

Patrones cromatográficos del veneno de ejemplares de *Bothrops ammodytoides* (“yarárá ñata”) de la provincia de La Pampa.

Chromatographic patterns of the venom from specimens of *Bothrops ammodytoides* (“yarárá ñata”) from the province of La Pampa.

María Bruni¹; Matías Fingeremann²; de Roodt Carolina²; Desio Marcela²; Lanari L²; de Roodt Adolfo^{2,3,4}.

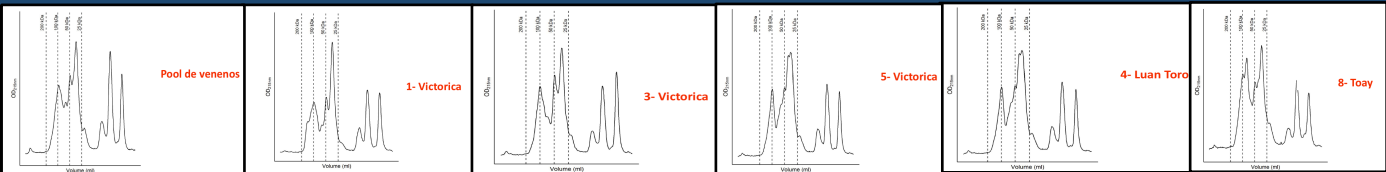
¹ Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Pampa, La Pampa, General Pico, Argentina; ² Área Inv. y Desarrollo – Venenós, INPB-ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán”, CABA, Argentina.; ³ Primera Cátedra de Toxicología, Facultad de Medicina, UBA, CABA, Argentina; ⁴ Laboratorio de Toxinopatología, Facultad de Medicina UBA, Uriburu 950, 5 Piso, CABA, Argentina. aderoodt@gmail.com



INTRODUCCIÓN: *Bothrops ammodytoides* (“yarárá ñata”) es la especie de víbora más austral del mundo. Su veneno posee alta toxicidad como el de todas las *Bothrops*. Dadas las variaciones individuales que pueden observarse en los venenos de serpientes, a fin de estudiar posibles diferencias bioquímicas en los venenos de ejemplares de de provincia de La Pampa, se realizó la cromatografía de exclusión en gel de venenos de ejemplare de distintas regiones de esa provincia.

METODOLOGÍA: Se realizó la cromatografía de exclusión del veneno de 8 ejemplares individuales de las localidades pampeanas de Victorica (A), Toay (B), Luan Toro (A), Ingeniero Foster (C) y del pool de las mimas. Se corrieron 100 µg de veneno a una concentración de 1 mg/ml en una columna para cromatografía líquida de alta performance (HPLC) BioSep S-2000 de 7,8 x 300 mm (Phenomenex Inc. Torrance, CA, USA), acoplada a un equipo ÄKTA Explorer 100 (GE Healthcare, Chicago, IL, USA). La columna fue equilibrada con solución salina de buffer de fosfatos pH 6,5 (NaCl 0,85% g/v y fosfato de sodio 15 mM). Se realizó la corrida isocrática con el mismo buffer a una tasa de flujo de 0,75 ml/min. La lectura del eluido fue realizada a un longitud de onda de 215 y 280 nm. Todos los cromatogramas fueron analizados usando el software UNICORN 5,11 (GE, Healthcare, Chicago, IL, USA). Se tomaron como referencia de masa molecular de las fracciones obtenidas, marcadores de masa molecular de 160, 80, 40 y 20 kDa corridas en la columna en esas condiciones.

RESULTADOS Y COMENTARIOS: En todos los casos se observaron picos entre los 80 y 160 kDa. Entre los 40 y 80 kDa, se observaron entre uno y tres picos menores, en coincidencia con bandas de aproximadamente 50 kDa que se observan en los SDS-PAGE. El pico mayor se encontró en todos los casos entre los 20 y 40 kDa, en coincidencia con los hallazgos electroforéticos previos que muestran las bandas más fuertemente teñidas entre los 30 y 40 kDa. Por bajo los 20 kDa en todos los casos se observaron tres picos, siendo los dos últimos los mayores de esa fracción. Esto concuerda con los hallazgos electroforéticos previos que muestra bandas fuertemente teñidas en el orden de los 15-20 kDa. Aún en las corridas de muestras de veneno de serpientes provenientes de la misma zona, se observaron diferencias en los patrones de elusión, poniendo de manifiesto variaciones individuales.



Los pesos moleculares de las fracciones, en concordancia a los patrones electroforéticos hallados, los que pueden ser relacionados con masas moleculares de metaloproteinasas de los grupos I, II y III (varían entre 20 y 50 kDa), de proteasas de serina (en general entre 20 y 35 kDa), fosfolipasas (alrededor de 15 kDa) y desintegrinas (cerca de 7-8 kDa). El veneno de estas serpientes muestra actividades tóxicas relacionadas con todos estos componentes (hemorragias, incoagulabilidad y destrucción tisular).

Los patrones cromatográficos si bien fueron muy similares en todos los casos, de acuerdo a lo observado en estudios toxicológicos y electroforéticos previos, si bien dejan ver algunas variaciones tanto respecto a la procedencia de las muestras como en los patrones individuales, de acuerdo a lo esperado para venenos de vipéridos..

