

Laboratorio de Amebas de Vida Libre del Instituto Universitario de Enfermedades Tropicales y Salud Pública de Canarias de la Universidad de La Laguna: nuevas terapias frente a protozoos patógenos emergentes

Jacob Lorenzo-Morales



Laboratorio de Amebas de Vida Libre, IUETSPC-ULL



Miembros Laboratorio Amebas de Vida Libre, Universidad de La Laguna

El Laboratorio de Amebas de Vida Libre del Instituto Universitario de Enfermedades Tropicales y Salud Pública de Canarias de la Universidad de La Laguna, trabaja en la actualidad en diagnóstico y desarrollo de nuevas terapias frente a amebas de vida libre.

Dentro del grupo de amebas de vida libre, solamente cuatro géneros se asocian con enfermedades en humanos: *Acanthamoeba* spp., *Balamuthia mandrillaris*, *Naegleria fowleri* y *Sappinia diploidea*. Tanto *Acanthamoeba* spp. como *B. mandrillaris* son patógenos oportunistas que infectan el sistema nervioso central, produciendo encefalitis granulomatosa amebiana, y también afectan a pulmones

y piel, en pacientes inmunodeprimidos. En el caso de *B. mandrillaris* se han descrito casos en niños inmunocompetentes, mientras que *Acanthamoeba* spp. puede producir queratitis amebianas, que dan lugar a ceguera, sobre todo, en individuos inmunocompetentes usuarios de lentes de contacto. Con respecto al género *Naegleria* solamente una de las más de treinta especies descritas, *N. fowleri*, es causante de una meningoencefalitis fulminante (encefalitis amebiana primaria) en niños y adultos jóvenes.

Los tres géneros amebianos anteriormente descritos son causantes de encefalitis e infecciones diseminadas en otros animales

tales como peces, reptiles y rumiantes (Siddiqui and Khan, 2014; Lorenzo-Morales *et al.* 2015). No existen datos previos sobre la incidencia real de este tipo de patologías en España, si bien se han reportado casos de queratitis por *Acanthamoeba* de forma aislada y con mayor incidencia en los últimos años (Arnalich-Montiel *et al.* 2012).

Centrándonos en el género *Acanthamoeba*, especies/cepas patógenas incluidas en este grupo son capaces de colonizar las lentes de contacto, adherirse al epitelio corneal (la parte transparente de ojo) y fijarse a la misma de tal forma que la van degradando sirviéndoles de alimento. Cuando esta degradación va avan-

zando forman heridas (úlceras) en la córnea, que si siguen desarrollando y no se diagnostican y tratan a tiempo pueden desencadenar en ceguera. El problema no acaba ahí ya que estas amebas son capaces de formar una fase de latencia denominada quiste que es altamente resistente a agentes antimicrobianos. Debido a ello, por el momento no existen tratamientos 100 % efectivos frente a estas amebas ni tampoco prevención ya que los líquidos de mantenimiento y limpieza disponibles en el mercado para lentes de contacto no son 100% eficaces para eliminar a estas amebas (Lorenzo-Morales *et al.* 2015).

Situándonos en la terapéutica actual frente a las enfermedades producidas por amebas de vida libre hay que destacar la falta de un tratamiento establecido frente a estas patologías, de ahí la importancia de la búsqueda de nuevos principios activos frente a estos protozoos emergentes. Habría que resaltar que estas amebas son capaces de formar quistes que son altamente resistentes a agentes químicos, lo que hace imprescindible la validación de nuevas dianas y elucidar nuevos principios activos frente a estos patógenos. Últimamente, la miltefosina, perteneciente a la familia de los alquilfosfolípidos, se ha empleado para el tratamiento de infecciones cerebrales y diseminadas debidas a estas amebas si bien sólo se ha registrado un superviviente sin secuelas en 2013. En el caso de las infecciones cerebrales, hay que destacar que la mayoría de los principios activos empleados como antiprotozoarios muestran una escasa capacidad de penetración de la barrera hemato-encefálica. Además, en el caso de las queratitis por *Acanthamoeba* spp., hay que reseñar que los principios activos que contienen los líquidos de mantenimiento y de desinfección de lentes de contacto no se encuentran a las concentraciones que permitirían una eliminación segura de estas amebas como ya mencionamos anteriormente (Martín-Navarro *et al.*, 2008).

Con respecto a las queratitis por *Acanthamoeba*, nuestro grupo ha informado sobre la actividad *in vitro* de varias estatinas con potente actividad amebicida y quisticida frente a cepas de origen clínico (Martín-Navarro *et al.*, 2013; 2015). Estos principios activos, en base a los estudios obtenidos, podrían emplearse en un futuro como tratamiento efectivo

Por todo lo anteriormente expuesto consideramos de gran interés el desarrollo de estudios que permitan la validación de dianas terapéuticas y el establecimiento de quimioterapias efectivas frente a estos protozoos emergentes. Es importante destacar que a nivel mundial, aparte de nuestro grupo de investigación solo existen tres grupos trabajando en el campo de desarrollo de nuevas terapias frente a encefalitis por amebas de vida libre, uno de reciente creación en la University of Georgia, USA (Dr Dennis Kyle), el grupo de Dr Naveed A. Khan en la Sunway University, Malasia y Dra Julia Walochnik de la Medical University of Vienna, Austria.

Hasta el momento y en el campo de la prevención y terapéutica de queratitis por *Acanthamoeba*, nuestro grupo de investigación lleva trabajando en este campo, con la finalidad de encontrar una solución para la prevención de las infecciones por *Acanthamoeba* pero también para el tratamiento efectivo de las mismas. Para ello y mediante hemos desarrollado estudios encaminados a descubrir nuevos principios activos (drogas/fármacos) que se puedan emplear en la elaboración de un líquido de mantenimiento de lentes de contacto que sea 100% efectivo frente a *Acanthamoeba* y también nuevos productos que sean más efectivos para el tratamiento de las queratitis por estas amebas. Fruto de varios proyectos de investigación, y de varias Tesis Doctorales, hemos llegado a un producto final, de tal forma que hemos conseguido proponer un novedoso líquido de mantenimiento de lentes de contacto que es capaz de eliminar al 100% a estas amebas recientemente patentado. Por otro lado, hemos descubierto unos fármacos que son capaces, al menos *in vitro*, de eliminar a estas amebas a muy bajas concentraciones por lo que serían ideales para tratar a las queratitis por *Acanthamoeba*.

Por lo tanto, hemos conseguido un producto innovador para la prevención de infecciones por *Acanthamoeba* en usuarios de lentes de contacto, ya que tendrían acceso a un líquido de mantenimiento de las lentes 100% efectivo frente a estas amebas, de hecho ya poseemos una patente a nivel nacional de este producto y una marca comercial registrada (patente número P201100637 y marca comercial número M2982397).

Por otro lado, hemos descubierto una familia de fármacos, que son altamente efectivos frente a *Acanthamoeba* incluso frente a los quistes. Estos fármacos son las estatinas, y actualmente estamos en proceso de validar su empleo en combinación y desarrollar nuevas formas de administración ya que actualmente las estatinas se toman por vía oral, siendo este el objetivo principal actual de nuestro laboratorio. Cabe destacar que nuestro grupo es el primero a nivel mundial que ha conseguido desarrollar una solución de mantenimiento de lentes de contacto preventiva y efectiva para amebas además de un tratamiento efectivo (estatinas) que es eficaz a dosis muy bajas incluso en comparación con las dosis requeridas para el tratamiento de la hipercolesterolemia (diez veces menor) (Martín-Navarro *et al.* 2013; 2015; Lorenzo-Morales *et al.* 2015).

BIBLIOGRAFÍA

- Abrahams-Sandí E, Retana-Moreira L, Castro-Castillo A, Reyes-Battle M, Lorenzo-Morales J.** Fatal meningoencephalitis in child and isolation of *Naegleria fowleri* from hot springs in Costa Rica. *Emerg Infect Dis.* 2015 Feb;21(2):382-4.
- Arnalich-Montiel F, Martín-Navarro CM, Alió JL, López-Vélez R, Martínez-Carretero E, Valladares B, Piñero JE, Lorenzo-Morales J.** Successful monitoring and treatment of intraocular dissemination of *Acanthamoeba*. *Arch Ophthalmol.* 2012;130(11):1474-5.
- Bakardjiev A, Azimi PH, Ashouri N, Ascher DP, Janner D, Schuster FL, Visvesvara GS, Glaser C.** Amebic encephalitis caused by *Balamuthia mandrillaris*: report of four cases. *Pediatr Infect Dis J.* 2003;22(5):447-53.
- Dart JK, Saw VP, Kilvington S.** *Acanthamoeba* keratitis: diagnosis and treatment update 2009. *Am J Ophthalmol.* 2009 Oct;148.
- Lorenzo-Morales J, Cabello-Vilchez AM, Martín-Navarro CM, Martínez-Carretero E, Piñero JE, Valladares B.** Is *Balamuthia mandrillaris* a public health concern worldwide? *Trends Parasitol.* 2013 Oct;29(10):483-8. doi: 10.1016/j.pt.2013.07.009. Epub 2013 Aug 26.
- Lorenzo-Morales J, Khan NA, Walochnik J.** An update on *Acanthamoeba* keratitis: diagnosis, pathogenesis and treatment. *Parasite.* 2015;22:10. doi: 10.1051/parasite/2015010. Epub 2015 Feb 18. Review.
- Lorenzo-Morales J, Martín-Navarro CM, López-Arencibia A, Arnalich-Montiel F, Piñero JE, Valladares B.** *Acanthamoeba* keratitis: an emerging disease gathering importance worldwide?. *Trends Parasitol.* 2013 Apr;29(4):181-7.
- Maciver SK.** The threat from *Balamuthia mandrillaris*. *J Med Microbiol.* 2007 56(Pt 1):1-3.
- Martín-Navarro CM, López-Arencibia A, Sifaoui I, Reyes-Battle M, Valladares B, Martínez-Carret-**

ero E, Piñero JE, Maciver SK, Lorenzo-Morales J. Statins and voriconazole induce programmed cell death in *Acanthamoeba castellanii*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015 May;59(5):2817-24. doi: 10.1128/AAC.00066-15.

Martín-Navarro CM, Lorenzo-Morales J, Cabrerá-Serra MG, Rancel F, Coronado-Alvarez NM, Piñero JE, Valladares B. The potential pathogenicity of chlorhexidine-sensitive *Acanthamoeba*

strains isolated from contact lens cases from asymptomatic individuals in Tenerife, Canary Islands, Spain. *J Med Microbiol.* 2008 57(Pt 11):1399-404.

Martín-Navarro CM, Lorenzo-Morales J, Machin RP, López-Arencibia A, García-Castellano JM, de Fuentes I, Loftus B, Maciver SK, Valladares B, Piñero JE. Inhibition of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase and application of statins

as a novel effective therapeutic approach against *Acanthamoeba* infections. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013 Jan;57(1):375-81.

Siddiqui R, Khan NA. Primary amoebic meningoencephalitis caused by *Naegleria fowleri*: an old enemy presenting new challenges. *PLoS Negl Trop Dis.* 2014 Aug 14;8(8):e3017. doi: 10.1371/journal.pntd.0003017. eCollection 2014 Aug. Review.

Grupo de Parasitología e Inmunología de la Universidad San Pablo CEU

Carmen del Águila, Soledad Fenoy, Fernando Izquierdo, Carolina Hurtado, Dolores Ollero, Ángela Magnet, Lucianna Vaccaro, Thiago Gomes, Fernando Redondo, Sergio Llorens, Rubén Agudo



Departamento de Ciencias Farmacéuticas y de la Salud. Facultad de Farmacia. Universidad San Pablo CEU.



Miembros del grupo de Parasitología e Inmunología

EXPERIENCIA GRUPO

Los investigadores de la USPCEU liderados por la Dra. Carmen del Águila cuentan con experiencia en diagnóstico parasitológico, estudio de fármacos, infecciones experimentales en modelos animales, inmunología y biología molecular en los campos en los que

han trabajado. En 1995 y tras una serie de estancias en el CDC de Atlanta en las que adquiere experiencia en microsporidiosis, *Cryptosporidium* y Amebas de Vida Libre (AVL) la Dra. del Águila desarrolla una línea de investigación en parásitos oportunistas realizando estudios ultraestructurales y antigénicos a partir de cultivo de aislados de microspori-

dios de pacientes infectados (del Águila *et al.*, 2001a). Diagnostican y caracterizan los primeros casos en nuestro país, incluyendo el segundo caso de diseminación pulmonar de *Enterocytozoon bieneusi* a nivel mundial (del Águila *et al.*, 1997). Realizan estudios epidemiológicos en niños HIV-positivos en España (del Águila *et al.*, 1997) y en Nigeria en