

## Las proteínas salivales de los flebotominos en la transmisión de *Leishmania* y su impacto epidemiológico

### (Sandflies salivary proteins in the transmission of *Leishmania* and the epidemiological impact)

Elsa Nieves<sup>1</sup>✉, Mireya Sánchez<sup>1</sup>, Maritza Rondón<sup>1</sup>

<sup>1</sup> LAPEX- Laboratorio de Parasitología Experimental, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes, Mérida-Venezuela

[ARTICULO DE REVISIÓN]

Recibido: 06 de Julio de 2012. Aceptado: 15 de Noviembre de 2012.

#### Resumen

Los flebotominos son insectos hematófagos transmisores de *Leishmania*, agente causal de la leishmaniasis, enfermedad que presenta un amplio espectro clínico en los humanos. En el presente trabajo se realiza una revisión sobre la saliva de los flebotominos en la transmisión de *Leishmania* y su impacto epidemiológico. Se aborda primeramente el potencial de la saliva de los flebotominos como un coctel farmacológico que interviene en la biología del insecto, en el proceso de infección de *Leishmania*, como posible marcador epidemiológico y fuente proteica para una vacuna contra la leishmaniasis

**Palabras clave:** saliva, flebotomino, leishmaniasis, transmisión, *Leishmania*-vector

#### Abstract

The sandflies are haematophagous insects transmitting *Leishmania*, the causative agent of leishmaniasis, a disease that has a broad clinical spectrum in humans. This paper is a review on the saliva of sandflies in the transmission of *Leishmania* and the epidemiological impact. It first addresses the potential of the saliva of sandflies as a drug cocktail that is involved in the insect's biology, in the process of infection with *Leishmania*, their ability to be used as an epidemiological marker and protein source for a vaccine against leishmaniasis

**Keywords:** saliva, sandflies, leishmaniasis, transmission, *Leishmania*-vector

#### Introducción

La leishmaniasis es una enfermedad parasitaria que presenta diferentes manifestaciones clínicas, reflejo de la compleja relación entre el parásito, el hospedador y el insecto vector (1,2). La leishmaniasis es endémica en 88 países de cuatro continentes y constituye un serio problema de salud en los Andes venezolanos (3-5); es causada por protozoarios parásitos del género *Leishmania* (Kinetoplastida: Trypanosomadidae), cuya variabilidad genética ha sido bien documentada. *Leishmania* es transmitida por flebotominos insectos vectores

(Diptera: Psychodidae) pertenecientes al género *Phlebotomus* y *Lutzomyia* en el viejo y nuevo mundo respectivamente (6,7). La transmisión a los hospedadores mamíferos ocurre durante el proceso de alimentación sanguínea del flebotomino, durante este proceso el parásito *Leishmania* entra junto con la saliva del vector al hospedador en el momento de la picadura (8,9), (ver figura 1).

Muchos estudios se han realizado para entender los mecanismos que conducen a la protección o a la exacerbación de la enfermedad en el hospedador vertebrado, sin embargo, la complejidad de la respuesta inmunológica no se conoció hasta que se evidenció la influencia de la saliva de los

flebotominos en el sistema inmune del hospedador (10-13).



**Figura 1.** Diseño de flebotomino hembra sobre el hospedador mamífero.

En los últimos años, se ha reportado la importancia de los componentes de la saliva de los flebotominos como un factor determinante entre el sistema inmune del hospedador, en la infectividad del parásito y en el desarrollo de la enfermedad (14-16).

El mecanismo por el cual la saliva del vector potencia la infectividad de *Leishmania* en el hospedador vertebrado aún no se ha aclarado. La saliva de los flebotominos contiene potente actividad antihemostática, vasodilatadora, así como moléculas inmunomoduladoras que pueden directamente inducir cambios en las funciones efectoras de los macrófagos y facilitar el establecimiento de la infección con *Leishmania* en el hospedador vertebrado (17,18).

### Estrategia de evasión de *Leishmania* en el hospedador vertebrado

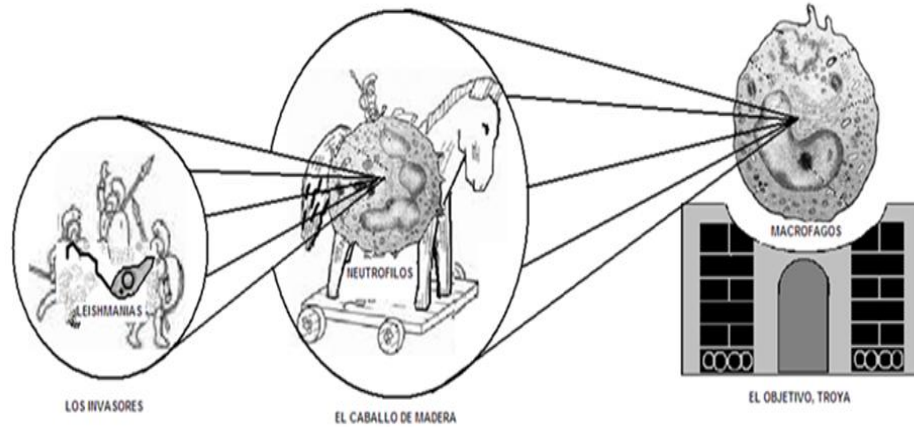
Múltiples componentes de las respuestas inmunes innata y adaptativa participan en la defensa del hospedero vertebrado contra *Leishmania*. La activación clásica de los macrófagos conlleva a la destrucción del parásito, algunas especies de *Leishmania* han desarrollado mecanismos de escape a la respuesta inmune. *Leishmania* es un parásito que ha evolucionado a vivir en el interior de las células del hospedador, la adaptación le ha permitido utilizar múltiples estrategias para evadir el sistema inmune. Estos mecanismos varían según la interacción, especie de *Leishmania*, vector y hospedador, traducándose en distintas formas clínicas de la enfermedad. Entre los diferentes mecanismos para evadir el sistema inmune, se presentan algunos que permiten entender el desarrollo del parásito.

*Leishmania* persiste gracias a un mecanismo de evasión, en primer término, la sobrevivencia del parásito a la respuesta innata del hospedador

vertebrado es lograda por la capacidad de los promastigotes metacíclicos infectivos a resistir a la lisis por complemento. Esta capacidad es atribuida a la molécula de LPG- Lipofosfoglicano de superficie presente en *Leishmania* y a la glicoproteína 63 (gp63) o Leishmanolisina o proteasa mayor de superficie de 63 kDa, con un amplio rango de sustratos, que afectan la función del complemento aumentando la resistencia del parásito a la lisis mediada por complemento. La entrada de *Leishmania* a los macrófagos del hospedador vertebrado es facilitada por el propio parásito a través de varios procesos que inducen a la opsonización y fagocitosis; el parásito entra a los macrófagos del mamífero por medio de endocitosis mediada por receptores del LPG, los cuales pueden interactuar y favorecer la fagocitosis sin provocar la activación del macrófago (15,20).

Por otro lado, la sobrevivencia intracelular del parásito ocurre mediante un mecanismo de evasión, modulación e inhibición lítica. El mecanismo de evasión es facilitado por un proceso de transformación del parásito de promastigotes metacíclicos a amastigotes intracelulares. A su vez, el parásito logra establecerse y dividirse en las células del hospedador por un mecanismo de inhibición lítica. *Leishmania* entra al macrófago sin producir IL-1 y previene la producción de IL-12, que bloquean la respuesta Th1 protectora (21). El desarrollo de *Leishmania* continúa gracias a varias moléculas y proteínas de superficie y/o de secreción del parásito, que son especie específica, con diferentes funciones que garantizan su perpetuación. Estas moléculas y proteínas, además de estar involucradas en la unión del promastigote al macrófago, están directamente implicadas en la protección de *Leishmania* a las enzimas lisosomales. Entre estas moléculas y proteínas se destacan la Proteínina C, glicoproteína gp63, el Lipofosfoglicano (LPG), Glicoinositolfosfolípidos (GIPLS), Proteofosfoglicanos (PPGS), Superóxido dismutasa, Peroxidoxina, Cisteína proteasas, histonas, ATPasas, quinasas entre otros (9,22-24).

Los estudios muestran que el gp63 modula múltiples reacciones de señalización, facilita la inactivación de la fracción C3b del sistema de complemento y la interacción con el macrófago del hospedador mamífero. *Leishmania*, también ha desarrollado varios mecanismos para evitar la presentación de antígenos por los macrófagos (25-27). El LPG además puede interactuar con la proteína C reactiva y favorecer la fagocitosis a través del receptor de dicha proteína. Esta entrada es una ventaja para el parásito porque, a pesar de que los macrófagos son



**Figura 2.** Diseño del mecanismo de camuflaje de *Leishmania* por medio de los neutrófilos, "Guerra Troyana".

potentes células presentadoras de antígenos, este mecanismo no provoca la activación del macrófago. Una vez en el interior del macrófago, los parásitos se transforman en amastigotes, inhiben además la producción de IL-12 por el macrófago y se dividen activamente. Eventualmente, abandonan el macrófago para entrar en otro nuevo (28)

La molécula de lipofosfoglicano (LPG) y la glicoproteína gp63 de *Leishmania* inducen a la producción de citocinas proinflamatorias, como IFN- $\gamma$  y reduce la IL-12, también inhibe las moléculas coestimuladoras como el CD80 Y CD86 (29,30). *Leishmania* puede utilizar catepsinas para activar al TGF- $\beta$ , aumenta su concentración para modular la respuesta local de iNOS y los niveles de arginasa. Además induce la presencia de células CD4+ supresoras que son necesarias para regular negativamente la inducción y expansión de células CD8+ protectoras (21,31). Por otra parte, la molécula de LPG, inhibe la fusión fagosoma-lisosoma e interviene en el secuestro de metabolitos tóxicos. El LPG también protege al parásito del estallido respiratorio, mediante el secuestro de aniones superóxido y radicales hidroxilo e inhibe la actividad de la proteína quinasa-C, ocasionado una atenuación de la activación del sistema inmune inducida por IFN- $\gamma$ . La interacción de LPG con los receptores de superficie TLR9 en células dendríticas y células citotóxicas, que

promueven la producción de IL-12, la cual está relacionada con la respuesta inmune tipo Th1 (15,18,32).

Por otro lado, *Leishmania* puede sobrevivir alterando las señales de transducción del macrófago y otras células, modulando a su favor, inhibe la capacidad del macrófago a producir IL-1 y la capacidad de expresar moléculas del CMH clase II y moléculas coestimuladoras, que a su vez, inhiben la llegada de células dendríticas. Induce el incremento de la IL-10 que hace que los monocitos que llegan al sitio de infección se transformen preferentemente en macrófagos y no en células dendríticas. Previene la activación de óxido nítrico e inhibe muchas citocinas necesarias para una efectiva lisis. *Leishmania* altera múltiples vías de señalización intracelular. Evade los procesos proteolíticos del macrófago por inhibición en la formación del fagolisosoma y enzimas proteolíticas del lisosoma (31,33,34) (ver figura 2).

*Leishmania* es capaz de romper las células e invadir nuevas células, dividirse y diseminarse de acuerdo a la especie de *Leishmania*. Además, *Leishmania* usa otra estrategia de guerra similar a la "Troyana", mediante la cual el parásito modula a los neutrófilos como un medio de camuflaje para protegerse del medio extracelular tóxico. Los neutrófilos fagocitan el parásito pero no son la célula hospedera definitiva del mismo, estas liberan

quimiocinas favoreciendo la llegada de un mayor número de células. Por otro lado, se ha reportado que el parásito puede modular la apoptosis de los neutrófilos, por interacción transmembranal del factor de necrosis tumoral de los macrófagos. De esta manera, los neutrófilos son utilizados por el parásito como un refugio contra la lisis mediada por complemento hasta el momento de la llegada de más provisión de monocitos/macrófagos, los cuales son las células hospederas definitivas, al sitio de la inoculación. De esta forma, la fagocitosis de los neutrófilos apoptóticos por parte de los macrófagos no genera una respuesta inflamatoria, así que *Leishmania* utiliza a los neutrófilos como un “caballo de Troya” para entrar a los macrófagos sin despertar una respuesta microbicida. Por su parte, los fibroblastos fagocitan cuerpos apoptóticos de neutrófilos que contengan *Leishmania*; si bien los fibroblastos no permiten al igual que los neutrófilos la replicación de *Leishmania*, son un medio de almacenaje temporal del parásito que permite la latencia de la enfermedad en los órganos (35-38). Las células dendríticas también fagocitan los parásitos para realizar la presentación antigénica. Ellas fagocitan primordialmente amastigotes a través de un receptor distinto al utilizado por los macrófagos. Las células dendríticas utilizan los receptores CD16 y CD64. Esta fagocitosis favorece la activación de las células dendríticas y aumenta la expresión de las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad clase I (MHC-I) y clase II (MHC-II) y de moléculas coestimuladoras. Las células dendríticas son las únicas células con capacidad de procesar el antígeno tanto por la vía del MHC-I como por la vía del MHC-II (39)

### Flebotominos y *Leishmania* juntos contra el sistema inmune del hospedador

Gracias al proceso de co-evolución entre *Leishmania* y los flebotominos vectores, mediante la co-adaptación por parte del parásito, a la biología y fisiología del flebotomino, se establece una interacción *Leishmania*-vector que favorece la infección y transmisión del parásito, convirtiéndose en algunos casos en una relación estrecha especie específica (40,41). En términos generales, el parásito con la ayuda del vector, logra superar la barrera primaria y entrar al hospedador vertebrado por medio de la picadura del flebotomino (ver figura 3). A su vez, el traumatismo secundario producido por la picadura del insecto vector induce en el hospedador una respuesta inflamatoria que causa la migración de diferentes células, en especial, macrófagos,

neutrófilos y linfocitos, los cuales son blancos intracelulares del parásito, favoreciéndose así su sobrevivencia y desarrollo (12,38,42).

Los promastigotes metacíclicos de *Leishmania* desarrollados en el sistema digestivo del vector entran al hospedador vertebrado a través de la proboscide del insecto en el sitio de la picadura. Los promastigotes metacíclicos infectivos están capacitados para bloquear y resistir los factores de lisis por complemento y facilitar la ubicación intracelular, para posteriormente ocurrir la transformación de promastigote metacíclico en amastigote intracelular, con capacidad para desarrollarse en el interior de las células del hospedador vertebrado. El promastigote metacíclico es más resistente a la lisis por complemento que el resto de los promastigotes, debido a su grueso glicocálix, los promastigotes metacíclicos contienen cinasas que fosforilan a C3, C5 y C9 provocando su inactivación. Además, el LPG y la gp63 favorecen la unión de C3bi a la superficie del parásito. De esta manera, el parásito favorece su propia opsonización y posterior fagocitosis mediada por los receptores de complemento. A su vez, la activación de complemento favorecen la liberación de las anafilotoxinas C3a y C5a que son potentes agentes quimiotácticos para neutrófilos y monocitos. También en algunas especies de *Leishmania* se han descrito que secreta un factor quimiotáctico para polimorfonucleares (15,28).

Por otra parte, la saliva del flebotomino



Figura 3. Microfotografía de *Lutzomyia migonei* realizando la hematofagia.”.

vector es inoculada junto con los parásitos al momento de la picadura del insecto. A su vez, la saliva está conformada por un conjunto de moléculas con diferentes propiedades farmacológicas (43-45). La saliva de los flebotominos está constituida por sales, iones, minerales, proteínas, enzimas y diferentes

moléculas, con diversas funciones que facilitan la lubricación de las piezas bucales del insecto, el proceso y digestión del alimento rico en carbohidratos y de sangre (1,10,46,47) (ver figura 4). La saliva también influye en la infectividad del parásito (11) y estimula una respuesta humoral y celular en el hospedador vertebrado (15,16).

La saliva de los flebotominos contiene potentes sustancias vasodilatadoras: maxadilán (*Lutzomyia*) o adenosina (*Phlebotomus*), antiagregantes plaquetarios, apirasa y sustancias estimuladoras de la producción de prostaglandina E2. Estos mecanismos utilizados por el insecto para favorecer su alimentación reducen la inflamación y facilitan la transmisión de *Leishmania*. La saliva posee un conjunto de proteínas, identificadas como apirasa e hialuronidasa, entre otras, las mismas tienen actividad anticoagulante, inmunosupresora y vasodilatadora, favoreciendo la sobrevivencia y desarrollo del los promastigotes metacíclicos infectivos en el hospedador vertebrado (48,49).

El maxadilán es el vasodilatador más potente encontrado en la naturaleza, identificado en la saliva de *L. longipalpis*, a su vez incrementa la producción de IL6, IL4, IL10 y PGE2 y disminuye la producción de IL12, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  y NO. La IL4 por su parte activa a los macrófagos, incrementa IL10 y la inosina, mientras



**Figura 4.** Microfotografía de las glándulas salivales de *Lutzomyia migonei*. 400X

inhibe IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  y NO, lo cual favorece el establecimiento de la infección y sobrevivencia del parásito (33,37,50).

La saliva también afecta la expresión de moléculas co-estimuladoras sobre la superficie de los monocitos humanos y los macrófagos. Además, se ha observado una disminución de moléculas, tales como el CD80, CD86 y CD11a durante la diferenciación y

maduración de las células dendríticas, después que estos han sido estimulados con saliva (16,19). De la misma manera, estimulando los monocitos humanos con lipopolisacáridos y usando homogeneizados de glándulas salivales de *Lutzomyia intermedia*, se reportó una disminución en la producción de IL-10 sin cambios significativos en IL-6, TNF- $\alpha$  e IL-12p40 (13,37). Las moléculas anticoagulante y vasodilatadora de la saliva facilitan la hemorragia en el sitio de la picada e inhiben la expresión de TNF- $\alpha$ . Por otro lado, se incrementa la expresión de IL-6 por parte de los macrófagos y estimula la producción de quimioquina (32,51).

Las proteínas salivales de los flebotominos están involucradas en la inhibición de la lisis por complemento, asociada con la habilidad de interferir varias funciones de las células presentadoras de antígeno, facilita la fagocitosis, inhibe a las células asesinas naturales (del inglés, Natural Killer o NK), estimula la sobrevivencia de los macrófagos, estimula la producción de fibrosis, la resistencia por péptidos antimicrobiales, la degradación de proteínas citotóxicas y de fibroblastos (19,46,52).

Se ha demostrado que las primeras células que llegan al sitio de la picada en los primeros 30 segundos posterior a la picada, son los neutrófilos y éstos llegan al sitio de la infección mediante diapédesis (35,37,51). En las dos primeras horas, los neutrófilos son la mayor línea celular en el sitio de la infección. Este reclutamiento específico se da gracias a ciertas proteínas presentes en la saliva del vector que estimulan la producción de la quimioquina CXCL1, la cual es crítica para el reclutamiento de neutrófilos por diapédesis, facilitando así, la estrategia "Troyana" de *Leishmania*, permitiéndole camuflajearse en los neutrófilos (39,53).

#### La saliva de los flebotominos como marcador epidemiológico y vacuna

La saliva de los flebotominos posee un repertorio de proteínas que facilitan la transmisión del parásito al hospedador vertebrado, proporcionando un excelente microambiente para *Leishmania* (11,54-55). También, se ha demostrado el desarrollo de anticuerpos anti saliva en animales experimentales, silvestres y en humanos expuestos a las picadas de los flebotominos (15,32,44,56-59). Proponiéndose el uso de la saliva de los flebotominos como un posible marcador epidemiológico o de riesgo (12,59,60). Un estudio experimental con las dos principales especies de flebotominos vectores en la región de los andes venezolano, como son *Lutzomyia migonei* y *L. ovallesi*,



demonstraron la presencia de anticuerpos anti-saliva en ratones BALB/c previamente inmunizados con las picaduras de ambas especies de flebotominos, además, se identificaron proteínas anti-saliva especies específicas. También se detectaron proteínas con reacción cruzada entre las dos especies, soportando la idea de que los polipéptidos anti-saliva podrían ser usados como posibles marcadores epidemiológicos. Sin embargo, cuando se enfrenta la saliva de ambas especies con sueros de humanos provenientes de personas con leishmaniasis y sin leishmaniasis, no se logró evidenciar diferencias (61-63). En un estudio similar, con sueros de humanos provenientes de zonas endémicas y no endémicas en Brasil, por el método de ELISA, muestran que pueden existir o no diferencias entre los niveles de anticuerpos anti-saliva de flebotominos en sueros de humanos (58,64). Aunque estos resultados podrían mejorarse utilizando antígeno salival recombinante, como ocurre en áreas endémicas del viejo continente con vectores de leishmaniasis visceral (64), es poco probable el éxito de las proteínas salivales como marcador epidemiológico en las zonas tropicales con leishmaniasis tegumentaria, debido a la riqueza en la flebotomofauna en las zonas endémicas y a las posibles reacciones cruzadas con otros insectos hematófagos abundantes en los trópicos como son los mosquitos, que pueden interferir en la respuesta (44,65,66). Además, el hospedador vertebrado presenta diferentes tipos de respuesta inmune, humoral o celular, de acuerdo al tiempo de exposición e intensidad de exposición a las picadas y especies de flebotominos presentes en una área particular (49,67).

Por otra parte, todavía no se ha logrado elaborar una vacuna efectiva para brindar protección específica y duradera contra la leishmaniasis. Se han utilizado diversos abordajes para tal fin, entre ellos, se considera el uso de las proteínas salivales como blanco de una vacuna. Se ha demostrado que la respuesta asociada con la producción de anticuerpos anti-saliva, también estimulan una respuesta celular principalmente del complejo mayor de histocompatibilidad que se ha evidenciado es desfavorable contra *Leishmania* (13,35,54). Esta

respuesta está caracterizada por la producción de IFN- $\gamma$ , que es crítica para la estimulación de una respuesta tipo Th1 determinante para una respuesta contra el parásito en el sitio de la picadura (10,37,57,67). En ratones, pre expuestos a proteínas salivales muestran un efecto protector contra la infección; este efecto protector esta correlacionado a una fuerte respuesta de hipersensibilidad retardada e incremento de IFN- $\gamma$  y IL-12 en el sitio de inoculación (12,53). En *Lutzomyia longipalpis* se han identificado 2 de 35 proteínas anti-saliva que producen una fuerte respuesta celular contra *Leishmania*. Recientes estudios in vitro e in vivo con proteínas recombinantes han mostrado la eficiencia de éstas como posible blanco de vacuna contra *Leishmania chagasi* (*syn. Leishmania infantum*), causante de la leishmaniasis visceral en las américas, cuya transmisión es limitada a *Lutzomyia longipalpis* o *Lutzomyia evansi* (16,31,32). En humanos la inmunidad celular contra la saliva ha sido poco estudiada y es dominada por la activación de linfocitos que producen IL-10 e IFN- $\gamma$ , de ahí la importancia de identificar la proteína salival que activa estos linfocitos para el desarrollo de una vacuna a partir de saliva de los flebotominos (16). Aunque todos estos estudios sugieren la posibilidad de prevenir la leishmaniasis, a partir de las proteínas salivales de los flebotominos como posible blanco de una vacuna, todavía faltan estudios para comprender el papel de la saliva de los flebotominos en el mecanismo de transmisión de *Leishmania*, principalmente de la leishmaniasis tegumentaria (65). Aunque se han realizados estudios con tecnologías imagenológicas que abren la posibilidad de monitorear el proceso de interacción *Leishmania*- célula, en tiempo real desde el primer momento de la entrada del parásito durante la picadura del flebotomino vector (52,68), es necesario la integración de técnicas moleculares de avanzada, que permitan entender el mecanismo inmunopatogénico que induce la saliva, y que su vez, permitan el uso de la saliva como posible marcador epidemiológico o como fuente proteica blanco para una vacuna contra la leishmaniasis.

## Referencias

- Oliveira F, Lawyer PG, Kamhawi S, Valenzuela JG. Immunity to distinct sand fly salivary proteins primes the anti-*Leishmania* immune response towards protection or exacerbation of disease. PLoS Negl Trop Dis. 2008;2:e226 [PubMed] [Google Scholar]
- Sakthianandeswaren A, Foote SJ, Handman E. The role of host genetics in leishmaniasis. Trends Parasitol. 2009; 25: 383-91. [PubMed] [Google Scholar]
- Herwaldt, BL. Leishmaniasis. Lancet. 1999; 354: 1191-9. [PubMed]
- Rodríguez N, Carrero J, De Lima H, Sandoval I, Fernández A, Barrios M. Impacto de fenómenos naturales (deslaves y vaguadas) sobre la epidemiología de la leishmaniasis cutánea en zonas del estado Mérida, Venezuela. Revista de la Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Carabobo. 2007. 11: 43-47. [Google Scholar]

5. Nieves E, Villareal N, Rondón M, Sánchez M, Carrero J. Evaluación de conocimientos y Prácticas sobre Leishmaniasis tegumentaria en un área endémica de Venezuela. *Biomédica.* 2008; 28: 347-56. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
6. OMS, (World Health Organization). Leishmaniasis. 2010. Disponible en: <http://www.who.int/leishmaniasis>
7. PAHO, Leishmaniasis en Venezuela (destacado). Ofic. Reg OMS. 2010. (Disponible en: [http://www.paho.org/Spanish/DD/AIS/cp\\_862.htm](http://www.paho.org/Spanish/DD/AIS/cp_862.htm))
8. Bates PA. Transmission of *Leishmania* metacyclic promastigotes by phlebotomine sand flies. *Int J Parasitol.* 2007; 37: 1097-106. [[PubMed](#)]
9. Bates PA. *Leishmania* sand fly interaction: progress and challenges. *Curr Opin Microbiol.* 2008; 11: 340-4. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
10. Titus RG, Ribeiro JM. Salivary gland lysates from the sand fly *Lutzomyia longipalpis* enhance *Leishmania* infectivity. *Science* 1988;239:1306-8. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
11. Ribeiro JM. Blood-feeding arthropods: live syringes or invertebrate pharmacologists? *Infect Agents Dis.* 1995; 4: 143-52. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
12. Belkaid Y, Kamhawi S, Modi G, Valenzuela J, Noben-Trauth N, Rowton E, Ribeiro J, Sacks DL. Development of a natural model of cutaneous leishmaniasis: powerful effects of vector saliva and saliva preexposure on the long – term outcome of *Leishmania major* infection in the mouse ear dermis. *J Exp Med.* 1998; 188: 1941-53. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
13. Marzouki S, Ben Ahmed M, Boussoffara T, Abdeladhim M, Ben Aleya-Bouafif N, Namane A, Hamida NB, Ben Salah A, Louzir H. Characterization of the antibody response to the saliva of *Phlebotomus papatasi* in people living in endemic areas of cutaneous leishmaniasis. *Am J Trop Med Hyg.* 2011; 84: 653-61. [[PubMed](#)]
14. Charlab R, Ribeiro JM. Cytostatic effect of *Lutzomyia longipalpis* salivary gland homogenates on *Leishmania* parasites. *Am J Trop Med Hyg.* 1993; 48: 831-8. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
15. Andrade BB, Teixeira RC, Barral A, Barral-Netto M. Haematophagous arthropod saliva and host defense system: a tale of tear and blood. *An Acad Bras Cien.* 2005; 77: 665-93. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
16. Abdeladhim M, Ben Ahmed M, Marzouki S, Belhadj HN, Boussoffara T, Belhadj HN, Ben SA, Louzir H. Human cellular immune response to the saliva of *Phlebotomus papatasi* is mediated by IL-10-producing CD8+ T cells and Th1-polarized CD4+ lymphocytes. *PLoS Negl Trop Dis.* 2011; 5: 1-11. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
17. Hall LR, Titus RG. Sand fly vector saliva selectively modulates macrophage functions that inhibit killing of *Leishmania major* and nitric oxide production. *J Immunol.* 1995;155:3501-350 [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
18. Waitumbi J, Warburg A. *Phlebotomus papatasi* saliva inhibits protein phosphatase activity and nitric oxide production by murine macrophages. *Infect Immun.* 1998; 66: 1534-7. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
19. Lodge R, Descoteaux A. Modulation of Phagolysosome Biogenesis by the lipophosphoglycan of *Leishmania*. *Clin Immunol.* 2005; 114: 256-65. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
20. Becker I, Salaiza N, Aguirre M, Delgado J, Carrillo-Carrasco N, Kobeh LG, Ruiz A, Cervantes R, Torres AP, Cabrera N, González A, Maldonado C, Isibasi A. *Leishmania* lipophosphoglycan (LPG) activates NK cells through toll-like receptor-2. *Mol Biochem Parasitol.* 2003; 130: 65-74. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
21. Costa DJ, Favali C, Clarêncio J, Afonso L, Conceição V, Miranda JC, Titus RG, Valenzuela J, Barral-Netto M, Barral A, Brodskyn CI. *Lutzomyia longipalpis* Salivary Gland Homogenate Impairs Cytokine Production and Costimulatory Molecule Expression on Human Monocytes and Dendritic Cells. *Infect Immun.* 2004; 72: 1298-305. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
22. Chaudhuri G, Chaudhuri M, Pan A, Chang KP. Surface acid proteinase (gp63) of *Leishmania mexicana*. A metalloenzyme capable of protecting liposome-encapsulated proteins from phagolysosomal degradation by macrophages. *J Biol Chem.* 1989; 264: 7484-9. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
23. Ilg T. Proteophosphoglycans of *Leishmania*. *Parasitol. Today.* 2000; 16: 489-97. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
24. Liu X, Chang KP. Extrachromosomal genetic complementation of surface metalloprotease (gp63)-deficient *Leishmania* increases their binding to macrophages. *Proc Natl Acad Sci.USA.* 1992; 89: 4991-5. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
25. Brittingham A, Chen G, McGwire BS, Chang KP, Mosser DM. Interaction of *Leishmania* gp63 with cellular receptors for fibronectin. *Infect Immun.* 1999. 67: 4477-84. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
26. McGwire BS, Chang KP, Engman DM. Migration through the extracellular matrix by the parasitic protozoan *Leishmania* is enhanced by surface metalloprotease gp63. *Infect Immun.* 2003; 71: 1008-10. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
27. Collin N, Gomes R, Teixeira C, Cheng L, Laughinghouse A, Ward JM, Elnaiem DE, Fischer L, Valenzuela JG, Kamhawi S. Sand fly salivary proteins induce strong cellular immunity in a natural reservoir of visceral leishmaniasis with adverse consequences for *Leishmania*. *PLoS Pathog.* 2009;5:e1000441 [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
28. Olivier M, Gregory DJ, Forget G. Subversion mechanisms by which *Leishmania* parasites can escape the host immune response: a signaling point of view. *Clin Microbiol Rev.* 2005;18:293-305. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
29. Chakrabarty R, Mukherjee S, Lu HG, McGwire BS, Chang KP, Basu MK. Kinetics of entry of virulent and avirulent strains of *Leishmania donovani* into macrophages: a possible role of virulence molecules (gp63 and LPG). *J Parasitol.* 1996;82: 632-5. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
30. Lodge R, Descoteaux A. Modulation of phagolysosome biogenesis by the lipophosphoglycan of *Leishmania*. *Clin Immunol.* 2005;114: 256-65. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
31. Rohoušová I, Hostomská J, Vlková M, Kobets T, Lipoldová M, Volf P. The protective effect against *Leishmania* infection conferred by sand fly bites is limited to short-term exposure. *Int J Parasitol.* 2011 Apr;41:481-5. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
32. Norsworthy NB, Sun J, Elnaiem D, Lanzaro G, Soong L. Sand fly saliva enhances *Leishmania amazonensis* infection by modulating interleukin-10 production. *Infect Immun.* 2004;72: 1240-7. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
33. Ghosh M, Bandyopadhyay S. Interaction of *Leishmania* parasites with dendritic cells and its functional consequences. *Inmunobiol.* 2004; 209: 173-7. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
34. Silva F, Gomes R, Prates D, Miranda J, Andrade B, Barral-Neto M, Barral A. Inflammatory Cell Infiltration and High antibody production in Balb/c mice caused by natural exposure to *Lutzomyia longipalpis* bites. *Am J Trop Med.* 2005; 72: 94-8. [[PubMed](#)]
35. Vinhas V, Andrade BB, Paes F, Bomura A, Clarencio J, Miranda JC, Bafica A, Barral A, Barral-Neto. Human anti-saliva immune response following

- experimental exposure to the visceral leishmaniasis vector, *Lutzomyia longipalpis*. Eur J Immunol. 2007;37: 3111–21. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
36. de Moura TR, Oliveira F, Rodrigues GC, Carneiro MW, Fukutani KF, Novais FO, Miranda JC, Barral-Netto M, Brodskyn C, Barral A, de Oliveira CI. Immunity to *Lutzomyia intermedia* Saliva Modulates the Inflammatory Environment Induced by *Leishmania braziliensis*. PLoS Negl Trop Dis. 2010; 4:1-9. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
  37. Prates DB, Araujo-Santos T, Brodskyn C, Barral-Netto M, Barral A, Borges VM. New insights on the inflammatory role of *Lutzomyia longipalpis* saliva in Leishmaniasis. J Parasitol Res. 2012, 643029:1-12. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
  38. Cunningham AC. Parasitic Adaptive Mechanisms in Infection by *Leishmania*. Exp Mol Pathol. 2002; 72: 132-41. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
  39. Rios YJM, Sousa O. Inmunología en la infección por *Leishmania*: conceptos actuales. Rev Méd Cient. 2010, 23:19-31. [\[Google Scholar\]](#)
  40. Akopyants NS, Kimblin N, Secundino N, Patrick R, Peters N, Lawyer P, Dobson DE, Beverley SM, Sacks DL.. Demonstration of genetic Exchange during cyclical development of *Leishmania* in the sand fly vector. Science. 2009; 324: 265-8. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
  41. Nieves E, Rondon M. Sobrevivencia del parásito *Leishmania* en el insecto vector: interacciones moleculares. Rev Soc Venezolana Microbiol. 2007; 27:66-72.
  42. Champagne DE, Valenzuela JG. Pharmacology of Haematophagous arthropod saliva. In: Wikel, S.K (Ed.), the Immunol. Host-ectoparasitic Arthrop. Relations. CAB Internat. Walling. Ox. U.K. 1996: 107-130. [\[Google Scholar\]](#)
  43. Charlab R, Valenzuela J, Rowton ED, Ribeiro JM. Toward an understanding of the Biochemical and Pharmacological Complexity of the saliva of a Haematophagous Sand Fly *Lutzomyia longipalpis*. Euro Biol Lab. 1999; 96: 15155-60. [\[PubMed\]](#)
  44. Nieves E, Buelvas N, Rondón M, Gonzalez N. The salivary glands of two sand flies vectors of *Leishmania*: *Lutzomyia migonei* and *Lutzomyia ovallesi* (Diptera:Psychodidae). Biomedica. 2010; 30: 401-9. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
  45. Warburg A, Saraiva E, Lanzaro GC, Titus RG, Neva F. Saliva of *Lutzomyia longipalpis* Sibling Species Differs in its Composition and Capacity to Enhanced Leishmaniasis. Phil Trans Biol Sci. 1994. 345: 223-30. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
  46. Kamhawi S. Phlebotomine sand flies and *Leishmania* parasites: friends or foes? Trends Parasitol. 2006;22:439–45. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
  47. Wahba M, Riera C. Salivary gland composition of some Old World vector sand fly. J. Egypt Soc.. Parasitol. 2006; 36: 289–96. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
  48. Oliveira F, Jochim RC, Valenzuela JG, Kamhawi S.. Sand flies, *Leishmania*, and transcriptome-borne solutions. Parasitol Int. 2009; 58: 1–5. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
  49. Morris RV, Shoemaker CB, David JR, Lanzaro GC, Titus RG. Sandfly maxadilan exacerbates infection with *Leishmania* major and vaccinating against it protects against L. major infection. J Immunol. 2001;167:5226–30. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
  50. Menezes MJ, Costa DJ, Clarêncio J, Miranda JC, Barral A, Barral-Netto M, Brodskyn C, de Oliveira CI. Immunomodulation of human monocytes following exposure to *Lutzomyia intermedia* saliva. BMC Immunol. 2008; 9:1-12. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
  51. Donnelly KB, Lima HC, Titus RG. Histologic characterization of experimental cutaneous Leishmaniasis in mice infected with *Leishmania braziliensis* in the presence or absence of sand fly vector salivary gland lysate. J Parasitol. 1998; 84: 97-103. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
  52. Peters NC, Egen JG, Secundino N, Debrabant A, Kimblin N, Kamhawi S, Lawyer P, Fay MP, Germain RN, Sacks D. In vivo imaging reveals an essential role for neutrophils in Leishmaniasis transmitted by sand flies Science. 2008 15; 321: 970–4. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
  53. Belkaid Y, Valenzuela JG, Kamhawi S, Rowton E, Sacks DL, Ribeiro JM. Delayed-type hypersensitivity to *Phlebotomus papatasi* sand fly bite: an adaptive response induced by the fly? Proc Natl Acad Sci USA. 2000;97: 6704–9. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
  54. Wahba M, Riera C, Abdel-Hamid YM, Kamal H. Immunomodulatory properties of sand fly saliva and its role on vertebrate host. J Egypt Soc Parasitol. 2005; 35(3 Suppl):1135-47. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
  55. Laurenti MD, Silveira VM, Secundino NF, Corbett CE, Pimenta PP. Saliva of laboratoryreared *Lutzomyia longipalpis* exacerbates *Leishmania (Leishmania)* amazonensis infection more potently than saliva of wild-caught *Lutzomyia longipalpis*. Parasitol Int. 2009; 58: 220-6. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
  56. Valenzuela JG, Belkaid Y, Garfield MK, Mendez S, Kamhawi S, Rowton ED, Sacks DL, Ribeiro JM. Toward a defined anti-*Leishmania* vaccine targeting vector antigens: characterization of a protective salivary protein. J Exp Med. 2001; 194: 331–42. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
  57. Rohousova I, Ozensoy S, Ozbel Y, Volf P. Detection of species-specific antibody response of humans and mice bitten by sandflies. Parasitol. 2005; 130: 493-9. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
  58. Teixeira C, Gomes R, Collin N, Reynoso D, Jochim R, Oliveira F, Seitz A, Elnaiem DE, Caldas A, de Souza AP, Brodskyn CI, de Oliveira CI, Mendonca I, Costa CH, Volf P, Barral A, Kamhawi S, Valenzuela JG. Discovery of markers of exposure specific to bites of *Lutzomyia longipalpis*, the vector of *Leishmania infantum chagasi* in Latin America. PLoS Negl Trop Dis. 2010; 4: e638. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
  59. Barral A, Honda E, Caldas A, Costa J, Vinhas V, Rowton ED, Valenzuela JG, Charlab R, Barral-Netto M, Ribeiro JM. Human immune response to sand fly salivary gland antigens: a useful epidemiological marker? Am J Trop Med Hyg. 2000; 62: 740–5. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
  60. Gomes RB, Brodskyn C, de Oliveira CI, Costa J, Miranda JC, Caldas A, Valenzuela JG, Barral-Netto M, Barral A. Seroconversion against *Lutzomyia longipalpis* saliva concurrent with the development of anti-*Leishmania chagasi* delayed-type hypersensitivity. J Infect Dis. 2002; 186: 1530–4. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
  61. Buelvas, N. Estudio Comparativo de las Glándulas Salivales de *Lutzomyia ovallesi* y *Lutzomyia migonei*, Flebotominos vectores de *Leishmania*. Tesis, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias. Universidad de Los Andes-Venezuela. 2007.
  62. Sánchez Y. Estudio de la saliva de *Lutzomyia ovallesi* (Ortiz, 1952) (Diptera: Psychodidae) como marcador de riesgo de transmisión de *Leishmania*. Tesis, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias Universidad de Los Andes-Venezuela, 2010: 56 pp.
  63. Guillen G. Proteínas salivales de *Lutzomyia migonei* (Diptera: Psychodidae): evaluación de la presencia de anticuerpos anti-saliva en sueros humanos y el impacto de la saliva en la metaciclogenesis de *Leishmania*. Tesis. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias-Universidad de Los Andes, 2011.
  64. Clements MF, Gidwani K, Kumar R, Hostomska J, Dinesh DS, Kumar V, Das P,



- Müller I, Hamilton G, Volfova V, Boelaert M, Das M, Rijal S, Picado A, Volf P, Sundar S, Davies CR, Rogers ME. Measurement of recent exposure to *Phlebotomus argentipes*, the vector of Indian visceral Leishmaniasis, by using human antibody responses to sand fly saliva. *Am J Trop Med Hyg.* 2010; 82: 801-7. [\[PubMed\]](#)
65. Nieves E, Sánchez Y, Sánchez H, Rondón M, González N., Carrero J. Sand fly saliva of *Lutzomyia ovallesi* (Diptera: Psychodidae) as a possible marker for the transmission of *Leishmania* in Venezuela Andes región. *J Vector Borne Dis.* 2012; 49:8-14. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
66. Kamhawi S, Belkaid Y, Modi G, Rowton E, Sacks D. Protection against cutaneous leishmaniasis resulting from bites of uninfected sand flies. cell-mediated immune response and a delayed-type hypersensitivity to the salivary antigens. *Science.* 2000; 290: 1351-4. [\[PubMed\]](#)
67. Gomes R, Teixeira C, Teixeira MJ, Oliveira F, Menezes MJ, Silva C, de Oliveira CI, Miranda JC, Elnaïem DE, Kamhawi S, Valenzuela JG, Brodskyn CI. Immunity to a salivary protein of a sand fly vector protects against the fatal outcome of visceral leishmaniasis in a hamster model. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008; 105: 7845-50. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
68. Hoffman RM. Cellular and subcellular imaging in live mice using fluorescent proteins. *Curr Pharm Biotechnol.* 2012; 13:537-44. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)

**Como citar este artículo:** Nieves E, Sánchez M, Rondón M. Las proteínas salivales de los flebotominos en la transmisión de *Leishmania* y su impacto epidemiológico. *Avan Biomed* 2013; 2: 23-31