



INFORME PERIODO: 2016- 2017

1. APELLIDO: **SCHINELLA**

Nombre(s): **Guillermo Raúl**

Título(s): Químico / Magíster en Plantas Medicinales

Dirección Electrónica:

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

Codirector de proyecto:

1. "Efectos de productos naturales utilizados en la alimentación y medicina tradicional en isquemia y reperfusión miocárdicas en ratas normotensas e hipertensas espontáneas (11/M169)". Universidad Nacional de La Plata. Programa de Incentivos a Docentes-Investigadores. Secretaria de Políticas Universitarias. Ministerio de Educación. Presidencia de la Nación. Argentina. 2013-2016. Directora: Susana Mosca.

2. "Intervención farmacológica sobre procesos inflamatorios y de estrés oxidativo en un modelo de insulinoresistencia –parte 2- (11/M192)". Universidad Nacional de La Plata. Programa de Incentivos a Docentes-Investigadores. Secretaria de Políticas Universitarias. Ministerio de Educación. Presidencia de la Nación. Argentina. 2016-2017. Director: Flavio Francini.

Integrante en grupos de investigación:

1. "Mecanismos moleculares que determinan la patogenicidad de mutantes naturales de la apolipoproteína A-I humana implicados en amiloidosis" (PICT-2016-0849). Investigador responsable: Dra. María Alejandra Tricerri.

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

3. "Bioprospección de los productos naturales amazónicos", (COL0125269). Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología e Innovación. COLCIENCIAS. Universidad de la Amazonia. Florencia. Caquetá. Colombia. Director: Alberto Fajardo Oliveros.

4. DIRECTOR

Apellido y Nombre (s): Mordujovich de Buschiazso, Perla

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

Dirección: N°: S/N Ciudad: La Plata

C. P.. Tel.: Dirección Electrónica:

5. LUGAR DE TRABAJO

Institución: Universidad Nacional de La Plata

Dependencia: Cátedra de Farmacología Básica. Facultad de Ciencias Médicas

Dirección: Avda. 60 y calle 120

Ciudad: La Plata C. P.: 1900 Prov.: Bs. As. Tel: (0221) 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: Avda. 60 y calle 120

Ciudad: La Plata C. P.: 1900 Prov.: Bs. As. Tel: (0221) 421 69 32

Cargo que ocupa: Jefe de Trabajos Prácticos

7. RESUMEN DE LA LABOR QUE DESARROLLA

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, etcétera.

El uso de diferentes modelos experimentales donde participan las ERO, tales como el de inducción de insulinoresistencia en ratas sometidas a una dieta rica en sacarosa y el daño miocárdico inducido por isquemia y reperusión en corazón aislado de ratas, permiten proponer tratamientos con compuestos químicos o extractos de reconocida actividad antioxidante con la finalidad de evitar las alteraciones fisiopatológicas que se generan y conocer los mecanismos que generan estrés oxidativo. Durante este periodo, también se desarrollaron modelos in vivo e in vitro con la finalidad de evaluar compuestos con actividad quimioterápica y antiinflamatoria. en procesos inducidos por mutantes proamiloidogénicos de apo AI.

8. EXPOSICIÓN SINTÉTICA DE LA LABOR DESARROLLADA EN EL PERIODO

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

8.1.1. Insulinorresistencia: Efecto de un extracto enriquecido con polifenoles de cacao.

Un extracto enriquecido con polifenoles de cacao (ERPC) de reconocida actividad antioxidante fue seleccionado con el **objetivo** de estudiar sus potenciales efectos para corregir las alteraciones endocrino-metabólicas producidas por la sacarosa.

Se utilizaron ratas machos Wistar normales (180-200 g) alimentadas con dieta comercial estándar. Los tratamientos realizados fueron: 1) agua corriente (control [BI]); 2) solución acuosa sacarosa 10% en agua de bebida (control sacarosa [C]), 3) ERPC, 200 mg/kg/día, v.o., con 10% de sacarosa en agua de bebida [SC]. Los animales (n= 8/lote) se sacrificaron a los 35 días de tratamiento.

En el informe anterior demostramos que el tratamiento con ERPC evito la insulinorresistencia y el daño oxidativo hepático inducido por la dieta rica en sacarosa a través de la activación de la vía Akt/eNOS.

Durante este período se evaluaron indicadores de inflamación hepática (método western blot), tales como COX-2 e iNOS. Los resultados obtenidos nos permiten observar que el tratamiento con ERPC redujo los indicadores de inflamación inducidos por la dieta rica en sacarosa (Figura 1)

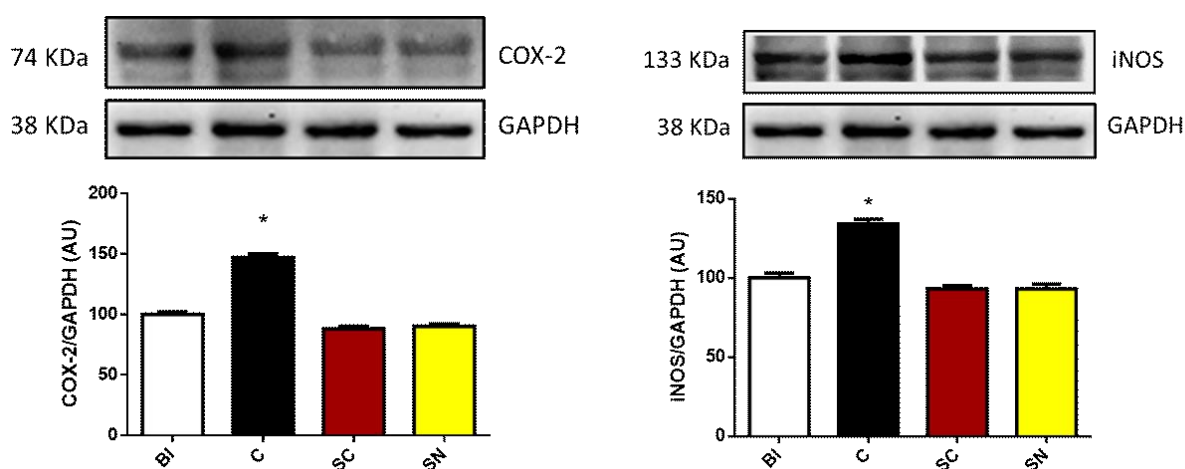


Figura 1

Mi participación en este estudio es la de codirección del proyecto (11/M192), interviniendo en la planificación, coordinación de trabajo y análisis de resultados.

8.1.2. Isquemia – Reperfusión: efecto cardioprotector y antioxidante de isoespintanol.

El isoespintanol es un monoterpeno aislado de hojas de *Oxandra xf. xylopiodes* (Annonaceae) con reconocida actividades antiinflamatoria (Rojano et al; 2007) y antioxidante (Rojano et al; 2008).

El **objetivo** del presente trabajo fue evaluar el efecto cardioprotector del isoespintanol inducido por un proceso de isquemia-reperfusión en corazón aislado de rata.

Metodología:

1) Material vegetal: El isoespintanol fue provisto por el Dr. Benjamín Rojano de la Universidad Nacional de Colombia (sede Medellín).

2) Evaluación de la función miocárdica y tamaño de infarto: La actividad cardioprotectora de isoespintanol se evaluó en corazón aislado rata mediante la técnica de Langendorff, con un protocolo en que se sometió al corazón ($n=6$) a un periodo de isquemia global de 40 min y seguidos de 10 min de perfusión con isoespintanol ($10\text{ }\mu\text{g/mL}$) y 50 min en ausencia del extracto. La función miocárdica se evaluó a través de la presión desarrollada en el ventrículo izquierdo (PD, %) y la rigidez miocárdica a través de la presión diastólica final en el ventrículo izquierdo (PDF, mmHg). Con el fin de evaluar el tamaño del infarto se midió el área en riesgo utilizando el método de doble tinción con azul de Evans y cloruro de trifeniltetrazolio. Con la finalidad de evaluar la participación de la óxido nítrico sintasa (NOS), proteincinasa C (PKC) y fosfatidilinositol-3-cinasa (PI3K), otros corazones ($n=4$) fueron tratados con 1 mM de NG-nitro-L-arginina metil éster (L-N), $1\text{ }\mu\text{M}$ de Celeritrina (Ce) y 1 mM de Wortmanina (Wort), respectivamente.

Resultados: El tratamiento con isoespintanol redujo significativamente el tamaño de infarto respecto al CI ($P<0,01$), ese efecto fue anulado significativamente cuando los corazones se trataron con L-N, Ce y Wort, demostrando que NOS, PKC y PI3K están involucradas en la disminución del tamaño del infarto. (Fig 1)

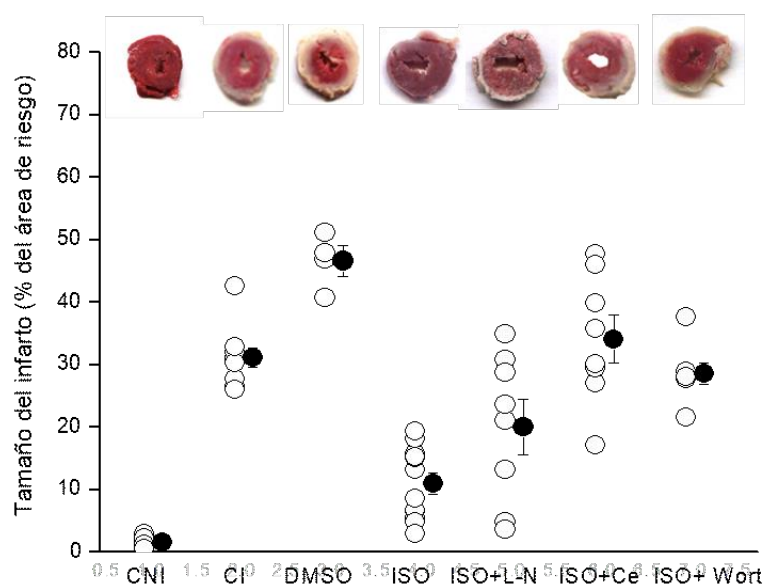


Figura 1

Respecto al análisis de los resultados de la función miocárdica, el isoespintanol, al final de la perfusión, recupero significativamente la fuerza de contracción (%PD) en un 63% respecto al CI que fue de 17% ($P<0,01$). La PDF, un indicador del estado de contractura miocárdica, también fue significativamente inferior a los CI ($P<0,01$). Nuevamente, a través de la función miocárdica, se demuestra que NOS, PKC y PI3K están involucradas en la cardioprotección. (Tabla 1)

Tabla 1

	NIC	IC	ISO	ISO+L-N	ISO+ CE	ISO+WORT
%PD	80±2	17±3	63±7	28±10	24±6	17±8
PDF	7±1	52±7	25±5	61±6	61±10	60±7
%+dp/dt	80±4	18±4	66±8	29±9	25±6	18±8
%-dp/dt	78±4	17±4	62±7	28±10	26±7	20±10

- ✓ Rojano B, Pérez E, Figadère B, Martin MT, Recio MC, Giner R, Ríos JL, Schinella G, Sáez J. Constituents of *Oxandra cf. xylopioides* with anti-inflammatory activity. *J Nat Prod.* 2007; 70(5):835-8.
- ✓ Rojano BA, Gavidia CA, Gil MA, Saez JA, Schinella GR, Tournier HA. [Antioxidant activity of the isoespintanol in different media]. *Vitae* 2008; 15 (1):173-181.

Mi participación en este estudio es la de codirección del proyecto (11/M169), interviniendo en la planificación, coordinación de trabajo y análisis de resultados.

8.2. Cáncer: Determinación de la actividad anticancerosa de un péptido que interfiere en la vía Ras/Raf en un modelo de leucemia desarrollado en ratones.

Este trabajo se llevó a cabo en el marco de la cooperación de un proyecto dirigido por el Dr. Gustavo Marín en la Cátedra de Farmacología Básica de la Facultad de Ciencias Médicas de la UNLP.

La vía de transducción de señales Ras / Raf / Mek / Erk regula la progresión del ciclo celular y la apoptosis en diversos tipos de células incluyendo líneas malignas. Esta vía puede inducir eventos asociados con la proliferación celular y la detención del ciclo celular regulando múltiples procesos celulares incluyendo supervivencia, crecimiento y diferenciación celular. Las mutaciones de Ras ocurren en el 15-30% de todos los cánceres humanos mientras que las mutaciones de Raf también pueden ocurrir en diferentes porcentajes dependiendo del tipo de cáncer (las mutaciones de B-Raf están presentes en 30-60% de melanomas, 30-50% de cánceres tiroideos y el 5-20% de los cánceres colorrectales). Por lo tanto, RAS-RAF-MEK-ERK vía se ha considerado un objetivo prometedor para el tratamiento contra el cáncer.

Diversos procesos fundamentales en las células son controlados en gran parte por las interacciones macromoleculares y, entre ellos, las interacciones proteína-proteína que tienen un papel fundamental en la patogénia de numerosas enfermedades.

El Instituto Curie de la Université Pierre y Marie Curie (París 6) en Francia, mapeó los sitios de unión de K-Ras a B-Raf y diseñó péptidos con el fin de alterar la interacción Ras / Raf que mostró propiedades pro-apoptóticas. Estos péptidos (PP) se patentaron como EP133059455.

El **objetivo** del presente trabajo es estudiar el efecto del PP en un modelo experimental de leucemia en ratones.

Metodología: Se utilizó el modelo LB, que se corresponde con una leucemia linfoide-T que se desarrolló de forma espontánea en ratones machos BALB/c de 6 meses de edad (Academia Nacional de Medicina). LB es un tumor extremadamente agresivo que mata el 100% de los ratones después de 30 días de una inoculación de 10^6 células (latencia media hasta la muerte, 22 días). Se desarrolla con la infiltración de los ganglios linfáticos, el bazo y el hígado. Los ratones BALB/c ($n=50$) se inocularon con células LB (10^6 /ratón, vía s.c.), después de la inoculación los animales se dividieron conformando dos grupos de 25 animales: Grupo T, que recibieron 3 mg/Kg/día. de PP vía i.p y el Grupo C, correspondientes a los controles sin tratamiento que recibieron solución fisiológica salina. Diariamente se evaluó la sobrevida de los animales. El análisis estadístico se realizó de las curvas de sobrevida utilizando el método de Kaplan Meir.

Resultados: Según se observa en la Figura 1 el tratamiento con PP muestra un significativo, aumento de la sobrevida (20,3 días, $p<0,02$) respecto a los ratones control (15,5 días). También, se puede observar que en el grupo control no hubo sobrevida de los ratones mayor a 23 días, mientras que en grupo tratado no hubo sobrevida mayor a 28 días.

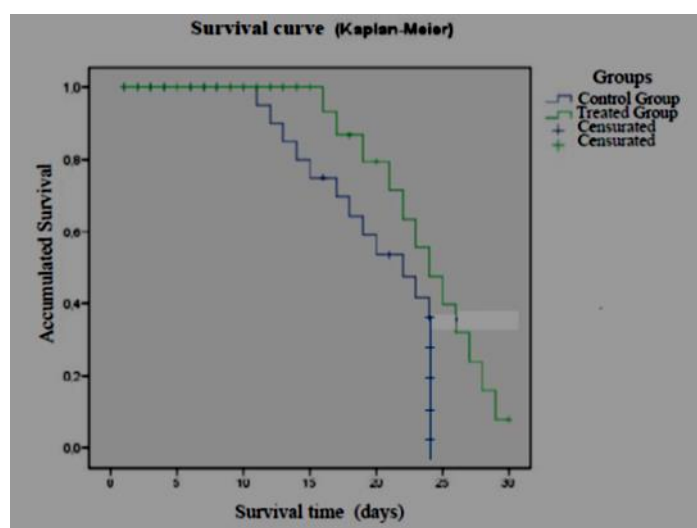


Figura 1

Se realizaron análisis anatopatológicos del tumor y se aguardan los resultados.

En este trabajo participé como colaborador, preparando la forma farmacéutica para la administración intraperitoneal del PP, su administración y la medida de sobrevida de los ratones. En la actualidad se están realizando estudios de ajustes de dosis con la finalidad de lograr una extensión de la sobrevida de los animales tratados.

8.3. Citotoxicidad

8.3.1. Isoespintanol y dos derivados semisintéticos

Este trabajo fue parte de la tesis de la Maestría en Platas Medicinales (Facultad de Ciencias Exactas, UNLP) de la Lic. Tatiana Carolina Gavilánez Buñay (ver ítem 11.1.3.)

La limitación de fármacos antiinflamatorios disponibles en el mercado para el tratamiento de determinados procesos inflamatorios ha llevado en los últimos años a proponer nuevas estrategias farmacológicas alternativas que podrían utilizarse para la resolución de la inflamación mejorando la apoptosis de las células polimorfonucleares sin afectar la función de los macrófagos (Hallett y col., 2008).

En un trabajo previo hemos demostrado que el isoespintanol, monoterpreno aislado de las hojas de *Oxandra cf xylopioides*, poseía actividad antiinflamatoria in vivo (Rojano y col., 2007). Recientemente, estudiamos la actividad apoptótica in vitro del isoespintanol (ISO) y los dos derivados semisintéticos –bromuro de isoespintanol (BrI) e isoespintanol desmetilado (DMI) – en células polimorfonucleares humanas (PMN). Este estudio, demostró que el bromuro de isoespintanol (BrI), induce un proceso apoptótico en PMN y está mediado –al menos en parte– por la activación de las caspasas (Dade y col., 2016). El objetivo del este trabajo fue evaluar la citotoxicidad in vitro del isoespintanol y dos derivados semisintéticos (bromuro de isoespintanol e isoespintanol desmetilado) en macrófagos murinos RAW 264.7.

Esta investigación incluyó una evaluación de viabilidad de los compuestos en macrófagos murinos RAW 264.7. En el ensayo de MTT se muestra la capacidad de reducir la sal MTT a formazán por la succinato deshidrogenasa mitocondrial. El ISO (100 μ M) y DMI (10 y 100 μ M) mostraron significativa disminución de viabilidad de las células cultivadas durante 24 horas, sin embargo, el BrI no produjo pérdida de viabilidad a las concentraciones ensayadas (Figura 1).

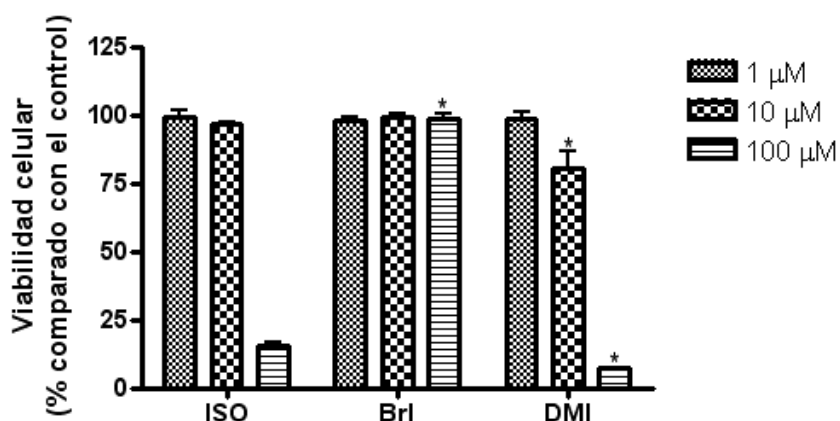


Figura 1. Efectos de Isoespintanol (ISO), bromuro de isoespintanol (BrI) e isoespintanol desmetilado (DMI) sobre la viabilidad celular de macrófagos RAW 264.7. Los valores representan porcentajes de células vivas comparadas con el grupo control tratado con el vehículo (0,5% DMSO). Los datos representan la media y la desviación estándar de tres diferentes experimentos. El símbolo * indica que hay diferencia significativa a la misma concentración de ISO ($P < 0,05$).

La detección de células apoptóticas también se realizó mediante análisis de residuos de fosfatidilserina en la membrana externa por tinción con anexina V-FITC (Isotiocianato de fluoresceína). Los macrófagos fueron tratados con ISO y sus derivados en concentraciones 10 μ M, la proporción de células apoptóticas y necróticas fue significativamente mayor para los macrófagos tratados con DMI (An+ / PI-: $8,1 \pm 0,7$ % frente al control $4,6 \pm 0,4$ %, $P < 0,05$) mostrando una distribución típica del proceso apoptótico y (An+ / PI+: $12,6 \pm 0,4$ % frente a $2,1 \pm 0,5$ % de control, $P < 0,05$), comportamiento típico necrótico. El ISO y BrI no mostraron diferencias con respecto al grupo control. (Figura 2).

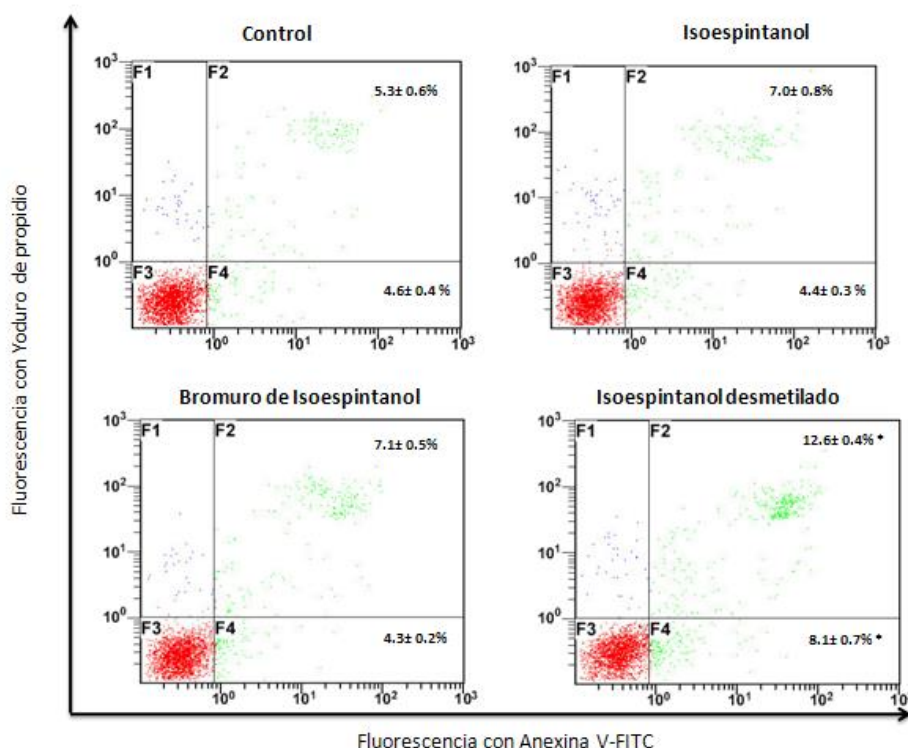


Figura 2. Promoción de apoptosis de isoepintanol y derivados mediante la doble tinción con anexina V (An) y yoduro de propidio (IP) en macrófagos RAW 264.7. Se muestran gráficos de puntos representativos de la tinción celular. El cuadrante izquierdo-inferior (F3) representa la población viva (doble negativo, An^-/IP^-). El cuadrante derecho-inferior (F4) representa la población de células apoptóticas (An^+/PI^-). Finalmente, las células del cuadrante derecho-superior (F2) corresponden a la población de células necróticas (An^+/PI^+). Los compuestos fueron ensayados a 10 μ M. Los resultados se expresaron como porcentaje de población. Los valores se representan como media $\pm$ S.D de tres experimentos independientes. El símbolo * indica diferencia estadísticamente significativa respecto al grupo control ($P < 0,05$).

También, la citometría de flujo fue utilizada para evaluar la citotoxicidad. Se utilizó el método de exclusión de yoduro de propidio para evaluar la actividad necrótica y el proceso apoptótico midiendo el desarrollo de corpúsculos hipodiploides con yoduro de propidio (datos no mostrados)

La hipótesis formulada en este trabajo (Hallett y col., 2008) ha sido verificada, por lo expuesto, los datos aportados concluyen que el Brl no afecta la viabilidad de los macrófagos y posee la capacidad de inducir apoptosis en PMN humanos (Dade y col., 2016). Si bien debe considerarse las limitaciones propias de los modelos experimentales utilizados, este hecho convierte potencialmente al Brl en un fármaco que podría intervenir en la etapa de la resolución del proceso inflamatorio mejorando la apoptosis de las células PMN sin afectar la función de los macrófagos.

- ✓ Hallett J., Leitch A., Riley N., Duffin R., Rossi A. (2008). Novel pharmacological for driving inflammatory cell apoptosis and enhancing the resolution of inflammation. *Trends in Pharmacological Sciences* 29, 250-259.
- ✓ Rojano B, Pérez E, Figadère B, Martin MT, Recio MC, Giner R, Ríos JL, Schinella G, Sáez J. Constituents of *Oxandra cf. xylopioides* with anti-inflammatory activity. *J Nat Prod.* 2007; 70(5):835-8.
- ✓ Dade M, Galeano García P, Ríos JL, Rojano B, Schinella G. Apoptotic activity of isoepintanol derivatives in human polymorphonuclear cells. *Vitae.* 2016; 23(1):11-17.

Mi participación en este estudio es la de codirección de la tesis de Maestría interviniendo en la planificación, coordinación de trabajo y análisis de resultados de la parte correspondiente al estudio de citotoxicidad de isoespintanol y derivados hemisintéticos.

8.3.2. Compuestos dihidropiridinicos

Este trabajo se llevó a cabo en el marco de cooperación con el Prof. Dr. Nouredine El Aouad de la Université Ibn Zohr (Agadir, Morocco), quien sintetizó 20 compuestos dihidropiridinicos. La citotoxicidad in vitro de estos compuestos se realizó en el Departament de Farmacologia de la Universitat de Valencia con macrófagos murinos RAW 264.7. La viabilidad se determinó mediante el ensayo de MTT y la detección de células apoptóticas por tinción con anexina V-FITC cuantificándose en un microscopio confocal. Los resultados aún están en evaluación.

8.4. Actividad antioxidante de extractos de *Gomphrena perennis* L

Este trabajo es parte de la tesis de la Maestría en Platas Medicinales (Facultad de Ciencias Exactas, UNLP) de la Lic. Milena Bonilla.

Objetivo: determinar la actividad antioxidante total y contenido de fenoles totales de extractos de *Gomphrena perennis*

Metodología:

Material vegetal: Se prepararon por extracción secuencia de partes aéreas de *G. perennis* extractos diclorometano, acetato de etilo y metanólico.

Determinación de actividad antioxidante: se evaluó la actividad atrapadora del radical 2,2'-azino-bis(3-etilbenztiazolin-6-sulfonato) de amonio (ABTS^{•+}) y el poder reductor, expresado como contenido en fenoles totales utilizando el reactivo de Folin-Ciocalteu.

Resultados:

El extracto metanólico de *G. perennis* mostro mayor actividad atrapadora del radical ABTS^{•+} y reductora de reactivo de Folin en comparación con los extractos de DCM y AE, estos últimos no mostraron diferencias entre si. (Tabla1)

Tabla 1. Contenido de fenoles totales y actividad antioxidante total los extractos diclorometano, acetato de etilo y metanólico de *G. perennis*

	Fenoles totales*	ABTS ^{•+}
Diclorometano	12	50
Acetato de etilo	15	53
Metanólico	24	134

*Los resultados son expresados en µg EQ de ácido cafeico / g extracto

En la actualidad, mediante cromatografía en capa fina utilizando como revelador al radical libre difenilpicrilhidrazilo (DPPH[•]) se intenta encontrar correspondencia con referencias de compuestos de actividad antioxidante reconocida, tales como flavonoles, cafeoil derivados y ácido hidroxicinámicos.

Mi participación en este estudio es la capacitación de la estudiante de Maestría de Plantas Medicinales en el manejo de metodologías para la determinación de la actividad antioxidante de productos naturales en mi calidad de Profesor de mencionado curso de posgrado.

8.5. Inflamación: efecto antiinflamatorio de productos naturales sobre células polimorfosnucleares estimulados con mutantes amiloidogénicos de apo AI

Este trabajo forma parte del proyecto “Mecanismos moleculares que determinan la patogenicidad de mutantes naturales de la apolipoproteína A-I humana implicados en amiloidosis” (PICT-2016-0849, Investigador responsable: Dra. María Alejandra Tricerri) en el que participo como investigador de Grupo Responsable en el área de estudio sobre inflamación y productos naturales.

Durante este periodo se desarrollaron protocolos de trabajo y se realizaron ensayos para validar los métodos.

9. OTRAS ACTIVIDADES

9.1. PUBLICACIONES, COMUNICACIONES, ETC.

1. Fantinelli, JC; Cuéllar Álvarez, LN; González Arbeláez, LF; Ciocci Pardo, A; Galeano García, PL; **Schinella, GR**; Mosca, SM. Acute treatment with copoazú fermented extract ameliorates myocardial ischemia-reperfusion injury via eNOS activation. *J Funct Foods*, 2017; 34:470-477. [Original Paper].
2. Ríos JL, **Schinella GR**, Francini F. Drogas vegetales para el tratamiento de la diabetes (II): ensayos Clínicos. *Revista de Fitoterapia* 2016; 16 (2): 101-121. [Review].
3. Ríos JL, Francini F, **Schinella GR**. Productos naturales para el tratamiento de la diabetes (I): Mecanismos de acción. *Revista de Fitoterapia* 2016; 16 (1): 17-31. [Review].
4. Becerra R, Román B, Di Carlo M, Mariangelo J, Salas M, Sánchez G, Donoso P, **Schinella G**, Vittone L, Wehrens X, Mundiña-Weilenmann C, Said M. Reversible redox modifications of ryanodine receptor ameliorate ventricular arrhythmias in the ischemic-reperfused heart. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*;311(3):H713-24. doi: 10.1152/ajpheart.00142.2016. [Original Paper].
5. Villagarcía HG, Sabugo V, Castro MC, **Schinella G**, Castrogiovanni D, Spinedi E, Massa ML, Francini F. Chronic glucocorticoid-rich milieu and liver dysfunction. *Int J Endocrinol*. 2016;2016:7838290. doi: 10.1155/2016/7838290. [Original Paper].

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

1. **Curso de perfeccionamiento:** Especialización en Docencia Universitaria. Universidad Nacional de La Plata: en este periodo estoy desarrollando el Trabajo Final Integrador, bajo la dirección de Dr. Gustavo Marín y Profesora Mónica Paso.
2. **Viaje de estudio:** Departament de Farmacologia. Facultat de Farmacia. Universitat de Valencia. España. 11 febrero – 24 mayo de 2017. Financiado por el subsidio de viajes de la UNLP y la Universitat de Valencia (España).

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

1. Rosú, SA; Gaddi, GA; Ramella, N; Finarelli, G; Gisonno, R; **Schinella, GR**; Prieto, ED; Tricerri, MA. “Mecanismos moleculares que determinan el rol pro amiloidogénico de la apolipoproteína A-I”. I Jornadas conjuntas de educación médica, extensión e investigación. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de La Plata. La Plata, 27 y 28 de octubre de 2016.
2. Villagarcía, H; González Arbeláez, LF; Castro, MC; Ríos, JL; Massa, ML; **Schinella, G**; Francini, F. “Efecto preventivo de un extracto de cacao enriquecido en polifenoles sobre ratas con alteraciones endocrino metabólicas inducidas por sacarosa”. I Jornadas

conjuntas de educación médica, extensión e investigación. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de La Plata. La Plata, 27 y 28 de octubre de 2016.

3. **Schinella, G.** (Ponente invitado). "Natural antioxidants and cancer: myths and realities". X Congreso Latinoamericano de Mutagénesis, Carcinogénesis y Teratogénesis Ambiental, organizado por la Asociación Latinoamericana de Mutagénesis, Carcinogénesis y Teratogénesis. Montevideo, Uruguay. 13 al 16 de octubre 2016.
4. **Schinella, G.** (Ponente invitado). "Actualización de conocimientos sobre yerba mate". 9º Congreso de Fitoterapia de la Sociedad Española de Fitoterapia. Menorca, España. 18-21 de mayo de 2017. Libro de resúmenes (ISBN: 978-84-697-2698-3).

10. TAREAS DOCENTES DESARROLLADAS EN EL PERIODO.

10.1. Curso de pregrado:

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

10.2. Curso de posgrado:

Asignatura: "Bioensayos de plantas medicinales". Módulo: "Actividad antioxidante de productos naturales". Maestría en Plantas Medicinales. Departamento de Ciencias Biológicas. Facultad de Ciencias Exactas. UNLP. Setiembre 2016.

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

11.1. Formación de recursos humanos

11.1.1. Co-dirección de investigadores: Luisa Arbeláez González. Investigadora asistente 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. (2016- continua).

11.1.2. Dirección de becarios: Marcela Casas. Beca de Iniciación a la Investigación. Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires. Argentina. Título del proyecto: "Utilización de modelo murino para el cotejo de su capacidad de respuesta inmunológica frente a profilaxis antibiótica aislada versus sinergia con Lacferrina en biopelículas". (2016 – continúa)

11.1.3. Dirección de tesis: Tatiana Carolina Gavilánez Buñay. Tesis de Maestría en Plantas Medicinales. Departamento de Ciencias Biológicas. Facultad de Ciencias Exactas. Universidad Nacional de La Plata. Argentina. Título de trabajo de Tesis: "Estudio farmacológico del isoespintanol, metabolito secundario aislado de hojas de *Oxandra cf. xylopioides*". Calificación: Sobresaliente (10). Noviembre de 2016.

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

1. **Trabajos Científicos:** *Planta Medica, Frontiers in Pharmacology, Vitae*.
2. **Becas:** Beca tipo A y B. Universidad Nacional de La Plata. Convocatoria 2016.
3. **Subsidios:** Subsidios de viajes. Universidad nacional de La Plata. Convocatoria 2016.

RESUMENES DE CONGRESOS

1. Rosú, SA; Gaddi, GA; Ramella, N; Finarelli, G; Gisonno, R; **Schinella, GR**; Prieto, ED; Tricerri, MA. "Mecanismos moleculares que determinan el rol pro amiloidogénico de la apolipoproteína A-I". I Jornadas conjuntas de educación médica, extensión e investigación. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de La Plata. La Plata, 27 y 28 de octubre de 2016.

MECANISMOS MOLECULARES QUE DETERMINAN EL ROL PRO AMILOIDOGÉNICO DE LA APOLIPOPROTEÍNA A-I

Autores: Rosú, S.A.^a; Gaddi, G.A.^a; Ramella, N.A.^a; Finarelli, G.S.^a; Gisonno, R.^a; Schinella, G.R.^b; Prieto, E.D.^d; Tricerri, M.A.^{a,c}.

^aInstituto de Investigaciones Bioquímicas de La Plata (INIBIOLP). ^bCátedras de Farmacología Básica y ^cBioquímica Clínica I, Fac. Cs. Médicas, ^dInstituto de Investigaciones Fisicoquímicas Teóricas y Aplicadas (INIFTA). La Plata. CP 1900

e-mail de contacto: alettricerri@yahoo.com

Introducción: Las amiloidosis son patologías crónicas, en las que proteínas mal plegadas inducen citotoxicidad de distinta severidad y en distintos órganos. La amiloidosis inducida por mutantes naturales de la apolipoproteína A-I humana (apoA-I) se presenta con diversas manifestaciones clínicas dependiendo de la variante proteica que se encuentra involucrada¹. En estudios previos determinamos que la conformación proteica puede sufrir alteraciones estructurales inducidas por parámetros pro-inflamatorios del micro ambiente que favorecen un procesamiento patogénico^{2,3}.

Objetivos: En este trabajo examinamos el efecto de mutaciones puntuales sobre la estructura, estabilidad y tendencia a la agregación de estas proteínas, así como su habilidad para unirse a ligandos del microambiente y de desencadenar respuestas celulares.

Materiales y métodos: Las proteínas fueron incubadas en distintas condiciones (pH bajo, presencia de ligandos, enzimas proteolíticas, etc), y parámetros estructurales asociados al plegamiento proteico fueron analizados por fluorescencia, microscopia u otras técnicas biofísicas y bioquímicas. Respuestas celulares fueron estudiadas mediante ELISA.

Resultados: Nuestros resultados indican que todas las variantes analizadas en condiciones de pH fisiológico (Gly26Arg, Lys107-0, Arg173Pro y Leu60Arg) son menos estables que la Wt. Arg173Pro muestra mayor tendencia a la proteólisis parcial, y menor eficiencia para solubilizar fosfolípidos, lo cual podría determinar su mayor tendencia a rendir conformaciones de la proteína libre que sean más susceptibles a agregarse y/o perder función. Pero además esta mutante se une más eficientemente a heparina, lo que podría explicar una mayor retención en un micro ambiente inflamatorio. Lys107-0 muestra mayor tendencia a agregarse que Gly26Arg, aunque, de manera interesante Gly26Arg y Arg173Pro (pero no Lys107-0) aumenta la activación de macrófagos, estimulando por tanto el ambiente inflamatorio local.

Conclusiones: Nuestros resultados sugieren que las variantes mutantes de apoA-I comparten mecanismos de patogenicidad con otras proteínas amiloidogénicas. Si bien la estabilidad estructural es probable que favorezca la agregación, es sugestivo que pequeños cambios conformacionales alteren su interacción con ligandos o susceptibilidad a proteólisis. Futuros estudios serán dirigidos para profundizar en los complejos mecanismos que determinan el delicado equilibrio en la relación estructura-función de esta proteína.

Referencias

- (1) Eriksson M, Schonland S, Yumlu S, et al. *J Mol Diagn* 2009; 11: 257–262. (2) Ramella NA, Rimoldi OJ, Prieto ED et al. *PLoS ONE* 2011; 6(7): e22332. (3) Rosú, S.A. et al. [PLoS One](https://doi.org/10.1371/journal.plosone.0124946). 2015 May 7;10(5):e0124946. doi: 10.1371

Este trabajo fue subsidiado por UNLP (M158 y 187); CONICET (PIP 112 201101-00648)

2. Villagarcía, H; González Arbelaéz, LF; Castro, MC; Ríos, JL; Massa, ML; **Schinella, G**; Francini, F. "Efecto preventivo de un extracto de cacao enriquecido en polifenoles sobre ratas con alteraciones endocrino metabólicas inducidas por sacarosa". I Jornadas conjuntas de educación médica, extensión e investigación. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de La Plata. La Plata, 27 y 28 de octubre de 2016.

EFFECTO PREVENTIVO DE UN EXTRACTO DE CACAO ENRIQUECIDO EN POLIFENOLES SOBRE RATAS CON ALTERACIONES ENDOCRINO METABÓLICAS INDUCIDAS POR SACAROSA

Villagarcía, H¹; González Arbelaéz, L²; Castro, MC¹; Ríos JL³; Massa, ML¹; Schinella, G⁴; Francini, F¹.

¹CENEXA (UNLP-CONICET La Plata); ²CIC Centro de Investigaciones Cardiovasculares (UNLP-CONICET); ³Departament de Farmacologia, Universitat de Valencia (España); ⁴Cátedra de Farmacología Básica, Facultad de Ciencias Médicas (UNLP-CIC-PBA)

e-mail de contacto: f_francini@yahoo.com

Introducción: Existe una creciente evidencia de que el consumo de ciertos alimentos, suplementos alimenticios o bebidas tradicionales puede reducir el daño oxidativo en diferentes sistemas biológicos. Alimentos derivados del cacao, tales como polvos de cacao, chocolate y otros productos relacionado con el cacao son alimentos ricos en polifenoles derivados de las semillas fermentadas, tostados y procesados industrialmente de *Theobroma cacao* L. (Sterculiaceae). Estos productos, consumidos en todo el mundo, son estudiados en su mayor parte debido a su potencia antioxidante y las propiedades antirradicales in vitro de algunos constituyentes polifenólicos, principalmente, procianidinas y flavan-3-oles. Por otro lado, la administración de una dieta rica en sacarosa (DRS) a ratas normales genera disfunción metabólica hepática e insulinoresistencia (IR) con aumento de marcadores de estrés oxidativo y de inflamación, similares a los observados en el síndrome metabólico humano. Recientemente, demostramos que el tratamiento con compuestos antioxidantes (ácido lipoico y apocinina) redujo la insulinoresistencia, las alteraciones metabólicas y el daño oxidativo hepático en ratas sometidos a una dieta rica en fructosa.

Objetivos: en consecuencia, el objetivo del trabajo fue evaluar los efectos potenciales de un extracto enriquecido en polifenoles de cacao (EEPC), de reconocidas actividades antioxidante, cardioprotectora y antiinflamatoria para corregir las alteraciones endocrino-metabólicas producidas por una DRS.

Materiales y métodos: para ellos se emplearon ratas macho Wistar adultas alimentadas durante 21 días con dieta comercial estándar y agua corriente de bebida (control C) o con el agregado de sacarosa 10% en el agua, sola (S), tratados con EEPC (SC) (250 mg/kg, v.o. durante todos los días de tratamiento) o N-acetil-cisteína (NAC) (50 mg/kg, i.p., durante los últimos 5 días de tratamiento) (SN). Al tiempo del sacrificio se determinaron en sangre glucosa (método de glucosa oxidasa), insulina (RIA), triglicéridos (Kit enzimático) y GOT-GPT (enzimáticos). En hígado se determinaron a) marcadores de estrés oxidativo (GSH y carbonilos en proteínas); b) contenido de glucógeno, actividades de glucoquinasa y glucosa-6-fosfatasa y d) niveles proteicos de Akt y pAkt así como de eNOS y p-eNOS (mediante Western blot).

Resultados:

	C	S	SC	SN
Glucosa (mg/dl)	114 ± 2	120 ± 3	128 ± 6	111 ± 3
Insulina (ng/ml)	0.20 ± 0.01	0.30 ± 0.01*	0.15 ± 0.03#	0.20 ± 0.02#
TG (mg/dl)	101 ± 3	149 ± 12*	113 ± 2#	114 ± 6#
GOT (U/lt)	84 ± 7	78 ± 1	82 ± 5	27 ± 15#
GPT (U/lt)	10 ± 1	8 ± 1	7 ± 1	5 ± 1#
Actividad GK (U/mg prot)	5 ± 1	8 ± 0.05*	8 ± 1	11 ± 0.7#
Actividad G6Pase (lat%)	1.7 ± 0.3	2.7 ± 0.3*	4.8 ± 0.7#	5.5 ± 0.5#
Glucógeno (mg/mg tej)	1.97 ± 0.14	3.60 ± 0.60*	1.97 ± 0.12#	2.40 ± 0.15#

*p<0.05 vs. C; #p<0.05 vs. S.

El hígado de los animales S evidenció una disminución del nivel de GSH, valor que se elevó significativamente en los animales SC y SN (C: 25,2 ± 1.0; S: 12,9 ± 0,6*; SC: 36,0 ± 1,0# y SN: 36,0 ± 2,1# μmol/g). No se observaron cambios en los niveles de carbonilos en proteínas. Los niveles P-Akt (normalizados con Akt total) así como los de P-eNOS (normalizados con eNOS total) se redujeron significativamente en los animales DRS. La administración del EEPC, así como de NAC, previno los cambios mencionados.

Conclusiones: la administración de sacarosa durante 3 semanas a ratas normales indujo insulinoresistencia y dislipemia acompañada de alteraciones en el metabolismo de carbohidratos hepáticos, con estrés oxidativo. La co-administración de EEPC, así como NAC, previno parte de dichos cambios, efecto probablemente mediado a través de la vía de señalización Akt dependiente. La activación de P-eNOS podría explicar los efectos correctores de la insulinoresistencia observados en ambos tratamientos.

3. **Schinella, G.** (Ponente invitado). "Natural antioxidants and cancer: myths and realities". X Congreso Latinoamericano de Mutagénesis, Carcinogénesis y Teratogénesis Ambiental, organizado por la Asociación Latinoamericana de Mutagénesis, Carcinogénesis y Teratogénesis. Montevideo, Uruguay. 13 al 16 de octubre 2016.

LOS ANTIOXIDANTES NATURALES Y EL CANCER: MITOS Y REALIDADES

Guillermo Schinella

Cátedra de Farmacología Básica, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de La Plata. Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires.
Argentina

En los últimos años, los antioxidantes han irrumpido con gran fuerza en el ámbito alimentario y sanitario debido a una estrategia agresiva de comercialización. Consecuencia de ello es la asignación de "numerosas" virtudes fisiológicas y propiedades farmacológicas, hecho que ha dado lugar a un consumo incontrolado.

La oxidación es un proceso esencial de los organismos aeróbicos y por tanto fundamental para sus vidas. En un estado fisiológico normal, se generan las ROS/RNS en diferentes compartimentos celulares dependiendo del tipo celular y tejido. Cabe destacarse que las ROS/RNS intervienen en procesos biológicos vitales a través de la regulación de una variedad de procesos celulares, tales como proliferación, apoptosis, metabolismo y diferenciación.

El aumento significativo de ROS/RNS producido por desequilibrios entre los procesos de formación y el sistema de defensa antioxidante genera estrés oxidativo produciendo pérdida de integridad celular, función enzimática e inestabilidad genómica. Este daño oxidativo estaría involucrado en varias enfermedades degenerativas, tal como el cáncer.

Desde el punto de vista biológico, podemos considerar antioxidante a cualquier compuesto químico que actúe por alguno de los siguientes mecanismos: 1) Suprimiendo la formación de ROS/RNS por inhibición de los sistemas enzimáticos o no enzimáticos que las generan, 2) Atrapando las ROS/RNS y 3) Aumentando la actividad del sistema de defensa antioxidante.

En investigaciones preclínicas, mediante experimentos de laboratorio, se generan nuevas estrategias de intervención biomédica. Las preguntas y las respuestas obtenidas durante la investigación dependen de la estrategia metodológica que se está probando. Esta es una razón de porque la investigación en seres humanos es tan importante y el proceso de investigación preclínica puede resultar tan incierto.

Existe una gran cantidad de bibliografía referida a la eficacia de antioxidantes en la prevención y tratamiento del cáncer. Sin embargo, en la actualidad, existe un consenso respecto a que se necesitan estudios adicionales controlados aleatorizados grandes que proporcionen pruebas científicas claras de los beneficios o daños potenciales por consumir antioxidantes durante el tratamiento del cáncer. El objetivo de la presentación será reflexionar críticamente sobre la información científica referida al uso de antioxidantes en el tratamiento del cáncer.

4. **Schinella, G.** (Ponente invitado). “Actualización de conocimientos sobre yerba mate”. 9º Congreso de Fitoterapia de la Sociedad Española de Fitoterapia. Menorca, España. 18-21 de mayo de 2017. Libro de resúmenes (ISBN: 978-84-697-2698-3).

PL05 Actualización de conocimientos sobre Yerba mate

Guillermo Schinella

Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de La Plata, Argentina.

Ilex paraguariensis A.St.-Hil., conocida con los nombres de yerba mate, yerba de los jesuitas o yerba del Paraguay es una especie arbórea neotropical originaria de las cuencas del Alto Paraná, Alto Uruguay y algunos afluentes del Río Paraguay.

De las hojas y pequeñas ramas, secas y molidas de esta aquifoliácea se prepara el mate, una bebida psicoestimulante consumida principalmente en la región comprendida por Paraguay, Argentina, el sur de Brasil y Uruguay, pero últimamente ha sido introducida en la fitoterapia europea por sus excelentes propiedades, como psicoestimulante, antioxidante, diurético y tónico.

El interés de la yerba mate se puede observar por la evolución de las publicaciones científicas recientes. De las 344 publicaciones recogidas en el PubMed desde el año 1976 (24 de ellas revisiones), se puede observar un incremento de artículos en los últimos años, destacando 28 en 2015, 31 en 2016 y 12 hasta marzo de 2017. Los temas de estudio varían, aunque hay un predominio de los efectos metabólicos y cardiovasculares, relacionados principalmente con sus propiedades antioxidantes.

Independientemente de su acción estimulante sobre el sistema nervioso central debido a la cafeína, existe abundante literatura que confirma diferentes propiedades biológicas de *Ilex paraguariensis* utilizando diferentes modelos experimentales *in vitro* y animales. La evidencia apoya los efectos beneficiosos de *Ilex paraguariensis* en los trastornos de las lipoproteínas plasmáticas, obesidad, diabetes, sistema cardiovascular, inflamación y cáncer, entre otros, atribuidos a su contenido en compuestos fenólicos con una alta capacidad antioxidante.

Todos estos estudios ayudan al conocimiento del potencial mecanismo de acción del mate, así como los posibles principios activos, pero cabe preguntarse sobre su efecto en humanos. Durante los últimos años se han llevado a cabo diferentes ensayos clínicos con yerba mate para evaluar su efecto en diferentes situaciones patológicas como las citadas anteriormente.

En la presentación, haremos una revisión crítica de las propiedades de la yerba mate, centrándonos en los potenciales efectos antioxidantes con fines médicos.