

Resumen #1853

Efecto de la combinación de Anfotericina-B y Tioridazina frente a promastigotes de *Leishmania amazonensis*

¹Barrionuevo CN, ²Dimmer JA, ²Campagno LP, ³Lingua G, ³Konigheim B, ⁴Tempesti T, ¹Rivarola W

¹Centro de Estudio e Investigación de la Enfermedad de Chagas y Leishmaniasis, FCM, INICSA-CONICET-UNC.; ²Centro de Estudio e Investigación de la Enfermedad de Chagas y Leishmaniasis. FCM. UNC.; ³Instituto de Virología. FCM. UNC.; ⁴Instituto de Investigaciones de Físico-Química (INFIQC). FCQ. UNC.

Resumen:
Anfotericina-B (Anf) es un fármaco (F) de segunda línea utilizado en el

Persona que presenta: Barrionuevo CN, bcamilanerea@gmail.com **Área:** Básica **Disciplina:** tratamiento de Infectología, inflamación e inmunología algunas manifestaciones clínicas producidas por parásitos del género *Leishmania*. Sin embargo, su uso ha demostrado toxicidad, además de generar resistencia. Una estrategia para la búsqueda de nuevas terapias implica las combinaciones de F que sean efectivos en afecciones de similar biología patógeno-huésped y además sean blancos moleculares presentes en el parásito, pero ausentes en el huésped, como la tripanotiona reductasa. Tioridazina (Tio), de uso habitual en psiquiatría, es un F inhibidor de esta enzima. El objetivo de este trabajo fue analizar la terapia combinada "in vitro" de Anf y Tio sobre promastigotes de *L. amazonensis*.

Se evaluó la citotoxicidad (CC: concentración citotóxica) de Tio en un rango de 1-100 µg/mL en células Vero determinando la viabilidad celular mediante el método de captación de rojo neutro luego de 72 h de incubación. A continuación, se incubaron 3x10⁶ promastigotes/mL con concentraciones de los F solos y combinados (Anf=0,02-0,62 µg/mL y Tio=0,4-15 µg/mL). Luego de 72 h, se realizó el recuento de parásitos y se determinó la concentración inhibitoria del 50% (CI50) y el Índice de Combinación (IC: IC>1 antagónico; IC=1 aditivo; IC<1 sinérgico). Por último, se realizó el isoblograma correspondiente a los valores de CI50 de cada uno de los fármacos y de sus combinaciones.

La curva de citotoxicidad permitió determinar los siguientes valores: CC50=22,5 µg/mL y CC80= 16,75 µg/mL. Por lo tanto, se seleccionó 15 µg/mL como la concentración de Tio más alta a ensayar. Los valores de CI50 de cada F fueron: Anf=0,42 µg/mL y Tio=10,74 µg/mL. Las combinaciones con Tio 15 y 7,5 µg/mL resultaron antagónicas con un IC=1,86 y 1,34 respectivamente. Sin embargo, las combinaciones con Tio 3,25, 1,63 y 0,81 µg/mL presentaron IC inferiores a 1 (0,90; 0,85 y 0,92, respectivamente), ubicándose por debajo de la línea de aditividad en el isoblograma, indicando un efecto sinérgico.

La utilización de Tio permitió la reducción de la concentración Anf en algunas de las combinaciones, tal como se observó para la combinación de Anf con clomipramina en la especie *Leishmania amazonensis*.

Palabras Clave: Leishmaniasis, anfotericina-B, Tioridazina, promastigotes  [Versión para impresión](#) |  [PDF version](#)

Abstract #1853

Effect of the combination of Amphotericin-B and Thioridazine against *Leishmania amazonensis* promastigotes

¹Barrionuevo CN, ²Dimmer JA, ²Campagno LP, ³Lingua G, ³Konigheim B, ⁴Tempesti T, ¹Rivarola W

¹Centro de Estudio e Investigación de la Enfermedad de Chagas y Leishmaniasis, FCM, INICSA-CONICET-UNC.; ²Centro de Estudio e Investigación de la Enfermedad de Chagas y Leishmaniasis. FCM. UNC.; ³Instituto de Virología. FCM. UNC.; ⁴Instituto de Investigaciones de Físico-Química (INFIQC). FCQ. UNC.

Abstract:
Amphotericin-B (Amph) is a second-line drug (D) used in the treatment of

Persona que presenta: Barrionuevo CN, bcamilanerea@gmail.com some clinical manifestations caused by parasites of the *Leishmania* genus. However, its use has shown toxicity, in addition to generating resistance. A strategy for the search of new therapies involves combinations of D that are effective in conditions of similar pathogen-host biology and are also molecular targets present in the parasite, but absent in the host, such as trypanothione reductase. Thioridazine (Thio), commonly used in psychiatry, is a D inhibitor of this enzyme. The objective of this work was to analyze the "in vitro" combined therapy of Amph and Thio on promastigotes of *L. amazonensis*.

The cytotoxicity (CC: cytotoxic concentration) of Thio was evaluated in a range of 1-100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ in Vero cells by determining cell viability using the neutral red uptake method after 72 h of incubation. Next, 3×10^6 promastigotes/mL were incubated with concentrations of the D alone and combined (Amph=0.02-0.62 $\mu\text{g}/\text{mL}$ and Thio=0.4-15 $\mu\text{g}/\text{mL}$). After 72 h, parasites were counted and the 50% inhibitory concentration (IC₅₀) and the Combination Index (IC: IC>1 antagonistic; IC=1 additive; IC<1 synergistic) were determined. Finally, the isobologram corresponding to the IC₅₀ values of each of the drugs and their combinations was made.

The cytotoxicity curve allowed the following values to be determined: CC₅₀=22.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ and CC₈₀= 16.75 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Therefore, 15 $\mu\text{g}/\text{mL}$ was selected as the highest Thio concentration to be tested. The IC₅₀ values of each F were: Amph=0.42 $\mu\text{g}/\text{mL}$ and Thio=10.74 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Combinations with Thio at 15 and 7.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ were antagonistic with CI=1.86 and 1.34, respectively. However, combinations with Thio at 3.25, 1.63, and 0.81 $\mu\text{g}/\text{mL}$ presented IC values below 1 (0.90, 0.85, and 0.92, respectively), falling below the additivity line in the isobologram, indicating a synergistic effect.

The use of Thio allowed for the reduction of the Amph concentration in some of the combinations with Thio, as observed for the combination of Amph with clomipramine in the species *Leishmania amazonensis*.

Keywords: Leishmaniasis, Amphotericin-B, Thioridazine, promastigotes