

UNIVERSIDAD INTERNACIONAL SEK

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

Trabajo de Fin de Máster Titulado:

**Caracterización de principios activos del aceite de *Peperomia inaequalifolia*: evaluación antimicrobiana contra *Leishmania spp.* y citotoxicidad mediante herramientas computacionales e inteligencia artificial.**

Realizado por:

**DENNISSE DANIELA RIVERA ZARUMA**

Director del proyecto:

**Dr. Jaime David Acosta España**

Como requisito para la obtención del título de:

**MAGISTER EN BIOMEDICINA**

Quito, 07 de agosto del 2024

## UNIVERSIDAD INTERNACIONAL SEK

### DECLARACIÓN JURAMENTADA

Yo, DENNISSE DANIELA RIVERA ZARUMA, con cédula de identidad 0604273243, declaro bajo juramento que el trabajo aquí desarrollado es de mi autoría, que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

A través de la presente declaración, cedo mis derechos de propiedad intelectual correspondientes a este trabajo, a la UNIVERSIDAD INTERNACIONAL SEK, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su reglamento y por la normativa institucional vigente.



**FIRMA Y CÉDULA**

**0604273243**

**UNIVERSIDAD INTERNACIONAL SEK**

**DECLARATORIA**

El presente trabajo de investigación titulado:

**Caracterización de principios activos del aceite de *Peperomia inaequalifolia*: evaluación antimicrobiana contra *Leishmania spp.* y citotoxicidad mediante herramientas computacionales e inteligencia artificial.**

Realizado por:

**DENNISSE DANIELA RIVERA ZARUMA**

como Requisito para la Obtención del Título de:

**MAGISTER EN BIOMEDICINA**

ha sido dirigido por la

**Jaime David Acosta España M.D., M.Sc.**

quien considera que constituye un trabajo original de su autor

**FIRMA DIRECTOR**

**UNIVERSIDAD INTERNACIONAL SEK**

Los Profesores Informantes:

**Ing. RUBEN ALEXANDER MALDONADO ORBE, Mgs**

**Ing. MANUEL ANDRES HERRERA YELA, Mgs**

Después de revisar el trabajo presentado,  
lo han calificado como apto para su defensa oral  
ante el tribunal examinador

**FIRMA**  
**Ing. Andrés Herrera, Mgs.**

**FIRMA**  
**Ing. Alexander Maldonado, Mgs**

### DATOS GENERALES

#### TIPO DE PROYECTO

Investigación científica / tesis artículo  Proyecto de Desarrollo

#### TÍTULO DEL PROYECTO

**Caracterización de principios activos del aceite de *Peperomia inaequalifolia*: evaluación antimicrobiana contra *Leishmania spp.* y citotoxicidad mediante herramientas computacionales e inteligencia artificial.**

#### PROGRAMA DE INVESTIGACIÓN ASOCIADO A LA PROPUESTA

Salud Global

Si aplica, seleccione de la lista un sector e industria estratégica.

¿La ejecución de programa y/o proyecto requiere de permisos de investigación, colecta, CEISH?

SÍ  NO

*En caso de requerirse permisos, especifique cuáles: Se requiere de la aprobación de un CEISH aprobado por el MSP al trabajar con datos confidenciales de pacientes mediante bases de datos anonimizadas.*

#### TIEMPO DE EJECUCIÓN DEL PROGRAMA Y/O PROYECTO

Duración en semanas/meses

La duración aproximada de este estudio serán 28 semanas (Siete meses).

#### FINANCIAMIENTO DEL PROGRAMA Y/O PROYECTO

Monto total del financiamiento (Aproximado)	<p>6,000 dólares norteamericanos destinados de la siguiente manera:</p> <p><b>Software y Licencias:</b> \$2,000 dólares norteamericanos Licencias de software de quimioinformática y docking molecular.</p> <p><b>Recursos Computacionales:</b> \$3,000 dólares norteamericanos Acceso a servidores y hardware para simulaciones y análisis.</p> <p><b>Capacitación y Talleres:</b> \$1,000 dólares norteamericanos Cursos y talleres en técnicas de quimioinformática y machine learning.</p> <p><b>Nota:</b> También se puede hacer uso de plataformas de aprendizaje en Línea.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Coursera</li> <li>• edX</li> <li>• Udemy</li> </ul>
---	--

	<p>Plataformas que ofrecen cursos sobre bioinformática, química computacional y el uso de herramientas como KNIME y Despacen; además de otras herramientas de machine learning y análisis de datos. Estos cursos suelen ser asequibles y orientados a la práctica.</p> <p><b>Publicación Científica:</b></p> <p><b>Revista:</b> PLOS Neglected Tropical Diseases</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Enfoque:</b> Esta revista se especializa en enfermedades tropicales desatendidas, como la leishmaniasis.</li> <li>• <b>Acceso:</b> Acceso abierto.</li> <li>• <b>Costo de Publicación (APC):</b> Aproximadamente \$2,500 USD.</li> <li>• <b>Ventaja:</b> La revista tiene un alto impacto en la comunidad científica y es ampliamente leída por investigadores y profesionales de la salud pública.</li> </ul>
Monto Financiamiento Contraparte si existe	N/A
Fuentes de financiamiento	El financiamiento será asumido por los investigadores que participan en este estudio.

**A. DATOS DE LA INSTITUCIÓN EJECUTORA**

Universidad Internacional SEK					
Representante Legal	Raimon Salazar Bonet			Cédula de Identidad	XDD748255
Teléfonos	(593)2 3934800	Fax	Extensión 1103	Correo Electrónico	<a href="mailto:raimon.salazar@uisek.edu.ec">raimon.salazar@uisek.edu.ec</a>
Dirección	Campus Miguel de Cervantes: Calle Alberto Einstein S/N y 5ta. Transversal (Carcelén).				
Página Web Institucional	<a href="https://uisek.edu.ec/campus/miguel-de-cervantes/">https://uisek.edu.ec/campus/miguel-de-cervantes/</a>				
Órgano Ejecutor	Facultad de Ciencias de la Salud				

**B. INSTITUCIÓN/ES PARTICIPANTE/S SI APLICA**

*En los casos necesarios, incluir como anexo una tabla por cada institución participante.*

<i>Nombre de la Institución co-ejecutora</i>					
Representante Legal	<i>Nombres y Apellidos</i>			Cédula de Identidad	<i>Ej. 0400299110</i>
Teléfonos	<i>Ej. 08-2791102</i>	Fax	<i>Ej. 08-2769812</i>	Correo Electrónico	<i>representante@correo.inst.edu.ec</i>
Dirección	<i>Ciudad, Calle principal, numeración, calle secundaria, Ciudad.</i>				
Página Web Institucional	<i>Ej. www.inst.edu.ec</i>				
Órgano Ejecutor	<i>Departamento o Unidad de Investigación</i>				

**c. PERSONAL DEL PROYECTO DE TESIS**

<b>Función</b>	<b>Nombre completo</b>	<b>Cédula de identidad o pasaporte</b>	<b>Entidad a la que pertenece</b>	<b>Grado académico (Para Maestría)</b>	<b>Contacto: correo electrónico</b>
<b>Director/Tutor del proyecto</b>	Jaime David Acosta Espña	1002497525	Universidad Internacional "SEK", FCM	Médico Máster en microbiología médica	<a href="mailto:jaime.acosta@uisek.edu.ec">jaime.acosta@uisek.edu.ec</a>
<b>Co-Director</b>	<i>Ingrese información</i>	<i>Ingrese # de identificación</i>	<i>Ingrese información</i>	<i>Ingrese información</i>	<i>Ingrese información</i>
<b>TESISTA</b>	Dennisse Daniela Rivera Zaruma	0604273243	Universidad Internacional "SEK", Maestría en Biomedicina	Licenciada En Ciencias De La Salud Mención Laboratorio Clínico E Histopatológico.	<a href="mailto:dennisse.rivera@uisek.edu.ec">dennisse.rivera@uisek.edu.ec</a>

#### D. RESUMEN DE LA PROPUESTA Y PALABRAS CLAVE

---

La leishmaniasis es una enfermedad zoonótica transmitida por la picadura de flebótomos hembras de diversas especies de *Leishmania spp.*, con una distribución global significativa. Según datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS), esta patología impacta a comunidades en más de 98 países, registrando anualmente entre 700,000 y 1,000,000 de nuevos casos, y causando aproximadamente 20,000 a 30,000 muertes. Clasificada como una enfermedad desatendida, la leishmaniasis afecta predominantemente a poblaciones económicamente desfavorecidas, limitando así el atractivo comercial para el desarrollo de nuevos tratamientos farmacológicos. Hasta la semana 39 del año 2023, según datos proporcionados por el Ministerio de Salud Pública en colaboración con la Dirección Nacional de Vigilancia Epidemiológica, se han registrado 771 casos confirmados de leishmaniasis. Este panorama subraya la necesidad crítica de desarrollar estrategias terapéuticas innovadoras, más efectivas y accesibles, ya que a pesar de la disponibilidad de tratamientos de primera línea, la continua aparición de nuevos casos indica que estas terapias presentan limitaciones en su eficacia o accesibilidad, lo que refuerza la importancia de investigar y validar enfoques alternativos para el manejo de esta enfermedad endémica. En el Ecuador se ha logrado identificar 146 especies de plantas que han tenido un probable efecto positivo en pacientes con lesiones propias de esta enfermedad al poseer propiedades curativas tanto bactericidas, insecticidas, antiparasitarias y desinflamatorias. Estudios *in vitro* e *in silico* han logrado demostrar que *P. inaequalifolia* posee actividad antileishmanicida especialmente contra las formas promastigotes de la *Leishmania mexicana*, que son una etapa del ciclo de vida del parásito presente en el vector, hipotetizando efectos en la integridad de la membrana celular del parásito, inhibiendo enzimas cruciales o incluso interrumpiendo la síntesis de ADN y proteínas; sin embargo no se conoce con exactitud los principios activos con acción leishmanicida de dicho aceite que den certeza de su seguridad, eficacia y calidad en el tratamiento de la enfermedad. Por lo que, la siguiente investigación tiene por objetivo evaluar la capacidad antimicrobiana y la citotoxicidad de *Peperomia inaequalifolia* frente a *Leishmania spp.*, mediante herramientas computacionales y técnicas de inteligencia artificial. Al finalizar el estudio, se obtendrán resultados sobre la identificación de los principales compuestos activos del aceite esencial, sus propiedades fisicoquímicas y farmacológicas, así como su potencial antimicrobiano y citotoxicidad, información valiosa para el desarrollo de nuevos tratamientos terapéuticos efectivos y seguros contra la leishmaniasis.

**Palabras clave:** *Enfermedad zoonótica, Leishmaniasis, Leishmania mexicana, P. inaequalifolia, Citotoxicidad, Efectividad antimicrobiana.*

## G. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

---

La leishmaniasis figura entre las diez afecciones tropicales más desatendidas a nivel mundial. Esta patología demuestra un extenso espectro de manifestaciones clínicas, abarcando las formas cutáneas, mucocutáneas y viscerales. Representa un considerable desafío para la salud pública global debido a su elevada incidencia y tasa de mortalidad (Vries & Schallig, 2022). La enfermedad es endémica en numerosas regiones, particularmente en naciones con economías de bajos y medianos ingresos como por ejemplo parte de Asia, el norte de África y el sur de América. Afecta a más de 12 millones de personas anualmente y se estima que ocasiona hasta 70,000 decesos por año (Bharadava et al., 2023).

Actualmente, se han identificado 18 especies de *Leishmania* en América que son patógenas para los seres humanos, provocando aproximadamente 59,800 casos anuales de leishmaniasis. La forma más común de esta enfermedad en el continente es la leishmaniasis cutánea, la cual se ha reportado en 20 países, siendo endémica en 18 de ellos: Colombia, Costa Rica, Brasil, Argentina, Ecuador, Venezuela, Bolivia, Perú, Paraguay, El Salvador, Honduras, Nicaragua, Panamá, Guyana, Surinam, Guatemala, Guyana Francesa y México. Asimismo, la leishmaniasis mucocutánea se presenta en países como Brasil, Colombia, Perú y parte de Venezuela. Por otro lado, la leishmaniasis visceral se presenta en 12 países, incluyendo de igual manera Brasil, Argentina, Paraguay, Colombia, Venezuela, Costa Rica, Guatemala, Honduras, Nicaragua, Bolivia, Guyana y México, destacando así su impacto significativo en la salud pública de la región (Bharadava et al., 2023).

En Ecuador, factores como: la presencia de vectores, dinámicas poblacionales y elementos externos, incluidos los socioeconómicos y ambientales, impactan la incidencia de la leishmaniasis (Toalombo Espin & Coque Procel, 2021). De acuerdo con la información proporcionada por el Ministerio de Salud Pública y la Dirección Nacional de Vigilancia Epidemiológica, el año 2022 cerró con un total de 913 casos confirmados de leishmaniasis. En el transcurso del año 2023, hasta la semana epidemiológica número 39, se registraron 771 casos confirmados de esta enfermedad. Las regiones con mayor incidencia incluyen las provincias de Pichincha, Manabí, Morona Santiago, Esmeraldas, Pastaza y Napo, donde las condiciones meteorológicas favorables han facilitado el ciclo biológico y la vectorización del agente causal de la leishmaniasis. (Ministerio de Salud Pública, 2023). El número de casos también podría atribuirse a desafíos como la limitada infraestructura de salud, la escasez de profesionales médicos formados en el diagnóstico y tratamiento de la leishmaniasis y las dificultades en la distribución de medicamentos.

A pesar de la escalada anual en la cifra de afectados y las estrategias implementadas para la prevención y contención de la leishmaniasis, la problemática persiste, primordialmente debido a la carencia de terapias eficaces y de fácil alcance para la población (Pradhan et al., 2022). En el contexto nacional, aún no se ha estandarizado la selección de un tratamiento óptimo para la leishmaniasis, lo que requiere la evaluación de variables como la especie de *Leishmania* involucrada, las características individuales del paciente y las manifestaciones clínicas específicas para determinar la terapia más adecuada (Castro et al., 2023). En Ecuador, donde la leishmaniasis cutánea es endémica en ciertas regiones, el tratamiento de primera línea incluye el glucantime, cuyo componente activo es el antimonio pentavalente en forma de antimonioato de N-metilglucamina el cual interfiere con el metabolismo del parásito *Leishmania*. Este mecanismo provoca alteraciones en la estructura celular del parásito, conduciendo

eventualmente a su muerte. (Brustolin et al., 2022). Además de glucantime, se utiliza como alternativa la miltefosina cuyo principio activo es hexadecilfosfolina, particularmente en casos donde existen resistencia o contraindicaciones al uso de antimonio pentavalente. Dependiendo de la severidad de la enfermedad, la anfotericina B también se emplea como opción terapéutica. Es crucial que la selección del agente, la dosis y la duración del tratamiento se personalicen según las necesidades específicas de cada paciente. Sin embargo, estos tratamientos enfrentan desafíos significativos, como toxicidad, la necesidad de administración por vía intravenosa y el surgimiento de resistencia, lo que resalta la urgencia de desarrollar estrategias terapéuticas más eficaces y sostenibles (Monge-Maillo & López-Vélez, 2021).

En la búsqueda de nuevos tratamientos para la leishmaniasis, especialmente en regiones donde esta enfermedad es endémica y los recursos sanitarios son limitados, la medicina alternativa y el uso de plantas medicinales han ganado relevancia. Estas alternativas son particularmente atractivas debido a que generalmente presentan perfiles de toxicidad más bajos en comparación con los fármacos convencionales (Pradhan et al., 2022). Cabe mencionar que en el Ecuador a pesar de existir una rica biodiversidad tanto en flora como en fauna, las publicaciones sobre plantas medicinales que posean efectos antiparasitarios contra *Leishmania* son limitadas. Sin embargo, se ha logrado identificar 146 especies de plantas que han tenido un efecto positivo en pacientes con lesiones propias de esta enfermedad pertenecientes a las familias: *Asteraceae*, *Araceae*, *Fabaceae*, *Lamiaceae* y *Piperaceae*; de las cuales solo el 85% son endémicas en el país (Alarcón, 2019).

El aceite de *Peperomia inaequalifolia*, perteneciente a la familia *Piperaceae*, ha capturado el interés científico por su prometedor uso en el tratamiento de la leishmaniasis. Estudios preliminares tanto *in silico* como *in vitro* han revelado que este aceite esencial posee notable actividad antileishmanial, especialmente efectiva contra las formas promastigotes de *Leishmania*, una fase crucial en el ciclo de vida del parásito alojado en los flebótomos. Se ha observado que este aceite esencial posee componentes que comprometen la integridad de la membrana celular del parásito, inhibe enzimas vitales y puede interrumpir la síntesis de ADN y proteínas. A pesar de estos avances, aún se desconoce cuales son los principios activos que tienen las propiedades de mediar la actividad leishmanicida del aceite. Este entendimiento es fundamental para avanzar en el desarrollo de tratamientos más eficaces y seguros. Por lo tanto, la pregunta central que guía este proyecto es: ¿Cuáles son los principios activos del aceite esencial de *Peperomia inaequalifolia* que favorecen la inhibición del crecimiento de *Leishmania spp.*? La implementación de IA permitirá optimizar el proceso de identificación y evaluación de estos componentes, ofreciendo un enfoque innovador y eficiente para el descubrimiento de nuevos tratamientos contra la leishmaniasis. La validación de estos compuestos podría llevar al desarrollo de terapias más efectivas y menos tóxicas, mejorando significativamente las opciones de tratamiento disponibles y contribuyendo a la lucha global contra esta enfermedad devastadora.

## **H. JUSTIFICACIÓN Y SIGNIFICADO**

El protozoo *Leishmania*, un parásito hemoflagelado, constituye la causa de la leishmaniasis. Enfermedad zoonótica devastadora que afecta a millones de personas en más de 98 países, principalmente en regiones tropicales y subtropicales donde los recursos son limitados y el acceso a tratamientos efectivos es insuficiente. Los tratamientos actuales, aunque parcialmente efectivos, están plagados de desafíos significativos como alta toxicidad, costos prohibitivos, complejidad en la administración, y una creciente incidencia de resistencia a los fármacos

(Hashiguchi et al., 2018). Esta situación presenta una necesidad crítica de explorar nuevas estrategias terapéuticas que sean tanto efectivas como seguras para el uso a largo plazo.

En este contexto, el aceite esencial de *Peperomia inaequalifolia* se destaca como un candidato prometedor para el tratamiento de la leishmaniasis, dada su composición química que incluye compuestos como el bisabolol, cuyas propiedades antileishmaniasis han sido evidenciadas en investigaciones preliminares (Valarezo et al., 2023). Este aceite ha demostrado un notable potencial en inhibir las formas promastigotes de *Leishmania*, las cuales son fundamentales para la transmisión del parásito por los vectores. No obstante, el mecanismo específico mediante el cual este aceite esencial ejerce su actividad antiparasitaria aún no ha sido completamente elucidado, lo que representa una significativa brecha en nuestro conocimiento actual. Abordar esta brecha no solo podría enriquecer nuestra comprensión de las interacciones bioquímicas entre los fitoquímicos y los patógenos, sino también podría llevar a una transformación en el manejo de esta enfermedad desatendida, ofreciendo nuevas avenidas para el desarrollo de terapias más eficaces y menos tóxicas.

Utilizando herramientas computacionales en conjunto con la Inteligencia Artificial (IA), este proyecto pretende identificar y evaluar los principios activos del aceite esencial de *Peperomia inaequalifolia*. La aplicación de IA no solo facilitará la identificación precisa de los componentes bioactivos, sino que también permitirá predecir su actividad biológica, optimizando el proceso de descubrimiento de nuevos fármacos. La evaluación antimicrobiana *in silico* contra *Leishmania* spp. y la determinación de la citotoxicidad proporcionarán una comprensión integral de la eficacia y seguridad de estos componentes. Este enfoque multidisciplinario tiene el potencial de descubrir nuevos tratamientos efectivos y seguros para la leishmaniasis, contribuyendo significativamente a la lucha contra esta enfermedad devastadora y mejorando la salud pública a nivel global.

Además, el uso de herramientas de software libre y la integración de metodologías innovadoras aseguran que los resultados de la investigación sean replicables y accesibles para otros investigadores, promoviendo la ciencia abierta y colaborativa. Esto no solo fortalece la validez científica del proyecto, sino que también abre la puerta a futuras investigaciones y desarrollos en el campo de la quimioinformática y la medicina basada en inteligencia artificial, ampliando el alcance y la relevancia de los resultados obtenidos.

---

## 1. MARCO TEÓRICO ASOCIADO AL PROBLEMA

---

La leishmaniasis es un grupo de enfermedades transmitidas por vectores, causadas por más de 20 especies del género *Leishmania* (Organización Panamericana de la Salud, 2023). La severidad de estas enfermedades varía ampliamente, desde úlceras cutáneas localizadas hasta formas sistémicas que pueden ser fatales. En términos de impacto global, la leishmaniasis se clasifica como la cuarta enfermedad tropical más común en términos de morbilidad y la segunda en mortalidad (Toalombo Espin & Coque Procel, 2021). Con la excepción de Australia y la Antártida, esta afecta principalmente a poblaciones en situaciones de vulnerabilidad, incluyendo a residentes de áreas endémicas en países tropicales y subtropicales, el sur de Europa, y en muchas de las naciones más empobrecidas del planeta. La relación de la leishmaniasis con la pobreza y la consiguiente escasez de recursos asignados para su diagnóstico, tratamiento y control, la ubican como una de las enfermedades tropicales más ignoradas a nivel mundial (Regional & Las, 2019).

## EPIDEMIOLOGÍA Y ECOLOGÍA DE LA LEISHMANIASIS

La leishmaniasis está presente en todos los continentes, con endemidad en 98 países o territorios. Globalmente, hubo un incremento continuo en el número de casos nuevos de leishmaniasis cutánea (LC) seguidos por la mucocutánea (LM) y visceral (LV) reportados a la Organización Mundial de la Salud (OMS) desde 1998 hasta 2019. No obstante, este aumento fue seguido por una disminución significativa entre 2019 y 2023 (Morales et al., 2019).

En América, actualmente se han encontrado 15 de las 22 especies declaradas como patógenas para el ser humano de *Leishmania* siendo estas: *Leishmania donovani*, *Leishmania infantum*, *Leishmania tropica*, *Leishmania major*, *Leishmania mexicana*, *Leishmania amazonensis*, *Leishmania braziliensis*, *Leishmania guyanensis*, *Leishmania panamensis*, *Leishmania peruviana*, *Leishmania venezuelensis*, *Leishmania naiffi*, *Leishmania lainsoni*, *Leishmania colombiensis* y *Leishmania martiniquensis*. Especies que han causado alrededor de 59.800 casos de leishmaniasis por año, de los cuales 56.000 son producidos por L. cutánea y mucosa mientras que 3800 son producidos por *L. visceral* (Toalombo Espin & Coque Procel, 2021).

Ecuador, situado en el noroeste de América del Sur, se caracteriza por una notable diversidad ecológica. Este país alberga una amplia gama de ecosistemas, que van desde bosques secos en la región costera y bosques nublados en los Andes, hasta exuberantes bosques tropicales lluviosos en las tierras bajas amazónicas. Estos variados hábitats son propicios para la proliferación de diversas especies de flebotomos, vectores claves en la transmisión de la leishmaniasis (Morales et al., 2019). La presencia de estos distintos ecosistemas contribuye a la complejidad y diversidad de la leishmaniasis en el país. Actualmente, en base a estadísticas y estudios previos realizados se ha logrado identificar a 8 especies principales causantes de *Leishmania* tanto cutánea como mucocutánea en veintitrés de las veinticuatro provincias del país entre las que se encuentran: *L. mexicana*, *L. (L.) major like*, *Leishmania (Viannia) braziliensis*, *L. (V.) panamensis*, *L. (V.) guyanensis*, *L. (V.) lainsoni*, *L. (V.) Naiffi*, *L. (V.) amazonensis* (Toalombo Espin & Coque Procel, 2021).

### AGENTE ETIOLÓGICO

El parásito, un protozooario de la familia *Trypanosomatidae*, a pesar de su homogeneidad morfológica, se han descrito más de 22 especies del género *Leishmania*, nocivas para los humanos. Estas especies se clasifican en dos subgéneros: *Leishmania* y *Viannia*. En las Américas, se han descubierto 15 especies de *Leishmania* que exhiben diferentes tipos de infección: visceral, cutánea y mucosa. El ciclo de vida del parásito es digenético, alternando entre dos estados: 1) la forma promastigote, de entre 20  $\mu\text{m}$  y 30  $\mu\text{m}$  de largo, es extracelular y elongada, con un flagelo que le permite moverse en el intestino de sus insectos vectores, y 2) la forma amastigote, que varía de 2  $\mu\text{m}$  a 5  $\mu\text{m}$ , es esférica, intracelular y no tiene flagelo, proliferando principalmente en los macrófagos del sistema fagocítico mononuclear. Ambos estadios del parásito se dividen por fisión binaria y poseen una mitocondria especial llamada cinetoplasto (Arenas et al., 2017).

### TAXONOMÍA DEL GÉNERO *LEISHMANIA*

La taxonomía del género *Leishmania* engloba un conjunto de parásitos protozoarios que son los agentes causales de diversas formas de leishmaniasis en humanos y otros mamíferos. La Tabla 1, resume la taxonomía del género *Leishmania*, desde el dominio hasta los subgéneros, proporcionando un marco detallado que apoya la identificación precisa de las especies causantes de leishmaniasis (Arenas et al., 2017). Cada nivel taxonómico refleja la jerarquía biológica y evolutiva que subyace a la diversidad del género, ofreciendo una perspectiva crucial para el desarrollo de métodos diagnósticos y terapéuticos específicos para cada especie (Lainson, 2018).

**Tabla 1.** Taxonomía del género leishmania.

Dominio	Eukaryota	
Reino	Protista	
Filo	Euglenozoa	
Clase	Kinetoplastea	
Orden	Trypanosomatida	
Familia	Trypanosomatidae	
Género	<i>Leishmania</i>	
Subgéneros principales	<i>Leishmania</i>	<i>Leishmania donovani</i>
		<i>Leishmania major</i>
		<i>Leishmania tropica</i>
		<i>Leishmania amazonensis</i>
		<i>Leishmania aethiopica</i>
		<i>Leishmania mexicana</i>
	<i>Viannia</i>	<i>Leishmania braziliensis</i>
		<i>Leishmania guyanensis</i>
		<i>Leishmania panamensis</i>
		<i>Leishmania peruviana</i>

### **CICLO DE VIDA DE *LEISHMANIA*.**

#### **En los Vectores (Flebótomos)**

El ciclo de transmisión de *Leishmania* comienza cuando un flebótomo hembra ingiere sangre de un humano o animal infectado con amastigotes, las formas intracelulares que se encuentran principalmente en los macrófagos del hospedero. Una vez dentro del estómago del flebótomo, los amastigotes se transforman en promastigotes, formas flageladas y móviles que se multiplican y desarrollan en el tubo digestivo del mosquito durante varios días. Posteriormente, las promastigotes migran hacia la probóscide del flebótomo, posicionándose para ser transferidas al próximo hospedero vertebrado durante la siguiente picadura (Hashiguchi et al., 2018).

#### **En los Hospederos Vertebrados (Humanos y Animales)**

El ciclo de transmisión de *Leishmania* se inicia cuando un flebótomo infectado pica a un humano o animal, inyectando promastigotas en la piel del nuevo hospedero. Una vez en el

hospedero, las promastigotas son fagocitadas rápidamente por las células del sistema inmunitario, principalmente los macrófagos, donde se transforman en amastigotas. Estas amastigotas se multiplican dentro de los macrófagos, eventualmente causando la ruptura de las células y liberándose para infectar más células. Si la carga parasitaria es alta y el sistema inmunitario no puede contener la infección, pueden aparecer síntomas clínicos. El ciclo se completa cuando otro flebótomo pica al hospedero infectado, ingiriendo amastigotas con la sangre y reiniciando el ciclo en el vector (Hashiguchi et al., 2018).

## **BIOLOGÍA MOLECULAR Y BIOQUÍMICA DEL PARÁSITO**

Las especies pertenecientes al orden Kinetoplástida poseen varias características únicas que las distinguen de otros eucariotas. Una de las características celulares más notables es la presencia de un orgánulo específico llamado cinetoplasto, el cual contiene el ADN de su única mitocondria. Este cinetoplasto se encuentra ubicado cerca del cuerpo basal del flagelo. (Rios JM, 2016).

El cinetoplasto está compuesto por maxicírculos y minicírculos de ADN que se entrelazan para formar una red, representando aproximadamente el 10-15% del ADN total del parásito. Los maxicírculos contienen genes que codifican ARNs ribosomales y de transferencia, así como proteínas mitocondriales, incluyendo citocromos. Una característica destacada del genoma de *Leishmania* es su alta plasticidad, lo que permite la activación de procesos de amplificación génica en condiciones de estrés, como la exposición a fármacos (Akhoundi et al., 2017).

Estudios metabólicos indican que los promastigotes de *Leishmania* utilizan principalmente ciertos aminoácidos como fuente de energía, catabolizando la glucosa únicamente al final de la fase exponencial y al inicio de la fase estacionaria de crecimiento (Arenas et al., 2017). Este comportamiento refleja una adaptación del parásito a ambientes con baja disponibilidad de glucosa libre y alta concentración de proteínas, como el intestino del vector. En contraste, los amastigotes incrementan significativamente la  $\beta$ -oxidación de ácidos grasos y consumen menores cantidades de glucosa y aminoácidos, sugiriendo que los ácidos grasos son su principal fuente de energía (Rios JM, 2016).

## **FACTORES DE RIESGO**

En ciertas regiones de Ecuador, donde la leishmaniasis es endémica, diversos factores de riesgo desempeñan un papel crucial en su transmisión y prevalencia. La interacción de variables ambientales, como la deforestación y la humedad, factores socioeconómicos, incluyendo el acceso limitado a servicios de salud y las condiciones de vida, así como comportamientos humanos que incrementan el contacto con los vectores infectados, contribuyen significativamente a la incidencia de esta enfermedad parasitaria (Hashiguchi et al., 2017)

Las actividades que modifican el entorno natural, como la deforestación para la agricultura o la construcción, pueden incrementar el contacto entre los humanos y los vectores de la leishmaniasis, los flebótomos. Estos cambios ambientales desplazan a los vectores desde sus hábitats naturales hacia áreas habitadas por personas (Oryan & Akbari, 2016). Residir cerca de o dentro de zonas selváticas o boscosas aumenta el riesgo de exposición a los flebótomos transmisores de la enfermedad, ya que estos entornos son los hábitats preferidos de los vectores. Además, las viviendas sin protecciones adecuadas, como mosquiteros en ventanas y puertas, o

con estructuras que permiten la entrada de insectos, facilitan la exposición a las picaduras de los flebótomos (Hashiguchi et al., 2017).

Las actividades laborales o recreativas al aire libre, especialmente durante la noche, cuando los flebótomos están más activos, pueden incrementar el riesgo de picaduras. La falta de recursos económicos limita el acceso a medidas preventivas, como repelentes de insectos, ropa adecuada y atención médica oportuna, aumentando el riesgo de infección (Hashiguchi et al., 2017).

La migración de individuos no inmunes desde regiones no endémicas a áreas endémicas puede incrementar la incidencia de la enfermedad, dado que estas personas son generalmente más susceptibles a la infección. Además, la biodiversidad del país, junto con las diversas condiciones climáticas y geográficas, contribuyen al mantenimiento y expansión de la leishmaniasis (Oryan & Akbari, 2016).

## MANIFESTACIONES CLÍNICAS DE LA LEISHMANIASIS

Las manifestaciones clínicas de la leishmaniasis, pueden oscilar desde úlceras cutáneas que pueden sanar espontáneamente o permanecer como cicatrices desfigurantes hasta formas mucocutáneas que erosionan las membranas mucosas y, en su presentación más severa, la leishmaniasis visceral, que puede ser fatal si no se trata oportunamente (Cadena & De La Cruz, n.d.). A continuación la Tabla 2, resume las distintas presentaciones clínicas de la leishmaniasis, clasificándolas por tipo y asociándolas con sus respectivas especies causantes del género *Leishmania*. Cada categoría detalla las manifestaciones clínicas típicas, el período de incubación del parásito y la especie de *Leishmania* correspondiente. Los datos presentados facilitan una comprensión más profunda de la heterogeneidad clínica de la leishmaniasis, desde la forma cutánea localizada hasta la visceral, reflejando la diversidad de patógenos y su dinámica epidemiológica.

**Tabla 2.** Presentaciones clínicas y características de la leishmaniasis por especies de *Leishmania*.

Tipo de Leishmaniasis	Manifestaciones clínicas	Periodo de incubacion	Agente etiológico
Leishmaniasis cutánea localizada	Máculas de aproximadamente 0,5 cm de diámetro, que suele estar rodeada de un halo más claro (Arenas et al., 2017).	2 semanas a 2 meses	<i>L. (L.) mexicana</i>
Leishmaniasis cutánea diseminada	Lesiones papulares múltiples con apariencia de acné que afectan diferentes segmentos del cuerpo (Arenas et al., 2017).	2 a 8 semanas	<i>L. (V.) braziliensis</i>

Leishmaniasis cutánea difusa	Lesiones de tipo nodular y placas que se asemejan a la lepra lepromatosa (Arenas et al., 2017).	2 semanas a 4 meses	<i>L. (L.) amazonensis</i> , <i>mexicana</i> , <i>venezuelensis</i> , <i>pifanoi</i> y <i>L. (V.) braziliensis</i> .
Leishmaniasis mucosa y mucocutánea	Las lesiones se presentan como úlceras profundas y dolorosas con bordes elevados e irregulares que pueden tener un fondo granular cubiertas por un exudado o costras (Arenas et al., 2017).	2 semanas a 2 meses	<i>L. (V.) braziliensis</i> , <i>panamensis</i> y <i>guyanensis</i>
Leishmaniasis visceral	Esplenomegalia leve, la hepatomegalia, ictericia, edema en casos avanzados de la enfermedad, y alteraciones neurológicas (Arenas et al., 2017).	2 semanas hasta 1 año	<i>L. (L.) infantum</i>

## RESPUESTA INMUNOLÓGICA

Los macrófagos son cruciales en la defensa del huésped contra una amplia variedad de patógenos, incluidos bacterias, virus, hongos y protozoos. Se desplazan hacia estos patógenos guiados por un gradiente de moléculas quimiotácticas secretadas por los microorganismos. Tras la fagocitosis, proceso por el cual *Leishmania* entra en el macrófago, se ha demostrado que tanto las glicoproteínas de la membrana como los lípidos de la superficie del parásito están involucrados en su adhesión a la membrana plasmática del macrófago (F. S. Almeida et al., 2023). Sin embargo, algunos patógenos intracelulares, como *Listeria monocytogenes*, *Salmonella*, *Mycobacterium*, *Toxoplasma* y *Leishmania*, pueden replicarse dentro de esta célula. Los amastigotes de *Leishmania* son más resistentes que los promastigotes a los mecanismos antimicrobianos dependientes del oxígeno inducidos por citoquinas, lo que refleja su adaptación al crecimiento intracelular (F. S. Almeida et al., 2023). Además, poseen propiedades fagocíticas, capacidades de presentación de antígenos y activación de células T, así como una amplia capacidad secretora (F. S. Almeida et al., 2023). Entre los productos secretados por los macrófagos, las citoquinas son particularmente importantes debido a su papel esencial en el control y la especificidad de la respuesta inmune. Las citoquinas más relevantes incluyen IFN- $\gamma$ , IL-1, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, TNF $\alpha$ , TNF $\beta$ , IFN $\alpha$ , IFN $\beta$ , PDGF, TGF- $\beta$ , GM-CSF, M-CSF y el inhibidor de IL-1 (Alcolea et al., 2019).

Las interleucinas IL-4 e IL-10, producidas por las células Th2, contribuyen a la progresión de la infección favoreciendo el desarrollo de esta subpoblación celular. Estas citoquinas también pueden inhibir la activación de los macrófagos de manera directa. La IL-10 reduce la expresión

del Complejo Mayor de Histocompatibilidad II (MHC II) en los macrófagos, disminuye la endocitosis e inhibe tanto la producción de citoquinas proinflamatorias como la generación de óxido nítrico. Estudios recientes indican que la ausencia de IL-4 puede impedir la respuesta Th2. Por otro lado, las células T citotóxicas producen IFN- $\gamma$  y TNF- $\alpha$ , que son esenciales para la activación de los macrófagos y la destrucción de *Leishmania* (Alcolea et al., 2019).

## DIAGNÓSTICO

Para garantizar un diagnóstico preciso de la leishmaniasis, es crucial implementar un enfoque tripartito que englobe criterios clínicos rigurosos, evaluaciones epidemiológicas y pruebas de laboratorio. Este proceso integrado no solo confirma el diagnóstico, sino que también es esencial para establecer un plan de tratamiento adecuado y personalizado (Montalvo et al., 2012).

Actualmente, las herramientas más utilizadas para el diagnóstico de la leishmaniasis se centran principalmente en la identificación directa de amastigotes en muestras obtenidas de lesiones en la piel, mucosas, tejidos o ganglios linfáticos. Para el diagnóstico indirecto de las variantes mucosa y visceral de la enfermedad, se han desarrollado métodos que detectan anticuerpos anti-*Leishmania* en el suero o en muestras de sangre completa (Reimão et al., 2020). A continuación la Tabla 3, hace una comparación de los métodos directos e indirectos empleados en la identificación de la leishmaniasis. Proporciona además una descripción detallada de cada método, junto con su respectiva sensibilidad y especificidad, que son indicadores clave de su eficacia diagnóstica. Se abordan técnicas como el examen microscópico, cultivo, análisis histopatológico y la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en el ámbito de los métodos directos, y la inmunofluorescencia indirecta (IFI), el ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) y la intradermorreacción de Montenegro para los métodos indirectos (Elmahallawy et al., 2014) (Reimão et al., 2020). Cada metodología se discute en relación con su aplicabilidad en diferentes formas de leishmaniasis, ya sea cutánea, mucocutánea o visceral, destacando su importancia en la selección de estrategias diagnósticas adecuadas.

**Tabla 3.** Métodos de diagnóstico para la leishmaniasis.

METODOS DIRECTOS			
Metodo	Descripcion	Sensibilidad	Especificidad
Examen microscópico	En primer lugar, para la confirmación de casos de Leishmaniasis cutánea se procede a realizar un examen microscópico de muestras de frotis provenientes de lesiones si se trata de Leishmaniasis cutánea y mucocutánea, las mismas que se deben recolectar de los bordes de la lesión ya que esto facilitara la visualización de los amastigotes una vez teñida con Tinción de Giemsa (Elmahallawy et al., 2014). Si se trata de Leishmaniasis visceral es recomendable realizar aspirados esplénicos y de la médula ósea que al igual que los frotis son teñidos con tinción de Giemsa o Wrigth para poder observar formas de amastigotes, con su núcleo, cinetoplastos, y mitocondrias ricas en	60 - 70%	100 %

	DNA extracromosómico (Akhoundi et al., 2017).		
Cultivo	Permiten el aislamiento y la identificación de las cepas causantes de la infección a partir de muestras como raspados o biopsias de las heridas o muestras de sangre. Los medios de cultivo más utilizados son los que contienen agar sangre, como el medio NNN (Novy-McNeal-Nicolle), que tiene una capa de agar nutritivo y una capa de sangre de conejo o de otro animal (Reimão et al., 2020). Otro medio común es el RPMI, que a menudo se enriquece con suero fetal bovino, antibióticos y otros nutrientes para promover el crecimiento del parásito y prevenir la contaminación bacteriana o fúngica (Reimão et al., 2020).	90 - 98%	90 – 100%
Análisis histopatológico	El análisis histopatológico es una técnica crucial en el diagnóstico de la leishmaniasis, especialmente en casos de leishmaniasis cutánea y mucocutánea, donde las manifestaciones visibles en la piel o las membranas mucosas son accesibles para biopsias (Reimão et al., 2020). Esta técnica involucra la extracción de una pequeña muestra de tejido del área afectada que luego es examinada proporcionando una confirmación directa de la presencia del parásito y permite una evaluación detallada de la respuesta tisular a la infección (Reimão et al., 2020).	La sensibilidad puede ser afectada por la cantidad y calidad de la muestra de tejido obtenida, así como por la carga parasitaria en el tejido entre el 70 - 90%.	90 - 100%.
Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)	La amplificación y detección del material genético del parásito, ya sea ADN o ARN, se realiza mediante PCR. Las muestras utilizadas para la PCR pueden provenir de frotis, hisopados o aspirados de lesiones, ganglios linfáticos o fragmentos de biopsias (Reimão et al., 2020). Es crucial evitar contaminaciones cruzadas durante este proceso. La técnica de PCR amplifica y detecta una región específica del ADN o ARN del parásito. Para ello, se extrae el material genético de la muestra y se incorpora a una mezcla que contiene los reactivos necesarios para la amplificación de la secuencia objetivo. El producto de la	Para leishmaniasis visceral = 95% - 100%  Para la leishmaniasis cutánea = 85% - 98%.	95 - 100%,

	PCR se visualiza mediante gel de agarosa usando sondas específicas en la PCR convencional, o por detección de fluorescencia en tiempo real (qPCR). (Reimão et al., 2020).		
<b>METODOS INDIRECTOS</b>			
Inmunofluorescencia indirecta (IFI)	Se recomienda como apoyo diagnóstico en casos de leishmaniasis mucosa o mucocutánea (Reimão et al., 2020).	Para leishmaniasis visceral = 90% - 100%.  Para la leishmaniasis cutánea = 70% - 90%.	90 - 100%.
Ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA)	Es la prueba de detección de anticuerpos específicos contra <i>Leishmania</i> spp. en el suero o plasma de los pacientes mediante el uso de reacción ligada a enzimas (Castro et al., 2023).	97 - 100%	70%
Intradermorreacción de Montenegro o leishmanina	Conocida como la prueba de leishmanina, esta prueba de hipersensibilidad retardada evalúa la exposición del paciente a <i>Leishmania</i> (Cabrera et al., 2012). Generalmente, se aplica en el antebrazo izquierdo y se utiliza principalmente como herramienta de apoyo en el diagnóstico de las formas mucosas de la enfermedad, así como en estudios epidemiológicos para evaluar el contacto previo con el parásito. Aunque es altamente sensible y específica, no permite diferenciar entre una infección previa o actual. En casos de leishmaniasis cutánea difusa, la reacción es siempre negativa (Reimão et al., 2020).	80 - 90%	90%

### **Exámenes de laboratorio complementarios para el diagnóstico**

El análisis hematológico es crucial para el diagnóstico y monitoreo de diversas condiciones clínicas, incluyendo las infecciones parasitarias como la leishmaniasis. Un hemograma detallado puede proporcionar información valiosa sobre el estado inmunológico y la salud general del paciente en este caso el hemograma revela una disminución del número de las diferentes células sanguíneas, indicando pancitopenia además se observan niveles reducidos de hemoglobina, lo que sugiere anemia. Además, hay una disminución de la proteína sérica y de la albúmina sérica, junto con un aumento de las inmunoglobulinas (Regional & Las, 2019).

## Diagnóstico de Laboratorio en Casos de Coinfección de *Leishmania* y Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH).

En sujetos con coinfección por *Leishmania* y VIH/SIDA se observa una elevación de la carga parasitaria, así como una distribución atípica del parásito, particularmente en pacientes con un grado avanzado de inmunosupresión. Debido a esto, métodos de diagnóstico como la microscopía, cultivo y reacción en cadena de la polimerasa (PCR) ejecutados en muestras de sangre entera o capa leucocitaria, y análisis de aspirados de médula ósea, exhiben una sensibilidad incrementada en esta población comparada con individuos inmunocompetentes. La eficacia de los ensayos serológicos se ve comprometida en pacientes coinfectados. Además, en ciertos casos, es más recomendable la detección del parásito en biopsias de tejidos como la piel, el tracto gastrointestinal o los pulmones (Vaz-Pinto et al., 2022).

## TRATAMIENTOS

### MEDICAMENTOS LOCALES Y SISTÉMICOS

En la actualidad a pesar de continuar con los intentos por controlar y tratar la leishmaniasis, la aparición de las cepas resistentes a los medicamentos presenta un problema grave, ya que debilitan la eficacia de las estrategias de tratamiento actuales (Castro et al., 2023).

La OMS para el tratamiento de esta enfermedad recomienda tratamientos tanto locales como sistémicos, en nuestro país Ecuador no se ha establecido un tratamiento específico para tratar este tipo de enfermedades, sin embargo, para su administración se basan en diferentes criterios comenzando por la disponibilidad de medicamentos en las diferentes casas asistenciales de salud y por otra parte la especie de *Leishmania*, el hospedador y las manifestaciones clínicas que presenta el paciente (Arenas et al., 2017).

A continuación, la Tabla 4, detalla una comparativa de los medicamentos utilizados en el tratamiento de las diversas formas de leishmaniasis, haciendo énfasis en su mecanismo de acción, la vía de administración recomendada, la enfermedad específica que tratan y los esquemas de administración correspondientes. Desde la anfotericina B, que altera la integridad de la membrana celular del parásito, hasta la paromomicina, cuyo mecanismo de acción es la de inhibir la síntesis de proteínas del patógeno, cada tratamiento se describe para proporcionar una visión integral de las opciones terapéuticas disponibles y su aplicación clínica.

**Tabla 4.** Medicamentos sistémicos y locales para el tratamiento de Leishmaniasis.

Medicamento	Mecanismo De Acción	Vía De Administración	Enfermedad	Esquema De Administración
Anfotericina B	La anfotericina B se une al ergosterol, formando complejos que comprometen la integridad estructural de la membrana celular mediante la creación de poros o canales. Estos poros incrementan la permeabilidad de la	Intravenosa	Leishmaniasis visceral	La dosis recomendada es de 2-3 mg/kg/día hasta alcanzar una dosis total acumulada de 20-40 mg/kg, administrada en fracciones durante los días siguientes, intercalada y hasta 2

	membrana, lo que permite la fuga de componentes celulares esenciales. (Monge-Maillo & López-Vélez, 2021).			veces por semana. En caso de elevación de la creatinina, puede ser necesario extender los intervalos entre dosis a más de 24 horas (Monge-Maillo & López-Vélez, 2021).
Glucantime (antimonio pentavalente)	Interfiere con varias enzimas clave que participan en el metabolismo energético del parásito Leishmania, afectando su capacidad para generar energía. Además puede mejorar la respuesta inmune del huésped, facilitando así la eliminación de las células infectadas por el sistema inmunológico (Bharadava et al., 2023).	Intravenosa o intramuscular	Leishmaniasis cutánea y mucocutánea	10 - 20 mg/kg/día por 15 a 20 días (Bharadava et al., 2023).
			Leishmaniasis visceral	2-3 mg/kg/día por 28 a 30 días (Bharadava et al., 2023).
Miltefosina	Interfiere en la biosíntesis de fosfolípidos esenciales para el parásito. Esto inhibe la capacidad del parásito para reproducirse y sobrevivir (Bharadava et al., 2023).	Oral	Leishmaniasis cutánea y mucocutánea	Adultos y niños con un peso de 30 kg o más: 2.5 mg/kg/día divididos en una o dos dosis diarias durante 28 días.
				Niños que pesan menos de 30 kg: 2.5 mg/kg/día en una sola dosis diaria durante 28 días (Bharadava et al., 2023).
			Leishmaniasis mucocutánea	Adultos y niños que pesan más de 25 kg: 2.5 mg/kg/día (hasta un máximo de 100 mg/día) en dosis divididas durante 28 días (Bharadava et al., 2023).
				Niños que pesan entre 12 y 25 kg: 50 mg dos veces al día durante 28 días

				(Bharadava et al., 2023).
Pentamicina	Se une al ADN del parásito, interrumpiendo así su capacidad para replicarse. Esto ocurre principalmente mediante la intercalación entre las bases de ADN, lo que afecta la síntesis de ADN y, en última instancia, inhibe la replicación celular (Bharadava et al., 2023).	Intravenosa o intramuscular	Leishmaniasis cutánea y mucocutánea	2-4 mg/kg cada 7 a 14 días. Las dosis dependen de la condición del paciente (Bharadava et al., 2023).
Paromomicina	Actúa inhibiendo la síntesis proteica en los parásitos de Leishmania. Se une a la subunidad ribosomal 30S del RNA ribosómico, interfiriendo con el proceso de iniciación del ensamblaje del ribosoma y con la lectura del ARNm, lo cual es crucial para la fabricación de proteínas. Esto impide que el parásito produzca proteínas esenciales, lo que a su vez inhibe su crecimiento y replicación (Bharadava et al., 2023).	Intramuscular o tópico	Leishmaniasis cutánea	Topica: paromomicina al 15% sobre las lesiones una o dos veces al día durante 20 días (Bharadava et al., 2023).
				Intravenosa: 15 mg/kg/día por alrededor de 20 días (Bharadava et al., 2023).
			Leishmaniasis visceral	Intravenosa: 11 mg/kg/día por alrededor de 21 días (Bharadava et al., 2023).

Fármacos que en general han sido bien tolerados en gran parte por los adultos y jóvenes pese a no ser útiles en todos los tipos de leishmaniasis. No obstante, su perfil de toxicidad es considerable, lo que puede llevar a respuestas terapéuticas subóptimas, recurrencias de la enfermedad o el desarrollo de resistencia farmacológica. Estos efectos adversos pueden incluir, pero no se limitan a, anorexia, pancreatitis, mialgias, artralgias, neutropenia y trombocitopenia. Estos efectos secundarios destacan la necesidad de vigilancia clínica y la búsqueda continua de opciones terapéuticas más seguras y eficientes.

- **Fármacos anti-TNF**

El uso de fármacos anti-TNF (Factor de Necrosis Tumoral) para el tratamiento de la leishmaniasis es un área de interés debido a la compleja interacción entre la respuesta inmunitaria y la patogénesis de la leishmaniasis. podrían mitigar el daño tisular excesivo y la inflamación en lesiones cutáneas o mucocutáneas, promoviendo la cicatrización y reduciendo las manifestaciones clínicas (Bosch-Nicolau et al., 2019).

- **Inhibidores de la enzima Tripanotiona Reductasa (TR)**

La tripanotiona reductasa es responsable de la reducción de la tripanotiona disulfuro a tripanotiona, un paso esencial para detoxificar los peróxidos y radicales libres generados dentro del parásito durante su metabolismo y como respuesta al estrés oxidativo inducido por el sistema inmunitario del huésped. Al inhibir la TR, se compromete la capacidad del parásito para manejar el estrés oxidativo, llevando eventualmente a su muerte (Santiago-Silva et al., 2022).

## TERAPIAS LOCALES

- **Crioterapia**

La crioterapia, que implica la aplicación de frío extremo para tratar diversas condiciones médicas, puede utilizarse en algunos casos para tratar lesiones cutáneas locales causadas por la leishmaniasis, como úlceras o nódulos. Sin embargo, este enfoque se considera más un complemento que un tratamiento principal. La crioterapia puede ayudar a reducir el tamaño de las lesiones y aliviar los síntomas, pero no elimina la infección subyacente (Castro et al., 2023). Existen diversos estudios en donde el uso de la crioterapia sola y en combinación con otros medicamentos ha demostrado ser eficaces y han presentado un número de pacientes recuperados más alto. Es así como para el año 2023 se presentó un caso en donde se detalla el tratamiento exitoso de la leishmaniasis cutánea con crioterapia en un paciente de 65 años que había viajado a México. Tras el tratamiento con crioterapia, las lesiones se resolvieron completamente sin efectos adversos ni recurrencia, lo que respalda la crioterapia como una opción de tratamiento segura y efectiva (Linqest et al., 2023). En el mismo año otro estudio evaluó la eficacia de la amfotericina B nano-liposomal tópica sola y en combinación con Glucantime y crioterapia en Irán mostrando de igual manera una alta tasa de eficacia, confirmando así, que puede ser una opción terapéutica efectiva (Alizadeh et al., 2023).

- **Termoterapia**

La termoterapia, una técnica que aprovecha el calor para tratar enfermedades, se ha explorado como alternativa para el tratamiento de la leishmaniasis cutánea (CL), ya que las especies de *Leishmania* responsables de esta condición no pueden proliferar o sobrevivir a temperaturas superiores a 39° C. Este enfoque terapéutico se basa en la sensibilidad al calor de estos parásitos, lo que ha llevado a considerar métodos como la terapia de radiofrecuencia (RF) para combatir la enfermedad. La RF, una modalidad específica de termoterapia, ha sido investigada en pacientes con CL y ha mostrado resultados prometedores. Según un estudio realizado en Guatemala, la terapia de RF alcanzó una tasa de curación del 73%, comparable a la obtenida con tratamientos estándar como los fármacos antimonio pentavalente sistémicos. La RF funciona mediante la emisión de calor que penetra uniformemente hasta una profundidad de 4 mm en la dermis, lo suficiente para alcanzar y eliminar las formas amastigotas del parásito sin causar dano (Pradhan et al., 2022).

- **Vacunas**

Varios estudios preclínicos han demostrado avances prometedores. Almeida et al. (2018) investigaron nuevas formulaciones vacunales que incorporan una versión modificada del antígeno Amastigote 2 y una cepa no virulenta de *Trypanosoma cruzi* CL-14. Este estudio demostró que dichas formulaciones inducían respuestas inmunes celulares robustas y conferían protección en modelos murinos frente a desafíos con *Leishmania infantum*. Los resultados sugieren que estas vacunas tienen el potencial para avanzar hacia ensayos clínicos en humanos, abriendo nuevas posibilidades para la prevención efectiva de la leishmaniasis (A. P. M. M. Almeida et al., 2018).

## TRATAMIENTO ALTERNATIVO

### Aceites esenciales

Los aceites esenciales, compuestos volátiles extraídos de diversas plantas aromáticas, han evidenciado propiedades antimicrobianas y citotóxicas significativas en estudios científicos. La actividad antimicrobiana de estos aceites se debe principalmente a la presencia de terpenos, fenoles y aldehídos, que interfieren con la integridad de las membranas celulares microbianas y la funcionalidad de enzimas esenciales, provocando la lisis celular. Paralelamente, la citotoxicidad de ciertos aceites esenciales ha sido confirmada mediante ensayos in vitro, donde se observó la inducción de apoptosis en células tumorales, atribuida a la modulación de vías señaladoras intracelulares y la generación de especies reactivas de oxígeno. Estos hallazgos sugieren que los aceites esenciales pueden constituir una fuente prometedora de nuevos agentes antimicrobianos y antineoplásicos (Torres-Guerrero & Arenas, 2018).

En el Ecuador pese a las publicaciones sobre plantas medicinales que posean efectos antiparasitarios contra *Leishmania* son limitadas, sin embargo se ha logrado identificar 146 especies de plantas que han tenido un efecto positivo en pacientes con lesiones propias de esta enfermedad pertenecientes a las familias: *Asteraceae*, *Araceae*, *Fabaceae*, *Lamiaceae* y *Piperaceae*; de las cuales solo el 85% son endémicas en el país (Toalombo Espin & Coque Procel, 2021).

### Obtención de los aceites esenciales

La extracción de aceites esenciales se lleva a cabo mediante diversas técnicas especializadas, adecuadas a las propiedades fisicoquímicas de la especie vegetal en cuestión y al propósito final del extracto. Entre los métodos predominantes destaca la destilación por arrastre de vapor, en la que se coloca el material vegetal en un destilador y se le exponen a vapor de agua. El calor facilita la liberación de aceites esenciales de las células vegetales, y el vapor resultante, enriquecido con el aceite, es posteriormente condensado. Este proceso produce una separación bifásica en la que el aceite esencial, menos denso, se decanta del agua. Además, la extracción con solventes se emplea para especímenes cuyos compuestos volátiles podrían degradarse bajo condiciones de alta temperatura. Así mismo, la expresión mecánica es frecuentemente utilizada para obtener aceites esenciales de cáscaras de cítricos, aprovechando una fuerza mecánica para liberar el aceite. Cada uno de estos métodos es seleccionado en su capacidad para maximizar la eficacia y calidad del aceite esencial obtenido, garantizando así la integridad y la concentración óptima de los componentes activos (Lopes et al., 2024).

### *Peperomia inaequalifolia*

*Peperomia inaequalifolia*, nativa de América del Sur, se encuentra en países como Brasil, Perú, Ecuador, Colombia y Venezuela. Esta planta se distingue por sus hojas pequeñas y redondas de

color verde oscuro con venas más claras, formando rosetas, y alcanza hasta 15 cm de altura (Simmonds et al., 2021). Sus flores son diminutas, de color blanco o amarillento y aparecen en espigas. Como planta suculenta, retiene agua en sus hojas, lo que reduce la necesidad de riegos frecuentes. Prefiere suelos húmedos y bien drenados, junto con un clima cálido y constante (Valarezo et al., 2023). En Ecuador, donde también se le conoce como *Peperomia congona*, crece en la región andina a alturas de 1500 a 3500 metros sobre el nivel del mar, especialmente en las provincias de Azuay, Cañar, Carchi y Chimborazo. Comúnmente llamada “congona”, “pataku yuyu”, “congonilla” y “cuncuna”, esta planta tiene diversos usos. En la medicina tradicional, se usa el jugo de sus hojas y el líquido caliente de su tallo para aliviar el dolor de oído y la sordera. Además, la infusión de sus hojas se ingiere para tratar problemas cardíacos. También se emplea como estimulante cardíaco y para tratar dolores de cabeza, esterilidad, cólicos menstruales, complicaciones posparto, y problemas renales y hepáticos (Valarezo et al., 2023).

### **Obtención y composición química del aceite *P. inaequalifolia*.**

La composición química de los metabolitos secundarios fijos y volátiles de *Peperomia inaequalifolia* no se conoce bien y hay pocos estudios disponibles que informen sobre los compuestos químicos específicos presentes en esta especie. Sin embargo, algunas especies de *Peperomia* contienen varios compuestos, incluidos alcaloides, flavonoides, taninos y ácidos orgánicos (Valarezo et al., 2023).

Valarezo (2023), determinó la composición química cualitativa y cuantitativa del aceite *Peperomia inaequalifolia* a través de la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) y cromatografía de gases con detector de ionización de llama (GC-FID) (Tabla 5); además determinó que dicho aceite mostró una actividad antioxidante considerable, según los métodos DPPH y ABTS, y una actividad antimicrobiana moderada contra varias bacterias tanto Gram-positivas como Gram-negativas. De igual manera, identificó una actividad anticolinesterasa moderada, lo que podría indicar potenciales aplicaciones terapéuticas en enfermedades neurodegenerativas (Valarezo et al., 2023).

**Tabla 5.** Composición química del aceite esencial *P. inaequalifolia*.

<b>Componente</b>	<b>Porcentaje</b>
Elemicina	27.44%
Bisabolol	17.76%
Misticina	15.45%
Viridifloreno	6.81%
Safrol	6.68%
Eugenol metílico	6.22%

De dicha composición se destaca el Bisabolol, conocido como  $\alpha$ -bisabolol o alfa-bisabolol, es un compuesto químico orgánico presente naturalmente en varias plantas, siendo el más conocido la manzanilla alemana (*Chamomilla recutita*). Este componente es un alcohol sesquiterpénico ampliamente reconocido por sus propiedades antiinflamatorias, cicatrizantes, antimicrobianos y antioxidantes (Lopes et al., 2024). Estudios han sugerido que el bisabolol puede ser efectivo contra las formas del parásito *Leishmania*, el agente causante de la leishmaniasis. Se ha investigado por su capacidad para afectar la integridad de la membrana del parásito o interferir con su metabolismo energético, lo que lleva a la muerte del parásito (Perin et al., 2023). Así mismo, destaca que, además del  $\alpha$ -bisabolol, el  $\beta$ -cariofileno también podría desempeñar un papel crucial como compuesto activo en el aceite esencial, debido a su actividad contra la leishmaniasis. Sus propiedades antiinflamatorias, antibacterianas y antifúngicas contribuyen potencialmente a su eficacia contra esta enfermedad.

## **HERRAMIENTAS COMPUTACIONALES Y DE INTELIGENCIA ARTIFICIAL EN LA INVESTIGACIÓN**

La investigación científica ha experimentado un notable avance gracias a la integración de herramientas computacionales y técnicas de inteligencia artificial, permitiendo una exploración más profunda y precisa de compuestos bioactivos. En el contexto de la caracterización de principios activos del aceite de *Peperomia inaequalifolia*, estas tecnologías emergentes juegan un papel crucial. Las herramientas computacionales, como el modelado molecular y las simulaciones de dinámica molecular, permiten predecir y visualizar las interacciones entre los componentes del aceite esencial y las proteínas de *Leishmania spp.*, facilitando la identificación de compuestos con potencial actividad antimicrobiana. Además, la inteligencia artificial, a través de algoritmos de aprendizaje automático y redes neuronales, optimiza el análisis de grandes volúmenes de datos biológicos y químicos, mejorando la precisión en la predicción de la citotoxicidad y la eficacia antimicrobiana. Así, la aplicación de estas tecnologías no solo acelera el proceso de descubrimiento de nuevos fármacos, sino que también incrementa la probabilidad de éxito en el desarrollo de tratamientos efectivos y seguros contra enfermedades infecciosas como la leishmaniasis.

En los últimos años, se han aplicado diversas herramientas de inteligencia artificial para predecir compuestos activos antiparasitarios con gran éxito. Técnicas de machine learning, como Random Forest y Support Vector Machines, han sido utilizadas para identificar inhibidores de *Leishmania major* (Kharb et al., 2020). Además, redes neuronales profundas han mostrado ser efectivas en la predicción de compuestos antimaláricos (Zhu et al., 2021). Las redes neuronales artificiales también se han empleado en la identificación de inhibidores de *Trypanosoma cruzi*, demostrando alta precisión en la detección de compuestos con actividad trypanocida (Rodríguez et al., 2019). Así mismo, algoritmos específicos como gradient boosting y XGBoost han sido aplicados para predecir fármacos antiparasitarios con resultados prometedores (Singh et al., 2022). Estas herramientas de inteligencia artificial están revolucionando el proceso de descubrimiento de fármacos, permitiendo la identificación rápida y precisa de nuevos compuestos con potencial actividad antiparasitaria.

En este contexto, el tamizaje bioinformático se ha consolidado como una herramienta invaluable para la identificación y evaluación de nuevos compuestos con potencial actividad antimicrobiana y antiparasitaria. Mediante el uso de bases de datos moleculares y algoritmos avanzados, es posible realizar un cribado virtual de miles de moléculas en un tiempo significativamente menor que los métodos tradicionales. Esta técnica permite predecir no solo la afinidad de los compuestos por sus dianas biológicas, sino también su toxicidad y posibles efectos secundarios, mejorando la eficiencia del proceso de descubrimiento de fármacos. En el caso del aceite de *Peperomia inaequalifolia*, el tamizaje bioinformático facilita la identificación de principios activos con alta probabilidad de éxito en el combate contra *Leishmania spp.* y la minimización de efectos citotóxicos adversos. Las perspectivas futuras de esta metodología apuntan hacia una integración aún más estrecha con la inteligencia artificial, permitiendo la generación de modelos predictivos más precisos y personalizados que consideren la variabilidad genética de las poblaciones patógenas y humanas, optimizando así el desarrollo de tratamientos antimicrobianos y antiparasitarios más efectivos y seguros.

---

### **2. HIPÓTESIS GENERAL DE TRABAJO, Hipótesis específicas. (razonamiento y afirmación que da respuesta al problema y a las preguntas de investigación)**

---

### **Hipótesis General:**

Se postula que el aceite esencial de *Peperomia inaequalifolia* posee compuestos bioactivos con actividad antimicrobiana específica contra el parásito *Leishmania* spp. La identificación y caracterización de estos compuestos mediante técnicas avanzadas de inteligencia artificial permitirá evaluar su citotoxicidad y potencial terapéutico de manera eficiente y precisa.

### **Hipótesis Específicas:**

1. Los compuestos bioactivos aislados del aceite esencial de *Peperomia inaequalifolia* serán capaces de inhibir el crecimiento de *Leishmania* spp., demostrando su potencial como agentes antimicrobianos.
2. La aplicación de técnicas avanzadas de inteligencia artificial facilitará la identificación precisa y rápida de los compuestos bioactivos presentes en el aceite esencial de *Peperomia inaequalifolia*.
3. Los compuestos bioactivos identificados a partir del aceite esencial presentarán baja citotoxicidad cuando se prueben en células humanas no infectadas, indicando su seguridad potencial para aplicaciones terapéuticas.
4. Los compuestos bioactivos demostrarán un mayor potencial terapéutico en el tratamiento de la leishmaniasis en comparación con los tratamientos convencionales, proporcionando una alternativa efectiva y segura para el manejo de esta enfermedad.

### **3. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN (GENERAL Y ESPECÍFICOS)**

#### **Objetivo General:**

Evaluar la capacidad antimicrobiana y la citotoxicidad de los principios activos del aceite esencial de *Peperomia inaequalifolia* frente a *Leishmania* spp, mediante herramientas computacionales y técnicas de inteligencia artificial, para el desarrollo de nuevos tratamientos terapéuticos eficaces y seguros contra la leishmaniasis.

#### **Objetivos específicos:**

- Identificar y caracterizar los compuestos químicos presentes en el aceite esencial de *Peperomia inaequalifolia* mediante técnicas de quimioinformática.
- Evaluar el potencial antimicrobiano de los compuestos identificados contra *Leishmania* spp. utilizando modelos de docking molecular.
- Determinar la citotoxicidad de los compuestos mediante modelos predictivos basados en herramientas de inteligencia artificial.
- Validar los resultados obtenidos a través de simulaciones y análisis *in silico*.

---

### **4. METODOLOGÍA (ÁREA DE TRABAJO, MATERIALES Y MÉTODOS: INCLUYE DISEÑO MUESTRAL/EXPERIMENTAL, ANÁLISIS ESTADÍSTICOS Y OTROS)**

---

#### **TIPO DE ESTUDIO.**

El presente estudio es de tipo *in silico* ya que emplea herramientas computacionales y técnicas de inteligencia artificial para llevar a cabo la identificación, caracterización y evaluación de compuestos bioactivos presentes en el aceite esencial de *Peperomia inaequalifolia*.

## DISEÑO EXPERIMENTAL ASOCIADO A LA INVESTIGACIÓN.

### 1. IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE COMPUESTOS

#### 1.1 Recolección de datos.

- Ingresar a PubChem para poder obtener datos químicos del aceite esencial de *Peperomia inaequalifoliade*.
- Descargar las estructuras químicas, nombres, y propiedades básicas de los compuestos identificados. Los datos deben ser obtenidos en los siguientes formatos:  
**SDF (Structure-Data File):** Para las estructuras químicas.  
**CSV (Comma-Separated Values):** Para las propiedades básicas y nombres de los compuestos.

#### 1.2 Quimioinformática

- A continuación ingresar los datos descargados en la herramienta quimioinformática OpenBabel para convertir las estructuras químicas a formatos compatibles necesarios para el análisis posterior.

**Para SwissADME:** Convertir a **SMILES**.

**Para PyMOL:** Convertir a **MOL2**.

#### 1.3 Análisis De Propiedades

- Posteriormente acceder a SwissADME para determinar propiedades fisicoquímicas (peso molecular, logP, número de aceptores y donadores de puentes de hidrógeno) y farmacológicas (Absorción, Distribución, Metabolismo, Excreción y Toxicidad) de las diferentes estructuras químicas.  
**Formato de Datos:** SwissADME acepta datos en formato SMILES.

#### 1.4 Análisis Estructural

- A continuación ingresar en PyMOL para poder visualizar las estructuras moleculares y así poder realizar el análisis estructural básico de cada uno de los compuestos.  
**Formato de Datos:** PyMOL acepta datos en formato MOL2.

### 2. EVALUACIÓN ANTIMICROBIANA CONTRA *LEISHMANIA SPP.*

#### 2.1 Preparación de la Proteína Diana

- **Descarga de Datos:** Posteriormente descargar las estructuras cristalinas de proteínas diana de *Leishmania* desde la base de datos PDB (Protein Data Bank).

**Formato de Datos:** Las estructuras cristalinas deben descargarse en formato **PDB (Protein Data Bank)**. Este formato es ampliamente utilizado y compatible con diversas herramientas de modelado molecular y docking.

- Una vez descargadas las estructuras cristalinas de la base de datos PDB, ingresar los datos obtenidos en AutoDockTools para preparar las proteínas, eliminando agua y añadiendo hidrógenos necesarios.

## 2.2 Docking Molecular

- Configurar parámetros de docking en AutoDock Vina, definiendo la caja de búsqueda y otros parámetros relevantes como el número de modos de acoplamiento a explorar, el número de iteraciones, y la precisión de las simulaciones para optimizar los resultados del acoplamiento.
- Realizar el docking molecular para cada compuesto contra las proteínas diana.
- Evaluar las energías de afinidad y seleccionar los complejos compuestos-proteína con mejor afinidad.

## 3. EVALUACIÓN DE CITOTOXICIDAD

### 3.1 Desarrollo de Modelos Predictivos

- Ingresar a la base de datos ChEMBL para obtener conjuntos de datos de citotoxicidad.

**Formato de Datos:** Los datos obtenidos de ChEMBL se encuentran generalmente en formato **CSV (Comma-Separated Values)**, que es adecuado para su procesamiento en herramientas de machine learning.

- A continuación preprocesar los datos obtenidos, normalizando y seleccionando características relevantes para el modelo.

**Normalización:** Ajustar los valores de las características a una escala común.

**Selección de Características:** Identificar y seleccionar las características más relevantes para el modelo predictivo.

- **Desarrollo y Entrenamiento de Modelos:** Desarrollar y entrenar modelos de aprendizaje automático (machine learning) utilizando Python y bibliotecas como Scikit-learn y TensorFlow.

#### **Distribución de Datos:**

- **Training Set (Conjunto de Entrenamiento):** Utilizar el 80% de los datos para entrenar el modelo.
- **Test Set (Conjunto de Prueba):** Utilizar el 20% de los datos para evaluar el rendimiento del modelo.

### 3.2 Validación del modelo.

- Aplicar métodos de validación cruzada para evaluar el desempeño del modelo predictivo.
- Seleccionar el mejor modelo basado en métricas como precisión, sensibilidad y especificidad.

## 4. SIMULACIONES Y ANÁLISIS *in silico*

### 1.1 Simulaciones de Dinámica Molecular

- Configurar los sistemas de simulación con los complejos compuestos-proteína seleccionados.
- Realizar simulaciones de dinámica molecular utilizando GROMACS para evaluar la estabilidad y comportamiento dinámico de los complejos.
- Analizar las trayectorias de simulación para estudiar interacciones clave y conformaciones estables.

### 1.2 Análisis de Resultados:

Integrar y analizar los datos obtenidos para generar un perfil detallado de los compuestos más prometedores.

A continuación se presenta el siguiente diagrama de flujo en cual se detalla la metodología de manera mas detallada para la identificación y evaluación de compuestos bioactivos del aceite esencial de *Peperomia inaequalifolia* con potencial actividad antimicrobiana contra *Leishmania* spp. El proceso abarca desde la recolección y conversión de datos químicos, el análisis de propiedades fisicoquímicas y farmacológicas, hasta la visualización estructural, evaluación antimicrobiana y análisis de citotoxicidad mediante técnicas avanzadas de quimioinformática y aprendizaje automático. Este enfoque integral asegura una evaluación robusta y precisa de los compuestos prometedores.

DIAGRAMA 1. Flujo de trabajo (metodología)

- 1. Recolección de Datos
  - Ingresar a PubChem
    - Descargar datos en formato SDF y CSV
  - Convertir formatos con OpenBabel
    - Entrada: SDF
    - Salida: SMILES, MOL2
- 2. Quimioinformática
  - SwissADME
    - Entrada: SMILES
    - Salida: Propiedades Fisicoquímicas y Farmacológicas (CSV)
  - PyMOL
    - Entrada: MOL2
    - Salida: Visualización de Estructuras (Gráficos, PDB)
- 3. Evaluación Antimicrobiana contra *Leishmania* spp.
  - Preparación de la Proteína Diana
    - Descargar datos de PDB en formato PDB
    - Preparar proteínas con AutoDockTools
      - Entrada: PDB
      - Salida: Proteínas Preparadas (PDB)
  - Docking Molecular
    - Configurar parámetros en AutoDock Vina



- 4. Evaluación de Citotoxicidad
  - Desarrollo de Modelos Predictivos
    - Obtener datos de ChEMBL en formato CSV
    - Preprocesar datos
      - Normalización y Selección de Características (CSV)
    - Entrenamiento de Modelos con Scikit-learn y TensorFlow
      - Entrada: CSV
      - Salida: Modelos Entrenados (Modelos Binarios)
  - Validación del Modelo
    - Aplicar Validación Cruzada
      - Entrada: Modelos Binarios
      - Salida: Métricas de Desempeño (Precisión, Sensibilidad, Especificidad, CSV)
- 5. Análisis de Resultados
  - Integrar y analizar datos para generar perfiles detallados
    - Entrada: Todos los datos procesados y resultados (CSV, PDB, Gráficos)
    - Salida: Perfil Detallado de Compuestos Prometedores (Informe).

En el contexto del presente proyecto, además de las herramientas ya implementadas, es posible considerar el uso de alternativas de software libre como DeepChem y KNIME. DeepChem, con su enfoque especializado en química computacional y biología, permite aplicar técnicas avanzadas de machine learning para desarrollar modelos predictivos personalizados, facilitando la identificación de nuevos compuestos bioactivos basados en estructuras químicas conocidas. Por otro lado, KNIME ofrece una plataforma versátil de análisis de datos que puede integrarse con herramientas de machine learning y quimioinformática, permitiendo realizar análisis complejos y crear flujos de trabajo automatizados de manera visual. Estas herramientas no solo complementan las metodologías actuales, sino que también amplían las posibilidades de análisis y descubrimiento en el proyecto, garantizando un enfoque más robusto y accesible.

## H. PLAN DE TRABAJO

El siguiente cronograma de trabajo contempla todas las actividades específicas que se llevarán a cabo en el contexto de este proyecto de investigación para cumplir los objetivos establecidos. Este cronograma constituye una guía clara sobre cómo se desarrollará el estudio a través del tiempo.

<b>PLAN DE TRABAJO</b>	
<b>OBJETIVO:</b> Identificar y caracterizar los compuestos químicos presentes en el aceite esencial de <i>Peperomia inaequalifolia</i> mediante técnicas de quimioinformática.	
<i>MESES</i>	<i>ACTIVIDADES</i>
	Antes de llevar a cabo el proyecto se deberá tener dos semanas de capacitaciones sobre el uso de los programas a utilizar para evitar tener resultados erróneos.

1 MES	Descargar las estructuras químicas, nombres, y propiedades básicas de los compuestos identificados de la base de datos PubChem.
	Ingresar los datos descargados en la herramienta quimioinformática OpenBabel para convertir las estructuras químicas a formatos compatibles para el análisis.
	Determinar propiedades fisicoquímicas (peso molecular, logP, número de aceptores y donadores de puentes de hidrógeno) y farmacológicas (Absorción, Distribución, Metabolismo, Excreción y Toxicidad) de cada uno de los compuestos del aceite haciendo uso de la herramienta computacional SwissADME.
	Ingresar en PyMOL para poder visualizar las estructuras moleculares para poder realizar el análisis estructurales básicos de los compuestos.
<b>OBJETIVO:</b> Evaluar el potencial antimicrobiano de los compuestos identificados contra <i>Leishmania</i> utilizando modelos de docking molecular.	
MESES	ACTIVIDADES
2 MESES	Descargar las estructuras cristalinas de proteínas diana de <i>Leishmania</i> desde la base de datos PDB (Protein Data Bank).
	Ingresar los datos obtenidos en AutoDockTools para preparar las proteínas, eliminando agua y añadiendo hidrógenos necesarios.
	Realizar el docking molecular para cada compuesto contra las proteínas diana.
<b>OBJETIVO:</b> Determinar la citotoxicidad de los compuestos mediante modelos predictivos basados en inteligencia artificial	
MESES	ACTIVIDADES
2 MESES	Desarrollar y entrenar modelos de aprendizaje automático (machine learning) utilizando Python y bibliotecas como Scikit-learn y TensorFlow.
	Validar los modelos predictivos utilizando conjuntos de datos externos y métodos de validación cruzada.
<b>OBJETIVO:</b> Validar los resultados obtenidos a través de simulaciones y análisis <i>in silico</i> .	
MESES	ACTIVIDADES
2 MES	Realizar simulaciones de dinámica molecular utilizando GROMACS para evaluar la estabilidad de los complejos compuestos-proteína.
	Analizar los datos obtenidos para generar un perfil detallado de los compuestos más prometedores
	Redactar el proyecto en base a los resultados obtenidos.

**Tabla 6.** Cronograma de trabajo.

Actividades	Mes 1	Mes 2	Mes 3	Mes 4	Mes 5	Mes 6	Mes 7
Capacitaciones sobre el manejo de las herramientas computacionales a utilizar	X						
Descargar estructuras químicas y propiedades básicas	X						
Ingresar datos en OpenBabel para conversión	X						
Determinar propiedades fisicoquímicas y farmacológicas	X						
Ingresar en PyMOL para visualización	X						
Descargar estructuras cristalinas de proteínas diana		X	X				
Preparar proteínas en AutoDockTools		X	X				
Realizar docking molecular		X	X				
Desarrollar y entrenar modelos de machine learning				X	X		
Validar modelos predictivos				X	X		
Realizar simulaciones de dinámica molecular						X	X
Analizar datos y generar perfil						X	X
Redactar proyecto							X

## I. RESULTADOS ESPERADOS

Una vez obtenidos los resultados de las diversas herramientas computacionales empleadas en el estudio, se espera obtener los siguientes tipos de resultados:

### 1. Identificación y Caracterización de Compuestos (Quimioinformática)

- Un listado de los compuestos químicos presentes en el aceite esencial de *Peperomia inaequalifolia*.
- Datos sobre las propiedades moleculares de estos compuestos, tales como peso molecular, logP, número de donadores y aceptores de hidrógeno, entre otros.
- Información sobre la absorción, distribución, metabolismo, excreción y toxicidad (ADMET) de los compuestos, predicha por herramientas como SwissADME y admetSAR.

### 2. Evaluación Antimicrobiana (Docking Molecular)

- Valores de energía de afinidad (kcal/mol) de los compuestos cuando se unen a las proteínas diana de *Leishmania*, obtenidos mediante AutoDock Vina.
- Visualización de las mejores conformaciones de los compuestos dentro del sitio activo de las proteínas diana.
- Una clasificación de los compuestos según su potencial antimicrobiano basado en sus energías de unión y estabilidad de las poses.

### 3. Evaluación de Citotoxicidad (Modelos Predictivos)

- Datos de descriptores moleculares generados por RDKit para cada compuesto.
- Modelos de machine learning (Random Forest, SVM, redes neuronales) entrenados para predecir la citotoxicidad de los compuestos.
- Valores de error cuadrático medio (MSE), coeficiente de determinación ( $R^2$ ) y otras métricas de evaluación del desempeño de los modelos.
- Valores predichos de citotoxicidad (e.g., IC50, EC50) para cada compuesto.

Basado en la propuesta de investigación, se espera que la comprobación *in vitro* arroje los siguientes resultados al validar los datos obtenidos *in silico*:

### Evaluación de la Eficacia Antileishmanial de los Compuestos

- Se espera que los compuestos activos identificados del aceite esencial de *Peperomia inaequalifolia* muestren una inhibición significativa del crecimiento de *Leishmania spp.* en cultivos *in vitro*. Estos resultados validarían las predicciones *in silico* sobre el potencial antimicrobiano de los compuestos, especialmente contra las formas amastigotes del parásito.
- Se podrían observar efectos específicos como la alteración de la integridad de la membrana del parásito, la inhibición de enzimas vitales o la interrupción de la síntesis de ADN y proteínas, lo que llevaría a la muerte celular del parásito.

### ***Evaluación de la Citotoxicidad***

- Los ensayos de citotoxicidad realizados en líneas celulares humanas deberán mostrar que los compuestos activos tienen baja toxicidad en células humanas no infectadas. Esto confirmaría un perfil de seguridad favorable, esencial para el desarrollo de terapias seguras y eficaces.
- Se espera que los valores de IC50 obtenidos en estos ensayos indiquen una alta selectividad de los compuestos para el parásito en comparación con las células humanas, lo que sugiere un potencial terapéutico sin efectos adversos significativos.

### **Integración de Resultados y Conclusiones**

Una vez obtenidos estos resultados, se pueden integrar para extraer conclusiones relevantes:

- 1. Perfil Químico y Farmacológico:**
  - Identificación de los principales compuestos activos del aceite esencial y sus propiedades fisicoquímicas y farmacológicas.
- 2. Potencial Antimicrobiano:**
  - Selección de los compuestos con mayor afinidad de unión a las proteínas diana de *Leishmania*, sugiriendo su potencial como agentes antimicrobianos.
- 3. Seguridad y Citotoxicidad:**
  - Evaluación de la seguridad de los compuestos mediante predicciones de citotoxicidad, identificando aquellos que presentan un perfil favorable (alta efectividad contra *Leishmania* y baja citotoxicidad en células humanas).

### **Correlación y Validación de Resultados In Silico**

- Los resultados experimentales deberían correlacionarse bien con las predicciones *in silico*, validando así la metodología computacional utilizada para predecir la actividad biológica y la seguridad de los compuestos.
- La validación experimental fortalecería la hipótesis de que los compuestos identificados son candidatos prometedores para el desarrollo de nuevos tratamientos para la leishmaniasis.

### **J. PARTICIPACIÓN DE PARTES INTERESADAS (STAKEHOLDERS)**

Internos	Director de Tesis	Coordinador
	Docentes investigadores	

	Estudiantes de posgrado en ciencias de la salud o biotecnología o biomedicina.	
Este enfoque colaborativo no solo enriquecerá la investigación, sino que también garantizará un abordaje más integral y multidisciplinario del problema, aumentando las probabilidades de éxito y de generar resultados que sean tanto innovadores como clínicamente relevantes.		
Externos	Proveedores de insumos para llevar a cabo el experimento.	Beneficiarios
	Farmacéuticas que brindan la medicación a Unidades médicas.	Beneficiarios
	Pacientes que padecen este tipo de enfermedades.	Beneficiarios

### **K. POTENCIAL DE COMERCIALIZACIÓN**

Este proyecto de investigación posee un notable potencial de comercialización debido a varias ventajas inherentes a los aceites esenciales. En general, estos productos suelen presentar menos efectos secundarios y poseen perfiles de seguridad relativamente favorables, lo cual es una característica apreciada en la industria farmacéutica y por los consumidores. Adicionalmente, existe una creciente tendencia hacia el uso de tratamientos naturales y sostenibles, lo cual incrementa el atractivo del aceite de *Peperomia inaequalifolia* en el mercado.

La relevancia de este aceite esencial es particularmente significativa en regiones donde la leishmaniasis es endémica. En estas áreas, los tratamientos actuales pueden ser limitados o enfrentarse a problemas de resistencia farmacológica, lo que subraya la necesidad urgente de alternativas terapéuticas. Este aceite con su potencial actividad antimicrobiana y perfil de seguridad, podría llenar este vacío terapéutico.

Además, la implementación de este tratamiento podría contribuir a una estrategia de manejo integral de la leishmaniasis, ofreciendo una opción más natural y posiblemente menos tóxica en comparación con los fármacos convencionales. Este enfoque no solo responde a la demanda del mercado por productos naturales, sino que también puede reducir el impacto ambiental asociado a la producción y uso de medicamentos sintéticos.

En resumen, el desarrollo y comercialización del aceite esencial mencionado no solo tiene el potencial de proporcionar una alternativa terapéutica efectiva y segura contra la leishmaniasis, sino que también se alinea con las tendencias actuales hacia tratamientos más naturales y sostenibles, abriendo así un nicho favorable en el mercado global de productos farmacéuticos y de cuidado de la salud.

## L. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS (APA):

---

- Akhoundi, M., Downing, T., Votýpka, J., Kuhls, K., Lukeš, J., Cannet, A., Ravel, C., Marty, P., Delaunay, P., Kasbari, M., Granouillac, B., Gradoni, L., & Sereno, D. (2017). Leishmania infections: Molecular targets and diagnosis. In *Molecular Aspects of Medicine* (Vol. 57, pp. 1–29). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2016.11.012>
- Alarcón, J. S. (2019). *ARTÍCULO ORIGINAL Características de las plantas medicinales comercializadas en diferentes mercados de Lima Metropolitana y sus efectos sobre el medio ambiente y la salud pública Characteristics of medicinal plants traded in different popular markets of L.* 63–69.
- Alcolea, P. J., Alonso, A., Molina, R., Jiménez, M., Myler, P. J., & Larraga, V. (2019). Functional genomics in sand fly-derived Leishmania promastigotes. In *PLoS Neglected Tropical Diseases* (Vol. 13, Issue 5). Public Library of Science. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007288>
- Alizadeh, Z., Shirzadi, M. R., Hassanpour, G. R., Keshavarz, H., Mohebali, F., Eskandari, S. E., Zeinali, M., Shirmohammad, S., & Mohebali, M. (2023). *Field Efficacy of Topical Nano-Liposomal Amphotericin B (Sina Ampholeish®) Alone or in Combination with Glucantime® and Cryotherapy on Human Cutaneous Leishmaniasis* (Vol. 18, Issue 4). <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>
- Almeida, A. P. M. M., Machado, L. F. M., Doro, D., Nascimento, F. C., Damasceno, L., Gazzinelli, R. T., Fernandes, A. P., & Junqueira, C. (2018). New vaccine formulations containing a modified version of the amastigote 2 antigen and the non-virulent trypanosoma cruzi CL-14 strain are highly antigenic and protective against Leishmania infantum challenge. *Frontiers in Immunology*, 9(MAR). <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00465>
- Almeida, F. S., Vanderley, S. E. R., Comberlang, F. C., Andrade, A. G. de, Cavalcante-Silva, L. H. A., Silva, E. dos S., Palmeira, P. H. de S., Amaral, I. P. G. do, & Keesen, T. S. L. (2023). Leishmaniasis: Immune Cells Crosstalk in Macrophage Polarization. *Tropical Medicine and Infectious Disease 2023*, Vol. 8, Page 276, 8(5), 276. <https://doi.org/10.3390/TROPICALMED8050276>
- Arenas, R., Torres-Guerrero, E., Quintanilla-Cedillo, M. R., & Ruiz-Esmenjaud, J. (2017). Leishmaniasis: A review. *F1000Research*, 6(May), 1–15. <https://doi.org/10.12688/f1000research.11120.1>
- Bharadava, K., Upadhyay, T. K., Kaushal, R. S., Ahmad, I., Alraey, Y., Siddiqui, S., & Saeed, M. (2023). Genomic Insight of Leishmania Parasite: In-Depth Review of Drug Resistance Mechanisms and Genetic Mutations. In *ACS Omega*. American Chemical Society. <https://doi.org/10.1021/acsomega.3c09400>
- Bosch-Nicolau, P., Ubals, M., Salvador, F., Sánchez-Montalvá, A., Aparicio, G., Erra, A., De Salazar, P. M., Sulleiro, E., & Molina, I. (2019). Leishmaniasis and tumor necrosis factor alpha antagonists in the Mediterranean basin. A switch in clinical expression. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 13(8). <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007708>
- Cabrera, E. R., Guzmán-Rivero, M., Verduguez-Orellana, A., & Montaña Villarroel, N. (2012). Utilidad de la prueba de Montenegro (IDRM) como herramienta para la vigilancia epidemiológica de Leishmaniasis cutánea en áreas de Bolivia donde coexiste la infección por Leishmania spp y T. cruzi Artículo Original Original Article. In *Gac Med Bol* (Vol. 35, Issue 2). <http://www.bvs.ins.gob.pe/>

- Cadena, P. A., & De La Cruz, J. (n.d.). *Leishmaniasis cutánea y mucocutánea Cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis*.
- Castro, M. D. M., Rode, J., Machado, P. R. L., Llanos-Cuentas, A., Hueb, M., Cota, G., Rojas, I. V., Orobio, Y., Sarmiento, O. O., Rojas, E., Quintero, J., Pimentel, M. I. F., Soto, J., Suprien, C., Alvarez, F., Ramos, A. P., Arantes, R. B. D. S., da Silva, R. E., Arenas, C. M., ... Alexander, N. (2023). Cutaneous leishmaniasis treatment and therapeutic outcomes in special populations: A collaborative retrospective study. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 17(1). <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0011029>
- de Vries, H. J. C., & Schallig, H. D. (2022). Cutaneous Leishmaniasis: A 2022 Updated Narrative Review into Diagnosis and Management Developments. *American Journal of Clinical Dermatology*, 23(6), 823–840. <https://doi.org/10.1007/S40257-022-00726-8>
- Elmahallawy, E. K., Sampedro Martínez, A., Rodriguez-Granger, J., Hoyos-Mallecot, Y., Agil, A., Navarro Mari, J. M., & Gutierrez Fernández, J. (2014). Diagnosis of leishmaniasis. In *Journal of Infection in Developing Countries* (Vol. 8, Issue 8, pp. 961–972). Journal of Infection in Developing Countries. <https://doi.org/10.3855/jidc.4310>
- Hashiguchi, Y., Gomez L., E. A., Cáceres, A. G., Velez, L. N., Villegas, N. V., Hashiguchi, K., Mimori, T., Uezato, H., & Kato, H. (2018). Andean cutaneous leishmaniasis (Andean-CL, uta) in Peru and Ecuador: the vector *Lutzomyia* sand flies and reservoir mammals. *Acta Tropica*, 178, 264–275. <https://doi.org/10.1016/J.ACTATROPICA.2017.12.008>
- Hashiguchi, Y., Velez, L. N., Villegas, N. V., Mimori, T., Gomez, E. A. L., & Kato, H. (2017). Leishmaniasis in Ecuador: Comprehensive review and current status. *Acta Tropica*, 166, 299–315. <https://doi.org/10.1016/J.ACTATROPICA.2016.11.039>
- Lainson, R. (2018). The Neotropical *Leishmania* species: a brief historical review of their discovery, ecology and taxonomy. *Revista Pan-Amazônica de Saúde*, 1(2). <https://doi.org/10.5123/s2176-62232010000200002>
- Linquest, L. A., Hickham, L. C., Richardson, B. J., & Hickham, P. R. (2023). Successful Treatment of Cutaneous Leishmaniasis With Cryotherapy. *Cureus*. <https://doi.org/10.7759/cureus.41871>
- Lopes, A. C. C. B., do Nascimento, J. R., Camara, M. B. P., Lima, A. da S., Lopes, G. L. N., do Nascimento, M. O., Xavier, J. K. A. M., de Jesus, C. M., Mendonça, C. de J. S., Carvalho, A. L. M., Silva, L. A., & da Rocha, C. Q. (2024). Chemical Characterization, Leishmanicidal Activity and In Vitro Cytotoxicity of the Essential Oil Extracted from *Pectis brevipedunculata* (Gardner) Sch.Bip. and Its Incorporation into Microemulsion Systems. *Pharmaceutics*, 16(1). <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics16010087>
- Ministerio de Salud Publica. (2023). *Enfermedades vectoriales*.
- Monge-Maillo, B., & López-Vélez, R. (2021). Anfotericina B liposomal en el tratamiento de la leishmaniasis visceral. In *Revista Iberoamericana de Micología* (Vol. 38, Issue 2, pp. 101–104). Asociacion Espanola de Micologia. <https://doi.org/10.1016/j.riam.2021.04.002>
- Montalvo, C. A. M., Fraga, J., & Monzote, C. L. (2012). *Diagnóstico de la leishmaniasis : de la observación microscópica del parásito a la detección del ADN Leishmaniasis diagnosis : going from microscopic observation of parasite to DNA detection*. 64(2), 108–131.
- Morales, D. V., Paredes, M., Morales-Butler, E. J., Cruz-Aponte, M., Arriola, L., Cevallos, V., Ponce, P., & Mubayi, A. (2019). Data scarcity and ecological complexity: The

- cutaneous leishmaniasis dynamics in Ecuador. *Journal of the Royal Society Interface*, 16(157). <https://doi.org/10.1098/rsif.2019.0141>
- Oryan, A., & Akbari, M. (2016). Worldwide risk factors in leishmaniasis. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 9(10), 925–932. <https://doi.org/10.1016/j.apjtm.2016.06.021>
- Perin, L. R., Parreira, L. A., Barcelos, E. C. S., Santos, M. F. C., Menini, L., Gomes, D. de O., & Careta, F. de P. (2023). In vitro effect of alpha-bisabolol and its synthetic derivatives on macrophages, promastigotes, and amastigotes of *Leishmania amazonensis* and *Leishmania infantum*. *Natural Product Research*. <https://doi.org/10.1080/14786419.2023.2288232>
- Pradhan, S., Schwartz, R. A., Patil, A., Grabbe, S., & Goldust, M. (2022a). Treatment options for leishmaniasis. In *Clinical and Experimental Dermatology* (Vol. 47, Issue 3, pp. 516–521). John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1111/ced.14919>
- Regional, O., & Las, P. (2019). Manual de procedimientos para vigilancia y control de las leishmaniasis en las Américas. In *Manual de procedimientos para vigilancia y control de las leishmaniasis en las Américas*. <https://doi.org/10.37774/9789275320631>
- Reimão, J. Q., Coser, E. M., Lee, M. R., & Coelho, A. C. (2020). Laboratory diagnosis of cutaneous and visceral leishmaniasis: Current and future methods. In *Microorganisms* (Vol. 8, Issue 11, pp. 1–30). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8111632>
- Rios JM, S. O. (2016). *REVISTA MÉDICO CIENTÍFICA [ARTÍCULO DE REVISIÓN] Ríos y Sousa*. [www.revistamedicocientifica.org](http://www.revistamedicocientifica.org).
- Santiago-Silva, K. M., Camargo, P. G., & Bispo, M. L. F. (2022). Promising Molecular Targets Related to Polyamine Biosynthesis in Drug Discovery against Leishmaniasis. *Medicinal Chemistry*, 19(1), 2–9. <https://doi.org/10.2174/1573406418666220713145446>
- Simmonds, S. E., Smith, J. F., Davidson, C., & Buerki, S. (2021). Phylogenetics and comparative plastome genomics of two of the largest genera of angiosperms, *Piper* and *Peperomia* (Piperaceae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 163, 107229. <https://doi.org/10.1016/J.YMPEV.2021.107229>
- Toalombo Espin, C. J., & Coque Procel, M. (2021). Leishmaniasis en el Ecuador: revisión bibliográfica. *Mediciencias UTA*, 5(3), 12. <https://doi.org/10.31243/mdc.uta.v5i3.1190.2021>
- Torres-Guerrero, E., & Arenas, R. (2018). Leishmaniasis. Current therapeutic alternatives. *Dermatologia Revista Mexicana*, 62(5), 400–409.
- Valarezo, E., Herrera-García, M., Astudillo-Dávila, P., Rosales-Demera, I., Jaramillo-Fierro, X., Cartuche, L., Meneses, M. A., & Morocho, V. (2023a). Study of the Chemical Composition and Biological Activity of the Essential Oil from Congona (*Peperomia inaequalifolia* Ruiz and Pav.). *Plants*, 12(7). <https://doi.org/10.3390/plants12071504>
- Vaz-Pinto, I., Gorgulho, A., Esteves, C., Guimarães, M., Castro, V., Carrodegua, A., & Medina, D. (2022). Increasing HIV early diagnosis by implementing an automated screening strategy in emergency departments. *HIV Medicine*, 23(11), 1153–1162. <https://doi.org/10.1111/hiv.13431>