



INFORME PERIODO: 2013 - 2014

1. APELLIDO: **SCHINELLA**

Nombre(s): **Guillermo Raúl**

Título(s): Químico

Dirección Electrónica: schinell@uv.es

2. OTROS DATOS

INGRESO: Categoría: Adjunto

Mes: noviembre

Año: 1991

ACTUAL: Categoría: Principal

Mes: agosto

Año: 1999

3. PROYECTOS DE INVESTIGACION EN LOS CUALES COLABORA

1) Antioxidantes naturales de origen vegetal: efecto sobre la producción de radicales libres en diferentes modelos fisiopatológicos (11/M-139). Programa de Incentivos para los Docentes-Investigadores. Secretaria de Políticas Universitarias. Ministerio de Educación, Ciencia y Tecnología. 2009-2012. Directora: Susana Mosca. *Co-director de proyecto.*

2) Intervención farmacológica sobre procesos inflamatorios y de estrés oxidativo en un modelo de insulinoresistencia (11/M-162). Universidad Nacional de La Plata. Programa de Incentivos a Docentes-Investigadores. Secretaria de Políticas Universitarias. Ministerio de Educación. Presidencia de la Nación. Argentina. 2012-2015. Director: Flavio Francini. *Co-director de proyecto.*

3) Antiinflamatorios de Origen Natural, (INV-GIUV-173003). Servei d'Investigació. Universitat de València. Valencia. España. Directora: María del Carmen Recio.

4) Bioprospección de los productos naturales amazónicos (COL0125269). Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología e Innovación. COLCIENCIAS. Colombia. 2011-2014. Director: Alberto Fajardo Oliveros. *Integrante de grupo.*

4. DIRECTOR

Apellido y Nombre (s): Mordujovich de Buschiazzo Perla

Cargo Institución: Profesor Consulto- UNLP; Director-Centro Universitario de Farmacología-UNLP.

Dirección: Calles 60 y 120

Nº

Ciudad: La Plata

C. P.: 1900 Prov.: Bs. As. Tel.: 424 37 06 Dirección Electrónica: pmordujo@netverk.com.ar

5. LUGAR DE TRABAJO

Institución: Universidad Nacional de La Plata

Dependencia: Cátedra de Farmacología Básica. Facultad de Ciencias Médicas

Dirección: Calles 60 y 120

Ciudad: La Plata C. P.: 1900 Prov.: Bs. As. Tel: 421 69 32

6. INSTITUCION DONDE DESARROLLA TAREAS DOCENTES U OTRAS

Nombre: Universidad Nacional de La Plata

Dependencia: Cátedra de Farmacología Básica. Facultad de Ciencias Médicas

Dirección: Calles 60 y 120

Ciudad: La Plata C. P.: 1900 Prov.: Bs. As. Tel: 421 69 32

Cargo que ocupa: Jefe de Trabajos Prácticos

Nombre: Universidad Nacional de La Plata

Dependencia: Departamento de Ciencias Biológicas. Facultad de Ciencias Exactas

Dirección: Calles 47 y 115

Ciudad: La Plata C. P.: 1900 Prov.: Bs. As.

Tel: 425-0497 423-0121 - Interno 53 Fax 422-3409

Cargo que ocupa: Jefe de Trabajos Prácticos

7. EXPOSICIÓN SINTÉTICA DE LA LABOR DESARROLLADA EN EL PERIODO

7.1. Efecto de los antioxidantes sobre la producción de radicales libres en diferentes modelos fisiopatológicos.

Las especies reactivas del oxígeno (ERO) desempeñan un papel importante en la homeostasis redox celular y en la fisiopatología de varias enfermedades. Cuando se produce un desequilibrio entre la formación de ERO y el sistema de defensa antioxidante, se establece el estrés oxidativo. El resultado de este ataque no específico de las ERO es la pérdida de la integridad celular, función enzimática y estabilidad genómica. Este daño oxidativo parece estar involucrado en el envejecimiento y en varias enfermedades degenerativas relacionadas con él, como son las enfermedades cardiovasculares, inflamación, cataratas, disfunciones cognitivas, cáncer, etc.

El uso de distintos modelos experimentales donde participan las ERO sirven para conocer mecanismos que conducen al estrés oxidativo y proponer distintos tratamientos para evitarlos.

7.1.1. Insulinorresistencia: Efecto de un extracto acuoso de *Ilex paraguariensis* (yerba mate).

Este trabajo se lleva a cabo conjuntamente con el Dr. Flavio Francini perteneciente al CENEXA - Facultad de Ciencias Médicas de la UNLP.

La administración de una dieta rica en sacarosa (DRS) a ratas normales genera disfunción metabólica hepática e insulinorresistencia (IR) con aumento de marcadores de estrés oxidativo y de inflamación. En recientes trabajos demostramos que el tratamiento con compuestos antioxidantes tales como ácido lipoico y apocinina redujo la insulinorresistencia, las alteraciones metabólicas y el daño oxidativo hepático en ratas sometidos a una dieta rica en fructosa (Castro y col., 2012; Castro col., 2013). Por tal razón, la infusión de yerba mate, de reconocida actividad antioxidante, fue seleccionada con el objetivo de estudiar sus potenciales efectos para corregir las alteraciones endocrino-metabólicas producidas por la sacarosa.

En el informe anterior, presenté resultados parciales y preliminares, en este periodo se realizaron nuevos experimentos y determinaciones.

El *objetivo* de este trabajo fue evaluar el efecto de un extracto acuoso de *Ilex paraguariensis* (yerba mate) sobre las alteraciones endocrino-metabólicas inducidas por la DRS.

Metodología: Se preparó el extracto acuoso de yerba mate a partir de una muestra comercial. Se realizó una infusión al 2% con agua corriente. Se utilizaron ratas macho Wistar normales (180-200 g) alimentadas con dieta comercial estándar. Los tratamientos realizados fueron a través del agua de bebida: 1) agua corriente (control [C]); 2) solución acuosa sacarosa 10% (control sacarosa [S]; 3) yerba mate 2% (yerba mate [CY]) y 4) yerba mate 2% con 10% de sacarosa 10% (yerba mate +sacarosa [SY]). Los animales (n= 8/lote) se sacrificaron a los 35 días de tratamiento y se midió: glucemia (Kit comercial), trigliceridemia (TG) (Kit comercial), insulinemia (RIA), leptinemia (RIA), ácidos grasos libres plasmáticos (Kit comercial), daño oxidativo, glucógeno hepático e indicadores histológicos de inflamación (microscopía óptica / tinción con hematoxilina y eosina).

Resultados y discusión:

A) Peso corporal y consumo de calorías

Como se observa en la Fig. 1, los animales tratados con CY y SY no sufrieron significativas diferencias en cuanto a la variaciones en su peso corporal y la ingesta de calorías.

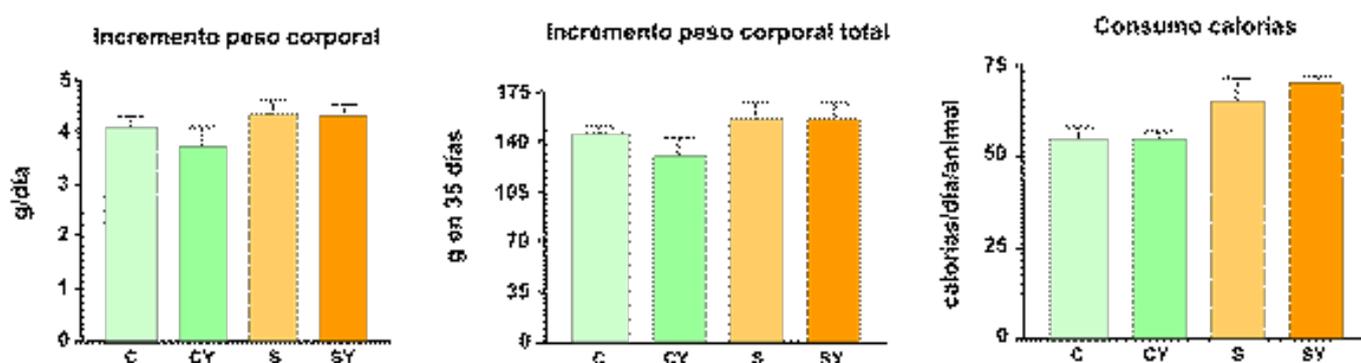


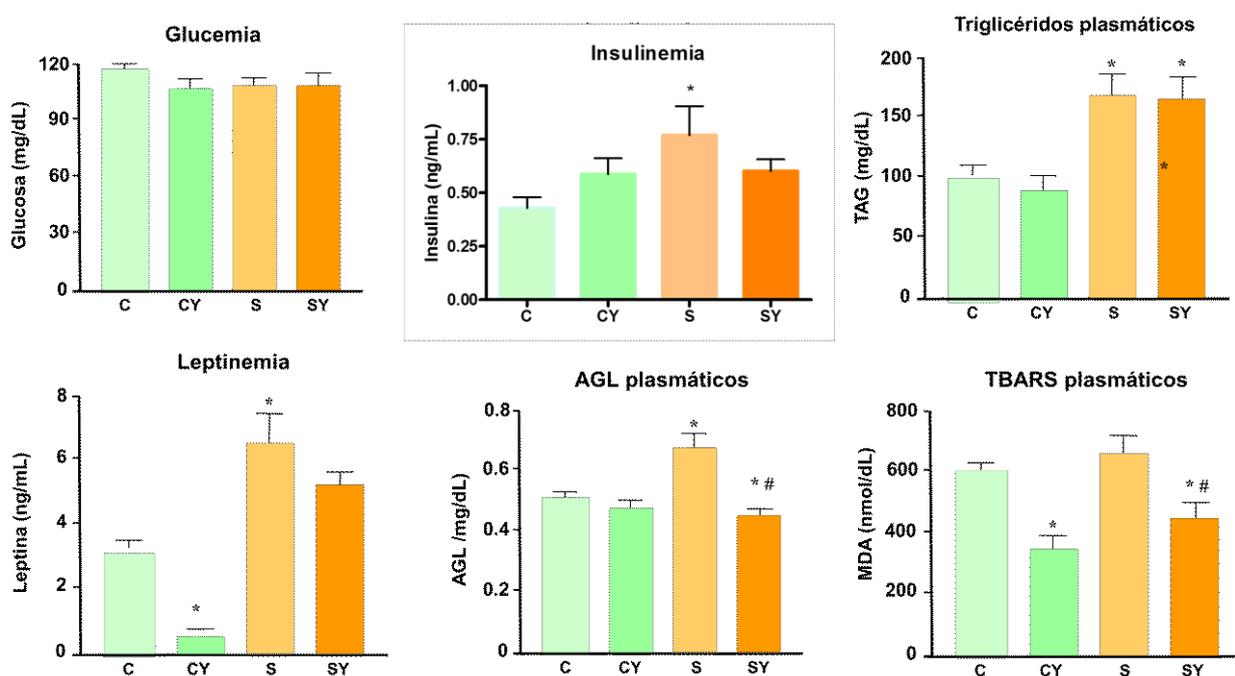
Figura 1

B) Mediciones en plasma sanguíneo (Fig. 2)

El tratamiento con S produce un significativo incremento de la insulinemia y trigliceridemia, sin embargo, no se observó modificación en la glucemia, respecto a las ratas del grupo C. Estos resultados nos permiten verificar el funcionamiento del modelo experimental. Esta verificación también se refuerza con las observaciones tales como los aumentos en la concentración plasmática de leptina y ácidos grasos libres.

Los animales tratados con dieta YS no mostraron disminuciones significativas de la insulinemia y trigliceridemia. Por lo cual, concluimos que la yerba mate no revierte los principales indicadores de la insulinorresistencia inducida por sacarosa. Aunque, se observaron disminuciones significativas en la concentración de ácidos grasos libres plasmáticos en ambos lotes tratados con yerba mate (CY y SY).

Los animales que se trataron con CY produjeron una significativa y marcada disminución de la leptinemia, propiedad que no se observó cuando se administró en presencia de sacarosa (YS). El tratamiento de los animales con yerba mate, en ausencia y presencia de sacarosa (CY y SY), produjo una significativa disminución de la concentración de SRTBA respecto a los lotes de animales controles (C y S), estos resultados dan indicios de una reducción de daño oxidativo plasmático, propiedad que fue descrita con anterioridad por otros autores (Andújar y col., 2014).



* $P < 0,05$ respecto a C. # $P < 0,05$ respecto a S

Figura 2

C) Mediciones en tejido hepático

C.1) Daño oxidativo (Fig. 3)

En el modelo experimental ensayado, la disminución significativa de GSH en el tejido hepático se constituye en el indicador de daño oxidativo del tejido de los animales tratados con S; no observándose diferencias en el contenido de carbonilos y SRTBA respecto a C. El tratamiento con YS no revierte significativamente esta disminución, lo que nos permitiría

concluir que la yerba mate no revierte el daño oxidativo hepático inducido por la dieta con sacarosa.

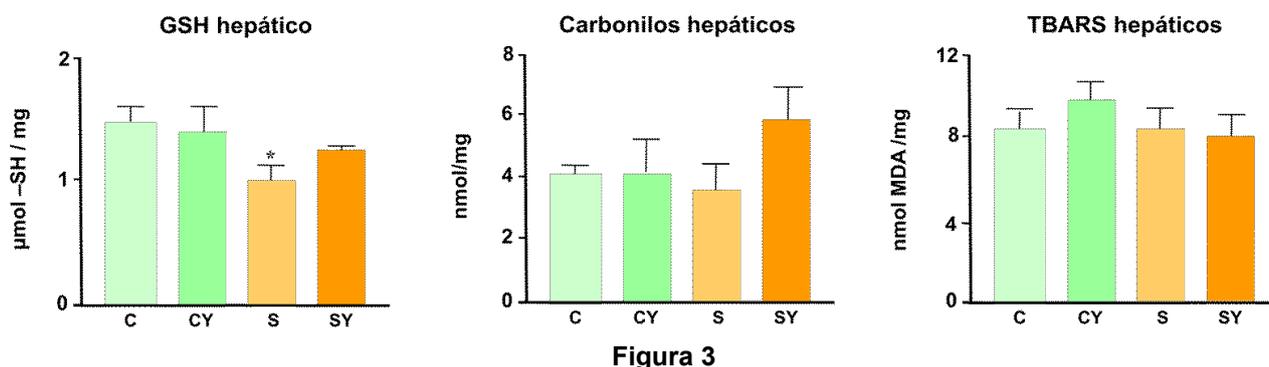


Figura 3

C.2) Actividad antioxidante y glucógeno (Fig. 4)

También, se determinó la actividad antioxidante total del tejido hepático mediante el ensayo de decoloración del radical ABTS. En este ensayo se observó que el tratamiento CY produce una disminución en la decoloración de radical ABTS, indicando un significativo aumento de la actividad antioxidante en el tejido. Sin embargo, esta capacidad de la yerba mate de aumentar la actividad antioxidante del tejido hepático no se observa cuando los animales se tratan en presencia de sacarosa (YS).

El aumento de la concentración hepática de glucógeno es una característica distintiva de los animales que se tratan con una DRS, la yerba mate produce una disminución significativa en este parámetro.

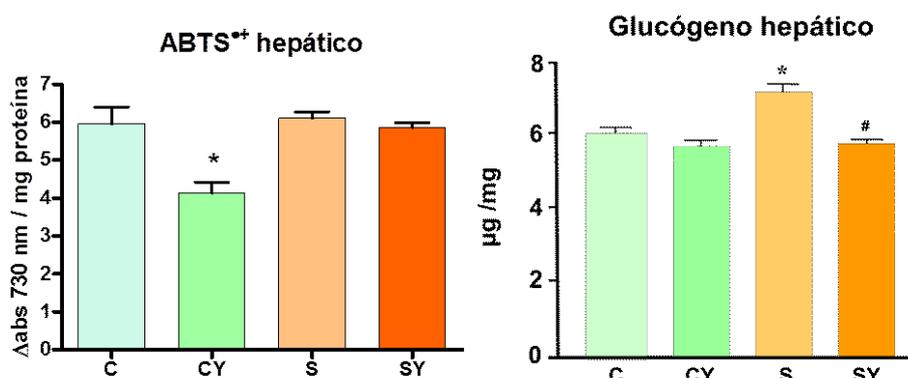


Figura 4

D) Histología hepática

Los animales tratados con sacarosa (Fig. 5C) mostraron cambios en la región perilobulillar, respecto a los animales control (Fig. 5A), evidenciados en la presencia de inclusiones lipídicas citoplasmáticas (esteatosis).

Respecto a los animales tratados con CY no se observaron cambios significativos (Fig. 5B), y los que recibieron YS, si bien en la imagen se observa una menor proporción de hepatocitos alterados (esteatosis), la yerba no parecería revertir el efecto de la sacarosa (Fig. 5D). No se observaron imágenes de inflamación ni de fibrosis evidentes.

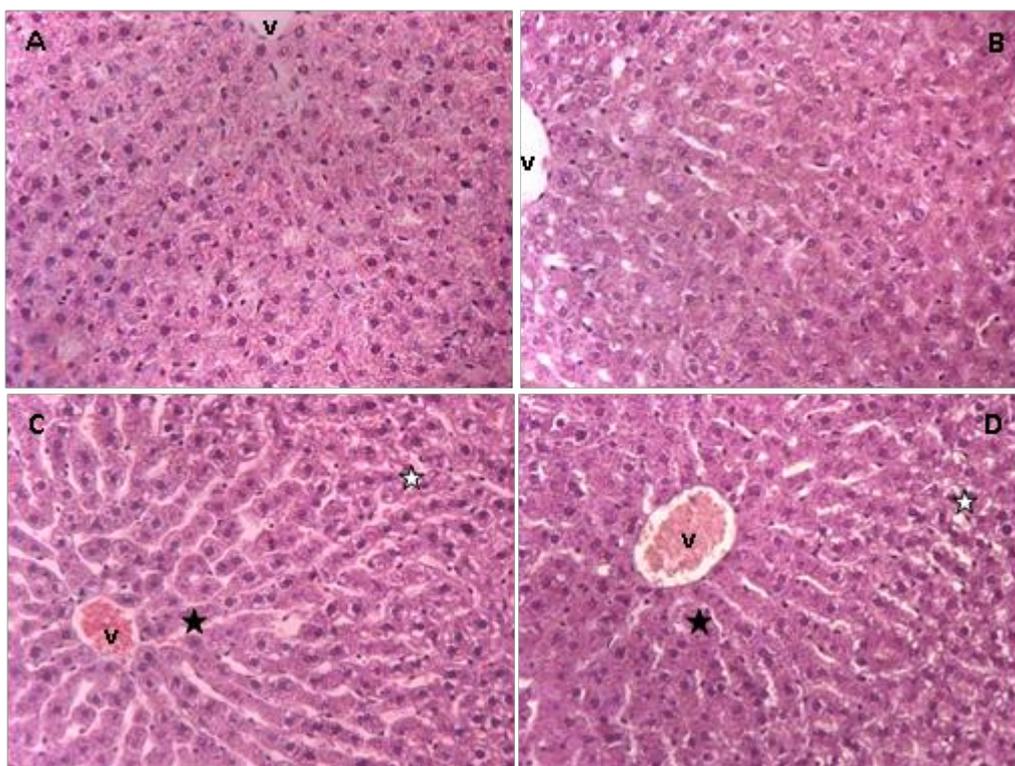


Figura 5: A, hígado control con dieta normal. B, hígado control con dieta de yerba mate. C, hígado con dieta de sacarosa. D, hígado con dieta de yerba mate y sacarosa. H y E, x 400. Ref: v, vena central; estrella negra: zona central (centrolobulillar) con hepatocitos normales; estrella blanca: zona periférica (perilobulillar) con esteatosis moderada.

Conclusiones:

- La dieta SY no redujo significativamente las alteraciones metabólicas (trigliceridemia, insulinemia y leptinemia) e histológicas inducidas por la dieta S.
- La dieta CY aumenta la actividad antioxidante y reduce al daño oxidativo hepático de los animales respecto al tratamiento C, sin embargo no es capaz de inhibir el daño oxidativo inducido por la dieta S.
- Otros cambios observados tales como la leptinemia, contenido de glucógeno hepático y ácidos grasos libres plasmáticos están actualmente en consideración.

Mi participación en este estudio fue de codirector del proyecto, participando en la planificación, coordinación y análisis de resultados. Más específicamente, fui el responsable de la preparación de los extractos, determinación del contenido plasmático de glucosa y triglicéridos, actividad antioxidante y daño oxidativo.

Bibliografía:

Andújar I, Schinella GR, Ríos JL. "Yerba Mate (*Ilex paraguariensis*): A Psycho-stimulant Plant with Anti-oxidant Properties". In: Polyphenols: Food Sources, Bioactive Properties and Antioxidant Effects (Dean T. Cobb, Ed.), Nova Science Publishers. New York, USA. 2014. pp. 51-86.

Castro MC, Francini F, Schinella G, Caldiz CI, Zubiria MG, Gagliardino JJ, Massa ML. Apocynin administration prevents the changes induced by a fructose-rich diet on rat liver metabolism and the antioxidant system. *Clin Sci (Lond)*. 2012; 123(12):681-692.

Castro MC, Massa ML, Schinella G, Gagliardino JJ, Francini F. Lipoic acid prevents liver metabolic changes induced by administration of a fructose-rich diet. *Biochim. Biophys. Acta - General Subjects*. 2013; 1830(1): 2226–2232.

7.1.2. Isquemia – Reperusión: Efecto cardioprotector y antioxidante de un extracto acuoso de *Ilex brasiliensis*.

Este trabajo se llevó a cabo en el marco de la cooperación con las Prof. Susana Mosca investigadora perteneciente al Centro de Investigaciones Cardiovasculares de la Universidad Nacional de La Plata. En el informe correspondiente al período 2008-2009 presente resultados que permitieron demostrar que un extracto acuoso de hojas de *I. brasiliensis* posee actividad cardioprotectora en un modelo de isquemia y reperusión en corazón aislado de rata (Schinella y col., 2009).

El *objetivo* del presente trabajo fue profundizar en el estudio de los mecanismos involucrados en el efecto cardioprotector de *Ilex brasiliensis*, principalmente en los vinculados con la generación de óxido nítrico (NO).

Metodología: La actividad cardioprotectora del extracto acuoso de *Ilex brasiliensis* (B) se evaluó en corazón aislado de rata (técnica de Langendorff), con un protocolo en que se somete al corazón a un período de isquemia global de 20 min y seguidos de 10 min de reperusión con B (30 µg/mL) y 20 min (sin B). La función miocárdica, contractilidad, se evaluó a través de la presión desarrollada en el ventrículo izquierdo (LVDP) y la máxima velocidad de desarrollo de la presión de ventrículo izquierdo (+dP/dt_{max}). La rigidez miocárdica durante la reperusión y la contractura isquémica se evaluó a través de la presión diastólica final (LVEDP).

Otros corazones (n= 6) recibieron 1 mM de éster metílico de NG - nitro-L - arginina (L-NAME), un inhibidor no selectivo de la óxido nítrico sintasa (NOS) durante toda la isquemia y reperusión para prevenir la activación de las diferentes isoformas de la enzima.

Al final de los experimentos, el daño oxidativo del tejido fue evaluado a través de las determinaciones de la concentración de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) y el contenido de glutatión reducido (GSH).

Resultados:

La inhibición de la NOS con L-NAME abolió el efecto protector de B en la recuperación post-isquémica de la función miocárdica sistólica obteniéndose al final del experimento valores de 58 ± 9 % y 64 ± 8 % para LVDP y +dP/dt_{max}, respectivamente (Figura 1).

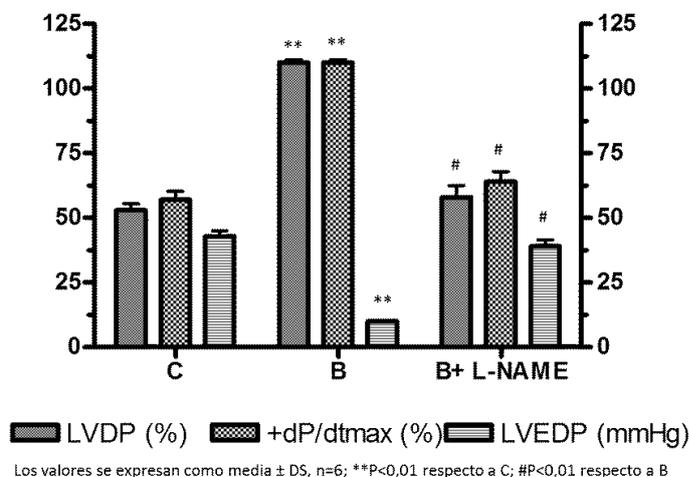


Figura 1. Valores de LVDP, +dP/dt_{max} y LVEDP al finalizar el período de reperusión en corazones control isquémicos (C), tratados con *I. brasiliensis* (B) y tratados con *I. brasiliensis* en presencia de L-NAME (B + L-NAME)

Además, la atenuación de la rigidez diastólica obtenida con B también fue abolida cuando se inhibió la NOS con L-NAME alcanzando la LVEDP un valor de 39 ± 5 mmHg al final del período de reperfusión.

La evaluación del daño oxidativo del tejido cardíaco sometido a isquemia y reperfusión se realizó midiendo los contenidos de SRTBA y GSH. El contenido de SRTBA disminuyó y el nivel de GSH se conservó parcialmente cuando los corazones fueron tratados con B en comparación con los corazones no tratados (C). Estos efectos beneficiosos fueron anulados en presencia del inhibidor de la NOS detectándose un aumento de la peroxidación lipídica y un menor nivel de GSH (Figura 2).

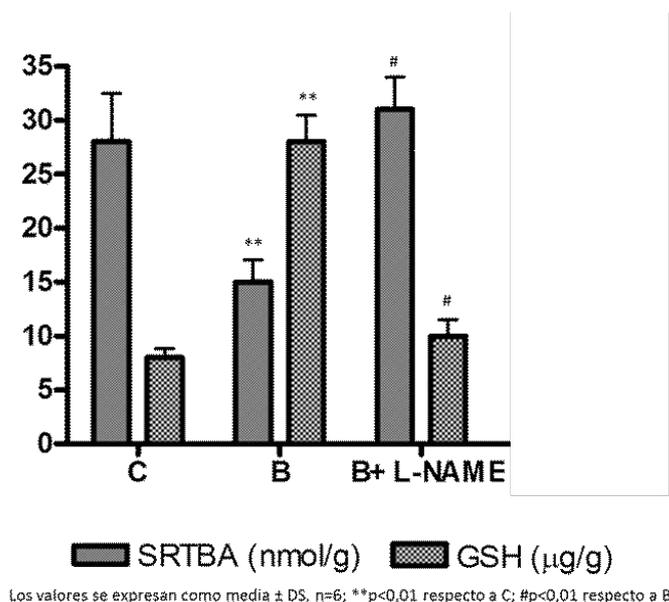


Figura 2. Evaluación del daño oxidativo inducido por isquemia y resperfusión en corazones control isquémicos (C) y tratados con *I. brasiliensis* (B)

Conclusión: El presente estudio demuestra que la atenuación de la disfunción sistólica y diastólica conferida por el tratamiento con *Ilex brasiliensis* fue abolida cuando se inhibieron las diferentes isoformas de NOS con L-NAME, lo que indicaría que el NO estaría involucrado en los eventos que conducen a la protección.

Mi participación en este estudio fue evaluar parámetros de daño oxidativo tisular (glutatión reducido y TBARS).

Bibliografía:

Schinella GR, Fantinelli JC, Tournier HA, Prieto JM, Spegazzini E, Debenedetti S, Mosca SM. Antioxidant and cardioprotective effects of *Ilex brasiliensis*: A comparative study with *Ilex paraguariensis* (yerba mate). Food Res. Int. 2009; 42 (10): 1403-1409.

7.2. Determinación de los principales compuestos polifenólicos de *Ilex brasiliensis*: Análisis con HPLC-MS

El análisis por cromatografía de alto rendimiento acoplada a espectrometría de masa (HPLC-ESI-MS) se realizó en los laboratorios del Dr. Dave Watson en el Departamento de Ciencias, Universidad de Strathclyde, Reino Unido.

Los *objetivos* de este trabajo fueron determinar los principales compuestos fenólicos del extracto acuoso de hojas de *Ilex brasiliensis* y establecer caracteres diferenciales con *Ilex paraguariensis* (yerba mate).

Metodología: Los extractos acuosos de *Ilex brasiliensis* e *Ilex paraguariensis*, se prepararon a partir de material vegetal obtenido de hojas secas y pulverizadas en forma de infusión 5%. El extracto acuoso se liofilizó y el residuo seco se conservó a -20°C hasta su análisis.

Se utilizó un equipo Finnigan LTQ Orbitrap controlado mediante el programa Xcalibur version 2.0 (Thermo Fisher, Hemel Hempstead, UK). La separación cromatografía se realizó en una columna de fase reversa Synergi 4 μm Hydro-RP (Phenomenex, Reino Unido). La fase A (disolución acuosa de ácido fórmico 0,1 %) y la fase B (acetonitrilo) se bombearon a flujo constante de 0,5 mL/min en gradiente desde 90 % a 60 % de la fase A en 20 min, con un tiempo de equilibrio entre análisis de 2 min.

Para la detección del espectro de masa, la interface de inyección por electrospray (ESI) se configuró de la manera siguiente: la temperatura del capilar se ajustó a 200°C y el flujo de los gases principal y auxiliar fueron 30 y 10 (unidades arbitrarias del aparato), respectivamente. Los espectros se registraron en modo negativo con rango de escaneo 195–1200 m/z .

Resultados y discusión:

El cromatograma de *I. brasiliensis*, obtenido a 350 nm, muestra la presencia de 4 picos cuyos patrones de fragmentación concuerdan con flavonoides glicosilados de quercetina (**1**, **3**, **4**) y kaempferol (**2**) (Fig. 1A). Sin embargo, el cromatograma de *I. paraguariensis* (Fig. 1B) solo muestra un pico consistente con un glucósido de quercetina (**3**).

Los espectros de fragmentación de **1**, **3** y **4** presentan un pico base común de 300 m/z , correspondiente a la quercetina (Fig. 2).

Mediante la ayuda de datos obtenidos de la literatura (Cuyckens & Claeys, 2004; Lu y col., 2010) se discute los resultados obtenidos con ambos extractos:

El compuesto **1** ($R_t = 9,65$ min) muestra un pico a 625,3 m/z ($M-H^{-}$) y un pico a 300,3 ($M-2 \times 162-H^{-}$) lo que corresponde a la pérdida de dos hexosas. Lo que podría corresponder a quercetina diglucósido (Fig. 2, pico 1).

El compuesto **3** ($R_t = 11,27$ min) podría corresponder a la rutina, ya que muestra un ion a 609,3 m/z ($M-H^{-}$) y un fragmento a 300,3 ($M-162-147-H^{-}$) lo que indicaría la pérdida de una hexosa y una deoxihexosa, que sería consistente con un residuo rutinósido (glucosa + rhamnosa) (Fig. 2, pico 3). Su presencia en *I. paraguariensis* es también evidente (Fig. 3).

El compuesto **4** ($R_t = 12,04$ min) podría corresponder a quercetina monoglucósido ya que muestra un pico a 463,3 m/z ($M-H^{-}$) y un pico a 300,3 ($M-162-H^{-}$) lo que correspondería a la pérdida de una hexosa (Fig. 2, pico 4).

Figura 1. Cromatografía de alto rendimiento acoplada a espectrometría de masa

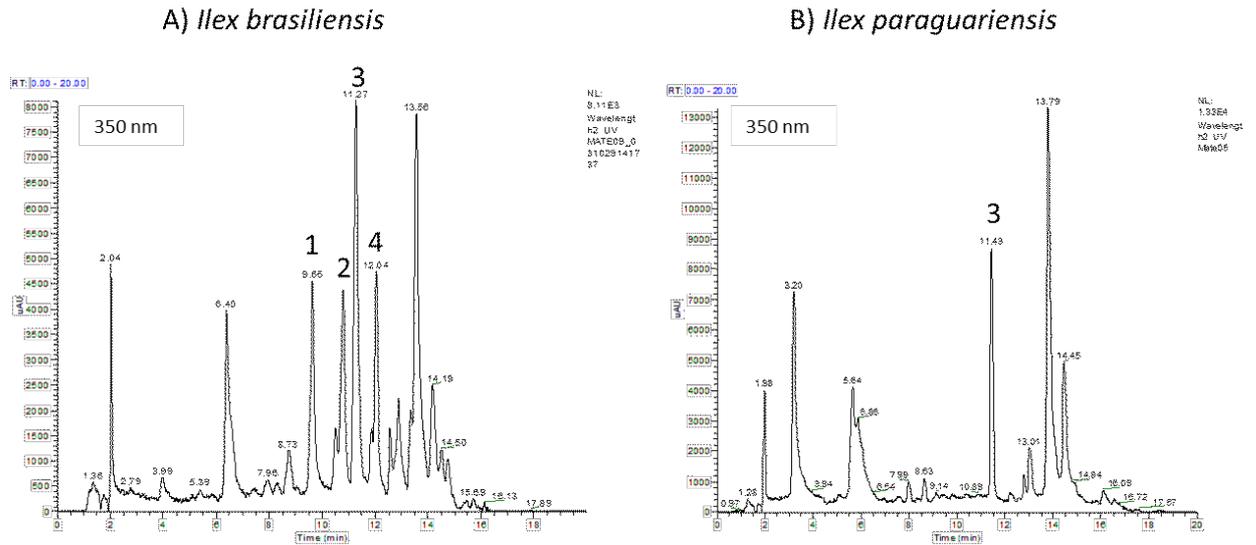


Figura 2. Espectro de fragmentación de los picos 1, 3 y 4 de *I. brasiliensis*

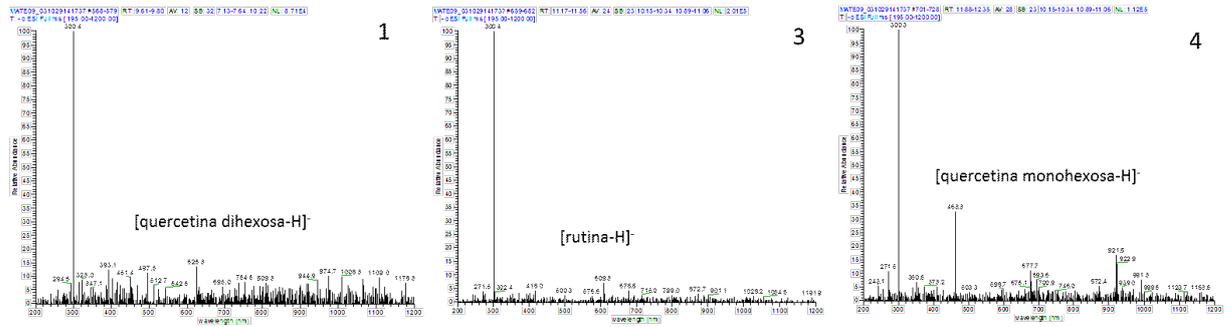


Figura 3. Espectro de fragmentación del pico 3 de *I. paraguariensis*

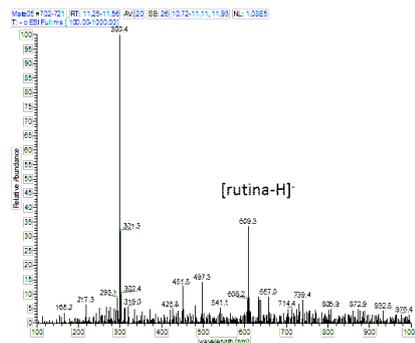
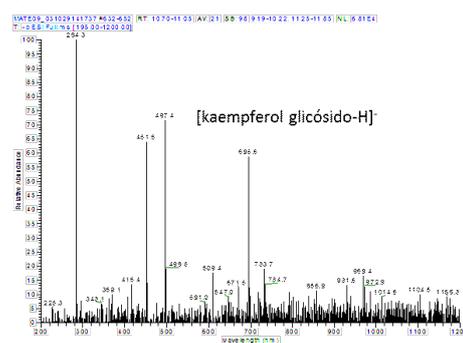


Figura 4. Espectro de fragmentación del pico 2 (Rt= 10,70-11,05 min) en *I. brasiliensis*



El espectro del pico 2 (Rt= 10,70-11,05 min) es complejo y puede que contenga más de un compuesto (Fig. 4). Sin embargo la preponderancia del fragmento de 284,3 m/z es diagnóstico de kaempferol 3-O-glicósidos (Lu y col., 2010). La señal a 695,6 m/z podría indicar que este glicósido sería un malonildiglicósido (hexosas) ($286 + (2 \times 162) + 86-H$). Otros flavonoides similares han sido descritos previamente en *I. paraguariensis*, por ejemplo kaempferol 3-O-(2"-O-alfa-ramnosil-6"-O-malonil)-beta-glucósido (Sugimoto y col., 2009). Las señales a 497 y 451 m/z podrían pertenecer a otros compuestos co-eluyendo con el glicósido de kaempferol. En este análisis no se pudo relacionar ninguno de ellos con otros metabolitos característicos de *Ilex* (Bravo y col., 2007).

Este análisis demostró que *Ilex brasiliensis* posee un metabolismo que permite la síntesis de una mayor variedad de flavonoides derivados de quercetina y kaempferol que *I. paraguariensis* (Fig. 1A).

Los estudios fitoquímicos realizados por HPLC-ESI-MS con *Ilex brasiliensis* permitieron identificar un glucósido de quercetina como uno de los principales compuestos fenólicos diferenciales respecto de *I. paraguariensis*, identificado con un pico 463.3 m/z (M-H⁻) (Fig. 2, pico 4). Esta observación es coincidente con los estudios previos realizados por CCF y HPLC-PDA-UV en los cuales pudimos observar la presencia de un compuesto que se corresponde a isoquercitrina (Schinella y col., 2009). La presencia de este flavonoide parecería ser una característica diferencial con *I. paraguariensis*, sin embargo, se necesitaría del análisis de un número mayor de muestras para corroborar tal afirmación.

Mi participación en este estudio se limitó al análisis de los resultados obtenidos.

Bibliografía:

Bravo L, Goya L, Lecumberri E. LC/MS characterization of phenolic constituents of mate (*Ilex paraguariensis*, St. Hil.) and its antioxidant activity compared to commonly consumed beverages. *Food Res Int.* 2007; 40: 393-405.

Cuyckens F, Claeys M. Mass spectrometry in the structural analysis of flavonoids. *J Mass Spectrom.* 2004; 39: 1-15.

Schinella GR, Fantinelli JC, Tournier HA, Prieto JM, Spegazzini E, Debenedetti S, Mosca SM. Antioxidant and cardioprotective effects of *Ilex brasiliensis*: A comparative study with *Ilex paraguariensis* (yerba mate). *Food Res. Int.* 2009; 42 (10): 1403-1409.

Sugimoto S, Nakamura S, Yamamoto S, Yamashita C, Oda Y, Matsuda H, Yoshikawa M. Brazilian natural medicines. III. structures of triterpene oligoglycosides and lipase inhibitors from mate, leaves of *Ilex paraguariensis*. *Chem Pharm Bull (Tokyo).* 2009; 57: 257-261.

7.3. Actividad antioxidante total de extractos vegetales

7.3.1. Extractos de plantas utilizadas popularmente para tratamiento de la psoriasis

Este trabajo se realizó en el Department of Pharmaceutical and Biological Chemistry de la University College of London con la dirección del Dr. José María Prieto.

Se estudió la actividad biológica de extractos metanólicos de hojas de *Mollis acanthus* (Acanthaceae), *Achillea ligústica* y *Artemisia arborescens*, y flores de *Inula viscosa* (Asteraceae), plantas que se utilizan en el sur de Italia contra la psoriasis y otras enfermedades de la piel.

En este trabajo se evaluaron los efectos antiinflamatorios *in vitro* sobre la actividad de 5, 12, 15-LOX y la COX-1, así como la activación del factor de transcripción NFκB en células intactas (neutrófilos y plaquetas).

Todos los extractos inhibieron la actividad de 5-LOX y COX-1 por debajo de 200 µg/mL, sin efectos significativos sobre la vía 12-LOX o relevante actividad atrapadora de radicales libres *in vitro*. Todos los extractos inhibieron la activación de la vía NFκB.

En este trabajo participé en la determinación de la actividad antioxidante total de los extractos, utilizando los ensayos de decoloración de los radicales libres estables ABTS y DPPH.

Los extractos metanólicos de las plantas ensayadas mostraron capacidad atrapadora de radical ABTS con concentraciones inhibitorias 50 (CI50) aproximadas a 60 µg/mL (Fig. 1)

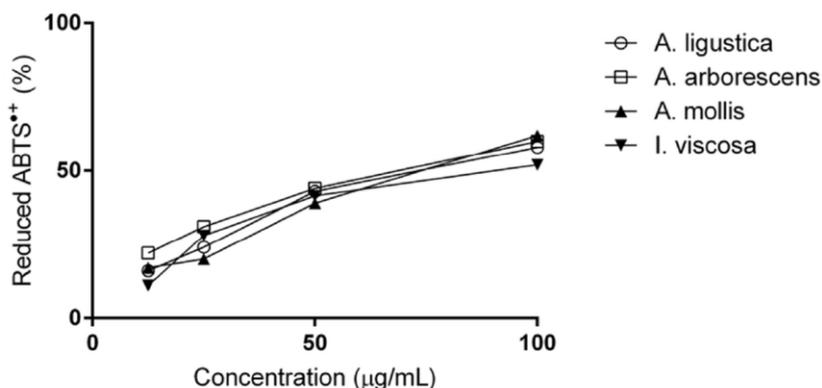


Figura 1. Decoloración del radical ABTS (%) de los extractos metanólicos de *Mollis acanthus*, *Achillea ligústica*, *Artemisia arborescens*, e *Inula viscosa*

Cuando se evaluó la actividad antioxidante total de los extractos por su capacidad de decolorar el radical libre DPPH, se determinó que tenían una potencia antioxidante inferior ($CI_{50} > 200 \mu\text{g/mL}$) a la demostrada utilizando radical ABTS (datos no mostrados).

7.3.2. Frutos colombianos (corozo y curuba):

Este trabajo forma parte del proyecto de beca posdoctoral (CONICET) de la Dra. Luisa Fernanda Arbeláez en cual se determinará la actividad cardioprotectora de extractos obtenidos de frutos colombianos en un modelo de isquemia y reperfusión en el Centro de Investigaciones Cardiovasculares de la Universidad Nacional de La Plata.

En este proyecto participo como codirector de la becaria y en esta instancia colaboré con el Lic. Horacio Tournier (Profesional Principal, CIC-PBA) en la determinación de la actividad antioxidante total y del contenido de compuestos fenólicos de los extractos de corozo y curuba.

-Ver informe del Lic. Horacio Tournier-

7.4. Determinación de la citotoxicidad in vitro de células de la leucemia linfoide crónica B tratadas con nanopartículas de óxido de zinc cubiertas con manganeso.

Este trabajo se llevó a cabo en colaboración con los proyectos dirigidos con los Dres. Eduardo Mansilla y Gustavo Marín en el Centro Único de Ablación e Implante de la Provincia de Buenos Aires (CUCAIBA).

Introducción

El Zinc (Zn) unido a metales como el manganeso (Mn) y englobado en nanopartículas (NP) podría modificar sus propiedades ópticas y electrónicas y mejor así las reacciones de fotooxidación en la terapia fotodinámica (TFD). De esta manera esas partículas así formadas (Mn-ZnO) podrían utilizarse en el tratamiento de la leucemia linfoide crónica B (LLC-B) combinado con la TFD. Estas NP si son excitadas por la emisión de luz, podrían generar especies reactivas del oxígeno que lleven a inducir apoptosis en células de la LLC-B, incluso en fenotipos resistentes a terapias convencionales.

Objetivo del estudio

Promover con el uso de nanopartículas Mn-ZnO+terapia fotodinámica, un efecto pro-apoptótico en las células LLC-B resistentes a tratamientos convencionales.

Materiales y Métodos

NPs de 20 nm con 0,5% de Mn-ZnO se sintetizaron mediante una técnica de precipitación química. Dichas NP se utilizaron a 140 µg/mL en medio de cultivo en presencia de linfocitos normales (LN) o de células LLC-B humanas no-mutadas. La penetración de NP dentro de las células se evaluó por microscopía electrónica de transmisión (TEM). NP cultivadas con células fueron estimuladas por la emisión de luz de un láser con una longitud de onda de 532 nm. La generación intracelular de oxígeno después de la TFD fue medida por análisis cuantitativo de fluorimetría de las reacciones de foto-oxidación utilizando una sonda fluorescente de oxígeno. La apoptosis se evaluó por citometría de flujo usando tinción doble anexina V/ioduro de propidio y MTT.

Resultados

Después de 24 horas en cultivo, tanto LN como células LLC-B sin NP y sin irradiación no mostraron diferencias estadística en términos de apoptosis (4,6% vs 7,2%, NS). No obstante, cuando se cultivaron durante el mismo período de tiempo, dichas células expuestas a NP de Zn, pero sin irradiación, el % de LN y de células LLC-B apoptóticas fue de 15 y 45%, respectivamente mientras que agregando irradiación estos % de apoptosis fueron de 30 y 89% ($p < 0,001$).

Conclusión

NP de Mn-ZnO fueron capaces de producir un alto nivel de apoptosis en células LLC-B no mutadas en comparación con linfocitos normales, especialmente luego de su irradiación con láser ($p < 0,001$). Esta diferencia podría deberse a la diferencia en el estado redox que poseen las células de LLC-B. Los hallazgos sugieren que esta terapia innovadora podría ser utilizada en el futuro como un tratamiento eficaz alternativo especialmente bajo la aparición de fenotipos resistentes LLC-B.

Mi participación en este trabajo fue la de determinar la viabilidad de las células tratadas con las NP mediante el ensayo de MTT. Los resultados que se observan en la Fig. 1 permitieron concluir:

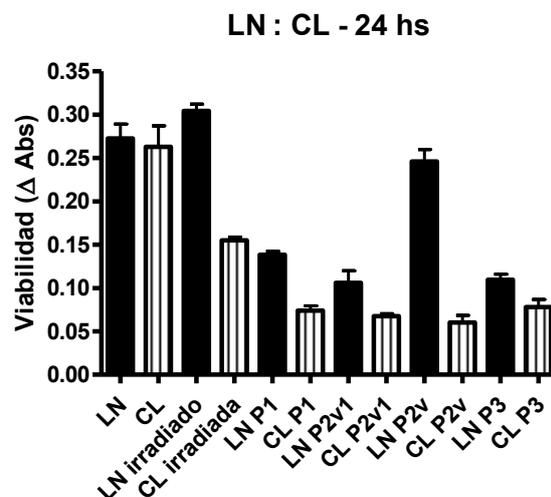


Figura 1. Viabilidad de células de leucemia linfocítica crónica B tratadas *in vitro* con nanopartículas de Mn-ZnO durante 24 h.

- 1) La viabilidad de los LN y las CL (células de leucemia linfocítica crónica B) no difieren cuando se las mantiene en cultivo durante 24 h.
- 2) La diferencia que se observa entre LN irradiado y CL irradiado, indica que la irradiación de la CL produce un efecto citotóxico
- 3) Los tratamientos con partículas P1, P2v1 y P3 producen un efecto citotóxico mayor en las CL que en LN.

8. OTRAS ACTIVIDADES

8.1. PUBLICACIONES, COMUNICACIONES, ETC.

1. **Schinella G**, Neyret E, Cónsole G, Tournier H, Prieto JM, Ríos JL, Giner R. An aqueous extract of *Ilex paraguariensis* reduces carrageenan-induced edema and inhibits the expression of COX-2 and iNOS in animal models of inflammation. *Planta Med.* 2014; 80(12):961-968. Epub 2014 Aug 4.
2. Andújar I, **Schinella GR**, Ríos JL. "Yerba Mate (*Ilex paraguariensis*): A Psycho-stimulant Plant with Anti-oxidant Properties". In: *Polyphenols: Food Sources, Bioactive Properties and Antioxidant Effects* (Dean T. Cobb, Ed.), Nova Science Publishers. New York, USA. 2014. pp. 51-86.
3. Bader A, Giner RM, Martini F, **Schinella GR**, Ríos JL, Braca A, Prieto JM. Modulation of COX, LOX and NFκB activities by *Xanthium spinosum* L. root extract and ziniolide. *Fitoterapia* 2013; 91: 284-289. Epub 2013 Oct 1.

8.2. CURSOS DE PERFECCIONAMIENTO, VIAJES DE ESTUDIO, ETC.

1. **Curso de perfeccionamiento:**
 - 1.1) Especialización en Docencia Universitaria. Universidad Nacional de La Plata: en este período curse y aprobé dos talleres ("Investigación e intervención en la práctica docente universitaria" y "Escritura académica").
 - 1.2) Maestría en Plantas Medicinales. Facultad de Ciencias Exactas. UNLP: en este período redacte el trabajo de tesis e inicie el trámite para su evaluación.
2. **Miembro del comité científico** del II Simposio Internacional de Yerba Mate y Salud. Hotel Radisson del 8 al 10 de mayo 2014 Montevideo Uruguay. Este simposio cuenta con el auspicio de la CIC-PBA (ver acta de Directorio CIC-PBA Nro. 1385)

8.3. ASISTENCIA A REUNIONES CIENTIFICAS/TECNOLOGICAS o EVENTOS SIMILARES.

1. Rosu SA, Ramella N, **Schinella G**, Ríos JL, Andújar I, Rimoldi O, Tricerri MA. "Structure-function relationships in apolipoprotein A-I mutants associated with amyloidosis". IX International Symposium on Familial Amyloidotic Polyneuropathy. Rio de Janeiro, Brasil, 10-13 noviembre 2013. Memoria de congreso (
2. **Schinella G**, Neyret E, Tournier H, Prieto J, Ríos J, Giner R. Efecto antiinflamatorio de un extracto acuoso de *Ilex paraguariensis*. LVIII Reunión científica anual de la Sociedad Argentina de Investigación Clínica, Reunión científica anual 2013 de la Sociedad Argentina de Fisiología, XLV Reunión científica anual de la Sociedad

Argentina de Farmacología Experimental. Mar del Plata, Argentina. 20-23 de noviembre 2013. Medicina (Buenos Aires) 73 (Supl. III): 152; 2013.

3. González Arbeláez L, Fantinelli J, **Schinella G**, Mosca S. La vía Akt/eNOS/GSK-3-beta está involucrada en la disminución del tamaño del infarto producida por un extracto acuoso de *Ilex paraguariensis*. LVIII Reunión científica anual de la Sociedad Argentina de Investigación Clínica, Reunión científica anual 2013 de la Sociedad Argentina de Fisiología, XLV Reunión científica anual de la Sociedad Argentina de Farmacología Experimental. Mar del Plata, Argentina. 20-23 de noviembre 2013. Medicina (Buenos Aires) 73 (Supl. III): 273; 2013.
4. Pena-Luengas S, Marín GH, Errecalde J, Rodríguez NF, Roque G, **Schinella G**, Pistaccio L, Dreom M, Nuñez L, Sánchez F, Adrián T, Goya R, Perales-Pérez O, Rivera- Montalvo L Mansilla E. “Nanopartículas de óxido de zinc cubiertas con manganeso para el tratamiento fotodinámico de la leucemia linfocítica crónica B resistente a terapias habituales”. I Congreso Internacional de la Facultad de Ciencias Médicas de la UNLP. La Plata Argentina. 28-30 de noviembre, 2013. Tercera Época. Revista Científica de la Facultad de Ciencias Médicas. 2013; 4(1):1-1.
5. **Schinella G**, Castro MC, Riccilo F, Maitztegui B, Roman L, Flores LE, Zubiría G, Castrogiovanni D, Massa ML, Francini F. “Efecto de la yerba mate en las alteraciones endocrino-metabólicas inducidas por administración de una dieta rica en sacarosa en ratas”. VI Congreso Sudamericano de la Yerba Mate y II Simposio Internacional de Yerba Mate y Salud. Montevideo. Uruguay. 8-10 mayo 2014. Memoria de congreso (ISBN: 978-9974-0-1085-7)

9. TAREAS DOCENTES DESARROLLADAS EN EL PERIODO.

9.1. Curso de pregrado:

1) Jefe de Trabajos Prácticos dedicación parcial. Cátedra de Farmacología Básica. Facultad de Ciencias Médicas. UNLP.

2) Jefe de Trabajos Prácticos dedicación simple. Asignatura: Elementos de Farmacología. Departamento de Ciencias Biológicas. Facultad de Ciencias Exactas. UNLP (*a partir de marzo de 2014 estoy de baja en el presente cargo*)

9.2. Curso de posgrado:

1) Asignatura: “Bioensayos de plantas medicinales”. Modulo: Actividad antioxidante de productos naturales. Maestría en Plantas Medicinales. Departamento de Ciencias Biológicas. Facultad de Ciencias Exactas. UNLP. Noviembre 2013.

2) Taller: “Antioxidantes en la Salud Humana”. Maestría en Ciencias Biológicas. Universidad de la Amazonía. Florencia. Caquetá. Colombia. Octubre 2013.

10. OTROS ELEMENTOS DE JUICIO NO CONTEMPLADOS EN LOS TITULOS ANTERIORES.

10.1. Codirección de proyectos:

1) “Antioxidantes naturales de origen vegetal: efecto sobre la producción de radicales libres en diferentes modelos fisiopatológicos (11/M139)”. Programa de Incentivos para los

Docentes-Investigadores. Secretaria de Políticas Universitarias. Ministerio de Educación, Ciencia y Tecnología. 2009-2012. Directora: Susana Mosca.

2) “Intervención farmacológica sobre procesos inflamatorios y de estrés oxidativo en un modelo de insulinoresistencia (11/M162)”. Programa de Incentivos a Docentes-Investigadores. Secretaria de Políticas Universitarias. Ministerio de Educación. Presidencia de la Nación. Argentina. 2012-2015. Director: Flavio Francini.

10.2. Codirección de becarios

1) Luisa Arbeláez González. Beca Interna Postdoctoral CONICET. Título del proyecto: “Productos naturales de origen vegetal: Efectos en la fisiopatología del daño miocárdico inducido por isquemia y reperfusión”. Directora: Dra. Susana Mosca. Lugar de ejecución: Centro de Investigaciones Cardiovasculares, Facultad de Ciencias Médicas. UNLP. 2014-2015.

10.3. Evaluación de trabajos científicos, proyectos de investigación y becas

- 1) **Trabajos Científicos:** International Journal of Food Science (1); Planta Medica (1).
- 2) **Proyectos de investigación:** Fondo María Viñas. CONICYT / Agencia Nacional de Investigación e Innovación. Uruguay. Convocatoria 2013.
- 3) **Becas:** Beca tipo A. Universidad Nacional de La Plata. Convocatoria 2013.

RESUMENES DE CONGRESOS

1) IX International Symposium on Familial Amyloidotic Polyneuropathy. Rio de Janeiro, Brasil, 10-13 noviembre 2013.

D-13 - STRUCTURE-FUNCTION RELATIONSHIPS IN APOLIPOPROTEIN A-I MUTANTS ASSOCIATED WITH AMYLOIDOSIS.

Silvana A. Rosu¹, Nahuel A. Ramella¹, Guillermo R. Schinella², Jose L. Rios³, Isabel Andujar³, Omar J. Rimoldi¹, M. Alejandra Tricerri¹

¹INIBIOLP - Instituto de Investigaciones Bioquímicas de La Plata (Facultad Cs Medicas UNLP Calle 60 y 120, La Plata, Argentina), ²UNLP - Cátedra de Farmacología Básica. (Facultad Cs Médicas UNLP. CIC-PBA. Calle 60 y 120, La Plata, Argentina), ³UV - Departament de Farmacologia (Universitat de Valencia. España.)

Amyloidosis induced by Human apolipoprotein A-I (apoA-I) represent a broad range of clinical manifestations, depending on the protein variant which is involved. Senile non hereditary amyloidosis, is characterized by deposits of protein with the wild type sequence (WT) in atherosclerotic plaques, thus opening the hypothesis that a chronic inflammatory micro environment could elicit protein misfolding and or loss of function. But in addition, more than fifteen single point mutants of this protein are associated with amyloidosis in patients, affecting different organs and with different severity. In order to get insight into the mechanism inducing protein misfolding, we constructed three natural amyloidogenic variants (Arg173Pro, Gly26Arg and Lys107-0), and compared their behavior with WT.

The three mutants are less stable than WT at physiological pH, and show a non cooperative unfolding. However only Arg173Pro and Lys107-0 have a stronger tendency to aggregate under this condition. Arg173Pro shows also higher tendency to bind to heparin under mild acidic pH and in the presence of small amounts of dodecyl sodium sulfate. Instead Gly26Arg but not Lys107-0 enhances macrophages activation, which could be a clue mechanism to perpetuate a pro-inflammatory micro environment. Results indicate that subtle structural changes are required to induce protein pathogenicity, however this is not only related to protein instability but to the specific activation of cellular pathways that could enhance their toxicity under specific conditions as well. Authors acknowledge support from UNLP (M158), ANPCyT (PICT 2008-2106), and CONICET (PIP PIP 112-200801-00953 and 112 201101-00648).

2) LVIII Reunión científica anual de la Sociedad Argentina de Investigación Clínica, Reunión científica anual 2013 de la Sociedad Argentina de Fisiología, XLV Reunión científica anual de la Sociedad Argentina de Farmacología Experimental. Mar del Plata, Argentina. 20-23 de noviembre 2013. Medicina (Buenos Aires) 73 (Supl. III): 273; 2013.

215- EFECTO ANTIINFLAMATORIO DE UN EXTRACTO ACUOSO DE *ILEX PARAGUARIENSIS*

Guillermo Schinella, Elisa Neyret, Horacio Tournier, José Ma. Prieto, José L. Ríos, Rosa Giner. Facultad de Ciencias Médicas. UNLP; CIC-PBA, Argentina; Universitat de Valencia, España; University College of London, UK. E-mail de contacto: Guillermo Schinella <schinell@uv.es>

Introducción: La infusión de hojas secas y picadas de *Ilex paraguariensis* –yerba mate- (YM) es la bebida tradicional que se utiliza como fuente de cafeína, con una importante función social y ritual. En los últimos años, un gran número de publicaciones científicas demostraron sus efectos antioxidantes, cardiovasculares, antimutagénicos, reductores de peso corporal, etc., en diferentes modelos experimentales.

Objetivo: Estudiar el efecto antiinflamatorio de *I. paraguariensis* en un modelo in vivo

Metodología: El extracto acuoso YM se preparó, a partir de material vegetal comercial, como una infusión al 5% p/v, se liofilizó y se almaceno a -20C hasta su uso. Se caracterizó su composición química mediante HPLC-DAD. Se utilizaron ratones machos Swiss. Se evaluó la actividad antiinflamatoria mediante el modelos experimental de inflamación aguda del edema plantar inducido por carragenina. Se determinó la actividad de mieloperoxidasa (MPO) en patas de animales tratados

y controles para estimar la infiltración leucocitaria en el sitio de inflamación. En homogenatos de las patas se determinó la expresión de COX2 e iNOS mediante western blot.

Resultados: La administración oral de YM reduce de forma dosis dependiente el edema plantar inducido por carragenina. YM a la dosis de 250 mg/kg reduce significativamente el edema con una inhibición de 53% a las 3 h. Tanto YM (250 mg/kg) como la indometacina (10 mg/kg) inhiben significativamente la infiltración leucocitaria en el tejido después de 5 h de la inyección plantar de carragenina en un 24%. El análisis de western blot del efecto del YM en el tejido plantar inflamado, 5 h después de la inyección de carragenina, muestra que se produce un 43% y 53% de inhibición la expresión de COX-2 e iNOS respectivamente, valores ligeramente inferiores a los obtenidos para la indometacina.

Conclusión: Un extracto acuoso de *Ilex paraguariensis* –yerba mate- posee actividad antiinflamatoria en un procesos de inflamación aguda.

632- LA VIA Akt/eNOS/GSK-3 β ESTÁ INVOLUCRADA EN LA DISMINUCIÓN DEL TAMAÑO DEL INFARTO PRODUCIDA POR UN EXTRACTO ACUOSO DE *ILEX PARAGUARIENSIS*.

Luisa F González Arbeláez, Juliana Fantinelli, Schinella G, Susana Mosca. Centro de Investigaciones Cardiovasculares (CONICET), Cátedra de Farmacología Básica (CIC-PBA), Facultad de Ciencias Médicas, UNLP, La Plata.

En experimentos previos demostramos la acción beneficiosa de un extracto acuoso de *Ilex paraguariensis* (IP) sobre el atontamiento miocárdico. El objetivo de esta investigación fue examinar los efectos de la administración de dicho extracto en un modelo de isquemia regional estudiando los mecanismos implicados. Corazones aislados de ratas Wistar y perfundidos según la técnica de Langendorff fueron sometidos a un período de 40 min de oclusión coronaria (producida por ligadura de la arteria descendente anterior) seguido de un período de reperfusión de 60 min. Otro grupo de corazones fueron tratados durante los primeros 10 minutos de la reperfusión con una dosis de 25 μ g/ml de IP. Se midió el tamaño del infarto (TI), por medio de la tinción con sales de tetrazolio (TTC), y se evaluó la función miocárdica postisquémica. En el tejido miocárdico se determinó la concentración de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS), el nivel de glutatión reducido (GSH) y la actividad citosólica de SOD como indicadores del estado oxidativo. La expresión de eNOS, Akt, ERK1/2, p90RSK y GSK-3 β fueron determinadas por western blot. El tratamiento con IP disminuyó el TI (20 \pm 3% vs 38 \pm 3 %) y mejoró la recuperación miocárdica postisquémica. Las TBARS disminuyeron, el nivel de GSH se preservó parcialmente y la actividad de SOD disminuyó. Los contenidos de eNOS, Akt y GSK-3 β aumentaron después del tratamiento con IP en un 24%, 41% y 19%, respectivamente; mientras que ERK1/2 y p90RSK no se modificaron.

El presente estudio demuestra que la administración de IP sólo en la reperfusión ejerce efecto cardioprotector disminuyendo la muerte celular y el daño oxidativo derivados de la isquemia-reperfusión. Estos efectos serían mediados por la vía Akt-eNOS-GSK-3 β .

3) I Congreso Internacional de la Facultad de Ciencias Médicas de la UNLP. La Plata Argentina. 28-30 de noviembre, 2013. Tercera Época. Revista Científica de la Facultad de Ciencias Médicas. 2013; 4(1):1-1

NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE ZINC CUBIERTAS CON MANGANESO PARA EL TRATAMIENTO FOTODINÁMICO DE LA LEUCEMIA LINFOIDE CRÓNICA B RESISTENTE A TERAPIAS HABITUALES.

Autores: Pena-Luengas S, Marín GH, Errecalde J, Rodríguez NF, Roque G, Schinella G, Pistaccio L, Dreom M, Nuñez L, Sánchez F, Adrian T, Goya R, Perales-Pérez O, Rivera-Montalvo L, Mansilla E.

Introducción

El Zinc (Zn) unido a metales como el manganeso (Mn) y englobado en nanopartículas (NP) podría modificar sus propiedades ópticas y electrónicas y mejor así las reacciones de fotooxidación en la terapia fotodinámica (TFD). De esta manera esas partículas así formadas (Mn-ZnO) podrían utilizarse en el tratamiento de la leucemia linfocítica crónica B (LLC-B)

combinado con la TFD. Estas NP si son excitadas por la emisión de luz, podrían generar especies reactivas del oxígeno que lleven a inducir apoptosis en células de la LLC-B, incluso en fenotipos resistentes a terapias convencionales.

Objetivos

Promover con el uso de nanoparticulas Mn-ZnO+terapia fotodinámica, un efecto pro-apoptótico en las células LLC-B resistentes a tratamientos convencionales.

Materiales y Métodos

NPs de 20 nm con 0,5% de Mn-ZnO se sintetizaron mediante una técnica de precipitación química. Dichas NP se utilizaron a 140 ug/ml en medio de cultivo en presencia de linfocitos normales (LN) o de células LLC-B humanas no-mutadas. La penetración de NP dentro de las células se evaluó por microscopía electrónica de transmisión (TEM). NP cultivadas con células fueron estimuladas por la emisión de luz de un láser con una long. onda de 532 nm. La generación intracelular de oxígeno después de la TFD fue medida por análisis cuantitativo de fluorimetría de las reacciones de foto-oxidación utilizando una sonda fluorescente de oxígeno. La apoptosis se evaluó por citometría de flujo usando Anexina V (anexina V / SYTOX), MTT y IP.

Resultados

Después de 24 horas en cultivo, tanto LN como células LLC-B sin NP y sin irradiación no mostraron diferencias estadística en términos de apoptosis (4,6% vs 7,2% pNS). No obstante, cuando se cultivaron durante el mismo período de tiempo, dichas células expuestas a NP de Zn, pero sin irradiación, el % de LN y de cél. LLC-B apoptóticas fue de 15 y 45%, respectivamente mientras que agregando irradiación estos % de apoptosis fueron de 30 y 89% ($p < 0.001$).

Conclusión

NP de Mn-ZnO fueron capaces de producir un alto nivel de apoptosis en células LLC-B no mutadas en comparación con linfocitos normales, especialmente luego de su irradiación con láser ($p < 0.001$). Esta diferencia podría deberse a la diferencia en el estado redox que poseen las células de LLC-B. Los hallazgos sugieren que esta terapia innovadora podría ser utilizada en el futuro como un tratamiento eficaz alternativo especialmente bajo la aparición de fenotipos resistentes LLC-B.

4) VI Congreso Sudamericano de la Yerba Mate y II Simposio Internacional de Yerba Mate y Salud. Montevideo. Uruguay. 8-10 mayo 2014. Memoria de congreso (ISBN: 978-9974-0-1085-7)

EFEECTO DE LA YERBA MATE EN LAS ALTERACIONES ENDOCRINO-METABÓLICAS INDUCIDAS POR ADMINISTRACIÓN DE UNA DIETA RICA EN SACAROSA EN RATAS.

G Schinella^{1,5}, MC Castro², F Riccilo³, B Maitztegui², L Roman², LE Flores², G Zubiría⁴, D Castrogiovanni⁴, ML Massa², F Francini^{2*}.

¹Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de La Plata (UNLP); ²CENEXA (UNLP-CONICET); ³Facultad de Ciencias Naturales y Museo (UNLP); ⁴IMBICE (CIC-CONICET); ⁵CIC-PBA; La Plata, Argentina.

*E mail: Flavio Francini <f_francini@yahoo.com>

Diets ricas en sacarosa –DRS- inducen alteraciones que se asocian con el síndrome metabólico humano. La investigación de productos naturales para su tratamiento es creciente. Este trabajo evaluó el efecto de *Ilex paraguariensis* (YM) sobre animales tratados con dieta comercial estándar (C y CY) sin/con sacarosa 10% en el agua de bebida (DS y DSY). Se determinaron: a) glucosa, insulina, leptina, triglicéridos, NEFA y TBARS en plasma; b) secreción de insulina en islotes pancreáticos; y c) histología hepática. Los animales DS presentaron hipertrigliceridemia, aumento de NEFA, hiperinsulinemia, hiperleptinemia y esteatosis hepática. La CY redujo significativamente la leptinemia y TBARS respecto a C. Islotes de animales DS mostraron un incremento en la

secreción de insulina estimulada por glucosa 16,6 mM, este incremento fue significativamente mayor en los animales CY y DSY. Si bien el tratamiento con YM no redujo significativamente los efectos adversos de la DRS, su efecto potenciador sobre la secreción de insulina requiere futuros estudios.

Palabras claves: yerba mate, sacarosa, insulina, leptina

PUBLICACIONES

Andújar I, Schinella GR, Ríos JL. "Yerba Mate (*Ilex paraguariensis*): A Psycho-stimulant Plant with Anti-oxidant Properties". In: Polyphenols: Food Sources, Bioactive Properties and Antioxidant Effects (Dean T. Cobb, Ed.), Nova Science Publishers. New York, USA. 2014. pp. 51-86. (ISBN: 978-1-63117-857-3).

Chapter 3

YERBA MATE (*ILEX PARAGUARIENSIS*): A PSYCHO-STIMULANT PLANT WITH ANTI-OXIDANT PROPERTIES

Isabel Andújar¹, Guillermo R. Schinella² and José Luis Ríos^{3}*

¹COMAV, Universidad Politécnica de Valencia, Valencia, Spain

²Cátedra de Farmacología Básica, Facultad de Ciencias Médicas,
Universidad Nacional de La Plata, CIC-PBA. Argentina

³Departament de Farmacologia, Faultat de Farmàcia, Universitat de València,
Burjassot, Valencia, Spain

ABSTRACT

Yerba Mate is the trivial name of the species *Ilex paraguariensis* A. St. Hil. (Aquifoliaceae). It has a high reputation in the countries of origin for its psycho-stimulant properties, where the folia are used as a social drink. It is widely distributed in South America. The folium contains caffeine (0.3-1.7%) as principal xanthine, but theobromine is also present. In addition, it contains tannins, essential oils, triterpenes, saponins, resin, and phenolics, principally flavonoids and caffeoyl derivatives, being chlorogenic, isochlorogenic and neochlorogenic acids the most relevant compounds of this last group.

The caffeine confers psycho-stimulant properties as well as cardiovascular and respiratory stimulant properties, which are the base of its anti-fatigue and stimulatory effects. Other properties as thermogenic, digestive, and hypocholesterolemic are also due to the presence of caffeine.

The second relevant group of compounds is the phenolics, that confer anti-oxidant properties to yerba mate, which are closely related with its cardio-protective, anti-mutagenic and cellular protective effects. Reactive oxygen species (ROS) are implicated in different pathologies, especially in cardiovascular diseases but also in digestive disorders and other systems and organs. In particular, a key factor in the development of cardiovascular diseases such as cardiac damage, atherogenesis, or arterial injuries, is the membrane damage caused by lipid peroxidation. In these cases, the use of anti-oxidants, such as carotenes or vitamin E is widely accepted; however, there are evidences that they could be innocuous or deleterious. For this reason, the administration of an anti-oxidant therapy based on the use of natural products with good bioavailability or with activity on anti-oxidant enzymes may protect against the direct injurious effects described for some oxidants.

In the present chapter, we make a critical review on the properties of yerba mate, focusing on the anti-oxidant effects and the differences with other anti-oxidants used for medical purposes.

* Corresponding author: riosjl@uv.es