

Actividad de la fosfolipasa A₂ (PLA₂) del veneno de *Bothrops ammodytoides* de la provincia de La Pampa.

Bruni, M.¹; Pérez Mansilla, R.¹; Gómez, M.P.¹; Ruíz, C.¹; Lanari, L.²; Desio, M.²; de Roodt, A.² y Clazure M.^{1,3}

¹Facultad de Ciencias Veterinarias UNLPam, Gral Pico, La Pampa, Argentina.

²Área Investigación y Desarrollo-Venenos. INPB-ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán", Buenos Aires, Argentina.

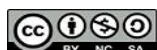
³Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina.

mbruni@vet.unlpam.edu.ar

RESUMEN

La composición del veneno de *Bothrops ammodytoides* (*B. amm*) es una mezcla compleja de componentes que en conjunto actúan sobre diferentes sistemas y tejidos. Entre estos se encuentran las fosfolipasas (PLA₂) que son las responsables de diferentes efectos tóxicos como miotoxicidad o alteración de funciones plaquetarias entre otras. Las PLA₂ constituyen una gran familia de proteínas globulares, con un peso molecular de alrededor de 14 kDa y en *B. amm* constituyen alrededor del 10% de las proteínas del veneno. De los venenos botrópicos estudiados, los de *B. amm* son los que presentan mayor actividad fosfolipásica, y se ha estudiado la presencia de PLA₂ ácidas (fosfolipasa A₂ aspartato -49 o D-49), que no son frecuentes de encontrar en otras *Bothrops* de Argentina. Las PLA₂ son capaces de hemolizar eritrocitos de modo indirecto ya que, en presencia de fosfolípidos producen lisofosfátidos que desestabilizan las membranas eritrocitarias, causando la hemólisis. Esta actividad se estudió mediante las técnicas de hemólisis indirecta radial con sangre equina e hidrólisis indirecta radial en medio sólido con yema de huevo. Para ambas técnicas se utilizaron muestras de veneno de 10 ejemplares de *B. amm* pampeanas y de un *pool* de veneno formado por partes iguales de las muestras individuales. La Dosis Hemolítica Indirecta Radial (DHI-R) y la dosis Hidrolítica Radial (DHR), se definieron como la dosis de veneno que produce un halo de hemólisis/hidrólisis de 2,0 cm de diámetro respectivamente. La DHI-R del *pool* dio como resultado 1,82 ± 0,04 µg y la DHR 1,3 ± 0,2 µg. Para comparar la actividad hemolítica e hidrolítica de las muestras individuales se utilizaron dosis únicas de 2 µg y 1,5 µg de cada veneno, respectivamente y se midieron los halos. En ambos ensayos, no se observaron diferencias significativas entre las muestras individuales, ni entre estas muestras y el *pool* de veneno (p > 0,05) indicando una actividad fosfolipásica similar en el veneno de los ejemplares estudiados.

Palabras clave: *Bothrops ammodytoides*, hemólisis, La Pampa, PLA₂, veneno.



Phospholipase A₂ (PLA₂) activity from the venom of *Bothrops ammodytoides* from the province of La Pampa

ABSTRACT

The composition of the venom of *Bothrops ammodytoides* (*B. amm*) is a complex mixture of components that together act on different systems and tissues. Among these components are phospholipases (PLA₂), which are responsible for different toxic effects such as myotoxicity or alteration of platelet functions, among others. PLA₂ constitute a large family of globular proteins, with a molecular weight of around 14 kDa and in *B. amm* they constitute around 10% of the venom proteins. Of the botropic poisons studied, those of *B. amm* are the ones that present the greatest phospholipase activity, and the presence of acidic PLA₂ (phospholipase A₂ aspartate - 49 or D-49) has been studied, which are not frequently found in other *Bothrops* of Argentina. PLA₂ are capable of hemolyzing erythrocytes indirectly since, in the presence of phospholipids, they produce lysophosphatides that destabilize erythrocyte membranes, causing hemolysis. This activity was studied using the techniques of indirect radial hemolysis with equine blood and indirect radial hydrolysis in solid medium with egg yolk. For both techniques, venom samples from 10 specimens of *B. amm* pampeanas and from a poison pool formed by equal parts of the individual samples were used. The Radial Indirect Hemolytic Dose (RHI-R) and the radial hydrolytic dose (HRD) were defined as the dose of venom that produces a hemolysis/hydrolysis halo of 2.0 cm in diameter, respectively. The DHI-R of the pool resulted in $1.82 \pm 0.04 \mu\text{g}$ and the DHR $1.3 \pm 0.2 \mu\text{g}$. To compare the hemolytic and hydrolytic activity of the individual samples, single doses of $2 \mu\text{g}$ and $1.5 \mu\text{g}$ of each venom, respectively, were used and the halos were measured. In both trials, no significant differences were observed between the individual samples, nor between these samples and the venom pool ($p > 0.05$), indicating a similar phospholipase activity in the venom of the specimens studied.

Keywords: *Bothrops ammodytoides*, hemolysis, La Pampa, PLA₂, poison.

