

## Modulación del inflammasoma por *Leishmania*

Alma Reyna Escalona-Montaño, Diana Estefanía Domínguez-Ríos, Rodolfo Antonio Mendiola-Mejía, María Magdalena Aguirre-García\*.

Unidad de Investigación UNAM-INC, División de Investigación, Facultad de Medicina, UNAM. Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez, Ciudad de México, México, CP 14080.

### ABSTRACT

#### Modulation of the inflammasome by *Leishmania*.

Antigen-presenting cells, such as macrophages and dendritic cells, trigger signaling pathways capable of generating a great variety of effector molecules that are essential for the regulation of the immune response. In the development of leishmaniasis, the *Leishmania* parasite disrupts diverse signaling pathways in order to manipulate the host immune response with the aim of surviving and being able to establish an infection. Many reports have pointed out that different species of *Leishmania* alter such signaling pathways in a differential manner. Therefore, the current contribution undertook a review of the literature to analyze how distinct *Leishmania* species differentially modulate the canonical and non-canonical pathway of activating the inflammasome. Also examined was the role in leishmaniasis of IL-1 $\beta$  and gene polymorphisms of its gene, as well as the way in which some antileishmanial drugs modulate the inflammasome. The databases utilized for the search were PubMed, Science Direct, and Clinical Key.

#### RESUMEN

Las células presentadoras de antígeno, como los macrófagos y las células dendríticas, desencadenan vías de señalización que generan diversas moléculas efectoras importantes para la regulación de la respuesta inmune. En la leishmaniasis, el parásito *Leishmania* interrumpe diversas vías de señalización para manipular la respuesta inmune del hospedero con la finalidad de evitar ser eliminado y poder establecer una infección. Se ha descrito en muchos reportes que diferentes especies de *Leishmania* regulan dichas vías de señalización de manera diferencial. Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo fue hacer una revisión bibliográfica descriptiva para analizar cómo

#### Historial del artículo

Recibido: 21 feb 2022  
Aceptado: 16 ago 2022  
Disponible en línea: 1 ene 2023

#### Palabras clave

*Leishmania* spp., inflammasoma, IL-1 $\beta$ , IL-18

#### Keywords

*Leishmania* spp., inflammasome, IL-1 $\beta$ , IL-18

Copyright © 2023 por autores y Revista Biomédica.

Este trabajo está licenciado bajo las atribuciones de la *Creative Commons* (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

\*Autor para correspondencia:

María Magdalena Aguirre García, PhD, Unidad de Investigación UNAM-INC, División de Investigación, Facultad de Medicina, UNAM. Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez, Ciudad de México, México, CP 14080. Teléfono: (55) 5573-2911 Ext 27316 y 27317Y E-mail: [maguirre@unam.mx](mailto:maguirre@unam.mx) <https://revistabiomedica.mx>.

diferentes especies de *Leishmania* modulan la señalización del hospedero mamífero por las vías canónica y no canónica de la activación del inflamasoma. También se examina tanto el papel de la IL-1 $\beta$  y los polimorfismos del gen de IL-1 $\beta$  en la leishmaniasis, como la manera en que algunos fármacos leishmanicidas modulan el inflamasoma. Las bases de datos que se utilizaron para buscar artículos relevantes fueron Pubmed, Science Direct, y Clinical Key.

## INTRODUCCIÓN

El sistema inmune innato es la primera línea de defensa del hospedero frente a microorganismos infecciosos; se activa por los receptores de reconocimiento de patrones (PRR, por sus siglas en inglés) mediante la unión a patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP, por sus siglas en inglés) y los patrones moleculares asociados a daño (DAMP, por sus siglas en inglés) (1). Los PRR incluyen miembros de la familia de receptores tipo Toll (TLR, por sus siglas en inglés) que se expresan en la membrana plasmática y en los compartimentos endosomales. También abarcan los receptores citoplasmáticos como los tipo NOD, (NLR, por sus siglas en inglés), los receptores tipo RIG (RLR, por sus siglas en inglés) y los receptores de lectina tipo C (CLR, por sus siglas en inglés) (2).

Dentro de la familia de los receptores tipo NOD se encuentran los inflamasomas, los cuales están formados por NLR, una proteína asociada a la apoptosis (ASC, por sus siglas en inglés) y una caspasa inflamatoria (caspasa-1) (3). La activación de la proteína 3 del receptor tipo NOD (NLRP3, por sus siglas en inglés) requiere de dos señales. La primera señal “priming” ocurre tras la activación de TLR o la señalización de citocinas (p. ej. TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  e IFN- $\beta$ ). Esta primera señal promueve la regulación transcripcional de genes específicos, que conduce a la expresión de NLR y citocinas inflamatorias tales como la pro IL-1 $\beta$ , pro IL-18, pro-caspasa-1 y caspasa-11. La segunda señal está mediada por varios factores como adenosín trifosfato (ATP, por sus siglas en inglés) (4), especies reactivas de oxígeno, (ROS, por sus siglas en inglés) (5) y

el flujo de potasio (6), que permiten el ensamblaje del inflamasoma y activan la pro-caspasa-1 para transformar en caspasa-1 activa. Esta última, a su vez favorece la maduración de pro-IL-1 $\beta$  y pro-IL-18 a la IL-1 $\beta$  e IL-18, respectivamente (2). Además, potencia el rompimiento de Gasdermina D (efector molecular de la piroptosis), para liberar el fragmento N-terminal, lo cual forma poros en la membrana celular para inducir piroptosis (7).

Ya que el mecanismo de activación del inflamasoma es muy importante en la respuesta inmune, no es sorprendente que los patógenos intracelulares lo utilicen como blanco de modulación. Por lo tanto, ellos desarrollan mecanismos de inhibición de las señales antes mencionadas. En esta revisión, se describe cómo el parásito *Leishmania* participa en la modulación del inflamasoma en los macrófagos.

*Leishmania* spp. es un parásito protozoario intracelular transmitido a un hospedero mamífero por la picadura de un insecto vector del género *Lutzomyia* en el Nuevo Mundo y *Phlebotomus* en el Viejo Mundo. Es el agente causal de la enfermedad llamada leishmaniasis que es considerada por la OMS como una enfermedad tropical desatendida (8). La forma clínica más frecuente en México es la leishmaniasis cutánea (LC), cuyo agente causal principal es *Leishmania (Leishmania) mexicana* que ocasiona dos presentaciones clínicas: la leishmaniasis cutánea localizada (LCL) y la leishmaniasis cutánea difusa (LCD) (9). Se desconoce hasta el momento si los parásitos aislados de la LCD poseen diferencias moleculares que los haga ser más virulentos que los parásitos involucrados en el desarrollo de la LCL, dando lugar a formas más graves de la enfermedad (10). Aunque muchos autores han documentado que el sistema inmune del hospedero juega un papel fundamental para presentar uno u otro cuadro clínico, hasta el momento la información que existe no es clara.

Así mismo, en otras regiones de México se presentan otros cuadros clínicos de la enfermedad, por ejemplo, en el estado de Nayarit el agente causal de la leishmaniasis mucocutánea (LMC) se le atribuye a *Leishmania (Viannia) braziliensis* (11). En los estados de Guerrero y Chiapas el

agente causal de la leishmaniasis visceral (LV) se le atribuye a *Leishmania (Leishmania) infantum*. En otras regiones del sureste de México los agentes causales de la LC y LMC, son atribuidas a *Leishmania (Viannia) panamensis* y *Leishmania (Viannia) guayanensis*, respectivamente (12, 13).

### Activación canónica y no canónica del inflammasoma

#### Activación canónica.

La vía canónica consiste en cambios conformacionales del receptor NLRP3 (14), el cual está conformado por tres dominios. En la región carboxilo terminal se encuentra una secuencia repetitiva rica en leucinas (LRR, por sus siglas en inglés) que interacciona con los ligandos específicos asociados a los patógenos. El dominio de oligomerización y de unión a nucleótido (NATCH, por sus siglas en inglés), promueve la unión de nucleótidos dependientes de ATP con la región N-terminal. Esta última está conformada por una proteína que contiene un dominio de pirina N-terminal (PYD, por sus siglas en inglés), que se encarga de reclutar a la proteína asociada a ASC. Ésta a su vez interacciona con pro-caspasa-1 inactiva para activarla (15).

#### Modulación del inflammasoma por diferentes especies de *Leishmania*

Según diversas investigaciones, la infección por *Leishmania* spp. desencadena la activación del inflammasoma NLRP3 en los macrófagos para ayudar al hospedero a restringir la replicación del parásito intracelular. Sin embargo, algunas especies de *Leishmania* limitan la activación del inflammasoma en los macrófagos. Por otro lado, cuando los neutrófilos y los macrófagos no eliminan los parásitos en los tejidos, algunas especies de *Leishmania* promueven la activación sostenida del inflammasoma, provocando la generación exacerbada de IL-1 $\beta$  e inflamación. Esta condición da origen al daño tisular y agravamiento de la enfermedad (3,14).

La infección de células THP-1 con promastigotes de *L. (L.) infantum*, inhibe la expresión de genes

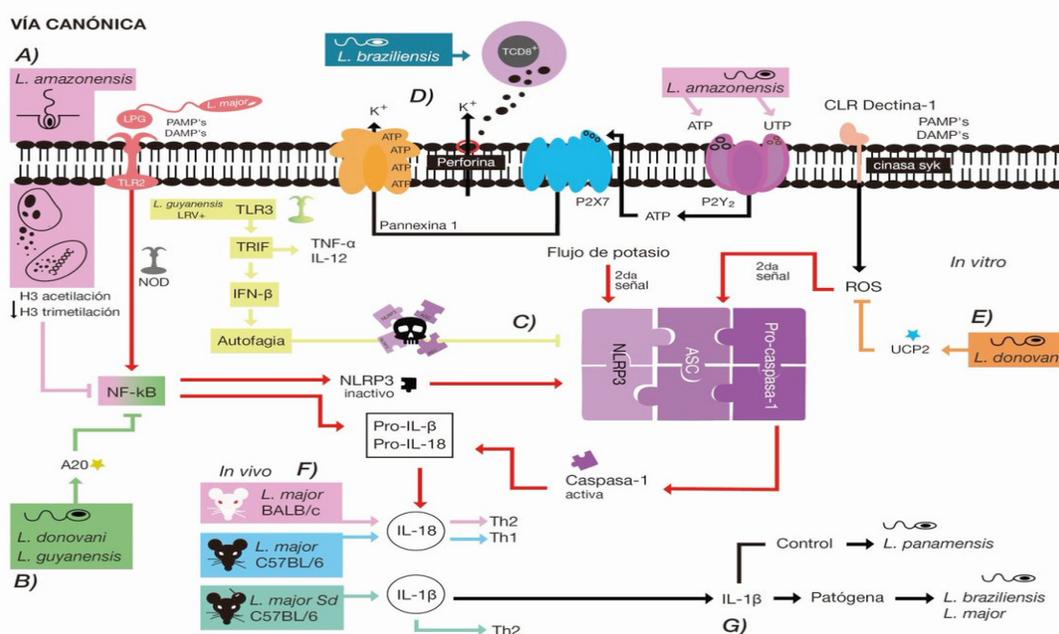
involucrados en la activación del inflammasoma, la activación de caspasa-1 y por consiguiente la producción de IL-1 $\beta$ , lo que provoca un incremento en la producción de IL-18 y una disminución de la proteína ASC. Esta combinación de efectos posiblemente refleja una estrategia del parásito para manipular el sistema inmune del hospedero con el fin de permitir su supervivencia dentro de estas células (2, 16).

Cuando los parásitos de *L. (V.) guayanensis* son infectados por un virus de ARN de doble cadena endosimbiótico perteneciente a la familia Totiviridae, denominado *Leishmania* RNA virus, (LRV, por sus siglas en inglés) (17), se observa que el ARN viral promueve la autofagia durante la infección, exacerbando la enfermedad. Adicionalmente, existe una limitada activación del inflammasoma NLRP3 en los macrófagos (3). El ARN viral es detectado por el receptor tipo Toll 3 (TLR-3, por sus siglas en inglés) (18) y la activación de éste desencadena una cascada de señalización río abajo de la proteína adaptadora que contiene el dominio TIR e induce IFN- $\beta$  (TRIF, por sus siglas en inglés) la cual induce la producción de IFN tipo I. Como resultado, se lleva a cabo la degradación de NLRP3 y ASC mediada por la proteína 5 relacionada a la autofagia (ATG5, por sus siglas en inglés) (3).

En los modelos de infección *in vitro* e *in vivo* con *Leishmania (Leishmania) amazonensis*, se ha documentado que el parásito regula negativamente el factor de transcripción  $\kappa\beta$  (NF- $\kappa\beta$ , por sus siglas en inglés) evidenciado por la reducción de la expresión de reguladores positivos de la vía NF- $\kappa\beta$  y la inactivación del inflammasoma NLRP3 en los macrófagos (19, 20). En su momento, el receptor metabotrópico acoplado a proteínas G, subtipo 2 (P2Y2, por sus siglas en inglés) y el receptor de canales iónicos, subunidad 7 (P2X7, por sus siglas en inglés) se regulan positivamente en los macrófagos por trifosfato de uridina (UTP, por sus siglas en inglés) y ATP. Consecuentemente, la liberación de ATP está potenciada a través de la activación de P2Y2, desencadenando la activación de caspasa-1 y la secreción de IL-1 $\beta$  dependiente del inflammasoma NLRP3 (4, 21).

La infección por *L. (V.) guyanensis* induce la regulación positiva de la proteína A20 en los macrófagos, involucrada en la evasión de la activación del inflamasoma (18). Por otro lado, cuando los macrófagos son infectados con *Leishmania (Leishmania) donovani* y tratados con lipolisacárido-nigericina, se inhiben tanto la translocación nuclear de NF- $\kappa$ B y NLRP3, así como la producción de pro-IL-1 $\beta$ . Esta inhibición podría atribuirse a un incremento de la expresión de la proteína A20, la cual inhibe la activación de NF- $\kappa$ B, factor de transcripción para NLRP3 y pro-IL-1 $\beta$ . Así mismo, la infección con este parásito

activa a la proteína de desacoplamiento 2 (UCP2, por sus siglas en inglés) que inhibe la pro-IL-1 $\beta$  mediada por ROS. De esta manera se bloquea la producción general de la citocina IL1 $\beta$  (5) (Figura 1). En otro ensayo de infección con *L. (L.) donovani* se reportó la disminución del ARNm de pro-caspasa-1 y la proteína caspasa, lo que dificulta la maduración de IL-1 $\beta$  y pro-IL-18. Como resultado, hubo una elevada carga parasitaria. Esto sugiere el papel de caspasa-1 como un mecanismo de defensa del hospedero durante el curso de la infección por *Leishmania* (22).



**Figura 1.** Modulación de las vías de señalización del inflamasoma canónico por diferentes especies de *Leishmania*. **A)** La transformación de los promastigotes en amastigotes induce cambios post-traduccionales en la histona H3 de los macrófagos que conduce a la inhibición del factor NF- $\kappa$ B. **B)** *L. donovani* y *L. guyanensis* inducen la expresión de la proteína A20, la cual inhibe NF- $\kappa$ B. **C)** La unión de *L. guyanensis* + *Leishmania* RNA virus al receptor TLR3 inician una señalización que resultan en la autofagia de las proteínas NLRP3 y ASC, provocando la inhibición del NLRP3. **D)** *L. amazonensis* promueve la activación de UTP y ATP. Este último se une al receptor P2X7, lo cual promueve el reclutamiento de panexina 1 y la consecuente formación de poros que ocasionan un incremento del flujo de K<sup>+</sup> extracelular. Este constituye una señal necesaria para la activación del inflamasoma. **E)** *L. donovani* promueve la expresión de la proteína UCP2, la cual inhibe la producción de ROS, una parte esencial de la segunda señal para la activación del inflamasoma. **F)** La dicotomía de la respuesta inmune durante la infección por *Leishmania* en el modelo murino. La infección de los ratones BALB/c con *L. major* causa la activación Th2 mediante la IL-18, mientras que la infección de la cepa de ratones C57BL/6 con la misma cepa desencadena una activación Th1. En la infección de los ratones C57BL/6 con *L. major* Sd, por otro lado, hay una respuesta Th2 mediada por la activación de la IL-1 $\beta$ . **G)** En la infección por *L. panamensis*, se observó que la IL-1 $\beta$  tiene una función protectora. Sin embargo, esta citocina aumenta la patogenicidad del parásito en la infección por *L. major* o *L. braziliensis*. Las vías de señalización para la activación del inflamasoma se representan con líneas rojas. Se ilustra la interrupción de estas vías que puede ocurrir debido a la infección con las diferentes especies de *Leishmania*. Fuente: elaboración propia

En ratones expuestos a *L. (V.) braziliensis*, las lesiones mostraron un incremento progresivo en la generación de IL-1 $\beta$  y NLRP3 desde la etapa temprana hasta etapas tardías de la enfermedad. Además de IL-1 $\beta$ , otras citocinas inflamatorias como IFN $\gamma$  e IL-6 fueron detectadas en niveles elevados, indicando una respuesta inflamatoria que podría desempeñar un papel fundamental en la regulación de la patogénesis de la leishmaniasis (23). Así también, estuvieron activos otros componentes de la maquinaria del inflammasoma, como la proteína inducible por interferón (AIM2, por sus siglas en inglés), proteína 1 que contiene el dominio de pirina de la familia NLR (NLRP1, por sus siglas en inglés) y al dominio CARD 5 de la familia NLR (NLRC5, por sus siglas en inglés) principalmente en la fase crónica de la infección (23). En otro estudio, se demostró un incremento de la expresión del ARNm de AIM2 en lesiones de pacientes con LMC lo cual fue asociado a la severidad de las lesiones en comparación con aquellos que presentaron leishmaniasis tegumentaria. (24).

En los pacientes con LC, se observó un incremento en la expresión del gen y de la proteína NLRP3 en los monocitos después del tratamiento con miltefosina (25), además de una reducción significativa en IL-1 $\beta$ , sugiriendo que la presencia de esta proteína está estrechamente asociada con la patología y no con la protección contra la misma (26).

La infección con *Leishmania (Leishmania) major*, en los cojinetes plantares de ratones BALB/c activó el inflammasoma NLRP3 y la posterior producción de IL-18, que promueve una respuesta Th2. Consecuentemente, hubo una reducción de IFN- $\gamma$  y un incremento en la producción de IL-4. Al contrario, en los ratones C57BL/6 infectados con este mismo parásito, la generación de IL-18 indujo una respuesta tipo Th1, conduciendo a un mayor nivel de IFN- $\gamma$  (27).

Otro reporte describió lesiones cutáneas en la oreja de ratones C57BL/6 durante la infección por la cepa *L. (L.) major Seidman (Sd)*. Éstas no cicatrizaron y se asociaron a la activación del NLRP3 y a la producción de IL-1 $\beta$ , la cual induce el reclutamiento de neutrófilos hacia el sitio de la

infección y promueve una respuesta inmune tipo Th2 (28).

En biopsias de piel de pacientes con LCL causada por *L. (V.) panamensis* se ha encontrado una mayor presencia proteica de IL-1  $\beta$ , IL-18 y caspasa-1 con respecto a un grupo control. A su vez, se ha documentado una correlación inversa entre la densidad de IL-1  $\beta$  y caspasa-1 en los amastigotes, lo que sugiere un papel protector del inflammasoma en el control de la infección por *L. (V.) panamensis* (29). En otro estudio se encontró un incremento en los niveles de las citocinas IL-1 $\beta$ , IL-6 e IL-17 en el suero de 27 pacientes con LCL, con respecto a nueve sujetos sanos, lo que sugiere la activación del inflammasoma en estos pacientes. En este mismo estudio, se detectaron niveles elevados de micro-RNA: miR-7-5p, miR-133a, miR-146b, miR-223 y miR-328-3p. El análisis computacional de los autores indicó que miR-7, miR-223, y miR-133a desempeñan un papel importante en la activación del inflammasoma. Al examinar las muestras de los pacientes, se encontró que a mayores niveles de IL-1 $\beta$ , existieron menores niveles de miR-7 y miR-223 y mayores niveles de miR-133a (30). Estos resultados sugieren que los microRNA y las citocinas juegan un papel crucial en la regulación de la respuesta inmune del hospedero ante la infección por *Leishmania*.

Por otro lado, se ha observado que la microbiota del intestino del vector juega un papel fundamental en el inicio de una respuesta proinflamatoria temprana en ratones a través de la activación del inflammasoma y la generación de IL-1 $\beta$  (31). Esta citocina es necesaria para el reclutamiento de neutrófilos en el sitio de la picadura, las cuales son células que protegen a los parásitos y favorecen la progresión de la enfermedad. De manera similar, se ha demostrado que la respuesta inflamatoria en la etapa temprana de una infección con *L. (L.) donovani* facilita los eventos posteriores que rigen la visceralización de la infección causada por estos parásitos (31).

#### Activación no canónica

A diferencia de la activación canónica, la no canónica implica la activación de caspasa-4 y

caspasa-5 en humanos y caspasa-11 en ratones (32). El LPS es la molécula que más frecuentemente está involucrada en la activación de la vía no canónica. Esto ocurre mediante el reconocimiento del TLR4, al estimular las vías de señalización citosólica dependientes del factor de diferenciación mieloide 88 (MyD88, por sus siglas en inglés) o TRIF, con la consecuente activación del NF- $\kappa$ B, las proteínas cinasas activadas por mitógenos (MAPK, por sus siglas en inglés) y los factores reguladores del interferón (IRFs, por sus siglas en inglés). Después, se secretan las citocinas inflamatorias, interferones y factores antimicrobianos (33). Sin embargo, se ha visto que el complejo proteoglicolípido P8 (P8 PGLC, por sus siglas en inglés) de *Leishmania (Leishmania) pifanoi*, se une a TLR4 e induce la secreción de las citocinas proinflamatorias y quimiocinas (34).

Las funciones llevadas a cabo posterior a la activación no canónica del inflamasoma incluyen la inducción de la piroptosis y la secreción de las citocinas IL-1 $\beta$  e IL-18 (32). La piroptosis es un proceso de muerte celular que se produce tras la activación de caspasas inflamatorias (1, 4, 5, y 11). Puede ocurrir como resultado de la activación canónica (caspasa-1) y no canónica (caspasa-4 o -5 en humanos, caspasa-11 en ratones) del inflamasoma (32). La activación de cualquiera de las caspasas inflamatorias conduce a la escisión de la Gasdermina D dejando que el dominio N-terminal (formador de poros) se disocie del dominio C-terminal autoinhibidor (35, 36). El fragmento N-terminal de la Gasdermina D se oligomeriza tras la escisión, formando poros en la membrana plasmática que facilita la liberación de las citocinas maduras (IL-1 $\beta$ ) y desencadena la lisis celular (36, 37).

La permeabilización de la membrana plasmática por efecto de la Gasdermina D permite la salida de potasio de la célula, lo que causa una señal para la activación del inflamasoma NLRP3 y la consecuente maduración de las citocinas (32, 38). Además, se ha visto implicada la producción de ROS mitocondrial dependiente de la Gasdermina D, lo que favorece la activación y señalización del inflamasoma canónico NLRP3 (7). Ya que estos

mecanismos son importantes para la generación del inflamasoma NLRP3 y piroptosis, es razonable pensar que la Gasdermina D no sólo juega un papel importante en los efectos de la activación no canónica del inflamasoma, sino que es el parteaguas para las funciones efectoras que éste tiene.

### Modulación del inflamasoma por diferentes especies de *Leishmania*

En un experimento realizado en macrófagos aislados de ratones de la cepa C57BL/6 se encontró que el lipofosfoglicano (LPG) de las especies de *L. (L) amazonensis*, *L. (L) major*, y *L. (L) donovani* causa la activación no canónica del inflamasoma NLRP3 por medio de la activación de caspasa-11, con la participación de ciertos TLR y moléculas (39). EL LPG es un glicoconjugado muy abundante en los promastigotes de *Leishmania*. Al ser reconocido por el TLR2, el LPG activa la vía de señalización a través de la proteína adaptadora MyD88 (40), así mismo se observó que el LPG de *L. (L.) major* se une al TLR2 en células NK humanas, (41). Además, fue posible documentar que los promastigotes inducen una mayor activación de caspasa-11 que los amastigotes, lo que se debe a la disminución de la síntesis de LPG en estos últimos. Aunque este glicoconjugado no promueve la activación del inflamasoma en el ámbito extracelular, si desencadena la activación de caspasa-11 al entrar al citosol del macrófago, posiblemente por medio de la liberación de exosomas del parásito *Leishmania* spp. (39).

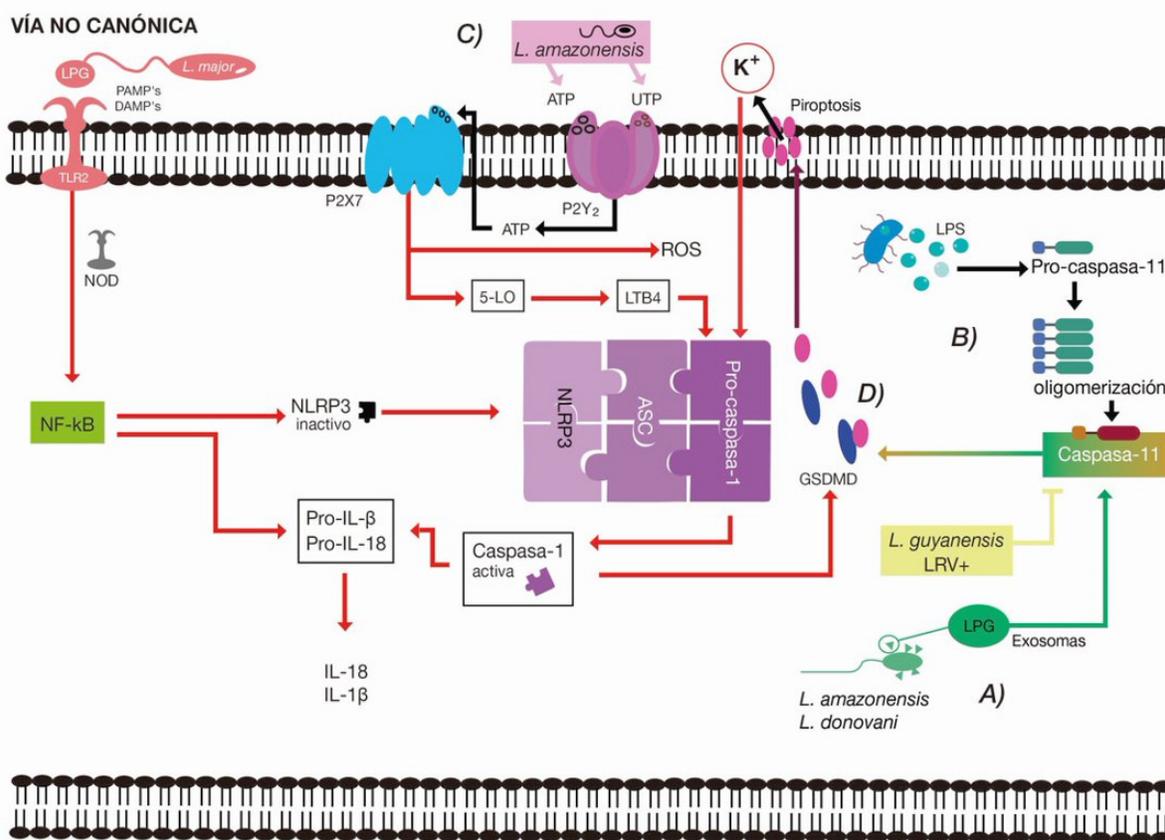
El virus endosimbiótico de ARN (LRV) de *L. (V.) guyanensis* promueve la exacerbación de la enfermedad y conduce al desarrollo de LMC. En los macrófagos murinos, se demostró *in vitro* que el LRV inhibe la activación de caspasa-11 y la liberación de IL-1 $\beta$ , evadiendo así la activación no canónica del inflamasoma. En los ratones C57BL/6 (pero no en ratones Casp11 $^{-/-}$  ni Nlrp3 $^{-/-}$ ), se observó que el LRV interfiere con la activación de caspasa-11 *in vivo* y exacerba la enfermedad (42).

Posterior al tratamiento con el leucotrieno B4 (LTB4), la actividad de este compuesto y la señalización del receptor para IL-1 $\beta$  dependieron

del inflamasoma NLRP3 en los macrófagos de ratones NLRP3<sup>-/-</sup>, ASC<sup>-/-</sup>, Casp-1/11<sup>-/-</sup> e IL-1R<sup>-/-</sup>. Además, no se redujo la carga parasitaria en estos tipos de ratones frente a *L. (L.) amazonensis*, pero sí en los ratones tratados con las moléculas antes mencionadas (43).

El control de *L. (L.) amazonensis* es dependiente de la activación del inflamasoma NLRP3 por la vía no canónica y ocurre a través del receptor P2X7 y LTB4, evidenciado por el hecho de que no se reduce la carga parasitaria en presencia de ATP o LTB4 después de la infección de los macrófagos

caspara-11 negativos. En el mismo sentido, tras el pretratamiento de ratones con inhibidores de caspara-11 y su subsecuente infección, no disminuye la carga parasitaria al exponer a los animales al ATP. Los resultados sugieren que caspara-11 es importante para el control de *L. (L.) amazonensis* a través del receptor de P2X7 y LTB4 (44). Además, en otro estudio se demostró mayor susceptibilidad a la infección por *L. (L.) amazonensis* entre los ratones deficientes en el receptor P2X7 *versus* los que si tenían este receptor (44) (Figura 2).



**Figura 2.** Modulación de las vías de señalización del inflamasoma no canónico por diferentes especies de *Leishmania*. **A)** El lipofosfoglicano es un glicoconjugado muy abundante en los promastigotes de *Leishmania*. Al ser reconocido por el TLR2, activa la vía de señalización a través de la proteína adaptadora MyD88. Estudios muestran que el LPG de *L. donovani* y *L. amazonensis* es secretado en exosomas hacia el citosol de su célula hospedera. Estas exosomas a su vez activan caspasa-11. **B)** El LPS actúa directamente sobre caspasa-11 e induce su oligomerización. **C)** *L. amazonensis* promueve la activación de UTP y ATP. Este último se une al receptor P2X7 e induce la producción de ROS y la enzima 5-LO, ocasionando la activación de LTB4. Junto con caspasa-11, LTB4 activa el inflamasoma. **D)** La gasdermina (GSDMD) es una proteína activada por caspasa-11 y caspasa-1 cuando se promueve la separación de su fragmento N-terminal. Este fragmento actúa como activador de ROS y forma poros en la membrana para inducir la piroptosis. Fuente: elaboración propia.

### IL-1 $\beta$ es un mediador importante en la leishmaniasis

La IL-1 $\beta$ , una potente citocina pro-inflamatoria, es secretada después de la activación del inflamasoma por diversos tipos de células, tales como los monocitos y los macrófagos. Aunque es bien conocido que la inflamación es un elemento importante para combatir a los patógenos, se ha observado que en exceso conduce a un aumento de la patogénesis. Por lo tanto, esta citocina puede inicialmente disminuir la infección intracelular y más tarde favorecer la carga parasitaria (45). Por ejemplo, en una investigación con macrófagos derivados de médula ósea de ratones C57BL/6, el pretratamiento con IL-1 $\beta$  indujo la inhibición del crecimiento de *L. (L.) amazonensis*. Lo anterior funcionó como un factor protector ante la infección, mientras el tratamiento con IL-1 $\beta$  durante la infección incrementó la concentración de IL-10 y condujo a un aumento en la carga parasitaria (45).

Los estudios en biopsias de pacientes infectados con *L. (L.) mexicana* y con un cuadro clínico de LCL o LCD, han evidenciado una distribución diferencial de IL-1 $\beta$ . En los pacientes con LCL, IL-1 $\beta$  se encuentra focalizada exclusivamente en las células. En tanto que en aquellos pacientes con LCD se distribuye en toda la lesión. Otra diferencia muy marcada fue la carga parasitaria, siendo mucho mayor en pacientes con LCD *versus* LCL (46). Los resultados demuestran que la IL-1 $\beta$  podría ser considerada como un factor que exacerba la enfermedad.

### Polimorfismos en los genes de la IL-1 $\beta$ e IL 18 durante la infección por *Leishmania*

Según diversos estudios, los antecedentes genéticos del hospedero y la especie de *Leishmania* desempeñan un papel clave en la aparición de las manifestaciones clínicas. También demuestran que la IL-1 $\beta$  podría ser uno de los componentes clave que interviene en la susceptibilidad o la resistencia a la infección (47).

El grupo de genes de la IL-1, incluyendo IL1 $\alpha$ , IL1 $\beta$  e IL1RN, se localiza en el cromosoma 2q. Los genes *IL1 $\alpha$*  e *IL1 $\beta$*  codifican las citocinas

proinflamatorias IL-1 $\alpha$  e IL-1 $\beta$ . Tres polimorfismos de un solo nucleótido (SNP, por sus siglas en inglés) en el gen de IL1 $\beta$  han sido implicados en la gravedad de la leishmaniasis ocasionados por *L. (V.) guyanensis*.

Los SNP de IL1  $\beta$ , -511T/C (rs16944) y +3954C/T (rs1143634) fueron analizados en pacientes con LC ocasionada por *L. (V.) guyanensis* y en sujetos control. El genotipo rs16944 C/C fue más común entre pacientes y el alelo C sugiere susceptibilidad a LC (48).

En los pacientes con leishmaniasis infectados con *L. (L.) mexicana*, el polimorfismo -551C/T se reportó como un factor de riesgo para el desarrollo de la enfermedad (46). En la población iraní, el genotipo -511CC, alelo 511C, haplotipo CC (-511/+3953) se ha asociado con la susceptibilidad de la LV, mientras que el genotipo -511 TT, alelo T y haplotipo TT (-511/+3953) puede influenciar a la resistencia en LV-(49).

La IL-18 es fundamental tanto para la inmunidad innata como para la adquirida. Al igual que la IL-1 $\beta$ , la IL-18 es secretada por la acción del inflamasoma NLRP3. La IL-18, miembro de la familia de las citocinas IL-1 $\beta$ , promueve la respuesta Th1 en sinergia con la IL-12. El gen de la IL-18 se encuentra en el cromosoma 11q23.1. Los SNPs en la región del codón rs549908 (+105 A/C) y en la región promotora rs187238 (-137 G/C) y rs1946519 (-656 G/T) del gen *IL-18* tienen importancia en la protección o resistencia al parásito *Leishmania* spp. La protección contra la LV se ha asociado significativamente con el alelo G del rs1946519 (-656 G/T). En una población iraní, el alelo T en -656 se presentó con menor frecuencia en pacientes con LV comparado con los individuos sanos (controles) y se asoció con la resistencia a la LV (49).

### Fármacos leishmanicidas que modulan el inflamasoma, la IL-1 $\beta$ , y la IL-18

La secreción descontrolada de la IL-1 $\beta$  e IL-18 mediada por inflamasomas está emergiendo como un impulsor clave implicado en diversas enfermedades, incluyendo la diabetes, la aterosclerosis, el síndrome metabólico y las enfermedades cardiovasculares y

neurodegenerativas. De igual forma, está involucrado en la proliferación o control de las infecciones causadas por microorganismos patógenos. Por lo tanto, hay interés clínico e industrial en la exploración de posibles inhibidores o moduladores del inflamasoma NLRP3 (50, 51).

Estudios recientes, *in vitro* con diferentes células e *in vivo* con distintos modelos animales de trastornos asociados con NLRP3, han reportado varios inhibidores de la vía de del inflamasoma. Mientras que algunos de estos inhibidores se enfocan directamente en la proteína NLRP3, otros se dirigen a distintos componentes y productos del inflamasoma (51). El interés por los fármacos inmunomoduladores como posibles tratamientos adyuvantes contra *Leishmania* spp. está aumentando actualmente. Aunque la inmunoestimulación podría ser una estrategia prometedora para mejorar la eficacia y/o reducir la ingesta de fármacos leishmanicidas, debe adaptarse al entorno clínico, ya que el beneficio esperado puede variar según el entorno cutáneo o visceral de la enfermedad (52).

*Calophyllum brasiliense*, una planta de las selvas tropicales de Brasil se ha utilizado en la medicina popular para el tratamiento de diversas enfermedades, incluyendo la leishmaniasis. Un extracto hidroalcohólico de *C. brasiliense* fue aplicado a los macrófagos murinos antes y después de la infección por *L. (L.) amazonensis*, causando una reducción en la expresión de la IL-1 $\beta$  e IL-18 y favoreciendo la resolución de la leishmaniasis (53). Además de ser un fármaco antifúngico, la anfotericina B posee actividad leishmanicida y es capaz de inducir la secreción de la IL-1 $\beta$  e IL-18 en los monocitos de sangre humana. Esta última citocina podría ser de interés porque es un potente inductor de IFN- $\gamma$  y podría contribuir al control de la infección por *Leishmania* spp. (54).

El octil- $\beta$ -D-galactofuranosa (Galf, por sus siglas en inglés) disminuyó de manera sorprendente la carga parasitaria en los macrófagos infectados con *L. (L.) donovani*. Según estudios en ratones infectados con este mismo parásito y tratados con Galf, hubo una sobreexpresión de IL-1 $\beta$  y otras citocinas proinflamatorias comparado con el grupo control.

Por otro lado, a nivel sistémico estas citocinas se redujeron drásticamente al final del tratamiento (52).

La miltefosina, un fármaco oral aprobado por la FDA para el tratamiento de la LC y la LV, interrumpe las vesículas lipídicas. Consecuentemente, disminuye la activación en la superficie celular de TLR4 por LPS y la inducción del ARNm en la IL-1 $\beta$ . Otro de sus mecanismos es la inhibición del ensamblaje del inflamasoma. El complejo del inflamasoma puede ser bloqueado por falta de su segunda señal de activación, debido a que la miltefosina provoca un agotamiento del colesterol que a su vez disminuye la salida de K<sup>+</sup> y las ROS de las mitocondrias (55). Es necesario evaluar nuevos compuestos para aumentar las opciones terapéuticas contra la leishmaniasis, tomando en cuenta que el inflamasoma y el conjunto de proteínas que lo componen representan un excelente blanco terapéuticos.

## CONCLUSIÓN

Se puede apreciar que *Leishmania* spp. utiliza diversas estrategias para manipular los mecanismos de la respuesta inmune de las células del hospedero; tal es el caso del inflamasoma NLRP3. Este es esencial en la maduración de la IL-18 e IL-1 $\beta$  a través de sus dos vías, la canónica y la no canónica. Se ha encontrado que la IL-1 $\beta$  tiene un papel importante en la exacerbación de la enfermedad. Por otro lado, existe la posibilidad de utilizar los fármacos que tienen un efecto sobre moléculas del inflamasoma como posible estrategia de tratamiento, tomando en cuenta que las diferentes especies del parásito participan en forma diferencial en la modulación del inflamasoma. Aunque hay algunas pistas en este sentido, es necesario seguir investigando si la respuesta diferencial observada es debida a las moléculas que posee cada especie del parásito y/o la respuesta inmune del hospedero al cual infecta.

## AGRADECIMIENTOS

A los proyectos DGAPA PAPIIT IN212422 y CONACYT 284018 financiado a MMAG. Agradecemos el apoyo a la Licenciada en diseño

Anayansi Trinidad Tahuilan Morales por la elaboración de las figuras.

## REFERENCIAS

- Kelley N, Jeltema D, Duan Y, He Y. The NLRP3 Inflammasome: An Overview of Mechanisms of Activation and Regulation. *Int J Mol Sci.* 2019 Jul 6;20(13): 3328. 1-24. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms20133328>
- Kihel A, Hammi I, Darif D, Lemrani M, Riyad M, Guessous F, et al. The different faces of the NLRP3 inflammasome in cutaneous Leishmaniasis: A review. *Cytokine.* 2021 Nov; 147:155248. 1-6. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cyto.2020.155248>
- de Carvalho RVH, Lima-Junior DS, da Silva MVG, Dilucca M, Rodrigues TS, Horta CV, et al. Leishmania RNA virus exacerbates Leishmaniasis by subverting innate immunity via TLR3-mediated NLRP3 inflammasome inhibition. *Nat Commun.* 2019 Nov 21;10(1):5273. 1-17. <http://dx.doi.org/10.1038/s41467-019-13356-2>
- Thorstenberg ML, Rangel Ferreira MV, Amorim N, Canetti C, Morrone FB, Alves Filho JC, et al. Purinergic Cooperation Between P2Y<sub>2</sub> and P2X7 Receptors Promote Cutaneous Leishmaniasis Control: Involvement of Pannexin-1 and Leukotrienes. *Front Immunol.* 2018 Jul 9;9: 1531. 1-15. <http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2018.01531>
- Gupta AK, Ghosh K, Palit S, Barua J, Das PK, Ukil A. *Leishmania donovani* inhibits inflammasome-dependent macrophage activation by exploiting the negative regulatory proteins A20 and UCP2. *FASEB J.* 2017 Nov;31(11):5087-101. <http://dx.doi.org/10.1096/fj.201700407R>
- da Costa LS, Outlioua A, Anginot A, Akarid K, Arnoult D. RNA viruses promote activation of the NLRP3 inflammasome through cytopathogenic effect-induced potassium efflux. *Cell Death Dis.* 2019 Apr 25;10(5):346. 1-15. <http://dx.doi.org/10.1038/s41419-019-1579-0>
- Platnich JM, Chung H, Lau A, Sandall CF, Bondzi-Simpson A, Chen HM, et al. Shiga Toxin/ Lipopolysaccharide Activates Caspase-4 and Gasdermin D to Trigger Mitochondrial Reactive Oxygen Species Upstream of the NLRP3 Inflammasome. *Cell Rep.* 2018 Nov 6;25(6):1525-15336.e7. <http://dx.doi.org/10.1016/j.celrep.2018.09.071>
- Burza S, Croft SL, Boelaert M. Leishmaniasis. *Lancet.* 2018 Sep 15;392(10151):951-970. [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)31204-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(18)31204-2)
- Rodríguez-Serrato MA, Salinas-Carmona MC, Limón-Flores AY. Immune response to *Leishmania mexicana*: the host-parasite relationship. *Pathog Dis.* 2020 Nov 11;78(8):ftaa060. 1-12. <http://dx.doi.org/10.1093/femspd/ftaa060>
- Wilkins-Rodríguez AA, Pérez-Torres A, Escalona-Montaña AR, Gutiérrez-Kobeh L. Differential Regulation of L-Arginine Metabolism through Arginase 1 during Infection with *Leishmania mexicana* Isolates Obtained from Patients with Localized and Diffuse Cutaneous Leishmaniasis. *Infect Immun.* 2020 Jun 22;88(7):e00963-19. <http://dx.doi.org/10.1128/IAI.00963-19>
- Sanchez-Tejeda G, Rodríguez N, Parra C, Hernandez-Montes O, Barker DC, Monroy-Ostria A. Cutaneous leishmaniasis caused by members of *Leishmania braziliensis* complex in Nayarit, state of Mexico. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 2001 96, 15–19. <https://doi.org/10.1590/S0074-02762001000100002>
- Alvar J, Vélez ID, Bern C, Herrero M, Desjeux P, Cano J, et al. Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. *PLoS ONE* 2012.7, e35671. 1-12. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0035671>
- Montalvo Alvarez AM, Nodarse JF, Goodridge IM, Fidalgo LM, Marin M, Van Der Auwera G, et al. Differentiation of *Leishmania (Viannia) panamensis* and *Leishmania (V.) guyanensis* using Bccl for hsp70 PCR-RFLP. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2010 May;104(5):364-7. <https://doi.org/10.1016/j.trstmh.2009.12.002>
- Zamboni DS, Sacks DL. Inflammasomes and *Leishmania*: in good times or bad, in sickness or in health. *Curr Opin Microbiol.* 2019 Dec;52:70-6. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mib.2019.05.005>
- de Carvalho RVH, Zamboni DS. Inflammasome Activation in Response to Intracellular Protozoan Parasites. *Trends Parasitol.* 2020 May;36(5):459-72. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pt.2020.02.006>
- Saresella M, Basilico N, Marventano I, Perego F, La Rosa F, Piancone F, et al. *Leishmania infantum* infection reduces the amyloid  $\beta_{42}$ -stimulated NLRP3 inflammasome activation. *Brain Behav Immun.* 2020 Aug;88:597-05. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbi.2020.04.058>
- Stuart KD, Weeks R, Guilbride L, Myler PJ. Molecular organization of *Leishmania* RNA virus 1. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1992 Sep 15;89(18):8596-600. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.89.18.8596>
- Hartley MA, Eren RO, Rossi M, Prevel F, Castiglioni P, Isorce N, et al. *Leishmania guyanensis* parasites block the activation of the inflammasome by inhibiting maturation of IL-1 $\beta$ . *Microb Cell.* 2018 Jan 14;5(3):137-49. <http://dx.doi.org/10.15698/mic2018.03.619>
- Lecoeur H, Prina E, Rosazza T, Kokou K, N'Diaye P, Aulner N, et al. Targeting Macrophage Histone H3 Modification as a *Leishmania* Strategy to Dampen the NF- $\kappa$ B/NLRP3-Mediated Inflammatory Response. *Cell Rep.* 2020 Feb 11;30(6):1870-82.e4. <http://dx.doi.org/10.1016/j.celrep.2020.01.030>
- Kamhawi S, Serafim TD. *Leishmania*: A Maestro in Epigenetic Manipulation of Macrophage Inflammasomes.

- Trends Parasitol. 2020 Jun;36(6):498-01. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pt.2020.04.008>
21. Thorstenberg ML, Martins MDA, Figliuolo V, Silva CLM, Savio LEB, Coutinho-Silva R. P2Y<sub>2</sub> Receptor Induces *L. amazonensis* Infection Control in a Mechanism Dependent on Caspase-1 Activation and IL-1 $\beta$  Secretion. *Mediators Inflamm.* 2020 Oct 1;2020:2545682. 1-11. <http://dx.doi.org/10.1155/2020/2545682>
  22. Saha G, Khamar BM, Singh OP, Sundar S, Dubey VK. *Leishmania donovani* evades Caspase 1 dependent host defense mechanism during infection. *Int J Biol Macromol.* 2019 Apr 1;126:392-01. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.12.185>
  23. Gupta G, Santana AKM, Gomes CM, Turatti A, Milanezi CM, Bueno Filho R, et al. Inflammasome gene expression is associated with immunopathology in human localized cutaneous leishmaniasis. *Cell Immunol.* 2019 Jul;341:103920. 1-8. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cellimm.2019.04.008>
  24. Moreira RB, Pirmez C, de Oliveira-Neto MP, Aguiar LS, Gonçalves AJS, Pereira LOR, et al. AIM2 inflammasome is associated with disease severity in tegumentary leishmaniasis caused by *Leishmania (V.) braziliensis*. *Parasite Immunol.* 2017 Jul;39(7). 1-23. <http://dx.doi.org/10.1111/pim.12435>
  25. Machado PR, Ampuero J, Guimarães LH, Villasboas L, Rocha AT, Schriefer A, et al. Miltefosine in the treatment of cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania braziliensis* in Brazil: a randomized and controlled trial. *PLoS Negl Trop Dis.* 2010 Dec 21;4(12):e912. 1-6. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0000912>
  26. Santos D, Campos TM, Saldanha M, Oliveira SC, Nascimento M, Zamboni DS, et al. IL-1 $\beta$  Production by Intermediate Monocytes Is Associated with Immunopathology in Cutaneous Leishmaniasis. *J Invest Dermatol.* 2018 May;138(5):1107-15. <http://dx.doi.org/doi:10.1016/j.jid.2017.11.029>
  27. Gurung P, Karki R, Vogel P, Watanabe M, Bix M, Lamkanfi M, et al. An NLRP3 inflammasome-triggered Th2-biased adaptive immune response promotes leishmaniasis. *J Clin Invest.* 2015 Mar 2;125(3):1329-38. <http://dx.doi.org/doi:10.1172/JCI79526>
  28. Harrington V, Gurung P. Reconciling protective and pathogenic roles of the NLRP3 inflammasome in leishmaniasis. *Immunol Rev.* 2020 Sep;297(1):53-66. <http://dx.doi.org/doi:10.1111/imr.12886>
  29. Gonzalez K, Calzada JE, Corbett CEP, Saldaña A, Laurenti MD. Involvement of the Inflammasome and Th17 Cells in Skin Lesions of Human Cutaneous Leishmaniasis. *2020:9278931.* 1-10. <http://dx.doi.org/10.1155/2020/9278931>
  30. Mendonça LSO, Santos JM, Kaneto CM, de Carvalho LD, Lima-Santos J, Augusto DG, et al. Characterization of serum cytokines and circulating microRNAs that are predicted to regulate inflammasome genes in cutaneous leishmaniasis patients. *Exp Parasitol.* 2020 Mar;210:107846. 1-10 <http://dx.doi.org/10.1016/j.exppara.2020.107846>
  31. Dey R, Joshi AB, Oliveira F, Pereira L, Guimarães-Costa AB, Serafim TD, et al. Gut Microbes Egested during Bites of Infected Sand Flies Augment Severity of Leishmaniasis via Inflammasome-Derived IL-1 $\beta$ . *Cell Host Microbe.* 2018 Jan 10;23(1):134-143.e6. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chom.2017.12.002>
  32. Platnich JM, Muruve DA. NOD-like receptors and inflammasomes: A review of their canonical and non-canonical signaling pathways. *Arch Biochem Biophys.* 2019 Jul 30;670:4-14. <http://dx.doi.org/10.1016/j.abb.2019.02.008>
  33. Downs KP, Nguyen H, Dorfleutner A, Stehlik C. An overview of the non-canonical inflammasome. *Mol Aspects Med.* 2020 Dec;76:100924. 1-13. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mam.2020.100924>
  34. Whitaker SM, Colmenares M, Pestana KG, McMahon-Pratt D. *Leishmania pifanoi* proteoglycolipid complex P8 induces macrophage cytokine production through Toll-like receptor 4. *Infect Immun.* 2008 May;76(5):2149-56. <http://dx.doi.org/10.1128/IAI.01528-07>
  35. Kuang S, Zheng J, Yang H, Li S, Duan S, Shen Y, et al. Structure insight of GSDMD reveals the basis of GSDMD autoinhibition in cell pyroptosis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2017 Oct 3;114(40):10642-47. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1708194114>
  36. Rathkey JK, Benson BL, Chirieleison SM, Yang J, Xiao TS, DUBYAK GR, et al. Live-cell visualization of gasdermin D-driven pyroptotic cell death. *J Biol Chem.* 2017 Sep 1;292(35):14649-58. <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M117.797217>
  37. Sborgi L, Rühl S, Mulvihill E, Pipercevic J, Heilig R, Stahlberg H, et al. GSDMD membrane pore formation constitutes the mechanism of pyroptotic cell death. *EMBO J.* 2016 Aug 15;35(16):1766-78. <http://dx.doi.org/10.15252/embj.201694696>
  38. Cunha LD, Silva ALN, Ribeiro JM, Mascarenhas DPA, Quirino GFS, Santos LL, et al. AIM2 Engages Active but Unprocessed Caspase-1 to Induce Noncanonical Activation of the NLRP3 Inflammasome. *Cell Rep.* 2017 Jul 25;20(4):794-05. <http://dx.doi.org/10.1016/j.celrep.2017.06.086>
  39. de Carvalho RVH, Andrade WA, Lima-Junior DS, Dilucca M, de Oliveira CV, Wang K, et al. Leishmania Lipophosphoglycan Triggers Caspase-11 and the Non-canonical Activation of the NLRP3 Inflammasome. *Cell Rep.* 2019 Jan 8;26(2):429-37.e5. <http://dx.doi.org/10.1016/j.celrep.2018.12.047>
  40. de Veer MJ, Curtis JM, Baldwin TM, DiDonato JA, Sexton A, McConville MJ, et al. MyD88 is essential for clearance of *Leishmania major*: possible role for

- lipophosphoglycan and Toll-like receptor 2 signaling. *Eur J Immunol.* 2003 Oct;33(10):2822-31. <http://dx.doi.org/doi.org/10.1002/eji.200324128>
41. Becker I, Salaiza N, Aguirre M, Delgado J, Carrillo-Carrasco N, Kobeh LG, et al. *Leishmania* lipophosphoglycan (LPG) activates NK cells through toll-like receptor-2. *Mol Biochem Parasitol.* 2003 Aug 31;130(2):65-74. [http://dx.doi.org/10.1016/s0166-6851\(03\)00160-9](http://dx.doi.org/10.1016/s0166-6851(03)00160-9)
  42. de Carvalho RVH, Lima-Júnior DS, de Oliveira CV, Zamboni DS. Endosymbiotic RNA virus inhibits *Leishmania*-induced caspase-11 activation. *iScience.* 2020 Dec 29;24(1):102004. 1-17. <http://dx.doi.org/10.1016/j.isci.2020.102004>
  43. Chaves MM, Sinflorio DA, Thorstenberg ML, Martins MDA, Moreira-Souza ACA, Rangel TP, et al. Non-canonical NLRP3 inflammasome activation and IL-1 $\beta$  signaling are necessary to *L. amazonensis* control mediated by P2X7 receptor and leukotriene B4. *PLoS Pathog.* 2019 Jun 24;15(6):e1007887. 1-21 <http://dx.doi.org/10.1371/journal.ppat.1007887>
  44. Figliuolo VR, Chaves SP, Savio LEB, Thorstenberg MLP, Machado Salles É, Takiya CM, et al. The role of the P2X7 receptor in murine cutaneous leishmaniasis: aspects of inflammation and parasite control. *Purinergic Signal.* 2017 Jun;13(2):143-52. <http://dx.doi.org/10.1007/s11302-016-9544-1>
  45. Patil T, More V, Rane D, Mukherjee A, Suresh R, Patidar A, et al. Pro-inflammatory cytokine Interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) controls *Leishmania* infection. *Cytokine.* 2018 Dec;112:27-31. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cyto.2018.06.033>
  46. Fernández-Figueroa EA, Rangel-Escareño C, Espinosa-Mateos V, Carrillo-Sánchez K, Salaiza-Suazo N, Carrada-Figueroa G, et al. Disease severity in patients infected with *Leishmania mexicana* relates to IL-1 $\beta$ . *PLoS Negl Trop Dis.* 2012;6(5):e1533. 1-9. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0001533>
  47. Kautz-Neu K, Kostka SL, Dinges S, Iwakura Y, Udey MC, von Stebut E. IL-1 signalling is dispensable for protective immunity in *Leishmania*-resistant mice. *Exp Dermatol.* 2011 Jan;20(1):76-8. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-0625.2010.01172.x>
  48. da Silva GAV, de Mesquita TGR, de Souza Encarnação HV, do Espírito Santo Junior J, da Costa Sabino K, de Aguiar Neres I, et al. A polymorphism in the IL1B gene (rs16944 T/C) is associated with cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania guyanensis* and plasma cytokine interleukin receptor antagonist. *Cytokine.* 2019 Nov;123:154788. 1-7. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cyto.2019.154788>.
  49. Bharati K. Human genetic polymorphism and Leishmaniasis. *Infect Genet Evol.* 2022 Mar;98:105203. 1-12. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meegid.2021.105203>.
  50. Robertson AAB. Inhibiting Inflammasomes with Small Molecules. *Exp Suppl.* 2018;108:343-400. [http://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-89390-7\\_15](http://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-89390-7_15)
  51. Zahid A, Li B, Kombe AJK, Jin T, Tao J. Pharmacological Inhibitors of the NLRP3 Inflammasome. *Front Immunol.* 2019 Oct 25;10:2538. 1-10. <http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2019.02538>
  52. Guegan H, Ory K, Belaz S, Jan A, Dion S, Legentil L, et al. In vitro and in vivo immunomodulatory properties of octyl- $\beta$ -D-galactofuranoside during *Leishmania donovani* infection. *Parasit Vectors.* 2019 Dec 23;12(1):600. 1-16. <http://dx.doi.org/10.1186/s13071-019-3858-0>
  53. Domeneghetti L, Demarchi IG, Caitano JZ, Pedrosa RB, Silveira TGV, Lonardoní MVC. *Calophyllum brasiliense* Modulates the Immune Response and Promotes *Leishmania amazonensis* Intracellular Death. *Mediators Inflamm.* 2018 Feb 13;2018:6148351.1-10. <http://dx.doi.org/10.1155/2018/6148351>
  54. André S, Rodrigues V, Pemberton S, Laforge M, Fortier Y, Cordeiro-da-Silva A, et al. Antileishmanial Drugs Modulate IL-12 Expression and Inflammasome Activation in Primary Human Cells. *J Immunol.* 2020 Apr 1;204(7):1869-80. <http://dx.doi.org/10.4049/jimmunol.1900590>
  55. Iacano AJ, Lewis H, Hazen JE, Andro H, Smith JD, Gulshan K. Miltefosine increases macrophage cholesterol release and inhibits NLRP3-inflammasome assembly and IL-1 $\beta$  release. *Sci Rep.* 2019 Jul 31;9(1):11128. 1-12. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-019-47610-w>