

Título del proyecto: “Caracterización bioquímica de la fosfolipasa A2 del veneno de *B. ammodytoides*”

Integrantes: Cartujano Barrera Brenda
Guadarrama Rivera Lizzeth
Mendoza Jiménez Melanie Yazmín
Mondragón Guillermo

Prof. Responsable: Lic. en IBB Alma Irma Ayala López

Introducción

Venenos de serpiente:

El veneno de las serpientes es un líquido viscoso de color amarillento o transparente. Se trata, básicamente, de un tipo de saliva químicamente muy compleja con gran variedad de actividades enzimáticas y farmacológicas, y se considera como una de las secreciones orales más complejas de los vertebrados. Además de inmovilizar a las presas, su actividad da inicio al proceso digestivo de los tejidos de la víctima antes de llegar al estómago.

Los venenos son una mezcla compleja de sustancias, en su mayoría proteínas. Son producidos por una especializada glándula sero-mucosa e inoculados por aparatos especializados.

En las serpientes, el aparato encargado de la inyección del veneno comprende a los colmillos, perfectamente diseñados que permiten la inyección del veneno bajo presión hacia los tejidos.

Se ha observado que el entorno geográfico y la temporada del año crean diferencias regionales en la composición de las fracciones proteicas de los venenos. En varios estudios se muestra que han sido aisladas cerca de 30 diferentes enzimas en estos venenos. Las más frecuentes son las enzimas con actividades proteolíticas y fosfolipasas.

La toxicidad total de un veneno, es consecuencia de la acción farmacológica de sus diferentes componentes y de la respuesta del organismo envenenado. El veneno de las serpientes no tiene una composición constante a lo largo de su vida; hay múltiples factores que la modifican entre los que se encuentran la edad, longitud, peso y sexo de la serpiente lo que conduce a que haya variaciones en la cantidad y calidad de su veneno. Mientras más joven es el animal, su veneno tiene tendencia a ser más neurotóxico y hemorrágico, para la paralización rápida de la presa (principalmente reptiles) evitando una lucha intensa. En cambio, las serpientes adultas tienen venenos con mayor actividad proteolítica para promover una mayor eficiencia digestiva, dado a que su alimento principal son los roedores.

Como ya se mencionó previamente, las fosfolipasas son enzimas que forman parte de los venenos de los reptiles y a continuación se dará mayor información con respecto a sus posibles efectos.

Fosfolipasas:

Las fosfolipasas pueden actuar como neurotoxinas (crotoxina en veneno de cascabel suramericana y neurotoxinas de venenos de coral), las cuales son de gran toxicidad y como miotoxinas las cuales provocan destrucción de las membranas estructurales de los

tejidos de la presa, dañando marcadamente la piel y los músculos, así como órganos internos de la presa. Las neurotoxinas (el tóxico del sistema nervioso) interfieren los mecanismos de transmisión nerviosa, a nivel post sináptico (placa neuromotora) y/o a nivel presináptico, causando parálisis muscular lo cual puede llevar a una falla respiratoria severa.

Las fosfolipasas rompen la membrana celular, por lo que en el envenenamiento por mordedura de serpiente, la destrucción de tejidos está dado por ésta enzima y, de ahí, su importancia.

Justificación:

Los venenos de vipéridos presentan una gran cantidad de isoformas de fosfolipasa A2 con diversas actividades farmacológicas. El veneno de la especie *Bothrops ammodytoides* es uno de los menos estudiados entre los miembros de la familia; sin embargo resulta interesante su estudio dado que al habitar en climas extremos su enzima pudiera tener características interesantes de estudiar. La caracterización de estas proteínas puede ayudar en el mejor entendimiento de la fisiopatología del envenenamiento, así como en el estudio de la diversidad y evolución de este grupo de toxinas.

Bothrops ammodytoides:



Nombres vulgares: “yarárá ñata”

Ubicación: sólo se encuentra en Argentina, a lo largo de las laderas de los Andes, provincias de Buenos Aires, Catamarca, Córdoba, Chubut, La Pampa, La Rioja, Mendoza, Neuquén, Río Negro, San Juan, San Luis, Santa cruz y Tucumán. Ésta especie es la que está distribuida más al sur de las serpientes. La distribución vertical es desde el nivel del mar hasta al menos 2,000 m.

Descripción: de pequeño tamaño, entre los 40-75 cm. de largo, pero capaz de alcanzar 1m. Con un diámetro de 1 a 2 cm, es la representante más pequeña de su género. Tiene un temperamento irritable y puede ser capaz de causar la muerte.

Primeros síntomas

Acción local intensa que progresa: dolor, edema, cianosis. Trastornos de coagulación, luego pueden sobrevenir hemorragias.

Tratamiento:

Realizar tratamiento coadyuvante con corticoides y antihistamínicos. Inocular por vía endovenosa (preferentemente) o intramuscular antiveneno (suero antiofídico) específico.

Planteamiento del problema:

¿Es posible purificar y caracterizar por métodos cromatográficos la fosfolipasa A2 del veneno de *B. ammodytoides*?

¿Qué actividad tiene la fosfolipasa A2 en el veneno de *B. ammodytoides*?

Objetivo general:

Purificar y caracterizar por métodos cromatográficos la fracción con actividad de fosfolipasa A2 del veneno de *B. ammodytoides*.

Objetivos particulares:

- Purificar homogéneamente la fosfolipasa A2.
- Identificar cualitativamente y cuantitativamente la actividad de la fosfolipasa.

Hipótesis:

El veneno de *B. ammodytoides* presentará varias fracciones con diferentes actividades fosfolípídicas que pueden ser separadas a homogeneidad por diversos sistemas cromatográficos.

Metodología:

1. cromatografía por filtración en gel
2. electroforesis SDS-PAGE
3. actividad de la enzima
4. secuencia de la fosfolipasa

Avances:

Hasta la fecha, se ha hecho la filtración en gel, en la cual obtuvimos seis fracciones de veneno, diferentes entre si por distinto tamaño molecular. Con estas fracciones hicimos la electroforesis obteniendo, en la tercera fracción la fosfolipasa, identificándola por su peso molecular y las bandas formadas al terminar la electroforesis. Comprobamos también que la fosfolipasa A2 está en la fracción 3 con el procedimiento de la actividad de una enzima. Los resultados y las conclusiones están en proceso.

Bibliografía:

- http://www.imacmexico.org/ev_es.php?ID=18297_208&ID2=DO_TOPIC
- <http://www.serpientesdevenezuela.net/veneno/venenotxt.html>
- <http://www.textoscientificos.com/quimica/electroforesis>
- <http://www.ub.es/biocel/wbc/tecnicas/page.htm>
- http://www.prof.uniandes.edu.co/~infquimi/ANALISIS/aplica_espectrofotometria/aespectrofoto.htm
- http://en.wikipedia.org/wiki/Bothrops_ammodytoides
- CHIPAUX, J.P. Goyffon, M. Review article. Pergamon: *Venoms, antivenoms and immunotherapy*. Great Britain. 1997.
- ROMERO, Aida. *Cromatografía, Curso de Métodos*. Insituto de Biotecnología, UNAM. 2002.