

## DESARROLLO HISTÓRICO Y NUEVOS PARADIGMAS EN LA LEISHMANIOSIS CANINA

*Discurso de Ingreso como Académico Numerario  
Illmo. Sr. D. José Hervás Rodríguez*

Excelentísimo Sr. Presidente de la Real Academia de Ciencias Veterinarias de Andalucía Oriental, Excelentísimo Sr. Presidente del Ilustre Colegio Oficial de Veterinarios de Málaga, Ilustrísimos señores Académicos, compañeros y compañeras, querida familia y amigos todos. Con su venia, voy a proceder a la lectura de mi discurso de ingreso en la Real Academia de Ciencias Veterinarias de Andalucía Oriental, que versará sobre distintos aspectos históricos y las nuevas tendencias inmunopatológicas de la Leishmaniosis canina.

Antes de comenzar, quisiera agradecer al pleno de esta Ilustre Institución y a sus distinguidos miembros, su confianza en mí para este nombramiento. Es para mí un honor y un privilegio formar parte, como nuevo Miembro Numerario, de esta Real corporación. A mi familia y amigos, darles las gracias por estar siempre a mi lado y, en especial, a mis padres, que todo lo han dado por mí sin esperar otra cosa que mi cariño.

A pesar de que muchas fueron las enfermedades y sus agentes etiológicos, que atrajeron mi atención en mis primeros pasos en el mundo de la investigación, fue este pequeño protozoo, a caballo entre los virus y los parásitos metazoicos, en el límite de lo observable al microscopio óptico y lo estudiable mediante la microscopía electrónica, el que captó poderosamente mi atención. Sobre el mismo realicé mi primera publicación científica y, desde aquel momento, ha sido una constante de desarrollo científico personal hasta las últimas publicaciones realizadas sobre la Leishmaniosis en el gato.

Aunque históricamente fué Leishman quien en 1900 descubre al parásito, asociado a un caso de “kala-azar” en la India, quizás los ancestros históricos de éste protozoo ya estuviesen asociados con los antecesores de los mosquitos phlebotomos, que en la actualidad le sirven como vector.

Si esto fuese así, la distribución de los fósiles de los Phlebotomos nos debieran de ofrecer una distribución sobre los antecesores de la Leishmania en el tiempo. Así, las primeras especies de Phlebotomos han sido encontrados en el Líbano y datadas en el Cretácico Inferior; de igual forma estos insectos también han sido encontrados, fósilizados en ámbar, en la zona del Báltico, y datados unos 30 millones de años atrás.

De forma similar a como se ha documentado en otras enfermedades infecciosas, dependientes de un artrópodo vector, el parásito, quizás comenzó infectando a un invertebrado succionador de sangre, para posteriormente progresar e infectar a los animales vertebrados, lo que de seguro ha sido una emocionante aventura evolutiva para nuestro pequeño protozoo, aunque la misma sea en la actualidad un enigma insondable para nosotros.

Como en otras tantas enfermedades, en las que el conocimiento de las lesiones causadas por su agente etiológico es muy anterior al descubrimiento del propio parásito, las primeras descripciones de leishmaniosis cutánea en el “Viejo Mundo” similar al “Botón de Oriente” ya son recogidas en la biblioteca del rey Ashurbanipal, que contenía referencias de textos asirios y acadios, hacia el 650 a.d.c, así como por físicos árabes como Abu Mansur y Avicena a finales del siglo X.

Hacia el 1501, es el famoso físico persa Bahaodowleh Razi quien describe formas de Leishmaniosis cutánea en la zona de Bagdag. Durante los siglos XVIII y XIX los escenarios de las descripciones de esta enfermedad se mueven entre Alepo y Bagdad, de Tunez a Argelia, de Delhi a Lucknow....es decir del Este de Europa al Sudeste Asiático.

Por el contrario, en el “Nuevo Mundo”, las referencias históricas son mucho más controvertidas, ya que se basan en la interpretación de las lesiones en los “huacos” precolombinos (vasos antropomorficos peruanos) de las culturas Chimú y Mochico. En Perú, Pedro Pizarro (que nada tiene que ver con los famosos conquistadores hispanos, los hermanos Pizarro) menciona una enfermedad de los Indios cultivadores de coca en los valles del Este de los Andes Peruanos, que les destruye la nariz y la cavidad nasal, dicha enfermedad también atacaba a los invasores españoles y producía la muerte de forma lenta; a dicho proceso se le denominaba “espundia”.

De forma similar, referencias de Bueno en el siglo XVIII ya describían “llagas rebeldes o llagas corrosivas” a las que más tarde se les llamará “uta”. Así, la uta era una enfermedad de valles secos y altos (2000 metros o más) del oeste de los Andes mientras que la espundia era una enfermedad que se describía en los valles húmedos y bajos del Este de los Andes. De igual forma, Fray Hipólito, en 1827, también describe lesiones similares a la leishmaniosis cutánea en Brasil.

Son, sin embargo, las postrimerías del siglo XIX e inicios del XX la época más interesante en el desarrollo científico de esta enfermedad. De esta forma, la primera observación del parásito es atribuida a Cunningham, en 1885, al estudiar en la India un “forúnculo de Delhi”; pero este autor concluye identificando erróneamente al organismo como un hongo. Corresponde a Borovsky, en 1898, la tipificación del agente del “botón seco” entre los protozoos.

En 1900, como ya hemos citado anteriormente, Leishman descubre al parásito asociado a un caso de “kala-azar” en la India, considerándolo próximo a los trypanosomas. Estas consideraciones, se publican en 1903 coincidiendo con las de Donovan sobre el mismo parásito en otros casos de leishmaniosis visceral. En este mismo año, Ross aporta la denominación definitiva de *Leishmania donovani*, aunque son las observaciones de Rogers en 1904 y Nicolle en 1908, las que clarifican definitivamente la naturaleza del parásito, ya que demuestran en cultivos “in vitro” las formas flagelares de *L. donovani* y *L. tropica*.

En 1908, Nicolle y Compte describen una infección natural en perro por *L. infantum*, siendo ésta la primera reseña de la existencia de reservorios animales en esta enfermedad.

Desde la descripción de las formas flageladas del parásito por Rogers, en 1904, se consideró por los distintos investigadores la posibilidad de la existencia de un vector artrópodo en esta enfermedad. Fue finalmente Wenion, en 1911, quien proporcionó la primera evidencia directa del papel de los insectos phlebotomidos como vectores, demostrando en su intestino organismos flagelados indistinguibles de los obtenidos en cultivos de *Leishmania*.

Hacia 1912, la leishmaniosis visceral canina era conocida en todos los países mediterráneos en los que se había señalado la existencia de la enfermedad humana, y había constancia de su existencia en otras áreas endémicas de Europa, China, África y Latinoamérica. Tan sólo un año más tarde, Neligan describe por primera vez la presencia de leishmaniosis cutánea en el perro.

En Africa, los estudios sobre la enfermedad fueron ampliándose a mayores territorios, una vez iniciados en los países del litoral mediterráneo. Así, la forma visceral se identificó tempranamente en Sudán (en 1904) habiéndose citado, en ocasiones, infecciones en perros, siendo los principales focos de la enfermedad Kenia, Sudán y Etiopía.

En España, encontramos descripciones de esta enfermedad en Granada, Málaga y Almería ya en 1912, en Jaén en 1933), así como en otras provincias del Centro y del litoral Mediterráneo, en estos albores del siglo XX.

A partir de estos estudios clásicos de los primeros años de investigación sobre la leishmaniosis, el conocimiento del parásito y de la enfermedad va ampliándose progresivamente.

Clásicamente, la leishmaniosis canina mediterránea está asociada a la infección por *Leishmania infantum*. El perro y, en menor medida, el zorro son considerados como sus principales hospedadores/reservorios. En estas especies la prevalencia de la enfermedad en la Cuenca Mediterránea se consideraba entre el 1-5% y la seroprevalencia del 5-15% (mayor en algunos focos endémicos). La mayoría de los perros infectados acabarían desarrollando un cuadro clínico generalmente caracterizado por anemia, leucopenia, hepato y esplenomegalia, caquexia y alteraciones cutáneas de diferente naturaleza e intensidad, considerando que los animales infectados se volverían seropositivos.

Sin embargo a finales de los años noventa, tres nuevas líneas de investigación y de actuación han contribuido a cambiar este paradigma clásico sobre la leishmaniosis: así, estudios inmunológicos, epidemiológicos y la disponibilidad de los nuevos recursos diagnósticos moleculares han sido fundamentales en este sentido.

La característica principal de este nuevo paradigma, es que considera que la enfermedad es la consecuencia de una respuesta inmunitaria inadecuada, en lugar de ser meramente la consecuencia de la infección por parte del parásito.

Los cambios inmunológicos que se desarrollan en la leishmaniosis son complejos y aún no del todo bien definidos, aunque se han demostrado fundamentales en la resistencia del hospedador frente a la enfermedad. De forma esquemática, una vez que los amastigotes son fagocitados en la piel del hospedador por las células presentadoras de antígenos (en especial macrófagos y células de Langerhans), los antígenos de leishmania en combinación con las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad son presentadas a los linfocitos T helper, que a su vez, son los encargados del desarrollo de la respuesta inmune.

Así, dependiendo de que se induzca una respuesta inmunitaria basada en los linfocitos T helper1 (Th1) o en los linfocitos T helper2 (Th2), se desarrollará la enfermedad de una forma u otra o incluso ésta no se manifestará.

Así, si se desarrolla esencialmente una respuesta T helper1 se favorece la inmunidad celular así como la resistencia de las células macrofágicas a la infección y la destrucción de los amastigotes, controlando de esta forma la infección y el desarrollo de la enfermedad.

Si por el contrario la respuesta inmunitaria que se desarrolla se basa en los linfocitos T helper2, se favorece una respuesta inmune humoral basada en la proliferación de linfocitos B y la producción de inmunoglobulinas, ineficaces para el control de la enfermedad y con graves consecuencias sistémicas, responsables en gran medida del cuadro patológico que el animal manifiesta.

Desgraciadamente, los mecanismos que hacen que se desarrolle de forma predominante una activación de los linfocitos T helper1 son poco conocidos pero en ellos parece existir una clara base genética e incluso depende del tipo de célula presentadora de antígeno mayormente implicada.

Las nuevas tendencias epizootiológicas (realizadas a partir del desarrollo de los potentes métodos de PCR en el diagnóstico de esta patología) nos indican que la prevalencia de la infección es muy elevada (entre un 60-90% en zonas endémicas como es la cuenca Mediterránea) mientras que la prevalencia clínica de la enfermedad es mucho más reducida (entre un 5-15%).

Además, en los recientes estudios se ha demostrado que no todos los animales que aparecen infectados tendrán que desarrollar la enfermedad en el futuro (básicamente sólo aquellos que sufran una alteración en su estado inmunitario o en los que su respuesta inmune celular no sea adecuada o eficiente). Por ello, hemos de considerar normal, el hecho de que un animal sano en un chequeo rutinario resulte positivo al parásito de forma que, en la actualidad, la utilización de técnicas diagnósticas debería de limitarse a los animales que muestran una sintomatología aparente.

Una de las principales consecuencias de este cambio de paradigma científico se desarrolla a nivel del diagnóstico de esta enfermedad.

-El diagnóstico de la enfermedad es una tarea compleja ya que los resultados de cada técnica deben de interpretarse de forma adecuada. Así, la visualización directa del parásito en extensiones medulares o ganglionares o una PCR positiva, solamente significa que el animal está infectado. Un positivo en una prueba tipo IFI significa

infección y la existencia en el animal de una respuesta inmune humoral, lo que habitualmente va unido a la aparición de síntomas clínicos.

-Al final, el diagnóstico “siempre es una decisión clínica” basada en diversos tipos de análisis, pero clínica. No existe una prueba única que pueda confirmar un diagnóstico definitivo de un proceso de leishmaniosis como tal enfermedad.

-Cuando un perro presenta síntomas clínicos compatibles con la enfermedad, se debe de recurrir a las diferentes pruebas laboratoriales existentes para el diagnóstico de la misma; sin embargo, y de momento, no está claro el comportamiento que debe de seguir el clínico ante un perro infectado pero clínicamente sano, aunque resulta imprescindible un seguimiento periódico del animal.

-En la mayoría de los casos, a la hora de realizar un diagnóstico, se han de combinar diversas técnicas, dependiendo, en cada caso concreto, de la sintomatología clínica apreciable, la elección de la técnica más apropiada.

-En muchos animales, el desarrollo de la enfermedad se relaciona con la existencia de alguna causa oculta que ha provocado la depresión de la respuesta inmunitaria del mismo (tratamientos farmacológicos, enfermedades crónicas subyacentes, procesos oncológicos, parasitismos, etc). De hecho, la literatura científica aparece repleta de artículos referidos a casos de leishmaniosis asociados a diferentes enfermedades (hemangiosarcomas, linfomas, pénfigo foliáceo, ehrlichiosis,...). Una explicación a tal hecho consistiría en que esos animales ya presentaban una infección crónica por la leishmania, y que han desarrollado un cuadro clínico de leishmaniosis cuando alguna circunstancia anómala, como las anteriormente referidas, ha alterado su respuesta inmune. La presencia de patologías o factores ocultos se debe de investigar siempre, en especial en perros de mediana o avanzada edad afectados de leishmaniosis.

-Después de establecer el diagnóstico, debería de realizarse como pauta de actuación rutinaria y fundamental la evaluación del sistema inmune del paciente y el tipo de respuesta inmunitaria específica frente al parásito (recuento de linfocitos CD4+, CD8+ y cociente CD4/CD8, una prueba cutánea intradérmica, blastogénesis de linfocitos y la producción de IFN- $\gamma$ , así como la respuesta humoral específica mediante un proteinograma y una titulación de anticuerpos).

Esta evaluación debería continuar durante y después del tratamiento. De esta forma, los perros inmunodeprimidos y los perros que muestran una respuesta inmunitaria humoral específica alta junto a una respuesta inmunitaria celular débil, tienen un peor pronóstico.

Desafortunadamente, muchas de estas técnicas de evaluación (por no decir casi todas ellas, con excepción de las que miden la respuesta humoral específica), a pesar de ser técnicas muy habituales para monitorizar la función inmunológica en los seres humanos (por ej. de uso rutinario en humanos infectados con el VIH), en medicina veterinaria, y hoy por hoy, son todavía una herramienta de investigación en desarrollo.

Este cambio de paradigma también afecta a la asociación de la leishmaniosis con otras enfermedades y en lo relacionado con la salud pública: -así, durante más de 10 años se han publicado numerosos estudios sobre la asociación de la leishmaniosis con otras enfermedades, entre ellas el SIDA en humanos. La interpretación clásica atribuía la infección y el desarrollo de la enfermedad al hecho de estar inmunodeprimido. Esto se ha comprobado que es erróneo: la persona ya está infectada con la leishmania y cuando se inmunodeprime al infectarse con el VIH es cuando desarrolla la enfermedad. Es decir la leishmaniosis es previa al SIDA.

En relación con las implicaciones del nuevo paradigma y la salud pública hemos de recordar, que aunque la asociación epidemiológica entre leishmaniosis humana y canina no ha sido nunca una cuestión clara en Europa, la Organización Mundial de la Salud (la OMS), insistió muchísimo en la cuestión de eliminar los perros seropositivos como sistema de control de la enfermedad en humanos. Como esta política era inviable en Europa, a partir de la segunda mitad de los años 90 se realizaron una serie de estudios en Brasil, para determinar la validez de la recomendación de la OMS.

Los resultados demostraron que el sacrificio de los perros enfermos no conseguía disminuir la incidencia de la leishmaniosis en la zona de intervención. Estos estudios no solamente han servido para que la OMS ya no recomiende la eliminación de los perros, sino que también han puesto en evidencia que una gran parte de los humanos estamos infectados por la Leishmania, pero que no llegamos a desarrollar la enfermedad porque nuestro sistema inmunitario es mucho más eficiente.

En cuanto a la prevención y control de esta enfermedad, tres son las vías que se deberían de afrontar ello: a) el control sobre los reservorios, b) el control o la eliminación de la población de vectores y c) la prevención de la picadura de los mosquitos.

a) En cuanto al primer punto, y a pesar de que en anteriores épocas la OMS hizo hincapié en la eliminación de los perros seropositivos, tras recientes estudios dicha organización ya no lo recomienda al ponerse en evidencia (tal y como hemos señalado anteriormente) que una alta población humana aparece infectada por el parásito,

pero que no llega a desarrollar la enfermedad debido a que nuestro sistema inmunitario es más eficiente en su control.

Reseñar que el desarrollo de una vacuna efectiva contra la enfermedad sería el mejor camino hacia el control de la misma a nivel mundial. Así, en la actualidad, se desarrollan de forma experimental diferentes protocolos vacunales que intentan inducir el desarrollo de una respuesta celular tipo T helper1 estable y duradera a partir de diferentes fracciones antigénicas del parásito (como la proteína gp63), de promastigotes modificados, de extractos de promastigotes e incluso las recientes experiencias que incluyen antígenos del parásito y de la saliva del mosquito.

b) El control mediante el uso de insecticidas de la población de vectores puede ser una efectiva medida de control (más de forma zonal o local) pero de difícil o imposible aplicación en áreas urbanas, así como en muchos de los países a los que afecta esta enfermedad. Otro tipo de métodos de lucha contra los vectores de la enfermedad (como la lucha biológica, etc) deberían desarrollarse en un futuro próximo.

c) En cuanto a la prevención de la picadura del mosquito, ésta pasaría por una primera medida (fácil y económica) de encerrar a los animales durante el periodo de máxima actividad del mismo (la mañana y el atardecer) y poner telas mosquiteras, aunque parece que en la actualidad el uso de insecticidas repelentes (basados en la aplicación de piretroides y combinaciones de éstos con otros compuestos) de forma continua en el animal, sí ayuda a reducir de forma eficiente la transmisión de la misma en dichas áreas.

No me gustaría terminar esta pequeña aproximación a las nuevas tendencias en el desarrollo de la Leishmaniosis, sin acercarnos brevemente a las escasas nociones que sobre la misma se poseen en la actualidad en la especie felina. Así, la leishmaniosis felina es una enfermedad, que aunque cada vez se describe con mayor frecuencia, no muestra la importancia patológica y epidemiológica que la misma en el perro.

Se suele presentar con una sintomatología clínica amplia, que abarca desde lesiones cutáneas (costras, úlceras (en especial en las orejas y nariz), alopecias y descamaciones de forma simétrica, nódulos, etc) hasta afecciones oculares del tipo de la iridociclitis pseudotumoral o procesos de gingivitis y estomatitis. También se ha descrito una afectación visceral con lesiones de neumonitis, hepatitis, esplenitis y gastroenterocolitis piogranulomatosas.

A pesar de que la patogenia de la leishmaniosis no se ha estudiado aún en el gato, se ha comprobado que: -éstos muestran una resistencia natural a la infección (quizás debido a que su sistema inmunitario pueda ser más eficiente en su control, al



igual que sucede en la especie humana) –que el vector, muestra apetencia por los mismos en su alimentación (aún mayor que por el perro) y que, -en muchos de los casos los animales afectados presentan enfermedades víricas inmunosupresoras del tipo FeLV o FIV de forma concomitante, lo que podría interferir en el desarrollo de una adecuada respuesta inmunitaria frente a la infección.

Para finalizar esta intervención, quisiera referirme a una cita del poeta Joseph Addison que dice así: “nada que pueda conseguirse sin pena y sin trabajo es verdaderamente valioso”; por ello, no quiero dejar de recordar a algunos de los compañeros, como Tomás Cano Expósito o José Carlos Gómez Villamandos, que me ayudaron en el arduo caminar de la tarea investigadora y que, con sus valiosos consejos, hicieron más fácil el camino.

A todos Ustedes y a todos los que de una forma u otra, presentes o ausentes, han hecho posible que el día de hoy sea una realidad, muchas gracias.

Málaga, 29 de Abril del 2006.

