

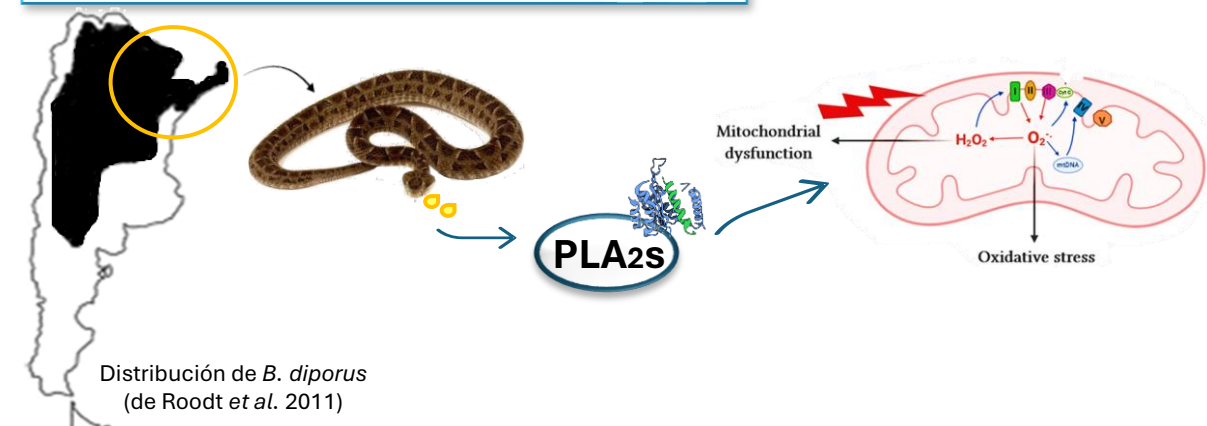
EFFECTO DE FOSFOLIPASAS A₂ AISLADAS DEL VENENO DE *BOTHROPS DIPORUS* EN LA PRODUCCIÓN DE ROS Y EL POTENCIAL DE MEMBRANA DE CÉLULAS TUMORALES

Asociación Toxicológica Argentina

Sasovsky Daniela; Bustillo Soledad; Urra Felix
danielasasovsky@exa.unne.edu.ar



INTRODUCCIÓN



OBJETIVO

Evaluar el potencial efecto de fosfolipasas A₂ aisladas del veneno de *Bothrops diporus* sobre los niveles de ROS mitocondrial y el potencial de membrana mitocondrial ($\Delta\psi_m$) en células de cáncer de mama triple negativo (MDAMB-231).

MATERIALES y MÉTODOS

A. Purificación de una fracción de isoformas de fosfolipasa A₂ del veneno de *B. diporus*

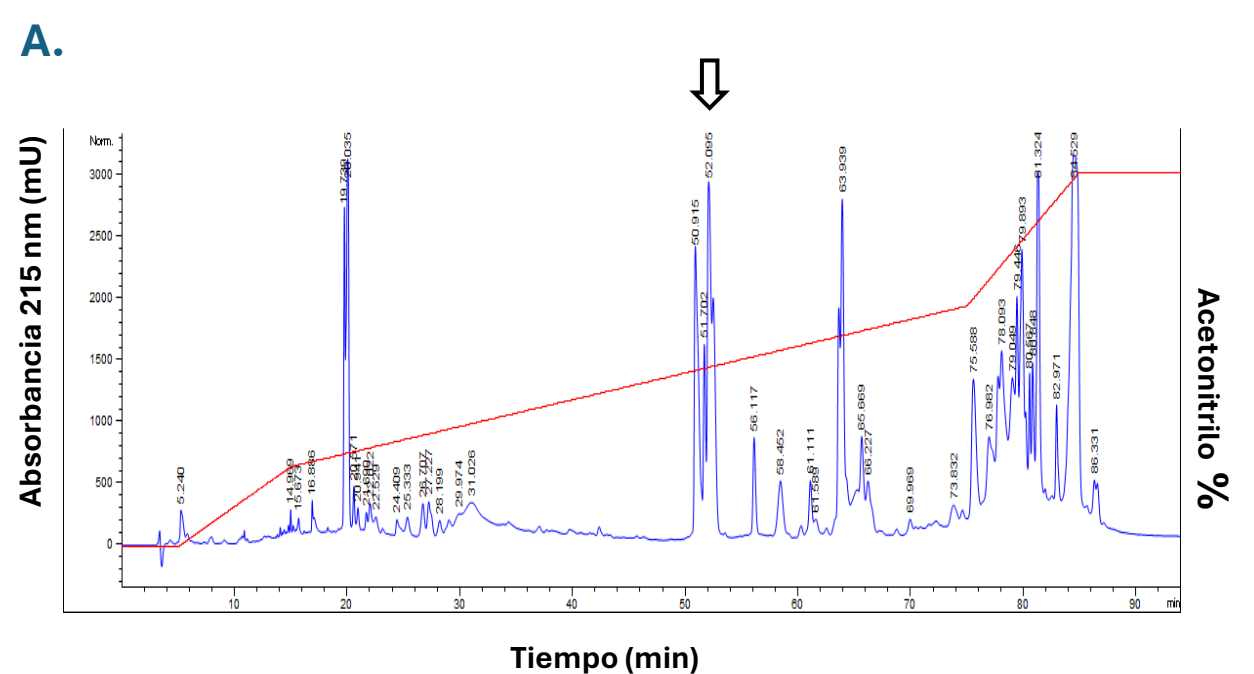
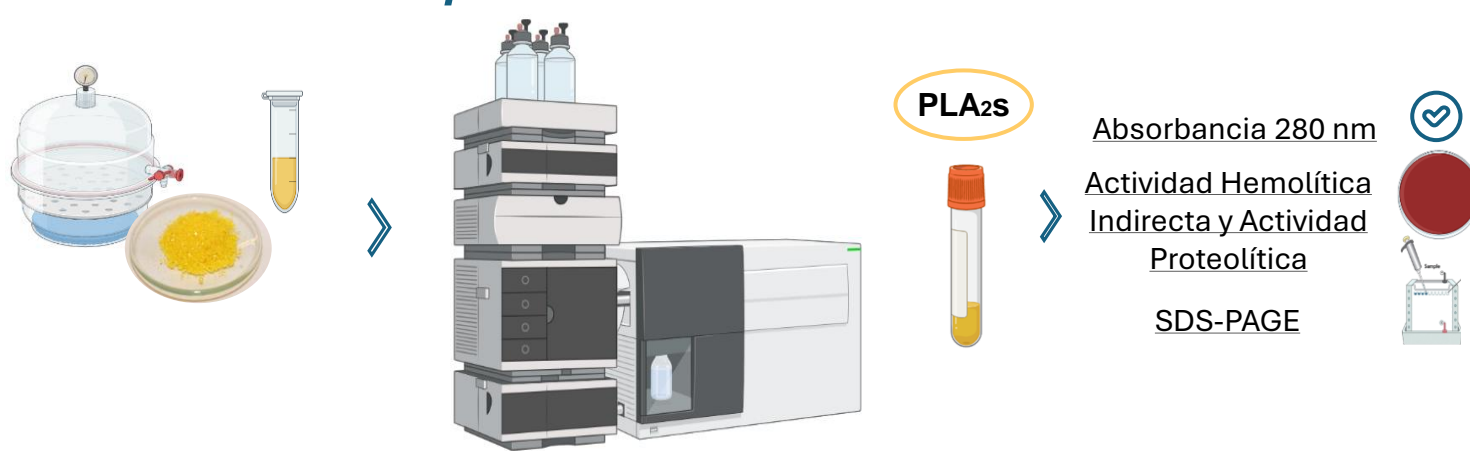


Figura 1. RP-HPLC del veneno de *B. diporus*. (La flecha indica la fracción de PLA₂s eluida a los 51-56 min).

B. Cuantificación de ROS mitocondrial

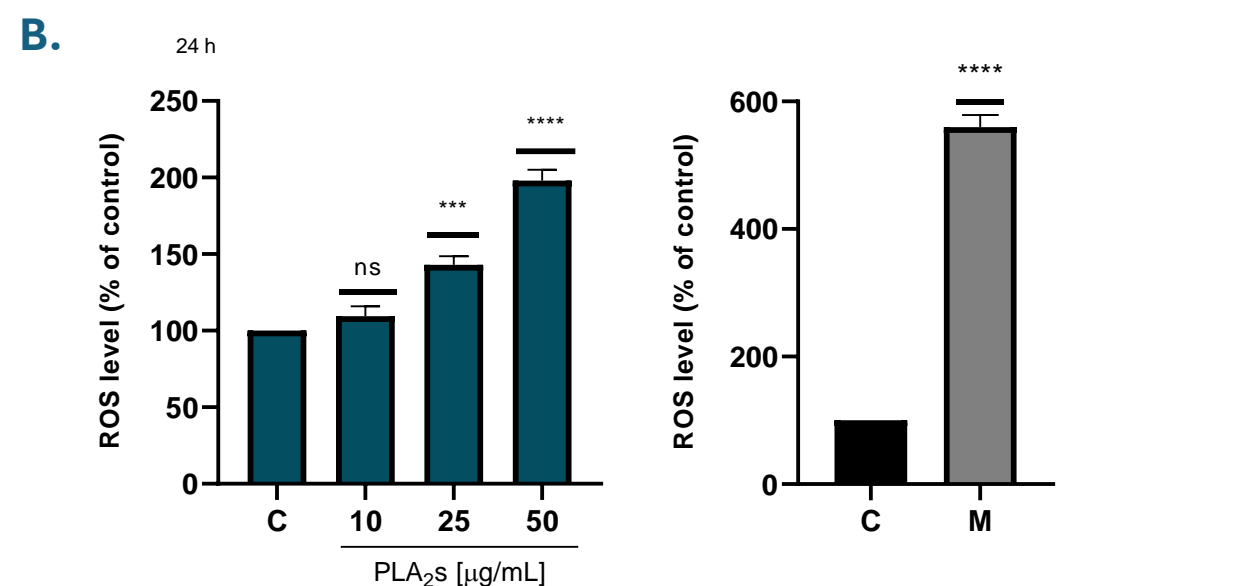
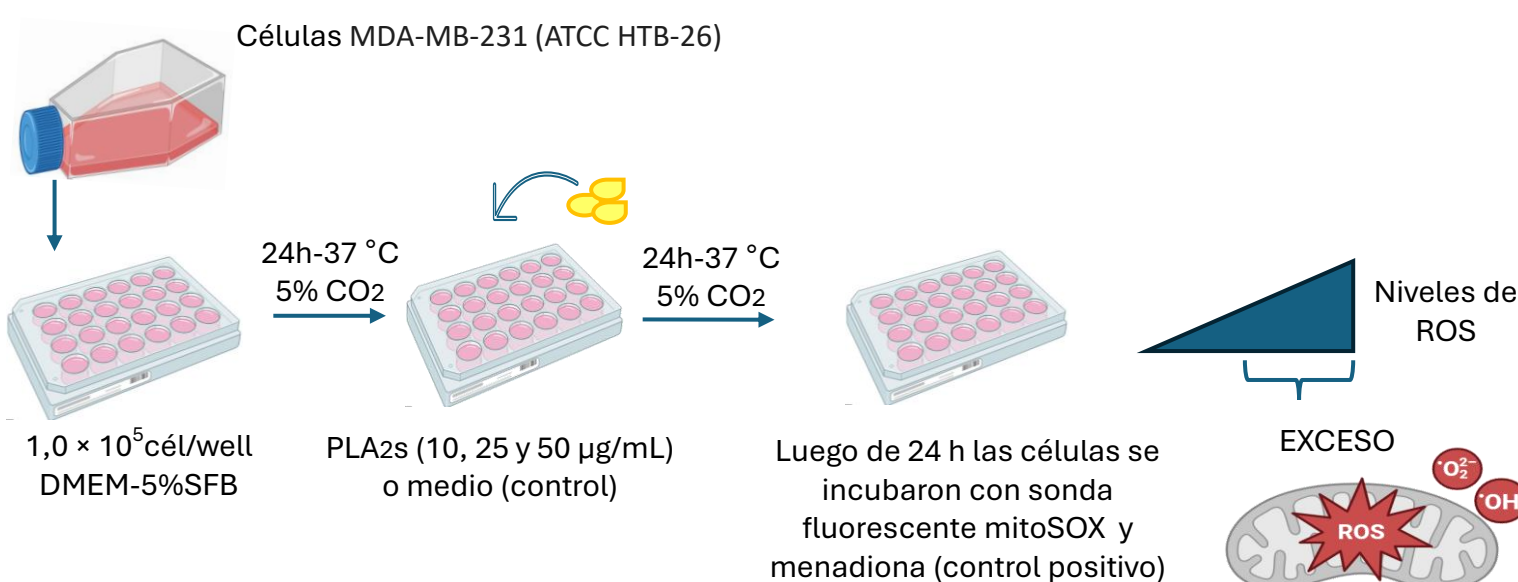


Figura 2. Efecto de PLA₂s (10, 25 y 50 µg/mL) y menadiona (5 µM) sobre los niveles de ROS en células de cáncer de mama MDA-MB-231 a 24 h de tratamiento.

C. Medición del Potencial de Membrana Mitocondrial

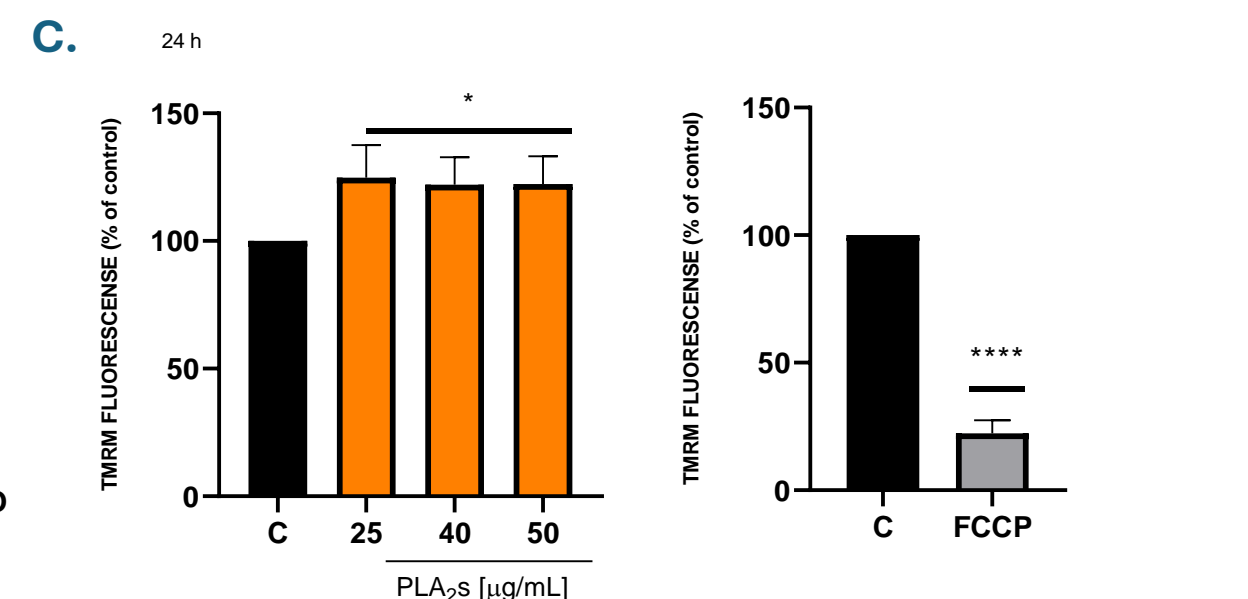
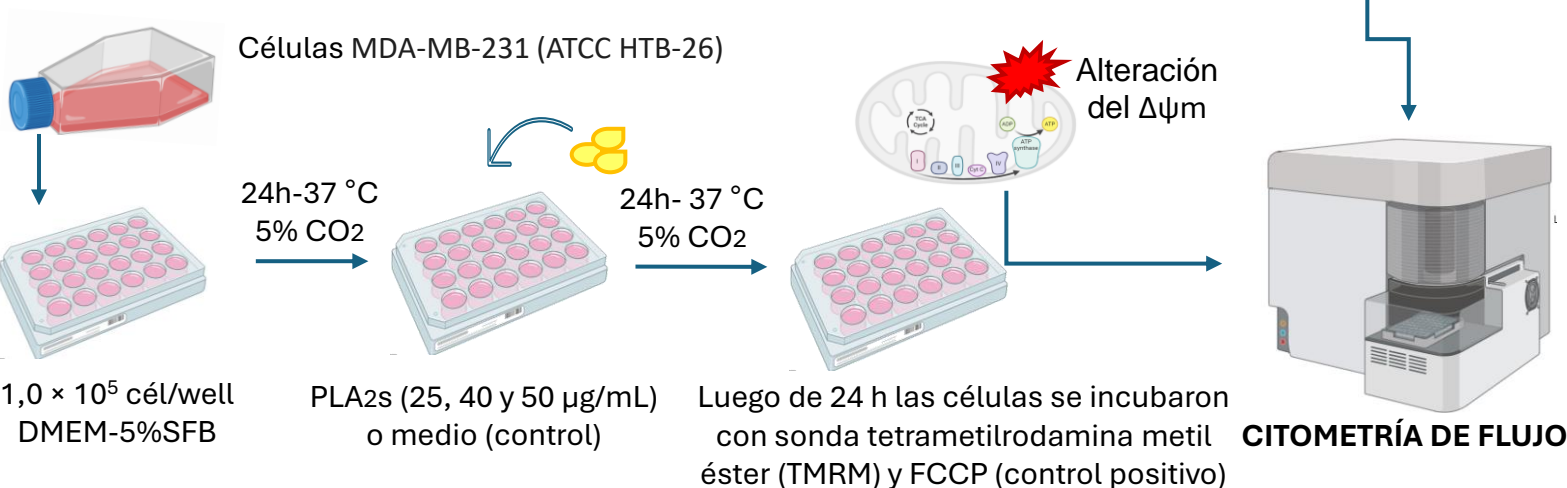


Figura 3. Efecto de PLA₂s (25, 40 y 50 µg/mL) y FCCP (1 µM) sobre el potencial de membrana mitocondrial en células de cáncer de mama MDA-MB-231 a 24 h de tratamiento.

RESULTADOS

El análisis mediante RP-HPLC del veneno de *B. diporus* reveló picos proteicos significativos en el intervalo de elución de 51 a 56 minutos (Fig. 1). Estas fracciones se recolectaron obteniéndose un pool de isoformas de PLA₂ que demostraron tener un peso molecular aproximado de 14 kDa (SDS-PAGE), actividad hemolítica indirecta y ausencia de actividad proteolítica. Se utilizó esta fracción de PLA₂s para evaluar los efectos sobre los niveles de ROS y los cambios en el potencial de membrana mitocondrial. Los resultados evidenciaron un efecto dosis dependiente de las PLA₂s con aumentos en los niveles de ROS de un aproximadamente un 45% y 100% a concentraciones de 25 y 50 µg/mL respectivamente con respecto al control (100%) (Fig. 2) y una hiperpolarización de la membrana en todas las concentraciones ensayadas con respecto al control (100%) (Fig. 3). La hiperpolarización mitocondrial podría representar una respuesta a cambios en la demanda de energía de las células luego de la exposición a las PLA₂s mejorando la producción mitocondrial de ROS.

CONCLUSIÓN

En este trabajo se demostró por primera vez el efecto de una fracción de PLA₂s aisladas del veneno de *Bothrops diporus* sobre los niveles de ROS y el potencial de membrana mitocondrial de una línea celular de cáncer de mama, sugiriendo una posible aplicación en terapias antitumorales. Estudios adicionales son necesarios para dilucidar los mecanismos de acción involucrados.