



XXVI Comunicaciones Científicas y Tecnológicas

Orden Poster: CE-032 (ID: 2091)

Autor: Galarza, Laura

Título: Efecto inhibitorio sobre la adhesión de células tumorales de una fosfolipasa A2 (PLA2) aislada del veneno de *Bothrops alternatus*

Director: Bustillo, Soledad

Palabras clave: veneno, fosfolipasa A2, adhesión celular, antitumoral

Área de Beca: Cs. Naturales Y Exactas

Tipo Beca: Evc - Cin

Periodo: 01/08/2020 al 01/08/2021

Lugar de trabajo: Facultad De Cs. Exactas Y Naturales Y Agrimensura

Proyecto: (17F009) Potencial efecto antitumoral de Fosfolipasas A2 (PLA2s) de venenos ofídicos del Nordeste Argentino.

Resumen:

El cáncer es una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en el mundo. La diseminación de células cancerosas desde el tumor primario (metástasis) es la principal causa de mortalidad en estos pacientes. Las células metastásicas pasan por cuatro procesos esenciales: desprendimiento, migración, invasión y adhesión celular.

En el nordeste argentino, *Bothrops alternatus* (yará grande) es una de las especies de serpientes más distribuidas. Entre los componentes principales de su veneno se encuentran las fosfolipasas A2 (PLA2). Previamente se ha logrado aislar y caracterizar una PLA2 ácida de este veneno que demostró no ser citotóxica in vivo o in vitro. El hecho de que esta toxina ácida aislada del veneno de yará grande no sea citotóxica per se y la potencial unión con integrinas $\alpha v \beta 3$, demostrada por estudios teóricos in silico, hicieron de esta toxina un blanco interesante para evaluar su potencial efecto inhibitorio sobre la adhesión de células tumorales de la línea LM3. Para ello en primer lugar se aisló una PLA2 ácida del veneno de *Bothrops alternatus* (30mg) mediante dos etapas cromatográficas, una cromatografía de intercambio iónico (DEAE) y una segunda cromatografía de exclusión molecular (Sephadex G-75). Ensayos de actividad proteolítica, actividad hemolítica indirecta y SDS-PAGE se realizaron para control de su pureza. Una vez obtenida la enzima, se evaluó su citotoxicidad (3h - 95, 190 y 380 $\mu\text{g/mL}$) sobre las células de la línea tumoral LM3 en DMEM-5% SFB a 37°C-5% CO₂. Para el ensayo de inhibición de la adhesión, las células fueron pre-incubadas por 30 min a 37°C con las concentraciones no-citotóxicas de la PLA2 o en medio de cultivo (control) y sembradas en placas de 96 wells. Luego de 1.5h, las células no adheridas fueron removidas con un lavado suave con buffer fosfato. Las células adheridas fueron fijadas y coloreadas con el colorante cristal violeta. El porcentaje de adhesión fue determinado por comparación de las absorbancias leídas (620nm) con las del promedio de los controles, considerado como 100% de adhesión.

Los resultados mostraron que, en primer lugar se logró aislar una PLA2 ácida del veneno de *B. alternatus* de aproximadamente 28 KDa. A los tiempos y concentraciones ensayadas no evidenció ser citotóxica sobre las células de la línea LM3. Utilizando estas concentraciones no citotóxicas, demostró inhibir la adhesión celular de forma dosis dependiente. La disminución en la adhesión se observó a partir de concentraciones superiores a 190 $\mu\text{g/mL}$, inhibiendo en aproximadamente un 40% este proceso celular con la máxima dosis ensayada (380 $\mu\text{g/mL}$).

En conclusión, la fosfolipasa A2 (PLA2) ácida aislada del veneno de *Bothrops alternatus* (yará grande) inhibe la adhesión de células tumorales in vitro de manera dosis dependiente. Si bien es necesario realizar más estudios, estos hallazgos sugieren el uso potencial de esta toxina como prototipo de droga con efecto antitumoral.