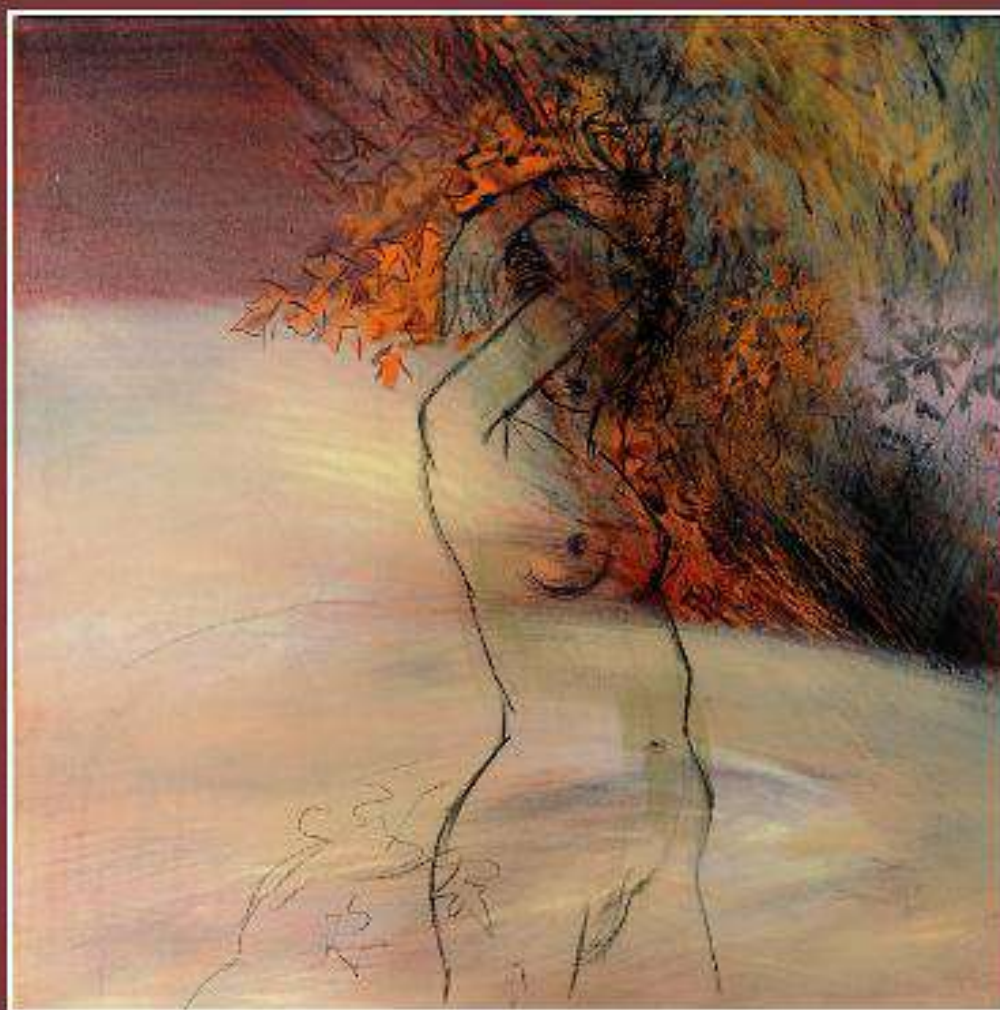


# *medicina*

BUENOS AIRES VOL. 70 SUPL. II - 2010

*70° Aniversario*



a las limitaciones y efectos colaterales de las drogas que se disponen actualmente para el tratamiento de obesidad, diabetes tipo2 y dislipidemias. El *Rosmarinus officinalis* L. (romero) sintetiza una gran cantidad de polifenoles antioxidantes, grupo ubicuo de metabolitos secundarios. En este trabajo investigamos el efecto de dichos compuestos sobre la diferenciación de preadipocitos 3T3-L1. Con tal fin, evaluamos la capacidad de los polifenoles de romero para inhibir la acumulación de triglicéridos por tinción con Oil Red O y su efecto sobre la viabilidad celular utilizando el reactivo de MTS. Tanto el extracto de romero como su principal polifenol, el ácido carnósico, inhibieron la diferenciación adipocítica a concentraciones que no afectaron la viabilidad celular luego de sólo 24 horas de tratamiento (30 µg/ml y 7,5 µg/ml respectivamente). Los eventos moleculares que tienen lugar durante el proceso de adipogénesis involucran factores de transcripción de expresión temprana (C/EBPβ) y tardía (PPARγ). C/EBPβ se presenta en dos formas: LAP (Liver Activating Protein) y LIP (Liver Inhibitory Protein), siendo la primera la mayoritaria. Cuando se induce la diferenciación de los preadipocitos 3T3-L1 en presencia de los polifenoles de romero, encontramos un aumento de la isoforma inhibitoria LIP en relación a las isoformas activadoras LAP de C/EBP β. De manera relevante, no observamos aumento en el nivel de expresión de PPARγ que ocurre cuando la diferenciación adipocítica tiene lugar. En síntesis, estos resultados demuestran que los polifenoles del romero ejercen su efecto antiadipogénico interfiriendo en la expresión de factores de transcripción cruciales en la adquisición del fenotipo adipocítico. De este modo, compuestos de romero resultarían beneficiosos en el tratamiento de la obesidad y enfermedades relacionadas.

**452. (491) EFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN CRÓNICA DE DEXAMETASONA SOBRE LA EXPRESIÓN GENÉTICA Y LAS ACTIVIDADES METABÓLICAS DE ENZIMAS DE FASE 1 EN EL HIGADO Y EN LA MUCOSA INTESTINAL DE OVINOS.**

Mate L.<sup>1</sup>; Virkel G.<sup>2</sup>; Ballent M.<sup>3</sup>; Lifschitz A.<sup>4</sup>; Sallovitz J.<sup>5</sup>; Iezzi S.<sup>6</sup>; Lanusse C.<sup>7</sup>

Lab. Farmacología; FCV; UNCPBA<sup>1 2 3 4 5 6 7</sup>  
mlmate@vet.unicen.edu.ar

La dexametasona (DEX) es un glucocorticoide con efectos antiinflamatorios e inmunosupresores, utilizado para estudiar diferentes mecanismos de expresión de genes que codifican enzimas involucradas en el metabolismo de xenobióticos. Por ejemplo, el tratamiento prolongado con DEX induce la expresión de CYP3A4 en humanos y modula la expresión de varias enzimas y sus respectivas actividades metabólicas en bovinos. El objetivo del presente trabajo fue estudiar el efecto de la administración crónica de DEX (7 días a razón de 3 mg/kg/día) sobre la actividad y la expresión genética de diferentes enzimas de fase 1 en el hígado y en la mucosa intestinal de ovinos. Se prepararon microsomas hepáticos y de la mucosa intestinal para cuantificar las actividades metabólicas CYP3A, CYP1A y flavin-monooxigenasa (FMO) utilizando sustratos específicos de cada una. El nivel de expresión de estas enzimas se determinó a través de la cuantificación de los ARN mensajeros (ARNm) específicos utilizando PCR en tiempo real. El tratamiento crónico con DEX incrementó ( $p < 0.01$ ) las actividades metabólicas CYP3A-dependientes (triacetiloleandomicina N-desmetilasa = 310% y eritromicina N-desmetilasa = 195%) a nivel hepático. No hubo un aumento significativo de la expresión hepática del ARNm de CYP3A. Se observó una disminución de las actividades CYP1A (70%,  $p < 0.001$ ) y FMO (28%,  $p < 0.05$ ) a nivel hepático, no relacionada con los niveles de expresión de los ARNm de ambas enzimas. La actividad metabólica CYP3A-dependiente (eritromicina N-desmetilasa) fue 37.5% mayor ( $p < 0.05$ ) en la mucosa intestinal de los animales tratados con DEX, aunque no se detectaron diferencias significativas en los niveles del ARNm específico de esta enzima. DEX modificó en diferente grado la actividad y la expresión de las enzimas de fase 1 estudiadas. El efecto de la exposición a diferentes xenobióticos sobre la capacidad metabólica hepática e intestinal en ruminantes continúa bajo estudio en nuestro laboratorio.

**TRANSDUCCION DE SEÑALES 4**

**453. (538) TRÁFICO DE NNOS A MITOCONDRIA EN EL ESTRÉS CELULAR POR DEPRIVACIÓN DE FACTORES TRÓFICOS**

Perez H.<sup>1</sup>; Alippe Y.<sup>2</sup>; Cecilia P.<sup>3</sup>; Carreras M.<sup>4</sup>; Poderoso J.<sup>5</sup>

Laboratorio de Metabolismo del Oxígeno, Hospital de Clínicas, Universidad de Buenos Aires<sup>1 2 3 4 5</sup>  
hernanperez82@gmail.com

La inhibición de la proliferación por privación de factores tróficos conduce al arresto o a la muerte celular. Considerando el rol de las mitocondrias en las vías de señalización en los procesos de proliferación y apoptosis, del NO en la modulación de citocromo oxidasa y la presencia de nNOS en mitocondrias (mtNOS), estudiamos la expresión de nNOS en relación al contenido matricial de NO en células NIH/3T3 durante la privación de factores tróficos. La hipótesis general es que la mtNOS, a través de la producción de NO y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, modula vías de señalización que culminan en el arresto celular y la diferenciación. El objetivo es demostrar la correlación entre la actividad de mtNOS y el arresto del ciclo celular vía Sirt3. Para ello, las células fueron privadas de suero durante 0-72h. Desde las 24 h se observó un fuerte arresto y niveles mínimos de apoptosis ( $\leq 5\%$ ;  $p < 0,05$ ), detectados por citometría de flujo y conteo celular. El arresto en G1 fue parcialmente revertido (50%) con L-NAME 2 mM. Luego de 24 h de privación, la expresión de nNOS a nivel de mRNA y proteína comenzó a incrementarse (RT-PCR: 4 veces el control a 24 h; WB: 10 veces el control a 48 h). A las 48-72h, el incremento de nNOS fue seguido de su translocación a mitocondria, demostrado por su relativa disminución en citosol e incremento proporcional en las organelas. La citometría de flujo en células enteras y mitocondrias aisladas con DAF-FM demostró elevados niveles de NO (+50% a 48 hs), confirmado por microscopía confocal y asociado a disminución del consumo de oxígeno por inhibición de COX (-50% a 48 hs) y significativa liberación mitocondrial de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Finalmente, la expresión de Sirt3 se incrementó con la privación, alcanzando un pico a las 24-48 h. Los resultados sugieren que el incremento transcripcional de la nNOS y su translocación a mitocondria con producción de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> inicia vías de señalización a través de Sirt3 que conducen al arresto de células NIH/3T3 durante la privación de suero.

**454. (545) MECANISMO MOLECULAR DE INTERNALIZACION CRUZADA ENTRE LOS RECEPTORES H1 Y H2 DE HISTAMINA**

Alonso N.<sup>1</sup>; Notcovich C.<sup>2</sup>; Fernandez N.<sup>3</sup>; Davio C.<sup>4</sup>; Shayo C.<sup>5</sup>

Instituto de Biología y Medicina Experimental<sup>1 2 5</sup>; Cátedra de Química Medicinal, FFyB-UBA<sup>3 4</sup>  
nati\_alonso05@hotmail.com

Los receptores a histamina pertenecen a la familia de receptores acoplados a proteína G (GPCRs). El receptor H1 (rH1) modula la producción de IPs, mientras que el receptor H2 (rH2) regula los niveles de AMPc. Estudios previos de nuestro laboratorio indican que dichos receptores poseen la capacidad de cointernalizar ante el estímulo con ligandos agonistas como parte de la regulación cruzada que existe entre ellos. Dado que en otros sistemas ha sido descripto que la internalización del rH1 es dependiente de caveolina, mientras que la del rH2 es dependiente de clatrina, el objetivo de este trabajo es evaluar el mecanismo de cointernalización de los rH1 y rH2 en células CHO transfectadas con ambos receptores (CHOH1-H2). Al evaluar mediante ensayos de unión el número de sitios receptores de membrana luego de 1 h de tratamiento con los agonistas específicos (2, 3-trifluorometilfenilhistamina para el rH1 y amthamina para el rH2), observamos que en este sistema la internalización del rH1 estimulada por el agonista H1 es bloqueada en un 100% por filipin (inhibidor de la endocitosis mediada por caveolina). Sorprendentemente este inhibidor también bloqueo en un 95% la internalización del