

# EFECTO DE LA FRACCIÓN BaNoU DE VENENO DE LA VÍBORA *Bothrops asper* SOBRE LÍNEAS CELULARES DE ADENOCARCINOMA DE COLON

Leon Juan D.<sup>1</sup>, Gómez Lyz J.<sup>2</sup>, Muñoz Adriana X.<sup>2</sup>, Ramírez Sara<sup>2</sup>, Gómez Jose F.<sup>1</sup>, Naranjo Tonny W.<sup>3</sup>,  
Pereañez Jaime A.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>. Semillero SIFACS. Facultad de Ciencias de la Salud I.U. Colegio Mayor de Antioquia,

<sup>2</sup>. Grupo Biociencias. Facultad Ciencias de la salud I.U. Colegio Mayor de Antioquia.

<sup>3</sup>. Grupo de Investigación de Micología Médica y Experimenta. Corporación para Investigaciones Biológicas (CIB).

<sup>4</sup>. Grupo Toxinología, Alternativas Terapéuticas y Alimentarias. Universidad de Antioquia. Autor de correspondencia: [jdavidleon@est.colmayor.edu.co](mailto:jdavidleon@est.colmayor.edu.co)

## RESUMEN

**Introducción:** El cáncer colorrectal (CCR) se ha convertido en un desafío global de salud por sus altas tasas de morbimortalidad. En Colombia, representa hasta un 9.9% de los casos de cáncer, y los tratamientos actuales son limitados y costosos para el sistema de salud. Diferentes estudios han demostrado la presencia de componentes con potencial anticancerígeno en el veneno de las víboras del género *Bothrops*. La fracción BaNoU del veneno de *Bothrops asper* es prometedora en el desarrollo de nuevos fármacos contra el CCR. **Objetivo:** Evaluar el efecto de la fracción BaNoU del veneno de *Bothrops asper*, sobre líneas celulares de adenocarcinoma colon SW480 (tumoral) y SW620 (metastásica). **Materiales y métodos:** A partir del veneno puro, se obtuvo la fracción BaNoU por RP-HPLC. Se realizó una caracterización electroforética por SDS-PAGE y posteriormente se realizaron ensayos de citotoxicidad utilizando Sulforodamina B, con tiempos de exposición de 24 y 48 horas, usando células HaCat como control. **Resultados:** Se observó que la fracción BaNoU tiene un alto efecto citotóxico sobre las líneas celulares cancerosas a las 48 horas al compararse con las sanas. **Conclusión:** La fracción BaNoU es rica en proteínas de mediano peso molecular, de 15 kDa y 22 kDa. Es necesario perfilar la fracción para la realización de nuevas investigaciones, en búsqueda de caracterizar sus componentes y estudiar su selectividad aparente sobre células tumorales.

**Palabras clave:** Cáncer colorrectal, Citotoxicidad, Líneas celulares, veneno.

## INTRODUCCIÓN

A nivel mundial, el cáncer colorrectal (CCR) representa una preocupación importante de salud debido a su alta incidencia y morbilidad (1). Los tratamientos actuales, como cirugía, quimioterapia y radioterapia, a menudo resultan invasivos y costosos (1,2), dada su falta de especificidad hacia las células malignas. En Colombia, el CCR es el tercer cáncer en cuanto a mortalidad (1). Se ha propuesto la búsqueda de compuestos antitumorales que aprovechen las diferencias entre células cancerosas y células sanas (3). Las toxinas aisladas en venenos de serpiente han sido objeto de estudio debido a su potencial actividad anticancerígena (3,4), y estudios previos han revelado mecanismos como la inducción de apoptosis (3,5), antiangiogénesis (5), genotoxicidad (5,6) y modulación de ciclos celulares (7), respaldando su prometedor potencial terapéutico. El veneno y las toxinas aisladas del género *Bothrops* han sido ampliamente estudiados (6, 7), Sin embargo, la fracción BaNoU, aislada del veneno de *B. asper*, no ha sido evaluada en este contexto.

## OBJETIVO

Evaluar el efecto de la fracción BaNoU del veneno de *Bothrops asper*, sobre líneas celulares de adenocarcinoma de colon SW480 (tumoral) y SW620 (metastásica).

## MATERIALES Y MÉTODOS

**1. Obtención y clasificación BaNoU:** Se obtuvo veneno a partir especímenes de *Bothrops asper* mantenidos en cautiverio. Para obtener la fracción BaNoU, se disolvió el veneno en ácido trifluoroacético y se purificó mediante cromatografía líquida de alta resolución. Se realizó una electroforesis de esta fracción junto con un estándar de proteínas de peso conocido y suero sanguíneo equino como control, en un gel de poliacrilamida con dodecilsulfato de sodio, y se tiñó con azul de Coomassie R-250.

**2. Ensayo en cultivos celulares:** Se utilizaron dos líneas celulares de adenocarcinoma de colon: ATCC SW480 (Tumoral), ATCC SW620 (Metastásica) y sanas HaCaT (control), sembradas en DMEM a 37°C y 5% de CO<sub>2</sub>, suero bovino fetal al 3% y suplementadas con insulina, transferrina y selenio. Se realizó un ensayo de citotoxicidad, exponiendo las células a la fracción BaNoU a concentraciones de 12.5, 25, 50, 100 y 200 ug/mL durante 24 y 48 horas. La viabilidad celular se midió mediante Sulforodamina B a 490 nm, para determinar el número de células vivas. La línea HaCaT se utilizó como control en el estudio.

**3. Análisis de datos:** Se realizó utilizando la prueba ANOVA post-hoc Tukey, en el paquete estadístico SPSS V.27.

## RESULTADOS

**1. Caracterización proteínica de la fracción BaNoU mediante electroforesis:** El perfil electroforético de la fracción BaNoU se encontraron proteínas en  $\approx 22$  kDa y 15 kDa.

**2. Efecto por línea celular en el tiempo:** A las 48 horas, se encontró que BaNoU aumentó la citotoxicidad en células cancerosas hasta en un 20%, en comparación de las células sanas, que se mantuvieron estable alrededor del 60% ( $p < 0.05$ )

**3. Efecto de la concentración de BaNoU tras 48 horas de exposición:** La citotoxicidad celular disminuye en relación a la concentración. A bajas concentraciones de la fracción, las líneas cancerosas muestran una mayor susceptibilidad a BaNoU, al compararse con células sanas ( $p < 0.05$ ). SW620 mostró diferencia solo a 12,5  $\mu\text{g/mL}$ , con una citotoxicidad del 77%, y para concentraciones superiores a 25  $\mu\text{g/mL}$  se mantuvo por encima del 98% ( $p < 0.05$ ). SW480 no tuvo diferencias significativas al comparar todas las concentraciones.

**4. Efecto del tiempo de exposición en células sanas Hacat:** El efecto observado con las concentraciones de 50 y 25  $\mu\text{g/mL}$  a las 48 horas mostró menores valores a comparación de las 24 horas, donde con la concentración 25  $\mu\text{g/mL}$  mostró un 83% de citotoxicidad que disminuye en un 28% a las 48 horas. Existen diferencias significativas entre las concentraciones de 50 y 25  $\mu\text{g/mL}$  ( $p < 0.05$ ).

## DISCUSIÓN

La identificación precisa de las proteínas en la fracción BaNoU aislada del veneno de *Bothrops asper*, requiere técnicas adicionales (8), como la secuenciación de aminoácidos y la electroforesis bidimensional. Se han descrito proteínas con pesos moleculares entre 13 y 24 kDa en *B. pauloensis* (6) y *B. atrox* (7), lo cual se asemeja a nuestros hallazgos (15kDa - 22 kDa). A pesar de que el peso molecular no brinda una identificación de la proteína, se sugiere que podrían ser fosfolipasas (3,6). Las fosfolipasas A2 (PLA2) y las L-aminoácido oxidasas (LAO) presentes en venenos de serpientes suelen exhibir citotoxicidad en células cancerosas (3). La citotoxicidad observada podría deberse a la sobreexpresión de receptores específicos en células malignas que las hace más susceptibles a la actividad de las toxinas, y a un aumento en las especies reactivas de oxígeno (ROS) (3,5). Es importante señalar que la citotoxicidad en controles sanos puede disminuir con el tiempo debido a la degradación de las proteínas mediante procesos enzimáticos a nivel celular (6,7), lo que podría explicar la proliferación observada a las 48 horas.

## CONCLUSIÓN

Se observó un efecto citotóxico específico de la fracción BaNoU sobre células cancerosas. Esta fracción es rica en proteínas de mediano peso molecular, que de acuerdo a la literatura, podrían ser fosfolipasas. Es necesario perfilar y caracterizar las proteínas de esta fracción para nuevas investigaciones respecto a la selectividad aparente en células tumorales.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Sung H, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin.* 2021;71(3):209-249
- Gómez-Ramírez MA, et al. Tratamiento del cáncer colorrectal: una revisión de la literatura. *Rev Gastroenterol Mex.* 2019;84(1):90-101
3. Hiu JJ, et al. Cytotoxicity of snake venom enzymatic toxins: Phospholipase A2 and L-amino acid oxidase. *Biochemical Society Transactions.* 2020;48(2):719-731.
4. Offor BC, Piater LA. Snake venom toxins: Potential anticancer therapeutics. *J Appl Toxicol.* 2023;43(9):1-12.
5. Azevedo FVP, et al. A New Approach to Inhibiting Triple-Negative Breast Cancer: In Vitro, Ex Vivo and In Vivo Antiangiogenic Effect of BthTx-II, a PLA2-Asp-49 from Bothrops jararacussu Venom. *Biomolecules.* 2022;12(2):258
6. Rodrigues RS, et al. Human breast cancer cell death induced by BnSP-6, a Lys-49 PLA2 homologue from Bothrops pauloensis venom. *Int J Biol Macromol.* 2016;82:347-354.
7. Proleón A, et al. Functional, immunological characterization, and anticancer activity of BaMtx: A new Lys49- PLA2 homologue isolated from the venom of Peruvian Bothrops atrox snake (Serpentes: Viperidae). *Int J Biol Macromol.* 2022; 206:990-1002
8. Scovino S, et al. Analysis of the protein profile of the venoms of snakes Bothrops asper, Bothrocophias myersi and Crotalus durissus from the Colombian Andean Region obtained by RP-HPLC. *Rev Colomb Biotechnol.* 2021;23(1):24-31.