

# El extracto liposoluble de *Nicotiana glauca* induce la muerte celular por apoptosis en las células de Rbdomiosarcoma humano

PULIDO A<sup>1,2</sup>, FRATTINI N<sup>1,2</sup>, BLANCO, NICOLÁS<sup>1,2</sup>, VASCONSUELO A<sup>1,2</sup>, PRONSATO, L<sup>1,2</sup>, MILANESI L<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional del Sur (UNS), Bahía Blanca, Argentina. <sup>2</sup>Instituto de Ciencias Biológicas y Biomédicas del Sur (INBIOSUR), Universidad Nacional del Sur (UNS)-CONICET, Bahía Blanca, Argentina.

El Rbdomiosarcoma (RMS) es un tumor maligno de los tejidos blandos, frecuente en niños y adolescentes. Se origina en el músculo esquelético normal, a partir de células miogénicas, es una disrupción en la regulación del crecimiento y diferenciación de estas. Este tipo de cáncer suele tener un mal pronóstico, especialmente post metástasis, enfatizando la necesidad de nuevos tratamientos. En nuestro laboratorio se ha observado que el extracto liposoluble de una planta cosmopolita de la familia Solanaceae, *Nicotiana glauca* (*N. g.*), induce apoptosis en la línea celular de mioblastos murinos C2C12. Este descubrimiento sugiere un potencial antitumoral de este y de utilidad para el tratamiento de trastornos hiperproliferativos. Teniendo en cuenta que el origen del RMS es una falla durante la diferenciación embrionaria de las células precursoras miogénicas, se evaluó el potencial antiproliferativo del extracto en la línea tumoral de rbdomiosarcoma RD. Las células RD, fueron pre-incubadas por 20 minutos en medio DMEM sin suero fetal bovino y se las trató con el extracto liposoluble y el subextracto hexánico a una concentración de 1:1000, respetando el porcentaje final del vehículo (isopropanol 0,0001%), durante 1 a 2 horas. Mediante tinción con *MitoTracker red* (marcador mitocondrial) y DAPI (marcador nuclear) evaluamos la morfología celular después de los tratamientos. Con el ensayo de la herida se evaluó si los tratamientos afectaban las capacidades de viabilidad, crecimiento y división

celular. Mediante *Western blot*, se analizaron los niveles de expresión y localización subcelular de las proteínas  $\beta$ -catenina, Notch 1, Caspasa 3 y 14-3-3. Los resultados obtenidos por western blot se cuantificaron con el programa ImageJ y fueron expresados como los % diferenciales con respecto a los controles. La morfología, la migración y viabilidad fueron analizados con el programa *NIS-Elements Basic Research Ver 2.35*. Observamos núcleos intactos/normales en los controles mientras que en las células tratadas se observaron alteraciones morfológicas típicas de la apoptosis con 66% de células apoptóticas respecto al control. El ensayo de la herida mostró que los tratamientos afectaron significativamente la capacidad de división y probablemente migración celular, ya que disminuyó un 85% y 98% con el extracto liposoluble y subextracto hexánico, respectivamente, respecto al control. Al evaluar la localización subcelular basal de la proteína  $\beta$ -catenina, se observó que en las células C2C12 la localización es citoplasmática y próxima a la membrana, en contraposición con la localización nuclear observada en las células RD. Luego del tratamiento, la inducción a apoptosis en RD provoca un cambio de localización subcelular. Respecto a Notch 1 los tratamientos redujeron su clivaje y la translocación nuclear en las células RD. Podemos concluir que el extracto liposoluble de la planta *N. g.* induce apoptosis en la línea RD afectando la proliferación y migración de éstas.