

PURIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE LOS COMPONENTES TOXICOS DEL VENENO DEL CIEMPIÉS *Scolopendra sp.*

Lidia González y María del Carmen Gutiérrez, Laboratorio de neurofarmacología, CEIB, UAEM.,
lidiag@cib.uaem.mx

Palabras clave: Scolopendra sp., venenos, toxinas.

Introducción. La importancia en el estudio de los animales venenosos se debe a que presentan toxinas que han facilitado las investigaciones para estudiar la estructura y sitios de unión de varios canales iónicos, la fisiología de los tejidos en los cuales los canales actúan, así como su bioquímica y acción farmacológica. Además han sido modificados para ser parte de estructuras de productos insecticidas, de agentes terapéuticos y para diagnóstico, lo que ha permitido un mayor avance en diversas áreas de la neurociencia, también se han reportado péptidos con actividad antibiótica y antiplásmica (1). Sin embargo, a pesar de los progresos considerables en el estudio de toxinas contenidas en varios venenos, se conoce muy poco acerca de los venenos de animales de la clase Chilopoda, en particular las especies del género *Scolopendra* que se encuentran en México. Se han realizado pocos estudios químicos, fisiológicos, toxicológicos y bioquímicos acerca de la constitución y efectos del veneno del ciempiés y se han reportado algunos de los componentes de su veneno (2), sin embargo no existen reportes de las toxinas del veneno y mucho menos alguna secuencia de estas. Por lo tanto en el presente estudio se propone el siguiente objetivo:
Purificar y secuenciar los componentes tóxicos presentes en el veneno de *Scolopendra sp.*

Metodología. El veneno crudo se obtuvo por estimulación eléctrica. La concentración de veneno se expresó en términos de proteína, mediante la lectura de la densidad óptica a 280 nm de la longitud de onda en un espectrofotómetro. La fracción tóxica del veneno de *Scolopendra sp* se obtuvo por cromatografía de intercambio iónico en una columna de DEAE-celulosa a 4°C, la cual se eluyó con un gradiente de concentración de 20 mM-1M de CH₃COONH₄ pH 4.7. La toxicidad de las proteínas se ensayó en acociles (*Cambarellus cambarellus*). El número de componentes proteicos presentes en el veneno así como el peso molecular de estos se estimó mediante electroforesis (SDS-PAGE) usando un gel de acrilamida al 12%. Para la secuencia de aminoácidos se realizó una electrotransferencia de las proteínas tóxicas en membrana de PVDF. La secuencia de aminoácidos se realizó por el método de degradación de Edman, en un secuenciador automático y la identidad de las secuencias fue obtenida usando el programa BLAST en la página web del NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>).

Resultados y discusión. Inicialmente Por medio de un análisis electroforético se determinó la presencia de al menos 16 componentes proteicos en el veneno de escolopendra. El veneno obtenido (5 mg) a través de la estimulación eléctrica fue aplicado a una columna de intercambio iónico, esta separación nos indico la presencia de 5 picos (Fig. 1) y por ensayos de toxicidad determinamos que solamente uno de ellos es tóxico. El análisis electroforético de la fracción tóxica nos reveló que existen dos componentes tóxicos de 32.6 y 23 kDa. Por medio de la secuencia parcial de aminoácidos se han podido determinar 11 aminoácidos del lado amino terminal de cada uno de los componentes. En estudios *in vitro* acerca del efecto de la fracción tóxica del veneno *Scolopendra sp* sobre el cordón ganglionar del acocil y rebanadas de la corteza anterior del ratón con neurotransmisores ácido glutámico y GABA y con ayuda de drogas y toxinas específicas a canales de Na⁺, K⁺, y Ca²⁺ se encontró que el efecto de la FT parece ser sobre canales de Na⁺ (3), por lo tanto se realizaron alineamientos con secuencias de toxinas que bloquean canales de Na⁺ y se observaron porcentajes de 1.4 a 5% de identidad. Sin embargo se observó una similaridad e identidad de 31.2% y 12.5% respectivamente entre ambas toxinas.

Conclusión. De acuerdo a las investigaciones reportadas, este es el primer estudio que determina la secuencia de aminoácidos de proteínas toxicas del veneno de ciempiés. Se purificaron dos componentes tóxicos de 32.6 y 23 kDa y se secuenciaron 11 residuos de aminoácidos de cada uno de ellos y de acuerdo a los alineamientos realizados se determinó que se trata de dos toxinas ácidas completamente nuevas.

Agradecimiento. Proyecto CONACYT Z-005.

Bibliografía.

1. Mckinnon, R y Miller, C. (1989). Mutant potassium channels with altered binding of charybdotoxin, a pore-blocking peptide inhibitor. *Science*. 245 (4924): 1382-1385.
2. Mohamed, A, Abu-Sinna, G, El-Shabaka, H, y El-Aal, A. (1983) Proteins, lipids, lipoproteins and some enzyme characterizations of the venom extract from the centipede *Scolopendra moristans*. *Toxicon*. 21 (3): 371-377.
3. Abarca, C. (2000). "Liberación de los ácidos glutámico y gamma aminobutírico (GABA) en el sistema nervioso del acocil y ratón por efecto de la fracción tóxica del veneno de la escolopendra (*Scolopendra sp*)". Tesis de Maestría. CEIB, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, México.