

El extracto liposoluble de *Nicotiana glauca* induce la fosforilación de Akt y Hsp27 en la línea celular de Rbdomiosarcoma embrionario

FRATTINI N^{1,2}, PULIDO ALCIBETH^{1,2}, BLANCO N^{1,2}, PRONSATO L^{1,2}, MILANESI L^{1,2}, VASCONSUELO A^{1,2}

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

El Rbdomiosarcoma es un tumor maligno, común en niños y adolescentes. Surge a partir de alteraciones en la regulación del crecimiento y diferenciación de las células precursoras de la miogénesis y se caracteriza por su resistencia a la apoptosis, por lo que las terapias oncológicas son poco efectivas. Investigaciones previas nuestro laboratorio demostraron un efecto apoptótico del extracto liposoluble obtenido de la especie vegetal *Nicotiana glauca* (*N.g*) sobre las células de la línea celular de rbdomiosarcoma embrionario RD. *N.g.* es una planta arbustiva perteneciente a la familia de las Solanáceas. Muchas especies de esta familia han demostrado tener propiedades farmacológicas. El objetivo de este trabajo consistió en estudiar el mecanismo molecular subyacente al efecto apoptótico observado en las células RD, en respuesta al tratamiento con el extracto. Las células RD fueron tratadas con el extracto liposoluble de *N.g.* disuelto en medio DMEM (1:1000) sin suero fetal bovino. Los tiempos de exposición fueron de 1, 2 y 4 horas para los ensayos de Western Blot, y de 15 y 30 minutos para los estudios inmunocitoquímicos. Los resultados obtenidos fueron cuantificados utilizando programa ImageJ, expresando los resultados en porcentaje con respecto al control.

Se observó un aumento del 52%, 60% y 54% en la fosforilación de Akt, quinasa vinculada a varios procesos de supervivencia celular, en los tiempos de 1, 2 y 4 horas de tratamiento respectivamente. En concordancia, mediante inmunocitoquímica se observó una activación de esta en tiempos cortos de exposición, 15 y 30 minutos. Además, se identificó un aumento del 20% en la fosforilación, a la hora del tratamiento de uno de los posibles *targets* de Akt: FOXO 3a. Este es un factor de transcripción de genes proapoptóticos y se encuentra en un estado inactivo cuando es fosforilado por Akt. Asimismo, se observó 23%, 29% y 39% de aumento en la expresión y fosforilación de la chaperona Hsp27 durante su exposición al extracto de *N.g.* por 1, 2 y 4 horas respectivamente. Estos eventos se encuentran relacionados con la estabilidad del citoesqueleto frente a situaciones de estrés celular. Los datos aquí presentados indican que en la línea celular RD se activa un mecanismo de defensa mediado por Akt, FOXO 3a y Hsp27, como primera respuesta a la acción apoptótica del extracto. Dichos resultados son de utilidad para el descubrimiento de *targets* moleculares a los cuales podrían ir dirigidos componentes obtenidos de *N.g.* para futuras terapias.