**COMPROBACIÓN EXPERIMENTAL DE LOS EFECTOS ENZIMÁTICOS DEL VENENO DE SERPIENTE CASCABEL**

Laboratorio de Físico Química de Biológicos1 y Cátedra de toxicología de la Facultad de Ciencias de la Salud2 de la Universidad Nacional de Málaga, España.

Instituto de Investigación del serpentario de la Reserva El Alba, Malaga España3

Director del Proyecto PH.D Bioquímico Martínez Marcos1

Integrantes del Proyecto:

Dra. Bioq. Luz García, Analía Emilia1

Dr. Bioq Pérez de la Costa, Ricardo1

Dra. Cs Salud. Bello, Adriana María 2

Médico Veterinario Dr. Sanchez, Luis María3

Bioquímico Cardozo, Sebastián (Becario de Posgrado)1

**Introducción**

Diversos estudios en el área de la toxicología apuntan a este problema, pero desde perspectivas estrictamente sociales, dejando por fuera el tema bioquímico, es decir el de su composición y efectos. Se han llevado a cabo una extensa labor de reconocimiento de estos ofidios y sus observaciones sobre la rapidez del efecto de estos venenos (Stidworthy *et. al*.), lo cual constituye un buen punto de partida para el conocimiento.

Cientos de personas a nivel mundial, sobre todo en los países selváticos o desérticos, perecen al año por mordeduras de serpientes de cascabel (*Crotalus sp.*), una de las más venenosas del continente americano. Se estima que en pocas horas luego de la mordedura, el efecto neurotóxico de la serpiente acaba con la vida de un hombre adulto. Muchos laboratorios locales emprenden la manufactura de antídotos, pero es costoso y toma mucho tiempo de elaboración. El conocimiento más intensivo de la naturaleza de estos venenos sería la clave para poder emprender soluciones a corto plazo más efectivas ante la mordedura de estas serpientes, trasmitiendo este conocimiento a laboratorios de biológicos.

Los venenos en la naturaleza no son más que enzimas modificadas para una función defensiva o depredadora. El veneno de las serpientes, en ese sentido, es un paquete de enzimas digestivas que hace letal su mordedura, y por eso puede ser estudiada como si fuera una proteína cualquiera, y responder por lo tanto al calor y al PH como lo hacen estos compuestos. Un análisis bioquímico de esta naturaleza dirigido a conocer las debilidades en el veneno sería de mucha utilidad en la elaboración de un antídoto o de tratamientos alternativos para los individuos mordidos y de bajos costo en la elaboración.

Aparte de las consideraciones de tipo descriptivo ya realizadas y descriptas por Stidworthy et *al*.), emplearemos la bioquímica de Lennman como referente en la descomposición de proteínas por efecto del calor y del pH, a fin de comprobar si el veneno responde de igual manera a estos estímulos. Nos ampararemos también en la obra sobre proteínas de González y Martínez, cuyas observaciones serán útiles en el reconocimiento de los resultados.

Es importante aclarar que este estudio no implica una alteración en la naturaleza debido a que el veneno es obtenido a partir de serpientes criadas en cautiverio para este fin por lo cual se trabajará en colaboración con Biólogos y Veterinarios de la Reserva “El Alba”, que trabajan dentro del instituto de Investigación del serpentario y en el cual el becario del proyecto desarrolla parte de su Proyecto de doctorado en el estudio de compuestos de los venenos de serpientes.

Objetivos

**Objetivo general:** Comprobar que el veneno de la serpiente Cascabel es una proteína y por lo tanto puede ser neutralizado a través de variaciones de temperatura y de pH, impidiendo su efecto neurotóxico.

**Objetivos específicos:**

-*Demostrar la semejanza de reacción entre el veneno de cascabel y otras proteínas más conocidas.*

*-Demostrar el efecto de la variación de temperatura en este veneno, sometiéndolo a calor y frío extremos.*

*-Demostrar el efecto de la variación de pH en este veneno sometiéndolo a compuestos ácidos y bases fuertes*

**Materiales y Métodos**

Se contará con un equipo de laboratorio completo, así como con los reactivos necesarios (bases y ácidos, veneno de cascabel en estado puro), además de medidores de pH, de temperatura, un mechero y hielo seco. Además, se emplearán para ello 12 ratones de laboratorio.

Se tomarán ratones como controles, los cuales serán inoculados con el veneno (con dosis conocida y pre establecidas) y se medirá el tiempo que tomará en sufrir el efecto.

Luego se someterá el veneno a la acción de un agente (temperatura o pH) en distintos grados y dosis y se inocularán a ratones que conformarán el segundo grupo. Se medirá el efecto en cuanto a tiempo de efectividad del veneno, donde se determinará las variaciones en la lentitud o no de producir la reacción o la inefectividad.

Para el análisis de los resultados se aplicará una estadística básica aplicando Chi2, y también se aplicará una estadística más específica con un análisis multivariable y de regresión lineal. Los resultados también serán analizados mediante estadística comparativa entre los resultados hallados con el veneno de cascabel y otras proteínas.

Este experimento requerirá una inversión de USD 10.000 en total, costo que abarcará la obtención del veneno, los reactivos acido-base, la compra de los ratones a bioterios libres de patógenos, y todos los elementos del laboratorio de uso descartable. Los recursos humanos ya forman parte de un proyecto mayor relacionado al presente por lo que no percibirán de ningún estipendio. La Facultad de Ciencias de la Salud y específicamente el Laboratorio de Fisico –química cuenta con todas las condiciones necesarias para trabajar con animales de experimentación.

**Referencias Bibliográficas**

-González S. y Rodríguez P. 1980. *Proteínas*. Caracas: Monte Ávila Editores.
-Lennman, R. 1999. Todo sobre bioquímica. Madrid: Saen editores.
-Stidworthy J. 1974. *Snakes of the World*. Chicago: Dunlap Inc.
Institito Americano de Toxicología. 2004. Informe sobre mordedura de serpiente cascabel en América en el año 2003. VVAA. Panamá: Gedisa.