

Tratamiento con combinaciones de Anfotericina B y Clomipramina de macrófagos J774 infectados con amastigotas de *Leishmania amazonensis*

Dimmer, Jesica¹; Juarez, Marcos²; Aguilar, Javier³; Konigheim, Brenda³; Rivarola, Walter⁴

¹Universidad Nacional Córdoba/Fac. Cs. Qcas/Dpto. Ciencias Farmacéuticas/Inst.Multidis. de Biología Vegetal (IMBIV)/Conicet; ²Universidad Nacional de Córdoba/Centro de estudios e investigación de la Enfermedad de Chagas y leishmaniasis/ UNVM; ³Universidad Nacional de Córdoba/Instituto de Virología JM Vanella; ⁴Facultad de Ciencias Medicas- Universidad Nacional de Cordoba

La leishmaniasis, una enfermedad infecciosa causada por protozoarios del género *Leishmania*. Anfotericina-B (ANF), fármaco utilizado en el tratamiento, es a menudo tóxico para los pacientes. La búsqueda de nuevos antiparasitarios consiste en identificar blancos moleculares en el parásito, que estén ausentes en el huésped. La tripanotiona reductasa es una enzima exclusiva del orden Kinetoplastide, por lo que le confiere utilidad como blanco molecular. Clomipramina (CLO) es buen inhibidor de esta enzima. En el presente trabajo analizamos el tratamiento combinado de ANF y CLO sobre macrófagos infectados con amastigotes de *L. amazonensis*. En primer lugar, se realizó el ensayo de citotoxicidad en macrófagos de la línea celular J774. A continuación, se infectaron 2×10^5 macrófagos/pocillo con una proporción 1:5 de parásitos. Luego del tratamiento con las concentraciones de CLO y ANF y sus combinaciones no citotóxicas, se incubaron 72 h. Finalmente, se realizó la tinción de Giemsa para determinar la tasa de infección: número de macrófagos infectados x cantidad de amastigotas por macrófago. El ensayo de citotoxicidad determinó que por debajo de las combinaciones de 1,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ANF-0,75 $\mu\text{g}/\text{mL}$ CLO y 0,7 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ANF-1,55 $\mu\text{g}/\text{mL}$ CLO se asegura una viabilidad celular de los macrófagos por encima del 75 %. La tasa de infección de los macrófagos no tratados de $275 \pm 32,5$ % se redujo significativamente a $97,5 \pm 25,6$ % con la combinación ANF+CLO (1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ + 0,12 $\mu\text{g}/\text{ml}$). Dicha combinación también logro una significativa reducción ($p < 0,05$) respecto a los tratamientos sólo con ANF (1 $\mu\text{g}/\text{ml}$): $169,1 \pm 14,9$ % y CLO (0,12 $\mu\text{g}/\text{ml}$): 162 ± 21 %. Los resultados observados en la combinación de ambos fármacos podrían ser la consecuencia de que los mecanismos de acción complementarios de CLO y ANF estarían potenciando el efecto leishmanicida, logrando mayor letalidad que la monoterapia y sin efectos tóxicos evidentes sobre el huésped.