

# “Efecto Inhibitorio de una Fosfolipasa A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>) Aislada del Veneno de *Bothrops alternatus* sobre la Adhesión de Células Tumoriales”

Área del Conocimiento: Ciencias Naturales y Exactas

Becario/a: GALARZA, Laura Daniela

Director/a: BUSTILLO, Soledad

Facultad: Facultad de Ciencias Exactas, Naturales y Agrimensura

E-mail: laura.danigalarza@gmail.com

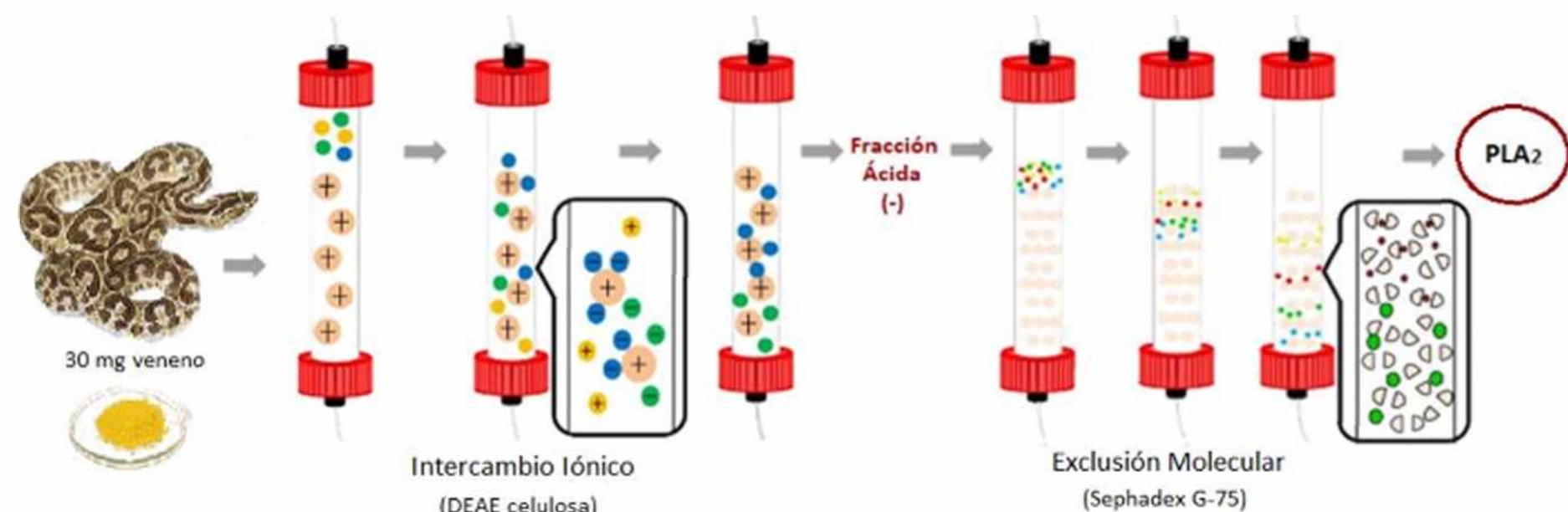
## Objetivo

El objetivo de este trabajo fue estudiar el potencial efecto inhibitorio sobre la adhesión celular de una fosfolipasa A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>) ácida aislada del veneno de *Bothrops alternatus* (yará grande), utilizando un modelo *in vitro* de células tumorales epiteliales mamarias murinas (línea celular LM3).

## Materiales y Métodos

### 1. Aislamiento de PLA<sub>2</sub> del veneno de *Bothrops alternatus*

Se realizó en dos etapas cromatográficas: Intercambio iónico (DEAE celulosa) y Exclusión molecular (Sephadex G-75).



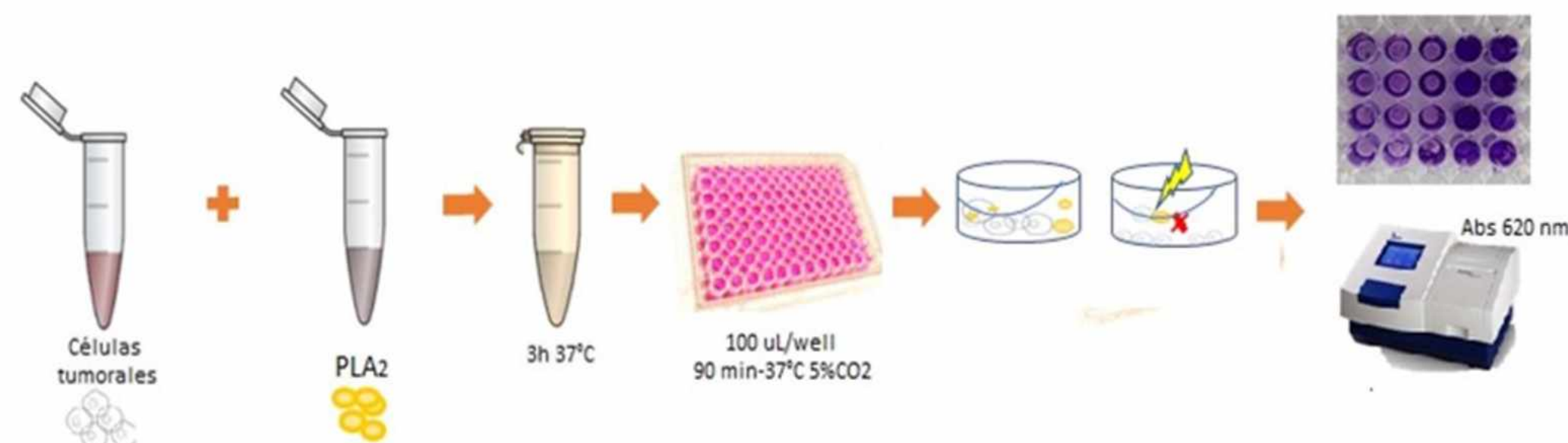
Control de pureza de la PLA<sub>2</sub>: SDS-PAGE, actividad hemolítica indirecta y ausencia de actividad proteolítica.

### 2. Ensayos de citotoxicidad

Se utilizó la línea celular tumoral LM3 (CVCL\_D269) cultivada en DMEM-5% SFB a 37°C y 5% de CO<sub>2</sub>. Las células se sembraron en placas de 96 wells (200µL/pocillo), con diferentes concentraciones de la enzima (95, 190 y 380 µg/mL); luego de 3h de incubación a 37°C y 5% de CO<sub>2</sub> en atmósfera húmeda, la viabilidad celular fue cuantificada por tinción con cristal violeta.

### 3. Adhesión celular

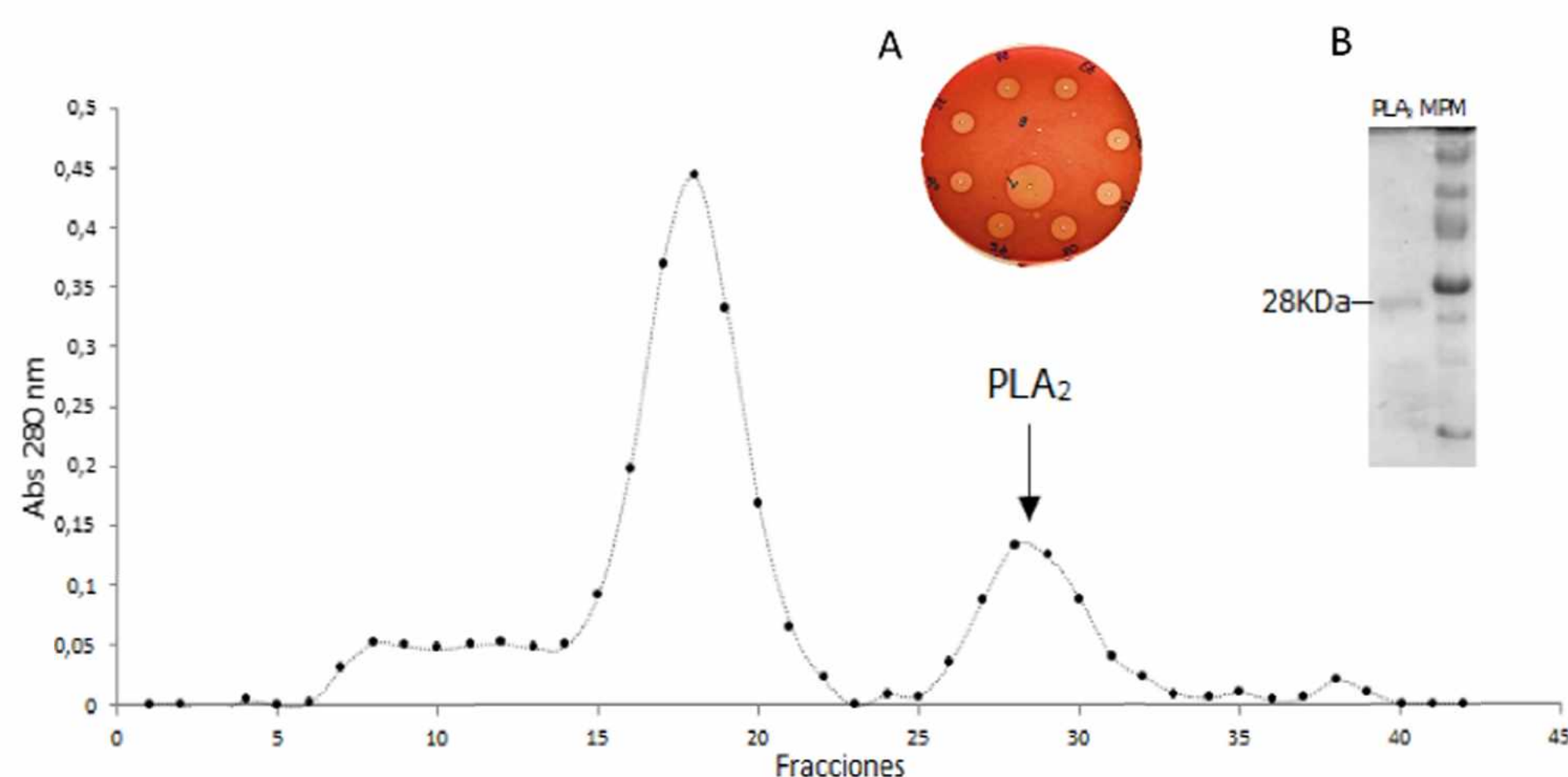
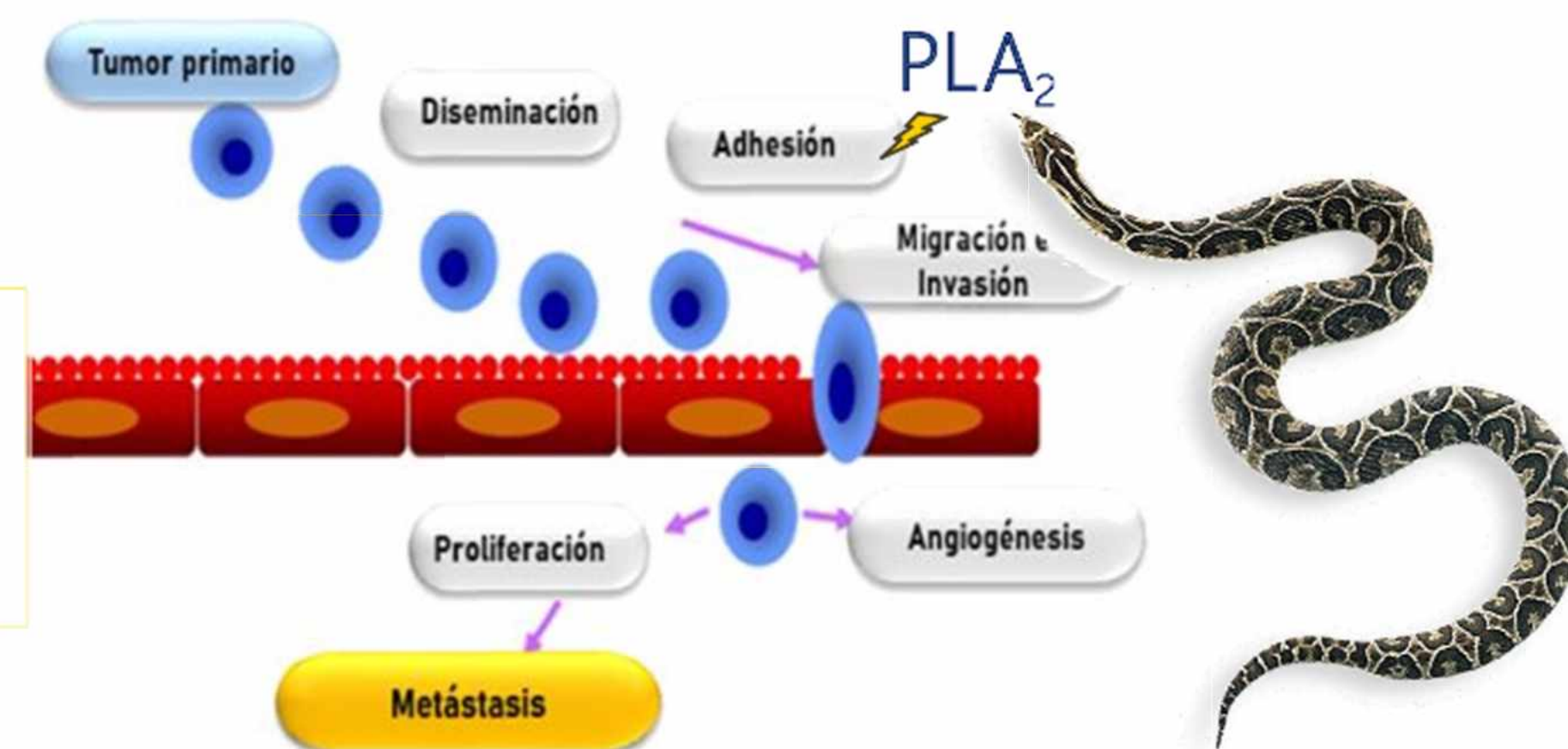
Se incubaron mezclas (1:1) de suspensión celular y diferentes concentraciones no citotóxicas de PLA<sub>2</sub> por 30 min a 37 °C. Luego se sembraron en placas de 96 wells (200µL/pocillo) y se incubaron 90 min a 37 °C y 5% de CO<sub>2</sub>. Se evaluó la adhesión utilizando cristal violeta. Se consideró como 100% de adherencia, los ensayos control (células incubadas solo con el medio de cultivo).



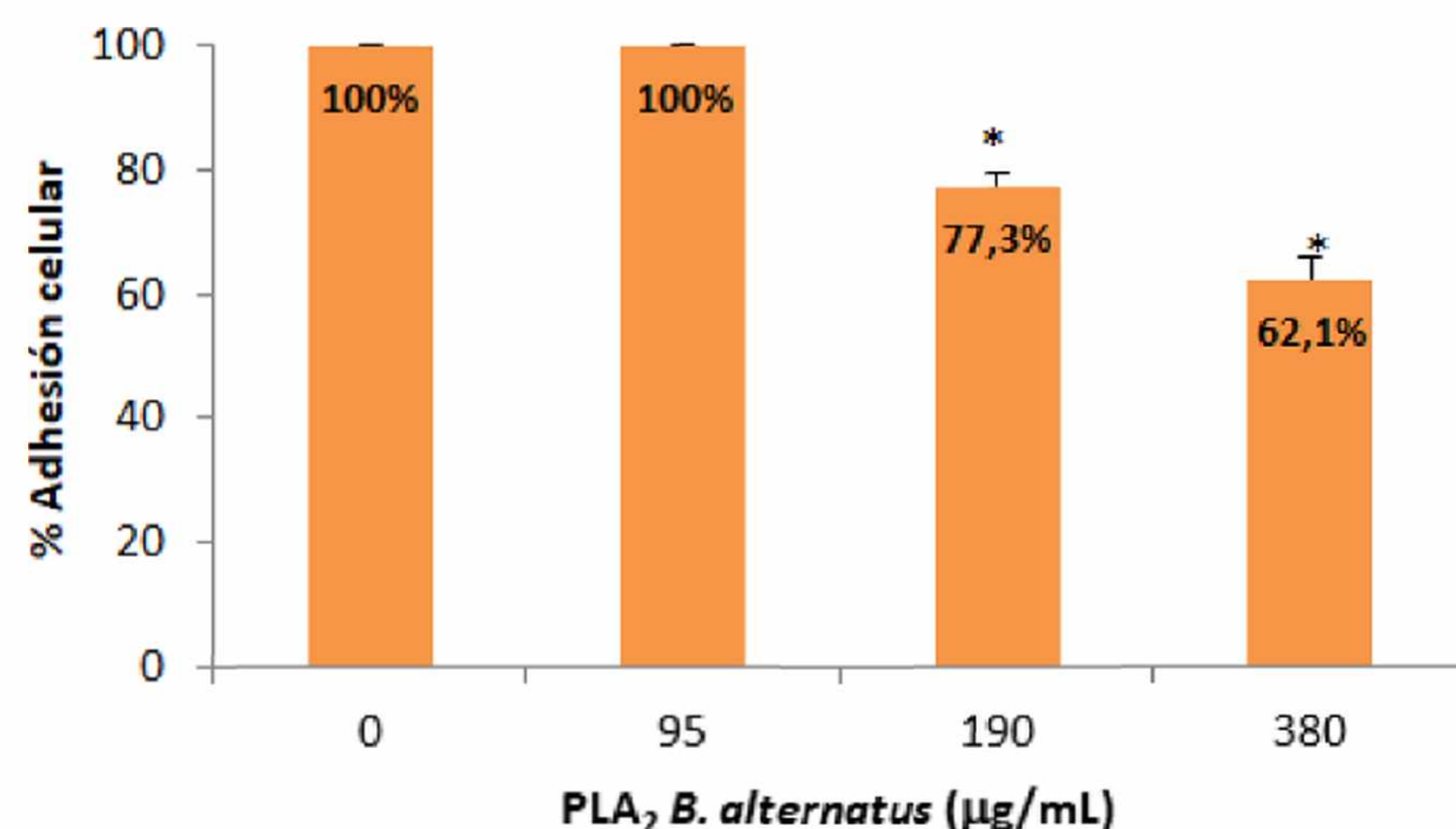
## Resultados y Discusión

Se logró aislar una PLA<sub>2</sub> ácida del veneno de *B. alternatus* de aproximadamente 28 KDa (Fig. 1). La enzima demostró no ser citotóxica sobre las células tumorales a las concentraciones y tiempos ensayados. Sin embargo, evidenció un efecto inhibitorio dosis dependiente sobre la adhesión de las células de la línea tumoral LM3. La disminución en la adhesión se observó a partir de concentraciones superiores a 190 µg/mL, inhibiendo en aproximadamente un 40% este proceso celular con la máxima dosis ensayada (Fig. 2).

Los resultados obtenidos permiten concluir que la fosfolipasa A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>) 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 PLA<sub>2</sub> como prototipo de droga con efecto antitumoral.



**Figura 1.** Cromatografía de exclusión molecular (Sephadex G-75) de la fracción ácida obtenida por intercambio iónico. Flecha: pico de PLA<sub>2</sub> escogido, posee actividad hemolítica (A) y no posee actividad proteolítica. B: SDS-PAGE: calle 1: PLA<sub>2</sub> (~28KDa) condiciones reductoras, calle 2: MPM.



**Figura 2.** Efecto inhibitorio de PLA<sub>2</sub> de *Bothrops alternatus* sobre la adhesión de células de la línea tumoral LM3. \*p<0.05 versus control.