

AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE TOXINAS PEPTÍDICAS DE LA ANÉMOMA

Anthopleura xanthogrammica.

Ana Gabriela Prior Mier y Terán, Alexei Fedorovich Licea Navarro

alicea@cicese.mx

Palabras clave: anémoma, toxinas peptídicas, canales iónicos.

Introducción: Las anémonas son animales sésiles, que pertenecen al phylum Cnidaria, clase Anthozoa. Todas las anémonas poseen orgánulos urticantes llamados nematocistos, los cuáles juegan un papel primordial en defensa y parálisis de sus presas. Estos nematocistos contienen potentes toxinas que paralizan inmediatamente a peses y crustáceos. Todas las toxinas de anémoma que se han aislado a la fecha son de origen peptídico y se clasifican en: citolisinas, las cuáles forman poros o canales en las membranas y son proteínas de entre 15 y 21 Kda; y en neurotoxinas son polipéptidos de 3 a 5 KDa, que interactúan con canales iónicos [1].

Las anémonas son una rica fuente de polipéptidos biológicamente activos con diversas actividades farmacológicas. En este trabajo se aislaron toxinas peptídicas de *Anthopleura xanthogrammica* y se caracterizó la actividad de las toxinas contenidas en el extracto crudo.

Metodología: Se realizó una extracción etanólica (30%) con anémonas de la especie *A. xanthogrammica*, colectadas en las costas de Baja California, México. El extracto crudo fue separado por cromatografía de exclusión molecular en una matriz de bio-gel p30. Se determinó la actividad neurotóxica del extracto crudo en la célula neuronal 1F de *Helix aspersa*, su actividad inmunomoduladora en ratones balb/C y su actividad antimicrobiana. Por último se probaron tanto el extracto como las tres fracciones de la primera cromatografía para evaluar su efecto citotóxico en células de cáncer de mama (SKBR3), de próstata (DU145) y de colon (LIM1215). Las fracciones II y III fueron re-purificadas por cromatografía líquida de alta presión (HPLC).

Resultados y discusión: De la cromatografía por exclusión molecular se obtuvieron tres fracciones (I, II, III). La fracción I representa el 53.43% del extracto crudo; la fracción II el 7.75% y la fracción III el 4.76%, obteniendo un porcentaje de recuperación de la columna del 65.94%.

En la neurona 1F de *H. aspersa*, el extracto crudo presentó: un efecto depolarizante muy marcado en la actividad eléctrica espontánea (figura 1a), lo que indica que una o más toxinas podrían estar interactuando con canales de Na^+ ; además bloquea canales de Ca^{2+} dependientes de voltaje (figura 1b) y afecta receptores a glutamato (figura 1c) sin que los receptores a carbacol se vean afectados de la misma forma.

Se encontró también, un efecto inmunoestimulante del extracto crudo, el cuál puede estar exagerado si mas de una toxina dentro del extracto tienen el mismo efecto o puede estar siendo inhibido si una o mas toxinas del extracto tienen un efecto contrario.

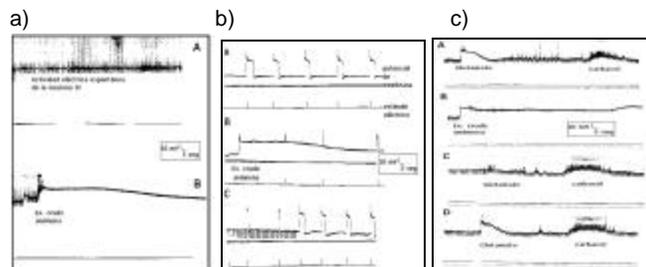


Figura 1 Efecto del extracto crudo de *A. xanthogrammica* en la actividad eléctrica espontánea(a); canales de Ca^{2+} (b); y en receptores de glutamato y carbacol (c) en la neurona 1F de *H. aspersa*.

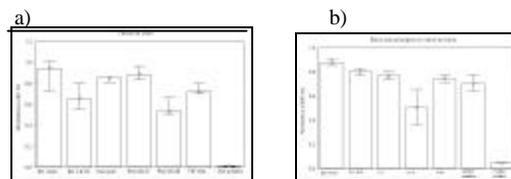


Figura 2. Efecto del extracto crudo de *A. xanthogrammica* en células de cáncer de colon (a) y de mama (b).

La fracción III y la fracción II del extracto, presentaron actividad citotóxica para cáncer de colon (figura 2a) y de mama (figura 2b) respectivamente. Por el contrario ni el extracto crudo ni las fracciones presentaron actividad citotóxica en cáncer de próstata y se descartó el efecto antimicrobiano del extracto crudo en *E. coli* y *B. subtilis*. Las fracciones II y III fueron repurificadas por HPLC.

Conclusiones: Se obtuvo el extracto crudo de *A. xanthogrammica* por una modificación al método empleado por Norton (1976) que permite mantener una mayor cantidad de péptidos activos. El extracto obtenido presentó un efecto en la actividad eléctrica espontánea, en receptores a glutamato y canales de Ca^{2+} de la neurona 1F de *H. aspersa*. La actividad citotóxica fue específica para cada línea celular, mientras que el extracto crudo presentó un efecto potenciador de la respuesta inmune muy marcado.

Bibliografía:

1. Ishida M., Yokoyama A., Shimakura K., Nagashima Y. y Shiomi K. (1997). "Halicurin, a polypeptide toxin from the sea anemone *Halicurians* sp., with a structural resemblance to type 1 and 2 toxins. *Toxicon* 35(4): 537-544.
2. Norton T.R., Shibata S., Kashiwagi M., Bentley J. (1976). "Isolation and characterization of the cardiotoxic polypeptide Anthopleurin-A from the sea anemone *A. xanthogrammica*. *J. pharm Sci.* 65(9):1368-1374.