

2017 Octubre, 7(1): 1-1

## **EFECTO DEL ACEITE DE LA CÁSCARA DE MANDARINA SOBRE LA PROLIFERACIÓN DE CÉLULAS MONONUCLEARES RAW 264.7 Y SU DIFERENCIACIÓN A CÉLULAS ESPUMOSAS**

Castro MA <sup>1,3</sup>; Peterson G <sup>1,3</sup>; Rodenak Kladniew BE <sup>2,3</sup>; Polo MP <sup>2,3</sup>; García de Bravo MM <sup>2,3</sup>; Crespo R <sup>2,3</sup>.

Cátedra de Bioquímica y Biología Molecular. <sup>2</sup> Cátedra de Biología. <sup>3</sup> INIBIOLP "Prof. Dr. Rodolfo R. Brenner" (CONICET- CCT La Plata) Fac. de Ciencias Médicas UNLP. magustinacg@gmail.com

### **Introducción**

En Argentina las enfermedades cardiovasculares (ECV) constituyen la primera causa de mortalidad, siendo la aterosclerosis la ECV de mayor impacto ya que ocasiona el 70% de los decesos por dichas patologías. La aterosclerosis es una enfermedad inflamatoria, multifactorial y progresiva producida por el depósito de moléculas lipídicas en las paredes de las arterias. Niveles elevados de colesterol plasmático y consecuentemente de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) que lo transportan, promueven la infiltración de estas últimas en la pared vascular así como el reclutamiento y activación de monocitos a macrófagos, marcando el inicio de la lesión aterosclerótica. En el espacio subendotelial, entorno con mayores niveles de especies reactivas del oxígeno (ROS) que los plasmáticos, las LDL sufren procesos de oxidación formándose LDL oxidadas (LDLox) e incrementan su aterogenicidad. Los macrófagos internalizan las LDL y LDLox y se diferencian a células espumosas que promueven el avance de la lesión aterosclerótica.

Un desequilibrio funcional de alguno/s de los mecanismos regulatorios de los niveles de colesterol o bien una dieta elevada en lípidos produce hipercolesterolemia y un incremento del riesgo aterogénico. Ya se ha demostrado el gran potencial que poseen los aceites de frutos cítricos y sus componentes mayoritarios, los monoterpenos, como hipocolesterolemiantes y antioxidantes. Por lo tanto, la ingesta de estos compuestos naturales lograría un descenso de los niveles de colesterol y ROS plasmáticos y/o tisulares y reduciría ciertos factores de riesgo de ECV.

### **Objetivos**

- Evaluar el efecto del aceite de cáscara de mandarina (ACM) y su componente mayoritario el limoneno (Li), sobre la proliferación de la línea tumoral de macrófagos murinos (Raw 264.7) y la diferenciación a células espumosas, estrechamente involucradas en la progresión del proceso aterogénico.
- Puesta a punto del diseño experimental de obtención y oxidación de LDL plasmáticas, así como de la determinación de tiempos de incubación y concentraciones del ACM y Li a utilizar.

### **Materiales y métodos**

Obtención de LDL plasmáticas utilizando técnicas cromatográficas y de ultracentrifugación, oxidación de LDL con CuSO<sub>4</sub> y verificación del estado de oxidación mediante el ensayo de TBARS (peroxidación lipídica).

Diferenciación de macrófagos a células espumosas mediante la incubación con LDLox (50 - 100 µg/ml) durante 8-24 hs. Evaluación del contenido lipídico de las células espumosas utilizando tinciones con Oil Red O. La proliferación y viabilidad celular en distintas condiciones experimentales (diferentes tiempos de tratamiento, de concentraciones del ACM y Li, de incubación con LDLox y de agregado de SFB) se evaluarán mediante el ensayo de MTT.

### **Resultados**

A partir de plasma humano se obtuvieron LDL purificadas con valores proteicos de 0.9 µg/µl, cuyos lípidos fueron oxidados hasta alcanzar un valor de 114 picomoles TBARS/µg proteína, y demostraron inducir la diferenciación de los macrófagos a células espumosas a partir de las 8 hs de incubación con una concentración de LDLox de 50 µg/ml.

Concentraciones de ACM de 0.05 ±0.02 µl/ml demostraron inhibir la proliferación de células Raw 264.7 entre 10-70% dependiendo de las condiciones experimentales. Las células pre-tratadas con el ACM mostraron los niveles más altos de inhibición, siendo aún mayores en los casos que fueron incubadas sin SFB. Las células que fueron pre-incubadas con LDLox y luego tratadas con el ACM o bien co-incubadas con ambos tratamientos, mostraron los menores porcentajes de inhibición de proliferación o de viabilidad celular. Los valores obtenidos para el ACM y para el Li fueron similares pero no idénticos.

### **Conclusiones**

Tanto el ACM como su componente mayoritario, inducen inhibición de la proliferación de los macrófagos tumorales murinos. Sin embargo, en las células incubadas con LDLox, no se evidencia inhibición de la diferenciación a células espumosas, ni efectos citotóxicos sobre las células ya diferenciadas. Es necesario abordar futuros ensayos que puedan determinar el rol de estos compuestos en las células espumosas.