivos por la picadura de los vectores (tercer eslabón). Desde el punto de vista zoonótico, el reservorio más importante de *L. infantum* es el perro, y supone la principal fuente de parásitos en la cadena epidemiológica. Sin embargo, la capacidad infectante para los vectores no es igual en todos los perros infectados, ya que se han encontrado dos poblaciones diferenciadas, los que tienen capacidad infectante y los que no. Los potencialmente infectantes serían animales seropositivos sintomáticos y aquéllos no sintomáticos que están en el período prepatente de la enfermedad, mientras que los seronegativos asintomáticos carecerían de capacidad infectiva.

### 3. RELACIONES PARÁSITO-HOSPEDADOR

La relación *Leishmania*/hospedador que se establece entre las leishmanias y el perro es muy compleja, pues está condicionada por una gran variedad de factores, entre los que destacan los de naturaleza intrínseca que dependen tanto del parásito como del hospedador. Ambos interactúan entre sí haciendo que las consecuencias de la relación se manifieste de maneras muy variadas, desde la total ausencia de enfermedad hasta el desarrollo de situaciones patológicas muy graves. La gran variabilidad de presentación depende del tipo de respuesta que se instaure de acuerdo con las dos únicas posibilidades excluyentes que se adopte: que dé lugar al desarrollo progresivo de la enfermedad, que en la mayoría de ocasiones lleva a la muerte, o que se desarrolle un estado de resistencia que conduce a un control y/o resolución de la infección.

Entre los **factores dependientes del parásito** se destaca en primer lugar a la especie y en segundo lugar los relacionados con los constituyentes moleculares que conforman el zimodema. *L. infantum* es la única especie identificada y tipificada hasta la fecha en la Península Ibérica, y afecta a perros y humanos. Los zimodemas encontrados presentan, según se ha podido comprobar *grosso modo*, diferente virulencia y antigenicidad siendo capaces de provocar, según su naturaleza, afecciones cutáneas o botanosas y/o formas viscerales generalizadas. Hasta la fecha se han descrito en *L.*

*infantum* 29 zimodemas, de los cuales el zimodema MON-1 es el responsable del 90% de los casos de LV y del 20% de LC, es el más extendido y el que con más frecuencia ha sido aislado en el perro y en el hombre como también en los reservorios silvestres de nuestro entorno como el zorro, la rata, el gato, el lobo o la gineta.

Entre los **factores dependientes del hospedador** cabe mencionar la constitución genética y vinculado a ella, la capacidad de desarrollar una respuesta inmunitaria más o menos efectiva que condiciona la instauración o no de un proceso patológico y de desarrollar uno u otro tipo de enfermedad. La resistencia genética en el perro se ha vinculado recientemente con el polimorfismo de un gen (NRAMP1) que regula la actividad de una proteína de transporte de iones metálicos del MΦ vinculada con el incremento de la producción de óxido nítrico y por tanto de la resistencia natural. Éste podría ser el caso algunas razas de animales que raramente desarrollan síntomas de enfermedad como es la del Podenco Ibicenco.

### 3.1. Comienzo de la infección

El comienzo de la infección tiene lugar cuando los promastigotes metacíclicos son inoculados por regurgitación del contenido digestivo en el hospedador definitivo acompañados de saliva. La presencia de los flagelados junto a las sustancias anticoagulantes y vasodilatadoras liberadas por el insecto en el momento de la picadura estimula la producción de una citocina quimiotáctica, la CXCL1, que favorece la emigración de fagocitos y granulocitos hacia el lugar de la infección. El acoplamiento de la quimioquina a receptores asociados a proteína G con dominios transmembrana localizados en la superficie de los leucocitos, favorece la activación de una fosfolipasa C (PLC) que interviene en eventos de señalización intracelular relacionados con la quimiotaxis, la degranulación y la eficacia de las moléculas de adhesión celular (integrinas) que mucho tienen que ver con la organización del infiltrado inflamatorio localizado.

Las primeras células en llegar al punto de inoculación son los neutrófilos que fagocitan eficientemente a las leismanias pero carecen de capacidad para destruirlas como hacen los macrófagos, sin embargo los parásitos son incapaces de reproducirse en su interior. Los neutrófilos son considerados como “caballos de Troya”, como auténticos reservorios de parásitos donde están protegidos del entorno hostil que supone el medio extracelular que los rodea. El papel de estas células depende del grado de susceptibilidad del hospedador, así en animales resistentes, los neutrófilos son capaces de realizar un control satisfactorio del parásito gracias a la producción de moléculas protectoras tales como el TNF- $\alpha$ . Por contra, en animales susceptibles los

neutrófilos tienden hacia la apoptosis poco tiempo después de producirse la infección, es entonces cuando los restos celulares y las leismanias son fagocitados por una célula hospedadora profesional como es el macrófago. Lamentablemente, la fagocitosis de los cuerpos apoptóticos induce la producción de moléculas dañinas tales como las prostaglandinas PGE2 que favorecen la **vasodilatación**, aumentan la permeabilidad y permiten el paso de los leucocitos al lugar de la picadura, facilitando de esta manera el establecimiento de una respuesta inflamatoria local.

## 3.2. MECANISMOS DE AGRESIÓN-EVASIÓN

### 3.2.1. Respecto a la inmunidad natural

Una vez inoculado el promastigote en los espacios extracelulares se expone a la acción lítica u opsonizante del **sistema del complemento**. En teoría los promastigotes de leishmania deberían ser destruidos por la activación de la vía alternativa del complemento así como por la vía de la lectina de unión a la manosa (MBL) por la que los complejos lectin-man se unen a una proteasa del tipo serina (MASP) dependiente del calcio con función de convertasa de C3 que al hidrolizarse se transforma en las subunidades C3a y C3b. C3a es un mediador de la inflamación y C3b actúa como una opsonina que participa en el inicio de una nueva vía de activación del complemento orientado a la destrucción del parásito mediante la formación del **complejo de ataque a la membrana** (MAC). La fase final de activación y fijación de complemento consiste en la formación de la convertasa de C5 que se desdobra en C5a y C5b, esta última se asocia rápidamente y de manera secuencial con C6 y C7, C8 y con varias moléculas de C9 que se ensamblan entre sí para formar los denominados poros, estructuras en forma de tubo hueco estructurado por canales hidrofílicos que atraviesan la membrana y permiten el libre intercambio de sodio y agua entre el interior y el exterior de la célula ocasionando un daño físico provocado por la lisis osmótica del organismo atacado.

Es de resaltar que los promastigotes metacíclicos son capaces de evadir la lisis mediada por el complemento, y ello se debe principalmente a la presencia en la superficie del parásito de lipofosfoglicano (LPG) y de glicoproteína *gp63*, el primero inhibe la unión de las subunidades C5b hasta C9 del complemento, consiguiendo así escapar de la lisis celular mediada por el complemento, mientras que la leishmaniolisina *gp63* es una metaloproteasa que convierte la subunidad C3b del complemento en la forma inactiva C3bi con lo que se impide la posterior formación de la convertasa de C5 y por tanto la lisis mediada por el complemento. Además la forma C3bi resultante se



fija al parásito como opsonina para que sea fagocitado por medio de los receptores del complemento del macrófago

En este momento los flagelados inoculados, los tejidos dañados y las células inmunitarias liberan señales químicas (IL-1, TNF- $\alpha$ ) que provocan que las células endoteliales comiencen a expresar rápidamente moléculas de adhesión receptoras o adhesinas, cuyo objetivo es captar los fagocitos circulantes mediante la fijación de ligandos que tienen en su superficie como son las integrinas y selectinas que promueven la diapédesis y la emigración de los fagocitos desde los vasos sanguíneos a los territorios de la infección. En este instante se inicia el proceso de **fagocitosis** en el que se ven involucrados numerosos **receptores presentes en el M $\Phi$**

- Receptores que fijan restos de manosa presentes en las moléculas glucosiladas de la superficie de las leismanias.
- Receptores CR1 que fijan componentes del complemento C3b y C4b.
- Receptores CR3 integrina que ligan los componentes C3bi y moléculas de adhesión extracelular e intracelular.
- Y receptores para la proteína C-reactiva o proteínas de fase aguda con función opsonina.

Así pues las **formas metacíclicas que no se han destruido por la acción del MAC pueden entonces ser fagocitadas:**

- Bien de manera **directa** por medio de los receptores del M $\Phi$  que ligan los complejos glucosilados de superficie que contienen manosa como son los LPG, *gp63* y los glucosilfosfatidilinositol (GIPLs).
- O bien de manera **indirecta** por medio un interpuesto como son los componentes del complemento C3b y C3bi que funcionan como opsoninas

Los promastigotes metacíclicos, inoculados por la picadura del flebótomo son entonces fagocitados por los M $\Phi$ s y alojados inmediatamente en el interior de una vacuola parasitófora (VP) delimitada por una unidad de membrana que los separa del resto del citoplasma. A partir de este momento el M $\Phi$  inicia una serie de cambios que afectan principalmente a su fisiología.

Del retículo endoplásmico rugoso se originan vesículas lisosómicas de transferencia y endosomas que se fusionan por coalescencia con las membranas de la VP para poner en íntimo contacto el contenido de los lisosomas (hidrolasas) con los promastigotes, formándose el denominado fagolisosoma. Dicho proceso de movilización y fusión de vesículas y endosomas con el fagosoma se ve influenciado por la presencia de distintas sustancias ligadas a los restos de la membrana plasmática del

MΦ consecuente al proceso de endocitosis, entre otras, las hidrolasas del tipo de la guanosina-trifosfatasa (GTP-asa) denominadas Rab-7 que participan en el transporte y ensamblaje de los endosomas/lisosomas, en la síntesis proteica, en la biogénesis de las membranas de los lisosomas y en su fusión con las membranas de la VP. Las vesículas lisosómicas son portadoras de varios tipos de catepsinas, enzimas del tipo de las cisteína-proteasas del parásito, que catalizan en medio ácido la hidrólisis de las proteínas externas de la leishmania degradándolas a polipéptidos. El fagolisosoma contiene además otras sustancias de naturaleza antigénica como son los proteo-fosfoglucano (PPG) únicos productos metabólicos liberados por los parásitos.

En un principio, la VP presenta una forma alargada adaptada a la del promastigote, aunque al cabo de 2-5 horas después de la fagocitosis el flagelo involuciona hasta perderse totalmente, mientras el cuerpo del parásito se ensancha y poco a poco se va transformando en un elemento elipsoide. No se conocen las causas que determinan la metamorfosis de la forma promastigota en amastigota, aunque se intuye que pueda ser debido:

- 1.- A un cambio de los constituyentes de la envoltura del parásito.
- 2.- A la acción de los enzimas lisosómicos sobre la membrana parasitaria.
- 3.- A la influencia de la actividad de la actina y la tubulina en la neoformación de las estructuras del parásito.
- y 4.- A un reajuste de su metabolismo inducido por una célula hospedadora cuyo entorno ahora es teóricamente más hostil que el proporcionado por el aparato digestivo del vector.

La transformación se completa como pronto no antes de 5 días. A partir de este momento y bajo forma amastigota permanecerá durante todo el tiempo que dure la infección, siempre dentro de las células del sistema mononuclear fagocítico, en cuyo interior se multiplica activamente y se distribuyen por todo el organismo.

**Las formas amastigotas liberadas en el medio interno por la ruptura de la célula hospedadora son fagocitadas** además de por los receptores de los MΦs ya citados para los promastigotes, por otros como son los receptores para Fc<sub>γ</sub> que se encargan de fijar a las IgGs específicas anti-*Leishmania* ligadas a los antígenos de superficie del parásito. A pesar de haberse detectado en estas formas una minoración notable de las moléculas de expresión de los glucoconjugados (LPG, gp63) así como la de otros determinantes antigénicos de la membrana plasmática, no parece que esta circunstancia influya en la celeridad con la que los amastigotes son internalizados, aunque sí parece

que pueden verse afectadas otras acciones como las relacionadas con la formación y evolución de los endosomas y lisosomas y su fusión con el fagosoma

La **supervivencia de las leismanias en el interior de los MΦs** está relacionada con una serie de mecanismos que ponen en marcha con la misión de resistir o inhibir la acción lítica espontánea de los MΦs, cuya primera vía de destrucción que se ejerce en el seno del fagolisosoma es la acidificación del medio (pH= 4,5-5) acompañado del vertido de enzimas hidrolíticas con la intención de lisar a los parásitos. Esta vía de destrucción resulta ineficaz en la mayoría de las ocasiones ya que las leismanias poseen una serie de constituyentes de superficie (*gp63*, *LPG* y *GIPLs*) que las protegen de la acción de los enzimas lisosómicos.

Otros mecanismos leismanicidas que emplean los MΦs son los denominados **radicales intermediarios del oxígeno (ROI) e intermediarios del nitrógeno (RNI)**. Su actividad depende de la capacidad que tenga el MΦ para procesar los mensajes que recibe de los mediadores bioquímicos como son las citocinas. Existen dos vías de influencia en la activación macrofágica, una denominada clásica que responde de manera positiva a los estímulos del IFN- $\gamma$  y TNF- $\alpha$  y otra denominada alternativa promovida por la IL-4 e IL-10 cuyos efectos negativos más notables están relacionados con la inhibición de la producción de radicales tóxicos, sin embargo son capaces de ejercer ciertas acciones positivas como son las de favorecer la expresión de determinados receptores fagocíticos encargados de la internalización de los parásitos.

Uno de los mecanismos efectores innatos que ponen en marcha los MΦs activados para la destrucción parasitaria, es el denominado estallido respiratorio (o **estrés oxidativo** que comienza con la captura de oxígeno extracelular y su transporte hacia el citoplasma a través de la membrana plasmática. El proceso se desencadena por la estimulación de la membrana del fagocito por la enzima NADPH oxidasa de origen citosólico aunque también está presente en la membrana del fagolisosoma. Su función es donar electrones al oxígeno molecular ( $O_2$ ) y reducirlo a anión superóxido ( $O_2^-$ ) que en presencia del pH ácido del fagosoma se convierte en peróxido de hidrogeno ( $H_2O_2$ ) el cual reacciona nuevamente con el anión superóxido para dar lugar a radicales hidroxilo (OH $\cdot$ ) y oxígeno atómico ( $^1O_2$ ), productos oxigenados altamente reactivos y tóxicos para las leismanias que son conocidos como intermediarios reactivos del oxígeno (ROI).

Entonces ¿por qué fracasa el mecanismo de destrucción de los MΦs, siendo el estrés oxidativo uno de los elementos de defensa más sofisticados que tienen los fagocitos para enfrentarse a los patógenos intracelulares? Se supone que por dos razones esenciales

- Una porque las leismanias poseen ciertos constituyentes en su membrana plasmática tales como los LPGs que actúan como antioxidantes
- Y otra porque poseen enzimas tales como la superóxido dismutasa que es capaz de transformar los radicales superóxido en oxígeno y peróxido de hidrógeno y como las catalasas que desdoblan el agua oxigenada en oxígeno molecular y agua, elementos absolutamente inocuos para el parásito.

Otro dispositivo microbicida que ejecutan los MΦs es la generación de **radicales intermediarios del nitrógeno**, su producción está ligada al tipo de activación promovido por las citocinas de los linfocitos T efectores. La producción o no de dichos radicales depende del destino metabólico de la L-arginina, aminoácido que sirve como sustrato de dos enzimas: la óxido nítrico sintasa inducible por citocinas (iNOS) y la arginasa. La activación del MΦ por la vía clásica (Th1) se produce cuando la L-arginina es oxidada por la iNOS para dar óxido nítrico (NO) y citrulina. En el transcurso de esta degradación se originan productos intermediarios como los peroxinitritos, que junto al NO constituyen los denominados RNI de gran poder citotóxico. Cuando el MΦ se activa por la vía alternativa (Th2) se induce la producción de arginasa la cual transforma la arginina en urea y ornitina. La ornitina es un componente fundamental para la biosíntesis de poliaminas que son sustancias utilizadas por las leismanias en propio beneficio como factores esenciales de su metabolismo ya que catalizan procesos de diferenciación, proliferación y multiplicación de los amastigotes. Esta es la razón por la que los MΦs activados por esta vía resultan ser altamente permisivos y condescendientes con la expansión parasitaria. Se trata más bien de una célula nodriza que le proporciona sustento y protección, facilitando su supervivencia y haciendo del MΦ un nicho ecológico altamente favorable para los intereses vitales del propio parásito.

### 2.2.2. Respecto a la inmunidad adaptativa

Hasta ahora hemos visto como la inmunidad natural que desarrolla el organismo frente a los patógenos es llevada a cabo por mecanismos espontáneos de naturaleza humoral (activación del complemento por la vía alternativa) y de naturaleza celular (fagocitosis). Sin embargo, existen otras acciones complementarias, consecuentes a las primeras que constituyen otro tipo de respuesta denominada inducida o adaptativa que conlleva la participación de mecanismos humorales como es la producción de anticuerpos por linfocitos B y de otros mecanismos de índole celular que son desempeñados básicamente por los linfocitos T (LT). Ambos sistemas constituyen la base de la inmunidad adquirida.

Estudios realizados *in vivo* e *in vitro* han demostrado que los amastigotes y sus Ags pueden estar presentes en cuatro tipos de células, MΦs, células dendríticas (DC), polimorfonucleares y fibroblastos; entre todas ellas las únicas que se identifican como **células presentadoras de Ags (APCs)** son las DCs y los MΦs que poseen moléculas de restricción del **complejo mayor de histocompatibilidad de clase II (MHC-II)** que funcionan como portadoras y presentadoras de los Ags parasitarios para que sean reconocidos por los receptores de los linfocitos T. A partir de este momento se desencadena una respuesta inmunológica de tipo adaptativo cuyo proceso se realiza en dos fases una relativa a la formación de moléculas de clase II en la APCs y otra referida a la mecánica que se sigue en los LT para proceder a las lecturas de los antígenos presentados.

Las moléculas de clase II son proteínas de membrana, heterodímeros formados por dos cadenas  $\alpha$  y  $\beta$  que ofrecen dos porciones, una extracelular, transmembranosa y otra citoplasmática. Sus características y funciones se desarrollan ordenadamente de la manera siguiente.

1.- Los dominios externos, extracelulares, presentan entre las moléculas  $\alpha$  y  $\beta$  un hueco o "surco de acoplamiento" donde ha de encajarse el péptido antigénico.

2.- Las cadenas  $\alpha$  y  $\beta$  se sintetizan por separado por polisomas del retículo endoplásmico granular (RER)"

3.- En las cisternas del RER se ensamblan con una proteína "chaperona", la calnexina que contribuye al ensamblaje de ambas cadenas. Todavía el complejo formado es inestable y no puede prescindir de la chaperona.

4.- La calnexina es desplazada por otra proteína, la "cadena invariable" que la sustituye en el surco de acoplamiento, le da estabilidad y evita la fijación de péptidos endógenos.

5.- El transporte del complejo cadena invariable-MHC-II se hace a través de los sistemas de membrana de la célula mediante vesículas de transferencia desde el RER hasta al Golgi y desde el *trans* Golgi hasta su fusión con los endosomas.

6.- Formación de compartimentos citoplasmáticos para el procesamiento de moléculas de clase II asociada al péptido invariable o MIIC. Son endosomas ácidos disgregados de la vacuola parasitófora que contienen proteasas como las catepsinas y péptidos parasitarios.

7.- Las catepsinas en el seno de los MIIC producen la ruptura progresiva de la cadena invariable a excepción de un fragmento peptídico denominado CLIP que sigue bloqueando el surco de acoplamiento.

8.- Participación necesaria de moléculas de clase II no clásicas, como la H-2M de ratón o HLA-DM humana que se encuentran en la luz de los compartimentos MIIC, no se expresan en la superficie celular y su función es la de actuar como chaperonas catalizando el intercambio del CLIP por los péptidos antigénicos.

La eficacia de la presentación de Ags por MHC-II depende de la cantidad de antígeno (Ag) existente en los compartimentos de procesamiento.

Formados los complejos MHC-II-péptido son transportados por membranas a través de la ruta endosómica ascendente hasta fusionarse con la membrana plasmática de la APC, y allí queda expuesto para que sea reconocido por los linfocitos T CD4. El pH neutro del exterior celular estabiliza y refuerza la unión MHC-II-péptido antigénico, que se sitúa aleatoriamente sobre la membrana del macrófago. Sin embargo, con objeto de hacer más efectivo el reconocimiento de Ags por los linfocitos, los complejos MHC-II-péptido, son agrupados principalmente en las denominadas "balsas lipídicas". Son microdominios especializados de la membrana plasmática de la APC que están constituidas por colesterol, una proteína de transmembrana, que puede ser una molécula de MHC-II, y un glucoesfingolípido. Sirven como centros de organización para el montaje y concentración de las moléculas de señalización (MHC-II). Las balsas lipídicas permiten a las células T mejorar las inmunorrespuestas por tener las MHC-II agrupadas y en mayor número que las que se sitúan de manera aleatoria y dispersa en el resto de la membrana plasmática. Las células que expresan de forma constitutiva moléculas de clase II portadoras de péptidos antigénicos exógenos capaces de activar a los linfocitos T CD4 se denominan células presentadoras de Ags profesionales.

Ha sido demostrado en ratones que en algunas ocasiones, pueden participar además, moléculas de clase I del MHC, encardadas de transportar los Ags de procedencia endógena. La intervención de MHC-I tiene que ver con la interferencia de la vía ordinaria de ensamblaje entre las moléculas del MHC-II y los péptidos antigénicos de leishmania por un proceso intercalado de disociación/ cambio de péptidos, mecanismo basado en la pérdida del péptido endógeno que porta el MHC-I y su sustitución por el de procedencia exógena. Dicho fenómeno sólo es posible en un medio con pH ácido como el que se encuentra en los compartimentos MIIC o en cualquiera de las vesículas de la ruta endocítica. Los Ags de leishmania asociados a las moléculas MHC-I

son mostrados por la célula hospedadora, que ahora se denomina diana, para que sean reconocidos por los linfocitos CD8 (LTc) desencadenándose de esta manera una respuesta protectora de naturaleza citotóxica debida al  $IFN-\gamma$ ,  $TNF-\alpha/\beta$  que activan a los MΦs y favorecen la producción de perforinas que estimulan el proceso de apoptosis de las células dianas infectadas. Fenómeno frecuente en las leishmaniasis cutáneas y raramente demostrado en animales infectados experimentalmente con *L. infantum*, en cualquier caso lleva a la instauración de un estado de resistencia y a la ausencia de síntomas de enfermedad.

¿De qué manera las leishmanias pueden interferir la maquinaria que se encarga de la presentación de Ags por moléculas del MHC-II que realizan las células dendríticas y MΦs? Varios son los mecanismos que se supone pueden obstaculizar dicho proceso, a saber:

- El gran desarrollo de las vacuolas parasitóforas de las células hospedadoras que contienen un alto número de amastigotes condiciona el incremento de tamaño y la deformación de los MΦs. La presencia de los parásitos obstaculiza por ocupación del espacio citoplasmático el tráfico de las moléculas de clase II en su ruta hacia la superficie de la célula hospedadora. Dichas moléculas, asociadas a las membranas de la VP junto a las chaperonas que las acompañan, se encuentran muy dispersas debido al gran tamaño de la VP lo que dificulta el encuentro y por tanto el acoplamiento con los Ags. Además, un número importante de ellas tienden a concentrarse en las zonas de membrana que contactan con las leishmanias, esa proximidad impide que los péptidos antigénicos originados por la acción de las hidrolasas se engargen con las moléculas de clase II, dejando muchas de estas moléculas sin funcionalidad al quedarse totalmente vacías.
- Los amastigotes tienen la particularidad de interiorizar en su citoplasma moléculas de clase II vacías, acopladas al Ag o a chaperonas que, tarde o temprano, terminan siendo degradadas por los megasomas (orgánulos citoplasmáticos de las leishmanias con funciones semejantes a la de los lisosomas). El resultado es que un número importante de estas moléculas se destruyen, por lo que el potencial de la célula en relación con la capacidad de procesar y presentar Ags parasitarios se reduce considerablemente.
- Los únicos productos metabólicos con actividad antigénica que secretan los amastigotes, presentes en la VP y en los CIIM, son los proteofosfo-

glucanos (PPG), tienen la propiedad de ser escasamente inmunógenos y la capacidad de competir con los péptidos antigénicos derivados de la membrana plasmática de las leismanias por ocupar el surco de acoplamiento que portan las moléculas de clase II. El resultado es que los PPGs son incapaces de promover una respuesta T CD4 efectiva.

- Las leismanias inducen a una modificación de la estructura y función de las balsas lipídicas encargadas de concentrar los determinantes antigénicos. Ello se debe a la sustitución de los lípidos estructurales que posee, esfingolípidos y colesterol, por glucolípidos parasitarios, transformándolas en áreas con membranas desestructuradas, más fluidas y por tanto menos eficientes en las actividades de la presentación de Ags parasitarios a las células T.

A pesar de las limitaciones que suponen las actuaciones de los MΦs infectados con leismanias relacionadas con el procesamiento de moléculas de clase II, la célula hospedadora como presentadora profesional de Ags, adquiere el compromiso de evitar las interferencias que se le presentan, sin embargo, ante tan variado y heterogéneo repertorio de determinantes antigénicos, los mensajes que emiten no son eficientes y en la mayoría de las veces desconcertantes, por lo que la respuesta de las células efectoras resulta ser muy heterogénea y a veces confusa.

Las **estructuras encargadas de efectuar la lectura de los Ags** comprende una serie de receptores de membrana en los linfocitos T denominados **TCR** (T cell receptor), heterodímeros relacionados con las inmunoglobulinas formados por cadenas peptídicas  $\alpha$  y  $\beta$ , que se acompañan de moléculas transmembranosas accesorias CD4 y CD8 que actúan como correceptores. Su misión es la de realizar funciones de adhesión y reconocimiento de los Ags presentados por las moléculas del MHC-II y MHC-I respectivamente. Un mismo linfocito no puede tener ambos determinantes, o uno CD4 u otro CD8, por lo que sólo existen dos poblaciones de LT, los llamados cooperadores o CD4+ (LTh) y los CD8+ o citotóxicos.

Los TCRs que reconocen antígenos presentados por moléculas de clase II confieren a los LT capacidad para poderse activar, ello sucede siempre que participen otras 5 proteínas transmembranosas que se asocian al heterodímero  $\alpha$ - $\beta$  y así formar el denominado "complejo TCR funcional". Tres de dichas proteínas ( $\gamma$ ,  $\delta$  y  $\epsilon$ ) se denominan moléculas CD3 que se expresan sobre las membranas del LT aunque una parte de su estructura, las colas, pertenecen a dominios citoplasmáticos. Su función está relacionada con el envío de señales al interior de la célula por medio de las cinasas, como la PTK (proteína tirosina cinasa) que activan los LT mediante fosforilizaciones.



Las otras dos proteínas, especialmente la cadena  $\zeta$  zeta, aportan un complemento amplificado en la traducción de señales transmitidas por las cinasas. La estructura encargada, por tanto, del reconocimiento de Ags presentados por la APC es un complejo formado por moléculas TCR-CD3-CD4 que inducen a un estado de activación de las vías bioquímicas del citosol a través de las cinasas. Esta primera señal recibida es verificada por la proteína de membrana CD28 del LT CD4+ que se liga con las moléculas B7 (B7.1 o CD80 y B7.2 o CD86) de las APCs. Ambas interacciones, la del complejo TCR funcional con el complejo péptido-HCM-II de una parte y entre las moléculas coestimuladoras CD28 y B7 de otra, resultan imprescindibles para que los LT CD4+ respondan adecuadamente.

Los **mecanismos que poseen las leismanias para dificultar el reconocimiento de antígenos** por los linfocitos Th CD4, entre otros, se enumeran los siguientes:

- Los relacionados con la actividad proteolítica de la *gp63* capaz de hidrolizar el receptor CD4 de los LT evitando la interacción del TCR funcional con las moléculas de clase II de las APCs.
- La disminución del número de moléculas coestimuladoras CD28 que ligan con los receptores de la familia B7 de la APC provocando un debilitamiento de las señales necesarias para la activación de los LT CD4.
- La expresión en los linfocitos T activados de receptores alternativos del tipo CTLA-4 (molécula-4 asociada a LT citotóxico o LTC asociado a la proteína 4) que compiten con los CD28 por los ligandos B7 del M $\Phi$ , lo cual da lugar a un bloqueo de la producción de IFN- $\gamma$ . Además la CTLA-4 también bloquea la sinapsis inmunológica encargada de la transmisión de señales mediadas por la PTK que se originan en las colas citoplasmáticas de las proteínas CD3 responsables de la activación de los LT.
- El alto polimorfismo de moléculas antigénicas en la superficie de las APCs induce a que los LT presenten multitud de receptores TCR carentes de efectividad que afecta a la activación y diferenciación de las subpoblaciones Th1 y Th2.

El reconocimiento del Ag y las señales coestimuladoras activan a las células Th vírgenes (Th0) que sufren una expansión clonal y diferenciación en células T efectoras y de memoria. La activación clonal o proliferación de LTh se debe a la liberación por el M $\Phi$  de un poderoso factor de crecimiento denominado IL-2. También se producen otras citocinas como la IL-12 que estimula la diferenciación de los linfocitos Th0 hacia el subgrupo celular Th1 o su antagonista, la IL-4, que lo hace hacia el subgrupo Th2.

- Los Th1 liberan TNF- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-2, IL-12 que activan a los macrófagos favoreciendo la fagocitosis, la producción de radicales tóxicos y la muerte intracelular del parásito.
- Los Th2 secretan una amplia gama de citocinas, IL-4, IL-5, IL-6, TGF- $\beta$ , IL-10 y IL-13 que actúan sobre los linfocitos B (LB) estimulando su proliferación, expansión clonal y diferenciación hacia células plasmáticas productoras de anticuerpos (Ac), al mismo tiempo que inhiben la respuesta de tipo Th1 encargada de dificultar la diseminación de los parásitos.

El marco en el que se desarrolla el proceso viene determinado por un desbarajuste del sistema inmune provocado por la gran variabilidad en calidad y cantidad de las moléculas mensajeras liberadas por distintas células en respuesta a acciones desarrolladas por las APCs y por las que se encargan de reconocerlos como son los LT. El que los animales ofrezcan una respuesta inmune adecuada o no, depende de si existe un mecanismo eficaz de protección, que evite la diseminación de la infección eliminando o acantonando al parásito, o por el contrario que sea promotora de la instauración de la enfermedad porque sea incapaz de destruirlo.

### 3. EFECTOS DE LAS LEISMANIAS EN EL PERRO

En el perro se ha comprobado que existe una correlación entre la inmunidad protectora y la expansión de linfocitos Th1. El aspecto más sobresaliente es la activación de los M $\Phi$ s induciéndolos a la producción de radicales tóxicos para la muerte de las leismanias y a la liberación de citocinas IL-12 e IL-18 que median respuestas de hipersensibilidad de tipo retardado. La otra alternativa es una respuesta eminentemente humoral, inefectiva, de tipo Th2 que promueve un proceso sintomático favorecido por la expansión policlonal de los linfocitos B con la consiguiente inhibición de la activación macrófaga y respuestas linfoproliferativas.

La respuesta celular mediada por células Th1 CD4 es una **hipersensibilidad de tipo retardado (HR) o tipo IV** caracterizada por una lesión granulomatosa propia de enfermedades con estímulo antigénico crónico persistente semejante a las de la tuberculosis, lepra, o esquistosomosis, donde las citocinas, principalmente TNF- $\alpha$ , se libera de forma continua favoreciendo la activación y diferenciación de macrófagos en células epitelioides y la formación de granulomas efectivos donde los parásitos sobreviven durante largos períodos de tiempo. Es un estado quiescente en el que la infección es controlada localmente evitando la recrudescencia de la infección, no obstante en algunos casos la respuesta inflamatoria es exacerbada, generándose zonas de

necrosis más o menos extensas donde los granulomas son poco reconocibles aunque sí puede haber MΦs infectados.

En la respuesta humoral protectora mediada por los linfocitos Th1, el nivel de anticuerpos antileismania es menor que en otros estados patológicos, siendo el isotipo IgG2 el dominante, mientras que en animales susceptibles (con respuesta celular de tipo Th2) la producción de anticuerpos es muy destacada siendo el isotipo IgG1 el preponderante, aunque la regla general es que en la mayoría de los animales infectados se suele presentar una mezcla de ambos. La capacidad protectora de los anticuerpos es limitada y en las infecciones naturales no se observa ninguna relación entre niveles altos de anticuerpos y resistencia.

Los anticuerpos son capaces de reconocer de forma específica, aparte de los principales componentes de la membrana del parásito (LPG y *gp63*), otros componentes estructurales de naturaleza antigénica como son los vinculados a las proteínas del citoesqueleto (quinesina, tubulina, actina), proteínas ribosómicas, histonas, proteínas de choque térmico y glicosomas. Dichos componentes, conocidos como panantígenos o patoantígenos, tienen la particularidad de tener epitopos comunes con proteínas de igual denominación presentes en las células del hospedador, hasta tal punto son similares que su homología genómica es superior en muchos casos al 50%. Tales “proteínas de secuencia conservada”, presentes en células procarióticas y eucarióticas, liberadas en el momento de la lisis de las leismanias son fagocitadas y procesadas por las células presentadoras de antígenos profesionales como son los MΦs o células dendríticas a través de moléculas de clase II del HMC. En estos casos las APCs ofrecen numerosos y heterogéneos determinantes antigénicos (TCRs) que tienen que ser reconocidos por otros tantos receptores de los LT. El resultado es una activación policlonal de linfocitos B con la consiguiente producción inmunoglobulinas de gran variedad en respuesta tanto a los antígenos específicos del parásito como a los antígenos comunes de secuencia conservada (panantígenos) procedentes de la lisis de los parásitos y de las células hospedadoras que dan lugar a la producción de autoanticuerpos. Las consecuencias son:

1. La instauración paulatina de una hipergammaglobulinemia acompañada por una gran variedad de complejos inmunes circulantes que los MΦs son incapaces de eliminar.

2. La tendencia a desarrollar procesos inmunopatológicos relacionados con los fenómenos de autoinmunidad.

y 3. La presencia de inmunocomplejos formados por IgGs, fracciones del complemento y antígenos parasitarios que tienden depositarse por su cantidad en el endotelio de los vasos pequeños, especialmente en aquellos que cumplen funciones de ultrafiltración tales como los glomérulos renales, plexos coroideos del SNC o las membranas sinoviales articulares ocasionando alteraciones orgánicas encuadradas en la denominada reacción de **hipersensibilidad de tipo III**.

La complejidad de los mecanismos inmunopatogénicos comentados da idea de la dificultad con la que describir el proceso patológico, que esa ya es otra historia, de ahí que se tienda a aceptar por la comunidad entendida la denominación genérica de «**espectro clínico-patológico**» con la que se define la enfermedad y donde se incluyen procesos patológicos de gran variedad y riqueza sintomática que comprende desde formas latentes o asintomáticas, cuyas manifestaciones clínicas o no existen o son muy limitadas hasta formas patentes o sintomáticas con claros signos de enfermedad.

Finalmente, quisiera indicarles a modo de corolario, que he procurado ofrecerles una vista panorámica de una serie de estrategias y actuaciones llevadas a cabo en la intimidad entre dos organismos vivos, el parásito y el hospedador. Las interacciones así como los mecanismos que las regulan son hoy conocidos en parte, otros se intuyen y otros son totalmente desconocidos, quedando aún mucho camino por descubrir. En realidad he intentado examinar con más o menos detalle cuanto parece acontecer en este enfrentamiento cuerpo a cuerpo entre el parásito y el hospedador infectado, enfrentamiento que se produce, como hemos visto, sin tregua, empleando todo tipo de arsenal armamentístico, donde el uso de un arma más o menos convencional por una de las partes, se contrapone otra de mayor efectividad por parte de la otra, que a su vez es contrarrestada o invalidada por otra de signo contrario más efectiva que la anterior, y así, de manera ininterrumpida, es llevada a cabo sucesivamente esta especie de guerra de desgaste donde los parásitos tienen que estar adaptándose sin cesar utilizando pertrechos y contramedidas cada vez más sofisticados en cada momento con la intención de obtener los recursos necesarios de sus hospedadores y conseguir de esta forma su supervivencia y descendencia parasitaria, mientras tanto los hospedadores deben permanecer atentos para detenerlos e impedirles de alguna manera su establecimiento y evolución. Esta disputa acarrea secuelas perjudiciales no solo para el parásito sino también para el propio hospedador provocando una serie de acontecimientos patológicos ciertamente nocivos para los intereses de los animales infectados.

He dicho