

## VII Foro de Investigación en Salud

Eje

Exposición, Detección y Tratamiento de la Población

## Estudio de la susceptibilidad a benznidazol de un aislado de *Trypanosoma cruzi* de una paciente de la provincia de Mendoza

### *Study of the susceptibility to benznidazole in a Trypanosoma cruzi isolated from a patient of Mendoza*

J. S. Martínez<sup>1</sup>; G. Nardella<sup>2</sup>; C. Rivero<sup>1</sup>; C. Squillaci<sup>3</sup>; S. Romano<sup>4</sup> y P. Romano<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Histología y Embriología (IHEM-CONICET-UNCUYO). Mendoza. Argentina

<sup>2</sup>Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad Juan Agustín Maza. Mendoza. Argentina

<sup>3</sup>Servicio de Hematología y Hemoterapia del Hospital Regional Diego Paroissien. Mendoza. Argentina

<sup>4</sup>Laboratorio de Histocompatibilidad del Instituto Coordinador de Ablación e Implante de Mendoza (INCAI-MEN). Mendoza. Argentina

Contacto: promano@fcm.uncu.edu.ar

**Palabras clave:** Enfermedad De Chagas; *Trypanosoma cruzi*; Susceptibilidad a Drogas

**Key Words:** Chagas Disease; *Trypanosoma cruzi*; Drug Susceptibility

**Introducción:** la enfermedad de Chagas es una patología endémica en 21 países de América, transportada a través de migraciones a países no endémicos como Estados Unidos y algunos países de Europa, Oceanía y Asia. En Argentina, la enfermedad de Chagas afecta de 6 a 8 millones de personas y provoca, en promedio, 12.000 muertes al año. Mendoza es una de las 6 provincias que aún figura con alto riesgo de transmisión vectorial. Hasta el momento, Benznidazol (BNZ) y Nifurtimox son las únicas drogas aprobadas para el tratamiento del Chagas. Si bien son muy eficaces para el tratamiento de la infección aguda, existen pocos antecedentes del efecto de las mismas en la etapa crónica.

**Objetivos:** estudiar la susceptibilidad de un aislado de *T. cruzi* de Mendoza (TcM) frente a la droga BNZ comparando con la susceptibilidad de la cepa TcY mantenida en laboratorio, la cual es considerada medianamente resistente a la droga BNZ. Nos propusimos estudiar nuevas alternativas para mejorar el tratamiento de la enfermedad mediante el uso combinado de BNZ y otra droga utilizada para el tratamiento del parásito *T. brucei*, agente etiológico de la tripanosomiasis africana conocida como Eflornitina (DFMO).

**Metodología:** se tomaron 5 ml de sangre de hombre adulto con serología positiva para Chagas, en fase aguda de la enfermedad con sistema Vacutainer y usando Heparina como anticoagulante. Los tripomastigotes enriquecidos en la muestra (por swim-up) fueron colocados en monocapas de células Vero en placas de 6 pocillos en medio DMEM. Los cultivos se controlaron para verificar la presencia de células infectadas con amastigotes. Para los ensayos de replicación parasitaria, los tripomastigotes de TcM y TcY se colocaron sobre monocapas de células H9C2 (MOI=10 y 50 respectivamente) durante 24 hs y luego se agregaron las drogas por 72hs. Todas las condiciones fueron sometidas a ensayos de inmunofluorescencia indirecta (IFI). Para obtener parásitos en fase epimastigotes se colocó los tripomastigotes obtenidos en medio de cultivo Diamond. Cuando los parásitos alcanzaron su fase logarítmica se los replicó en tubos

de 1 ml de volumen y se les agregó las distintas concentraciones de BNZ y de DFMO. Las condiciones fueron cuantificadas a través del uso de la cámara hemocitométrica.

**Resultados:** en comparación con la cepa Y de *T. cruzi*, reconocida por ser medianamente resistente a BNZ, el aislado TcM exhibe una mayor susceptibilidad tanto en ensayos de crecimiento de epimastigotes en cultivos axénicos como de replicación de amastigotes intracelulares con una IC50 de 11 μM para ambas fases, en comparación con 33 μM para epimastigotes y 19 μM para amastigotes de la cepa Y. En cuanto a DFMO, existe un efecto inhibitorio del crecimiento en ambas formas que, si bien no es más efectivo que BNZ, puede ser candidato como droga para ser utilizada en la terapia combinada.

**Discusión:** llamativamente TcM presentó los mismos valores de IC50 tanto en epimastigotes como amastigotes. En cambio, TcY presentó dos valores diferentes siendo los amastigotes más susceptibles que los epimastigotes. Cabe destacar también que TcM se comporta como una cepa sensible frente al BNZ ya que las mayores concentraciones de esta droga, producen un efecto tripanocida, en cambio TcY demostró ser una cepa resistente a BNZ ya que alcanzó sólo un efecto tripanostático, tanto en la replicación de epimastigotes como en amastigotes.

**Conclusiones:** concluir que las diferentes cepas y aislados de *T. cruzi* presentan diferentes susceptibilidades frente al tratamiento con BNZ. Esto se ve reflejado en los valores de IC50 calculados de los ensayos de replicación de epimastigotes y amastigotes. Estos valores para TcM fueron menores que los obtenidos para TcY, demostrando que el aislado de Mendoza es más susceptible al tratamiento con BNZ que la cepa de referencia.

«Proyecto subsidiado por el Programa Investigadores Mendocinos, Ministerio de Salud, Desarrollo Social y Deportes» 2016.