



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**ESTUDIO DEL MECANISMO DE ACCIÓN DEL EFECTO VASODILATADOR  
DEL VENENO DE LA TARÁNTULA *Poecilotheria ornata***

**TESIS**

QUE COMO PARTE DE LOS REQUISITOS PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRÍA EN CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS

**PRESENTA:**

Q.F.Bt. JUAN ENRIQUE DE JESÚS LÓPEZ

**DIRIGIDA POR:**

Dr. JOSÉ ALEJANDRO GARCÍA ARREDONDO

Querétaro; Qro. a 25 de junio 2021



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

Maestría en Ciencias Químico Biológicas

ESTUDIO DEL MECANISMO DE ACCIÓN DEL EFECTO VASODILATADOR  
DEL VENENO DE LA TARÁNTULA *Poecilotheria ornata*

TESIS

QUE COMO PARTE DE LOS REQUISITOS PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRÍA EN CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS

PRESENTA:

Q.F.Bt. JUAN ENRIQUE DE JESÚS LÓPEZ

Dr. José Alejandro García Arredondo  
Presidente

Dr. Rubén Antonio Romo Mancillas  
Secretario

Dr. Mamadou Moustapha Bah  
Vocal

Dra. Jesica Esther Escobar Cabrera  
Suplente

M. en C. Luis Fernando Díaz Peña  
Suplente

Centro Universitario, Querétaro, Qro. Fecha de aprobación por el Consejo  
Universitario (junio, 2021)  
México

## DEDICATORIAS

El presente trabajo forma parte de mi entendimiento y comprensión de la relación entre la vida, el mundo material y el universo espiritual. Dedicado a Dios, por bendecir mi camino todos los días y permitirme coincidir en el lugar y con las personas correctas y que han aportado a este trabajo su conocimiento.

A mi familia, mis padres Ana María y Rubén por su confianza en mis propósitos y a mi hermano Luis, por apoyarme.

A las personas que me motivaron en este camino, Isabel Zúñiga, Sandra Trejo, Alejandra Villalvazo, todo el personal COBAQ1 que nunca me perdieron de vista.

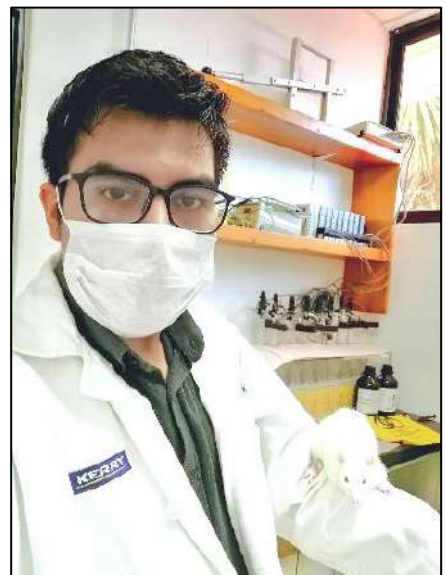
A grandes músicos que me abrieron las puertas de las sinfonías mexicanas, Florencio López, Marcos Ortiz, Fidelio Ortiz.

A mis abuelos, Tomás de Jesús, Juana Sánchez, Florencio López, Cleotilde Juárez, por su apoyo en la ciencia y en la música.

A mis amigos y compañeros, en especial a Gilberto Vázquez.

A las criaturas que dan la vida por la ciencia.

*“Que la ciencia sea un medio para alcanzar  
la gracia y conocer los planes de Dios y no  
para separarnos de él”*



## AGRADECIMIENTOS

El presente estudio dirigido por el Dr. José Alejandro García Arredondo, se realizó en el Departamento de Investigación Química y Farmacológica de Productos Naturales de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro, con apoyo del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), a quienes agradezco, por el financiamiento de mi estancia en el posgrado en Ciencias Químico-Biológicas. Agradeciendo al posgrado en Ciencias Químico-Biológicas de la facultad de química de la UAQ, por abrirme las puertas y al comité sinodal, por sus valiosos y sabios consejos para la mejora del proyecto.

## ÍNDICE

Página

Dedicatorias.....	3
Agradecimientos.....	4
Abreviaturas.....	13
Declaración de responsabilidad del estudiante.....	14
<b>RESUMEN.....</b>	<b>15</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>16</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>17</b>
<b>2. ANTECEDENTES.....</b>	<b>20</b>
2.1. Potencial terapéutico de los venenos.....	20
2.1.1. Naturaleza química del veneno.....	26
2.2. Venenos y toxinas de arácnidos con actividad cardiovascular.....	26
2.2.1. <i>Loxosceles intermedia</i> .....	27
2.2.2. <i>Phoneutria nigriventer</i> .....	29
2.2.3. <i>Acanthoscurria paulensis</i> .....	31
2.2.4. <i>Lasiadora</i> spp.....	33
2.2.5. <i>Lycosa singoriensis</i> .....	35
2.2.6. <i>Poecilotheria regalis</i> .....	36
2.2.1. <i>Grammostola</i> spp.....	39
2.3. La familia Theraphosidae.....	41
2.3.1. <i>Poecilotheria ornata</i> .....	42
2.4. Toxinas de terafósidos.....	43
2.5. Estudios en la composición química del veneno de terafósidos.....	44

2.6. Sistema vascular .....	45
2.6.1. Endotelio.....	47
2.6.2. Músculo liso vascular .....	48
2.6.3. Canales de calcio Ca <sup>2+</sup> .....	49
2.6.4. Canales de potasio k <sup>+</sup> .....	50
<b>3. JUSTIFICACIÓN .....</b>	<b>53</b>
<b>4. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....</b>	<b>54</b>
<b>5. HIPÓTESIS.....</b>	<b>54</b>
<b>6. OBJETIVOS .....</b>	<b>55</b>
6.1. Objetivo general.....	55
6.2. Objetivos específicos.....	55
<b>7. MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>56</b>
7.1. Obtención y mantenimiento de las tarántulas de la especie <i>P. ornata</i> .....	56
7.2. Extracción de veneno .....	56
7.3. Liofilización .....	57
7.4. Cuantificación de proteína .....	57
7.5. Bioensayos .....	57
7.5.1. Animales de experimentación.....	57
7.5.2. Actividad vasodilatadora.....	57
7.5.3. Determinación de los mecanismos de acción involucrados en el efecto vasodilatador.....	58
7.5.4. Estabilidad de la vasoactividad del veneno .....	60
7.5.5. Análisis estadísticos .....	60

<b>8. RESULTADOS</b> .....	61
8.1. Preparación del extracto venenoso de <i>P. ornata</i> .....	61
8.2. Evaluación de la actividad vasodilatadora del veneno de <i>P. ornata</i> .....	61
8.3. Determinación del mecanismo de acción involucrado en el efecto vasodilatador del veneno de <i>P. ornata</i> .....	63
8.3.1. Participación del endotelio vascular .....	63
8.3.2. Participación de la vía NO/GMPc en la actividad vasodilatadora del veneno de <i>P. ornata</i> .....	64
8.3.3. Participación de los canales de calcio tipo L (LVCC) en la actividad vasodilatadora del veneno de <i>P. ornata</i> .....	65
8.3.4. Participación de los canales de potasio (Kv) en la actividad vasodilatadora del veneno de <i>P. ornata</i> .....	66
8.3.5. Estabilidad de la actividad vasodilatadora .....	67
<b>9. DISCUSIÓN</b> .....	69
<b>10. CONCLUSIÓN</b> .....	78
<b>11. REFERENCIAS</b> .....	79
<b>12. ANEXOS</b> .....	91

## ÍNDICE DE TABLAS

Página

<b>Tabla 1.</b> Medicamentos derivados de venenos aprobados por la FDA .....	24
<b>Tabla 2.</b> Taxonomía de <i>L. intermedia</i> .....	27
<b>Tabla 3.</b> Taxonomía de <i>P. nigriventer</i> .....	29
<b>Tabla 4.</b> Taxonomía de <i>A. paulensis</i> .....	31
<b>Tabla 5.</b> Taxonomía de <i>Lasiadora</i> spp .....	33
<b>Tabla 6.</b> Taxonomía de <i>L. singoriensis</i> .....	35
<b>Tabla 7.</b> Taxonomía de <i>P. regalis</i> .....	36
<b>Tabla 8.</b> Taxonomía de <i>G. spatulata</i> .....	39
<b>Tabla 9.</b> Taxonomía de <i>P. ornata</i> .....	42
<b>Tabla 10.</b> Compuestos liberados por el endotelio.....	47
<b>Tabla 11.</b> Toxinas obtenidas de venenos de tarántulas que modulan la actividad de canales iónicos dependientes de voltaje.....	51



## ÍNDICE DE FIGURAS

Página

<b>Figura 1.</b> Toxinas con potencial terapéutico.....	21
<b>Figura 2.</b> Principales causas de muerte en el mundo .....	23
<b>Figura 3.</b> <i>L. intermedia</i> .....	27
<b>Figura 4.</b> Mecanismo de acción vasodilatador del veneno de <i>L. intermedia</i> .....	28
<b>Figura 5.</b> <i>P. nigriventer</i> .....	29
<b>Figura 6.</b> Mecanismo de acción de la toxina PnTx2-6.....	30
<b>Figura 7.</b> <i>A. paulensis</i> .....	31
<b>Figura 8.</b> Mecanismo de la actividad cardiovascular del veneno de <i>A. paulensis</i> .	32
<b>Figura 9.</b> <i>Lasiadora</i> sp. ....	33
<b>Figura 10.</b> Mecanismo vasodilatador del veneno de <i>Lasiadora</i> sp.....	34
<b>Figura 11.</b> <i>L. singoriensis</i> .....	35
<b>Figura 12.</b> <i>P. regalis</i> .....	36
<b>Figura 13.</b> Actividad vasodilatadora de diferentes venenos de tarántulas.....	37
<b>Figura 14.</b> Mecanismo vasodilatador del veneno de <i>P. regalis</i> (PRV) y del péptido licosina-1.....	38
<b>Figura 15.</b> <i>Grammostola</i> sp. ....	39
<b>Figura 16.</b> Mecanismo del péptido GsMTx-4.....	40
<b>Figura 17.</b> <i>P. ornata</i> .....	42
<b>Figura 18.</b> Estructura de una arteria normal. ....	45
<b>Figura 19.</b> Sistemas neuroendocrinos que regulan la presión arterial.....	46
<b>Figura 20.</b> Estructura de los canales de calcio y sus sitios de bloqueo.....	49
<b>Figura 21.</b> Canales de calcio en el sistema cardiovascular .....	50

<b>Figura 22.</b> Curva concentración-respuesta de la actividad vasodilatadora inducida por el veneno de <i>P. ornata</i> .....	62
<b>Figura 23.</b> Registro del efecto vasodilatador del veneno de <i>P. ornata</i> a la concentración máxima .....	62
<b>Figura 24.</b> Curvas concentración-respuesta del efecto vasodilatador del veneno de <i>P. ornata</i> en presencia y ausencia de endotelio vascular .....	64
<b>Figura 25.</b> Curvas concentración-respuesta del efecto vasodilatador del veneno de <i>P. ornata</i> (Pov) en presencia de los inhibidores L-NAME y ODQ .....	65
<b>Figura 26.</b> Evaluación del veneno de <i>P. ornata</i> en los canales de calcio tipo L....	66
<b>Figura 27.</b> Curvas concentración-respuesta del efecto vasodilatador del veneno de <i>P. ornata</i> en presencia de TEA.....	67
<b>Figura 28.</b> Actividad vasodilatadora del veneno de <i>P. ornata</i> en condiciones desnaturalizantes y reductoras .....	68

## ANEXOS

Página

<b>Anexo 1.</b> Registro del efecto vasodilatador del veneno de <i>P. ornata</i> en presencia y ausencia de endotelio .....	91
<b>Anexo 2.</b> Concentración-respuesta del efecto vasodilatador de ACh y del veneno de <i>P. ornata</i> sobre aorta aislada de rata con y sin endotelio vascular.....	92
<b>Anexo 3.</b> Registro del efecto vasodilatador de las diluciones de ACh.....	92
<b>Anexo 4.</b> Registro del efecto vasodilatador del veneno de <i>P. ornata</i> a diferentes concentraciones en aorta aislada de rata en presencia de (A) L-NAME y (B) ODQ. ....	93
<b>Anexo 5</b> Registros del efecto vasodilatador sobre los canales de calcio tipo L ....	94
<b>Anexo 6</b> Registro del efecto vasodilatador del veneno de <i>P. ornata</i> a diferentes concentraciones en aorta aislada de rata en presencia de TEA.....	95
<b>Anexo 7</b> Registro del efecto vasodilatador del veneno de <i>P. ornata</i> en condiciones desnaturalizantes.....	95
<b>Anexo 8</b> Registro del efecto vasodilatador del veneno de <i>P. ornata</i> en condiciones reductoras.....	95

## ABREVIATURAS

<b>5-HT</b>	5-hidroxitriptamina
<b>AC</b>	Adenilil ciclase
<b>ACh</b>	Acetilcolina
<b>ADP</b>	Difosfato de adenosina
<b>Ang II</b>	Angiotensina II
<b>ATP</b>	Trifosfato de adenosina
<b>bFGF</b>	Factor de crecimiento de fibroblastos básicos
<b>Ca-CAM</b>	Calcio-calmodulina
<b>DAG</b>	Diacilglicerol
<b>EDHF</b>	Factor hiperpolarizante derivado del endotelio
<b>ET</b>	Endotelina
<b>FDE5</b>	Fosfodiesterasa 5
<b>GCs</b>	Guanilato Ciclasa soluble
<b>GMP</b>	Monofosfato de guanosina
<b>GMPc</b>	Monofosfato cíclico de guanosina
<b>His</b>	Histidina
<b>IP<sub>3</sub></b>	Trifosfato de inositol
<b>NO</b>	Óxido nítrico
<b>NOS</b>	Óxido nítrico sintasa; endotelial (eNOS) o neuronal (nNOS)
<b>PGH<sub>2</sub></b>	Prostaglandina H <sub>2</sub>
<b>PGI<sub>2</sub></b>	Prostaciclina
<b>PIP</b>	Fosfatidilinositol
<b>PKA</b>	Proteína quinasa/cinasa A
<b>PKG</b>	Proteína quinasa/cinasa G
<b>PLA<sub>2</sub></b>	Fosfolipasa A <sub>2</sub>
<b>PLC</b>	Fosfolipasa C

<b>RE</b>	Retículo endoplásmico
<b>RIP<sub>3</sub></b>	Receptores a IP <sub>3</sub>
<b>SERCA</b>	Retículo sarco/endoplásmico, Ca <sup>2+</sup> ATPasa.
<b>TGFβ</b>	Factor de crecimiento transformante β
<b>TTX</b>	Tetrodotoxina
<b>TXA<sub>2</sub></b>	Tromboxano A <sub>2</sub>
<b>UTP</b>	Trifosfato de uridina
<b>VEGF</b>	Factor de crecimiento endotelial vascular

Dirección General de Bibliotecas UAQ

## DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD DEL ESTUDIANTE

### DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD DE ESTUDIANTE:

Declaro que los datos propios obtenidos en esta investigación fueron generados durante el desarrollo de mi trabajo de tesis de forma ética y que reporto detalles necesarios para que los resultados de esta tesis sean reproducibles en eventuales investigaciones futuras. Finalmente, este manuscrito de tesis es un trabajo original en el cual se declaró y dio reconocimiento a cualquier colaboración o cita textual presentadas en el documento.

## RESUMEN

Las arañas de la familia Theraphosidae se conocen comúnmente como tarántulas y se caracterizan por su gran tamaño y amplia distribución mundial. Generalmente, los venenos de tarántula están constituidos por una gran diversidad de compuestos bioactivos capaces de modular selectivamente diferentes blancos farmacológicos. El estudio de estos componentes es importante para el desarrollo de futuras herramientas de investigación farmacológica o nuevos fármacos con posible aplicación terapéutica. La mayor parte de los estudios de los venenos de tarántulas se han enfocado en la búsqueda de compuestos que actúan en el sistema nervioso central. El propósito de este trabajo fue obtener información sobre el mecanismo de acción del efecto vasodilatador del veneno de *Poecilotheria ornata* mediante el empleo del ensayo de aorta aislada de rata. Los resultados mostraron que el veneno induce un efecto vasodilatador dependiente de la concentración con una  $CE_{50} = 3.60 (1.64 - 7.90) \mu\text{g proteína/mL}$  y un  $E_{\text{max}} = 72.54 \pm 4.36 \%$ . Dicha actividad demostró ser independiente del endotelio vascular. Además, los resultados indicaron que la presencia de *N*<sup>G</sup>-nitro-L-arginina (L-NAME) y 1H-(1,2,4) oxadiazolo [4,3-a] quinoxalin-1-one (ODQ) afectaron significativamente la actividad vasodilatadora. Sin embargo, la presencia de tetraetilamonio (TEA) no alteró la actividad vasorrelajante, excluyendo la participación de los canales de  $K^+$  en el efecto vasodilatador. Por otra parte, mediante un experimento a una sola concentración de calcio se encontró que los canales de calcio tipo L están principalmente involucrados en la relajación de la aorta. Adicionalmente, se evaluó el efecto vasodilatador del veneno de *P. ornata* bajo condiciones desnaturalizantes. Estos resultados mostraron que el efecto vasodilatador no se disminuyó significativamente al desnaturalizar el contenido de proteína del veneno con calor. Sin embargo, bajo condiciones reductoras, la actividad vasodilatadora del veneno sí disminuyó significativamente. En conclusión, se encontró que el veneno de *P. ornata* contiene compuestos vasodilatadores termoestables, los cuales actúan por medio de un mecanismo independiente de endotelio vascular que afecta la actividad de los canales de calcio de tipo L.

**Palabras clave:** *P. ornata*, canales de calcio tipo L, vasodilatación, veneno.

## ABSTRACT

Spiders from the family Theraphosidae commonly known as tarantulas and are characterized by their big size and worldwide distribution. Generally, tarantula's venoms contain a great diversity of bioactive compounds capable of modulate different drug targets with high selectivity. The study of these components is important for the development of future pharmacological research tools or new drugs with possible therapeutic application. Various research groups have focused on the biochemical and pharmacological study of venoms of these species; however, most of the current search aims for searching compounds that act in the central nervous system. The aim of this study was to obtain information about the mechanism of action of the vasodilator effect induced by the venom of *Poecilotheria ornata*, through the isolated rat aortic rings assay. The results showed that the venom induces a concentration-dependent vasodilator effect, reporting an  $EC_{50} = 3.60$  (1.64 - 7.90)  $\mu\text{g protein/mL}$  and an  $E_{\text{max}} = 72.54 \pm 4.36 \%$ . This effect was independent of the vascular endothelium. The presence of  $N^G$ -nitro-L-arginine (L-NAME) and 1H-(1,2,4) oxadiazolo [4,3-a] quinoxalin-1-one (ODQ) significantly affected the vasodilator activity. However, the presence of tetraetilamonio (TEA) did not affect this activity, suggesting that  $K^+$  channels aren't directly involved in the vasodilator effect. Moreover, an experiment using a single concentration of calcium suggested that L-type calcium channels are primarily involved in the vasodilator activity of the venom. Additionally, the vasodilator effect of *P. ornata* venom was evaluated after a treatment under denaturing conditions, on which a significant decrease in the effect was not observed, and under reducing conditions, the venom showed a significant decrease in the vasodilator activity. In conclusion, in this study it was found that *P. ornata* produces a venom that contains vasodilator thermostable compounds that act by an endothelium-independent mechanism that affects the activity of L-type calcium channels.

**Key words:** *P. ornata*, L-type calcium channels, vasodilation, venom.



## 1. INTRODUCCIÓN

Los animales venenosos han logrado desarrollar en su veneno diversos compuestos bioactivos que interactúan con una amplia variedad de dianas farmacológicas, lo que los convierte en una fuente interesante e invaluable para investigación. Varios de estos compuestos se han utilizado en estudios de prueba *in vivo* e incluso algunos han logrado un desarrollo preclínico o clínico para el tratamiento del dolor, diabetes, esclerosis múltiple y enfermedades cardiovasculares (Lewis y Garcia, 2003). Entre los animales venenosos, las tarántulas han llamado la atención de varios grupos de investigación debido a que sus venenos están constituidos por mezclas altamente complejas de compuestos bioactivos capaces de modular selectivamente diversos receptores y canales iónicos (Cherki et al., 2014; Escoubas y Rash, 2004; Tilleya et al., 2014) e incluso algunos autores han llegado a compararlas con los gasterópodos marinos del género *Conus* (Escoubas y Rash, 2004). Estos animales se conocen también como terafósidos debido a que son arañas pertenecientes a la familia Theraphosidae. Actualmente, esta familia se constituye por 1004 especies distribuidas en 150 géneros (WSC, 2020). Además, los terafósidos cuentan con la particularidad de su tamaño, que permite obtener mayor cantidad de muestra, evitando el sacrificio del espécimen para extraer la glándula venenosa. Algunas especies pueden alcanzar entre 28 y 30 cm de longitud y pesar hasta 100 g (Fernández-Montraveta y Moya-Laraño, 2007).

La mayor parte de los estudios toxicológicos de venenos de terafósidos se han centrado en la búsqueda de compuestos que actúan a nivel del sistema nervioso central (Pineda et al., 2018). Sin embargo, algunos estudios sugieren que estos venenos constituyen una fuente importante de compuestos que actúan sobre el sistema cardiovascular. Por ejemplo, en un estudio se encontró que el veneno de *Lasiodora* spp. indujo vasodilatación dependiente de la concentración en anillos de aorta aislada de rata que requirió la presencia de endotelio. En ese mismo estudio se encontró que el efecto vasodilatador fue inhibido por el éster de metilo de la  $N^G$ -

nitro-L-arginina (L-NAME), un inhibidor de la enzima óxido nítrico sintetasa; y por suramina, un antagonista del receptor purinérgico P2 (Horta et al., 2013). Además, se encontró que el difosfato de adenosina (ADP) fue el principal componente vasodilatador del veneno de *Lasiodora* sp. En otro estudio, realizado por nuestro grupo de investigación, se observó que el veneno de *Poecilotheria regalis* también produce vasodilatación dependiente de endotelio por la vía del óxido nítrico (NO)/GMPc en segmentos de aorta de rata (Díaz-Peña et al., 2019). Los resultados de ese estudio sugieren que el veneno de esa especie contiene una mezcla de compuestos vasodilatadores tanto de origen proteínico como no proteínico. Además, se evaluó de manera preliminar el efecto vasodilatador de los venenos de diversas especies de terafósidos y se observó que las especies del género *Poecilotheria* podrían ser una fuente importante de compuestos vasodilatadores.

En estudios realizados con venenos de arañas pertenecientes a otras familias también se han encontrado resultados que sugieren la presencia de compuestos vasodilatadores. Por ejemplo, el veneno de *Loxosceles intermedia* genera una relajación parcial y dependiente del endotelio en aorta aislada de rata que involucra la vía de NO/GMPc (Rattmann et al., 2008). Una fracción del veneno de la araña brasileña *Phoneutria nigriventer* demostró una relajación en arterias mesentéricas dependiente de la concentración, liberando NO del endotelio (Duarte Weinberg et al., 2002); particularmente, la toxina PnTx2-6, aislada del veneno de *P. nigriventer*, induce priapismo en humanos y ratones (Ravelli et al., 2017). La toxina PnTx2-6 inhibe los canales de sodio y aumenta la liberación de NO en el cuerpo cavernoso; sin embargo, el efecto de esta toxina en la cascada de señalización de NO/GMPc parece estar directamente involucrado en el priapismo por medio del sistema no adrenérgico, no colinérgico (Ravelli et al., 2017). Un péptido residual, aislado del veneno de la araña *Lycosa singoriensis*, induce una relajación significativa dependiente de la concentración en anillos de aorta de rata a través de la vía de señalización de NO/guanilato ciclasa (Ma et al., 2018).

Considerando que las especies del género *Poecilotheria* podrían ser una fuente importante de compuestos vasodilatadores que no se ha estudiado a profundidad, se plantea la presente propuesta que consiste en caracterizar el efecto vasodilatador del veneno de *Poecilotheria ornata*. La información derivada de este estudio será fundamental para diseñar otros estudios dirigidos al aislamiento y purificación de los compuestos vasodilatadores presentes en este veneno. Además, esta evidencia también podrá ayudar a entender el mecanismo y función del veneno de esta especie en particular, ya que se sabe que las mordeduras causadas por las especies del género *Poecilotheria* son consideradas de importancia clínica (Ahmed et al., 2009; Fuchs et al., 2014).

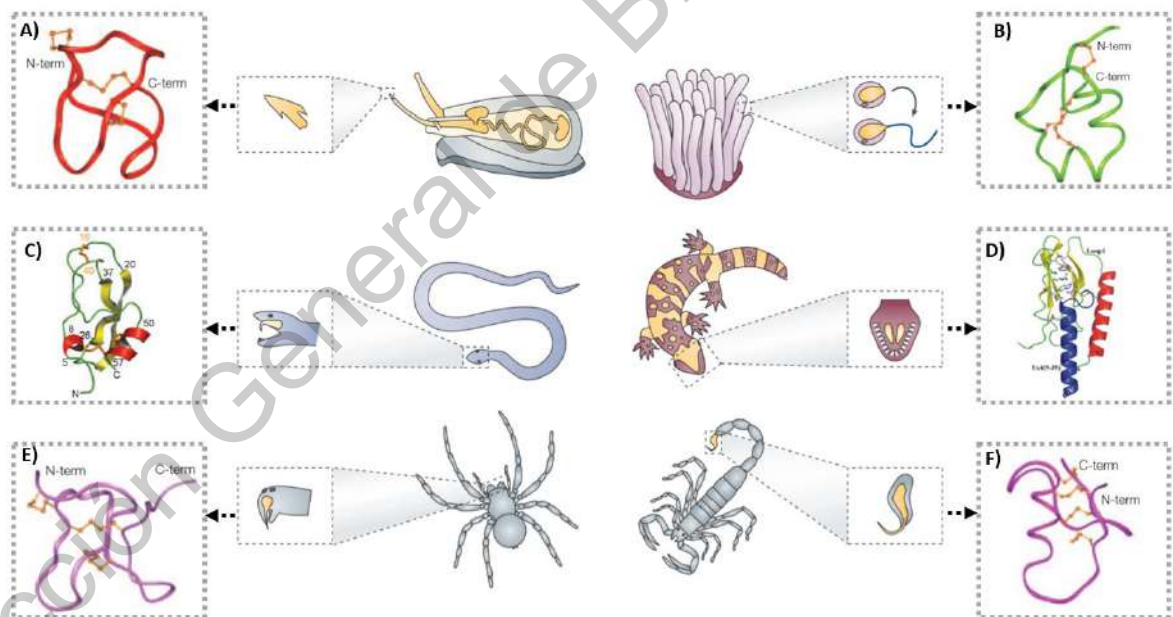
## 2. ANTECEDENTES

### 2.1. Potencial terapéutico de los venenos.

Los animales venenosos han aparecido en diversas fuentes históricas de la medicina natural y la terapéutica como el origen de tratamientos médicos; los primeros estudios se remontan a hace más de dos milenios con el primer registro de Aristóteles en su sinopsis "Historia Animalium" (384-322 a.C.). Después en 1664, el científico italiano Francesco Redi publicó un tratado sobre serpientes venenosas donde se describe que la toxicidad es generada por el veneno liberado durante la mordedura. Redi es considerado como uno de los fundadores de la toxínología, un área científica especializada que se ocupa del estudio de venenos de animales y de toxinas provenientes de animales, microbios y plantas (Utkin, 2015). El uso real del veneno comenzó a fines del siglo XIX, cuando el científico francés Albert Calmette reportó un tratamiento antiveneno (Calmette, 1896). Se informó que las convulsiones cesaron en los pacientes con epilepsia después de que eran mordidos por una serpiente de cascabel y en 1934 se descubrió que el veneno de cobra en pequeñas dosis tiene una potente actividad analgésica, muchas veces mayor que la morfina, con la diferencia de que el veneno no causa adicción. Desde entonces, el veneno de serpientes era parte del medicamento contra el asma, la hipertensión e incluso la lepra (Utkin, 2015). Hasta ahora, en muchos países se producen ungüentos y cremas como, Cobroxin, Viprosal, Cobratoxan, entre otros, los cuales son elaborados a base de venenos. Sin embargo, tal uso de venenos es poco efectivo ya que su contenido en las preparaciones es extremadamente bajo, y el efecto se logra debido a la acción inespecífica del veneno. El veneno de cobra se ha utilizado desde 1930 como tratamiento contra el asma, la esclerosis múltiple, el dolor y el reumatismo. Además, contiene la toxina cobratoxina (CTX) con efecto antiviral, inmunomodulador y neuroprotector (Utkin, 2015). Las secreciones secas de la piel del sapo *Bufo* spp. se han utilizado en la medicina tradicional china durante más de mil años como diurético, anestésico y anticancerígeno (Meng et al., 2012).

Las tarántulas se han utilizado en la medicina tradicional de poblaciones indígenas de México y América Central y del Sur para tratar una variedad de enfermedades como el asma o el cáncer (Machkour-M'Rabet et al., 2011).

Los organismos que producen veneno tienen una distribución taxonómica variada, pues se encuentran distribuidos en todo el reino animal, los animales terrestres venenosos más conocidos y estudiados son serpientes, escorpiones y arañas, mientras que entre los animales marinos se encuentran las medusas, anémonas y caracoles como (Casewell et al., 2013). El veneno de animales proporciona diversas fuentes de compuestos con diferentes aplicaciones médicas potenciales (Figura 1). Varios de estos compuestos ya se han convertido en medicamentos y algunos están en fases preclínicas o clínicas (Sarmiento et al., 2019).



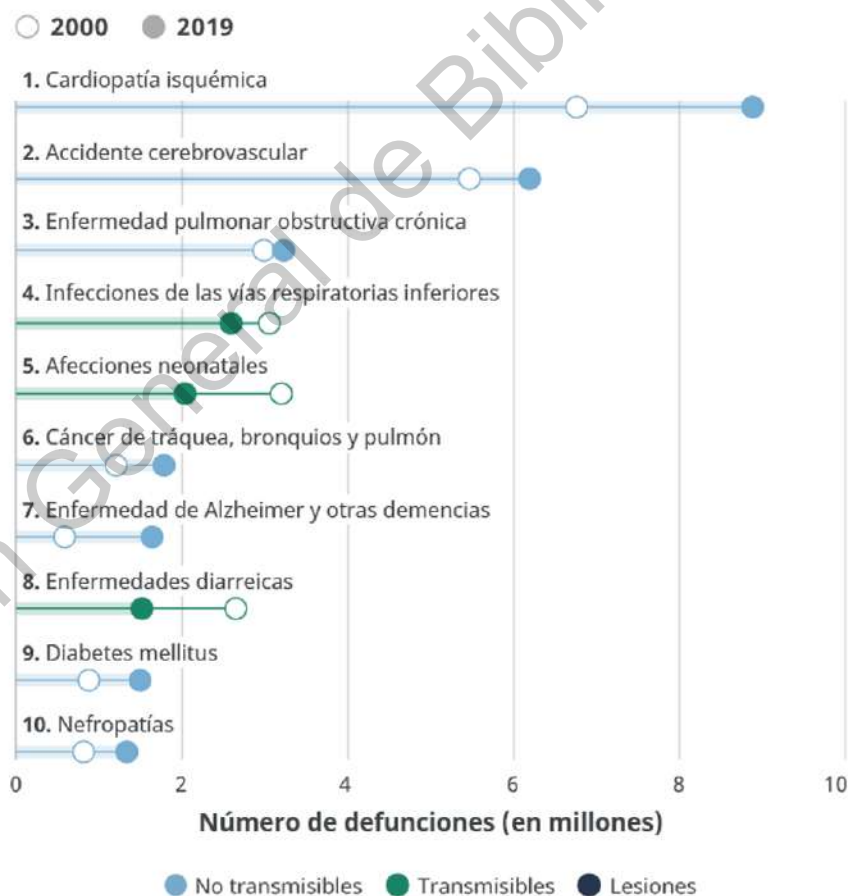
**Figura 1.** Toxinas con potencial terapéutico. **A)**  $\omega$ -CVID. **B)** ShK. **C)** Textilina. **D)** Exenidina-4. **E)** GsMT-x4. **F)** Clorotoxina. Modificado de Lewis y Nielsen, 2003.

En algunos organismos marinos podemos encontrar toxinas con capacidad terapéutica, este es el caso de *C. catus*, pues se han descubierto en el veneno de esta especie  $\omega$ -conotoxinas selectivas para canales de calcio tipo N (Figura 1A), útiles para el tratamiento de dolor severo (Lewis et al., 2000) y *S. helianthus*, una anémona de mar que produce la toxina ShK (Figura 1B), que es un potente bloqueador de canales de potasio Kv1.3, implicados en la proliferación de linfocitos T y producción de linfoquinas, cuyo interés es como un potencial inmunosupresor (Tudor, 1996). Dentro de la clasificación de los organismos terrestres venenosos se encuentra *P. textilis*, una serpiente cuyo veneno contiene la textilina-1, una molécula que bloquea la actividad de una serie de las serinas proteasas (Figura 1C), la plasmina y la tripsina, pues se ha planteado la posibilidad de que pueda usarse como una alternativa a la aprotinina (Underwood et al., 2009). Exendina-4 es un péptido de 39 aminoácidos originalmente aislado del veneno del lagarto *H. suspectum* también conocido como el monstruo de Gila (Figura 1D), este péptido se encuentra actualmente en fase III de ensayos clínicos para el tratamiento de la diabetes tipo 2 (Lewis y Garcia, 2003; Underwood et al., 2009, 2010). Otras especies, dentro del grupo de los artrópodos con toxinas de alto potencial terapéutico, están la tarántula *G. spatulata* con su toxina GsMT-x4 (Figura 1E), con la particularidad de reducir el tamaño de células cardíacas hinchadas e hipertróficas; activadas por hinchazón en astrocitos y arritmias inducidas por estiramiento en el corazón (Oswald et al., 2002), por medio de una inhibición de canales mecanosensibles y finalmente *L. quinquestriatus* un escorpión capaz de sintetizar en su veneno la clorotoxina (Lippens et al., 1995), un péptido neurotóxico con la capacidad de unirse específicamente a canales de cloro activados por  $Ca^{2+}$ , por lo tanto, podría tener uso potencial en el tratamiento del cáncer (Figura 1F).

El panorama actual de los fármacos derivados del veneno, se pueden considerar algunos medicamentos aprobados por la FDA (Tabla 1), la mayoría de los medicamentos aprobados derivan de reptiles y son dirigidos principalmente al sistema cardiovascular (Pennington et al., 2018).

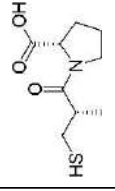
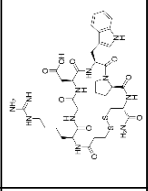
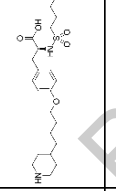

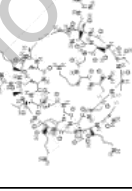

El éxito en el descubrimiento de fármacos basado en venenos se enfoca en moduladores del sistema cardiovascular ya que las enfermedades cardiovasculares son catalogadas como la principal causa de muerte a nivel mundial (Figura 2). Según las estadísticas de IHME, por sus siglas en inglés (Institute for Health Metrics and Evaluation) indican que 17.8 millones de muertes en todo el mundo en 2017 se atribuyeron a enfermedades cardiovasculares (Lyle y Taylor, 2019). De estas enfermedades, la hipertensión es uno de los principales factores de riesgo (Barnett, 2007; Conor y Tchong, 1999; Cushman y Ondetti, 1991; Menozzi et al., 2005; Miljanich, 2004; Warkentin et al., 2008)

### Causas principales de defunción en el mundo



**Figura 2.** Principales causas de muerte en el mundo. Estadísticas de la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2020).

**Tabla 1.** Medicamentos derivados de venenos aprobados por la FDA.

Medicamento	Vía de administración	Indicación	Diana molecular	Estructura	Aprobación por la FDA (año)	Ref.
Captopril (Capoten)	Oral	Hipertensión	ECA		1981	(Cushman y Ondetti, 1991)
Eptifibatida (Integrilin)	Parenteral (intravenosa)	Síndromes coronarios agudos	Receptores de integrina $\alpha$ IIb $\beta$ 3		1998	(O'Shea y Tcheng, 1999)
Tirofiban (Aggrastat)	Parenteral (intravenosa)	Síndromes coronarios agudos	Receptores de integrina $\alpha$ IIb $\beta$ 3		1999	(Menozzi et al., 2005)
Bivalirudina (Angiomax)	Parenteral (intravenosa)	Anticoagulante durante cirugía	Trombina		2000	(Warkentin et al., 2008)
Ziconitide (Prialt)	Intratecal	Dolor crónico	Canales de Cav2.2		2004	(Miljanich, 2004)
Exenatida (Byetta)	Parenteral (inyección subcutánea)	Diabetes tipo 2	Receptor GLP-1		2005	(Barnett, 2007)



El primer ejemplo de un fármaco exitoso derivado de estudios toxicológicos es el captopril, que inhibe la enzima convertidora de angiotensina (ECA), una enzima esencial para la producción de angiotensina, que a su vez es un vasoconstrictor asociado con la hipertensión (Lewis y Garcia, 2003). Los inhibidores de la ECA continúan siendo una clase importante de agentes antihipertensivos, a pesar del desarrollo de alternativas farmacológicas, como los péptidos natriuréticos de tipo B, por ejemplo, los cuales están aprobados para su uso en casos de descompensación aguda o el péptido natriurético tipo C que tiene función cardioprotectora (Moyes et al., 2019). Estos datos refuerzan a los venenos como una opción para la búsqueda de alternativas estructurales en péptidos contenidos en los venenos; por ejemplo, una forma sintética estabilizada del péptido natriurético de la mamba verde también parece tener potencial terapéutico (Chen et al., 2002). Ya se ha mencionado, los péptidos presentes en venenos de serpientes se han usado para guiar el desarrollo de nuevos antitrombóticos que actúan como antagonistas competitivos de la unión del ligando (por ejemplo, fibrinógeno) a la integrina  $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$  en plaquetas activadas (Scarborough et al., 1993). Los péptidos del veneno contenido en caracoles marinos y arañas también podrían ser útiles en el desarrollo de nuevos tratamientos contra enfermedades cardiovasculares ( $\rho$ -conopéptidos) y la fibrilación auricular (GsMTx-4). Por ejemplo, los  $\rho$ -conopéptidos son inhibidores selectivos, no competitivos del adrenoceptor  $\alpha\text{1}$  (Sharpe et al., 2003). GsMTx-4 de la tarántula *Grammostola spatulata* es un novedoso bloqueador de canales iónicos que inhibe la fibrilación auricular (Oswald et al., 2002).

Actualmente existen toxinas que se emplean como herramientas farmacológicas. Por ejemplo, los péptidos de caracoles de conos marinos son herramientas invaluable para discriminar subtipos relacionados de receptores nicotínicos de acetilcolina (Lewis et al., 2012). Dado que los animales venenosos dependen en gran medida de su veneno para depredación o defensa, esto genera una mejor selección sobre la efectividad de sus toxinas. Como resultado, las toxinas de animales normalmente presentan una especificidad y potencia extremadamente alta

para sus blancos moleculares debido a millones de años de adaptación evolutiva. Estas características, que son difíciles de replicar, han hecho que las toxinas obtenidas de venenos de animales sean extremadamente valiosas como herramientas farmacológicas (Lewis et al., 2012).

### **2.1.1. Naturaleza química del veneno.**

La mayoría de los venenos son mezclas altamente complejas de compuestos bioactivos, típicamente comprenden proteínas, péptidos, sales, componentes orgánicos de bajo peso molecular como aminoácidos y neurotransmisores, siendo los péptidos y proteínas los componentes principales (Casewell et al., 2013; del Brutto, 2013; King, 2011). Estudios recientes han indicado que el veneno de una especie en particular puede contener hasta varios cientos de compuestos diferentes que producen diversos efectos fisiológicos. Independientemente del origen del veneno, es común encontrar péptidos dotados de puentes disulfuro que les proporciona un alto grado de estabilidad térmica y química, como resistencia a proteasas (Daly y Craik, 2011).

### **2.2. Venenos y toxinas de arácnidos con actividad cardiovascular.**

Los venenos de otras especies de animales como cnidarios o reptiles tienen actividad sobre el sistema cardiovascular por diversos mecanismos, funcionando como péptidos potenciadores de bradicinina, péptidos natriuréticos, toxinas antiarrítmicas, toxinas que involucran su actividad con canales iónicos y miméticos de incretina (Lewis y Garcia, 2003). Sin duda, existen evidencias de que el veneno y algunas toxinas de tarántulas tienen efectos sobre blancos fisiológicos del sistema cardiovascular. En general, los venenos de araña son ampliamente reconocidos como una nueva fuente de posibles herramientas de investigación, bioplaguicidas, fármacos y agentes terapéuticos (Escoubas y Rash, 2004; King y Hardy, 2013; Pennington et al., 2018; Saez y Herzig, 2019). A pesar de que la mayoría de las

toxinas del veneno de araña caracterizadas hasta ahora actúan sobre el sistema neuromuscular, estudios anteriores han sugerido que los venenos de araña pueden ser el origen de importantes moléculas con posibles aplicaciones terapéuticas contra enfermedades cardiovasculares.

### 2.2.1. *Loxosceles intermedia*.

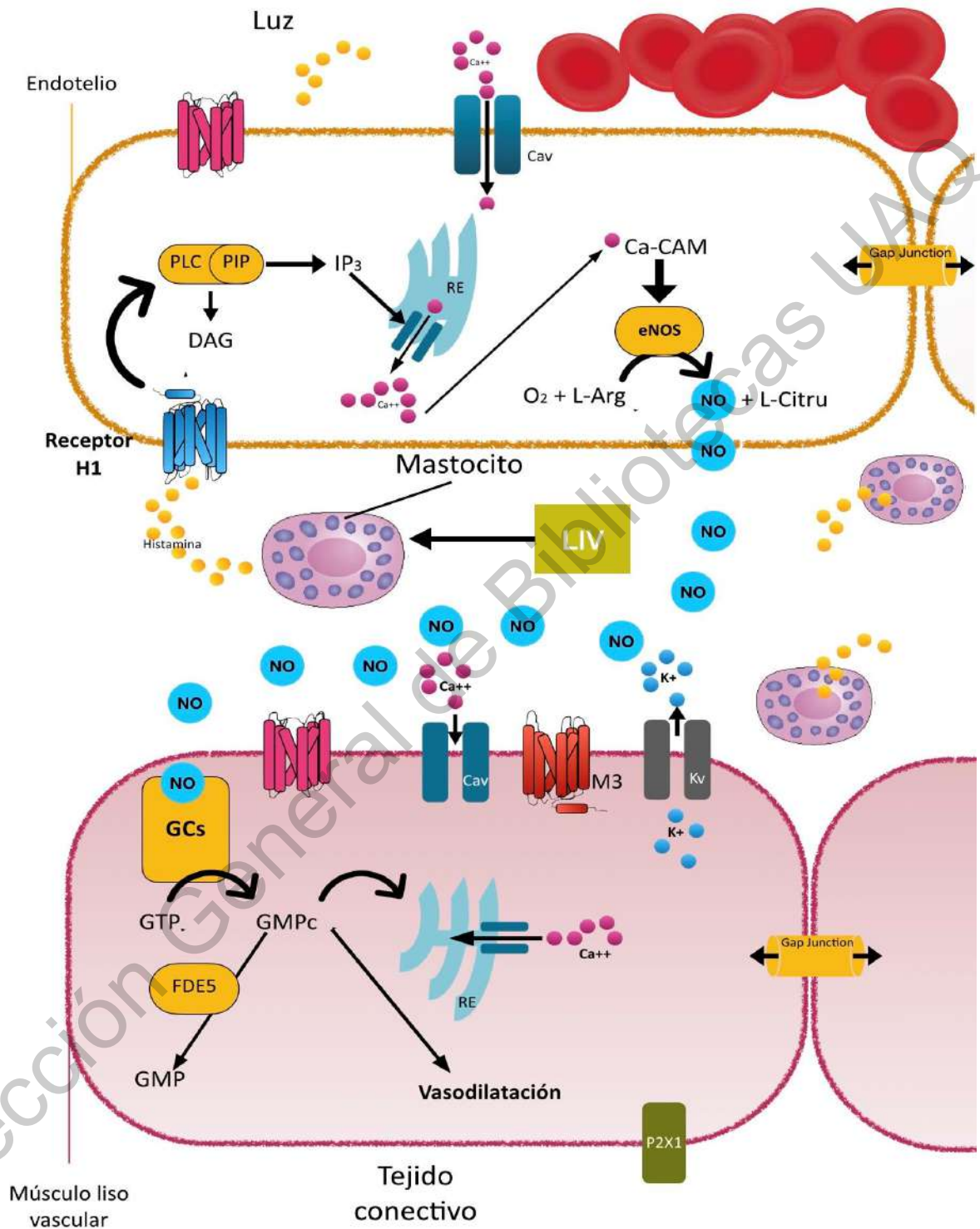
Las arañas del género *Loxosceles* (Figura 3; Tabla 2) se encuentran dentro del reducido grupo de arañas capaces de producir la muerte al ser humano y al igual que las “viudas negras” pertenecientes al género *Latrodectus*, ocupan a nivel nacional y mundial los primeros lugares en cuanto a cantidad de accidentes y peligrosidad (Roodt et al., 2001). Se ha determinado que el veneno de *Loxosceles intermedia* puede degranular los mastocitos y liberar mediadores como la histamina y la serotonina induciendo la permeabilidad vascular en ratas y causando una relajación parcial dependiente de endotelio por la vía NO/GMPc en segmentos de aorta de rata (Rattmann et al., 2008). En la figura 4 se ilustra una descripción del posible mecanismo de acción.

**Tabla 2.** Taxonomía de *L. intermedia*.

Taxonomía	
Reino	Animalia
Filo	Arthropoda
Subfilo	Chelicerata
Clase	Arachnida
Orden	Araneae
Suborden	Araneomorphae
Familia	Sicariidae
Género	<i>Loxosceles</i>
Especie	<i>L. intermedia</i>



**Figura 3.** *L. intermedia*.  
*L. intermedia* mejor conocida como araña violinista, por la característica que tener una forma de violín encima de sus ojos (Roodt et al., 2001).



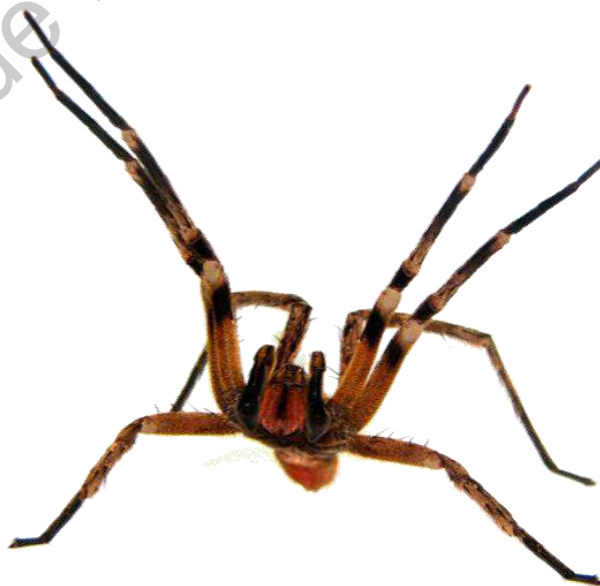
**Figura 4.** Mecanismo de acción vasodilatador del veneno de *L. intermedia*. El veneno de *L. intermedia* induce la degranulación de mastocitos para generar permeabilidad vascular y vasodilatación. Veneno de *L. intermedia* (LIV).

### 2.2.2. *Phoneutria nigriventer*.

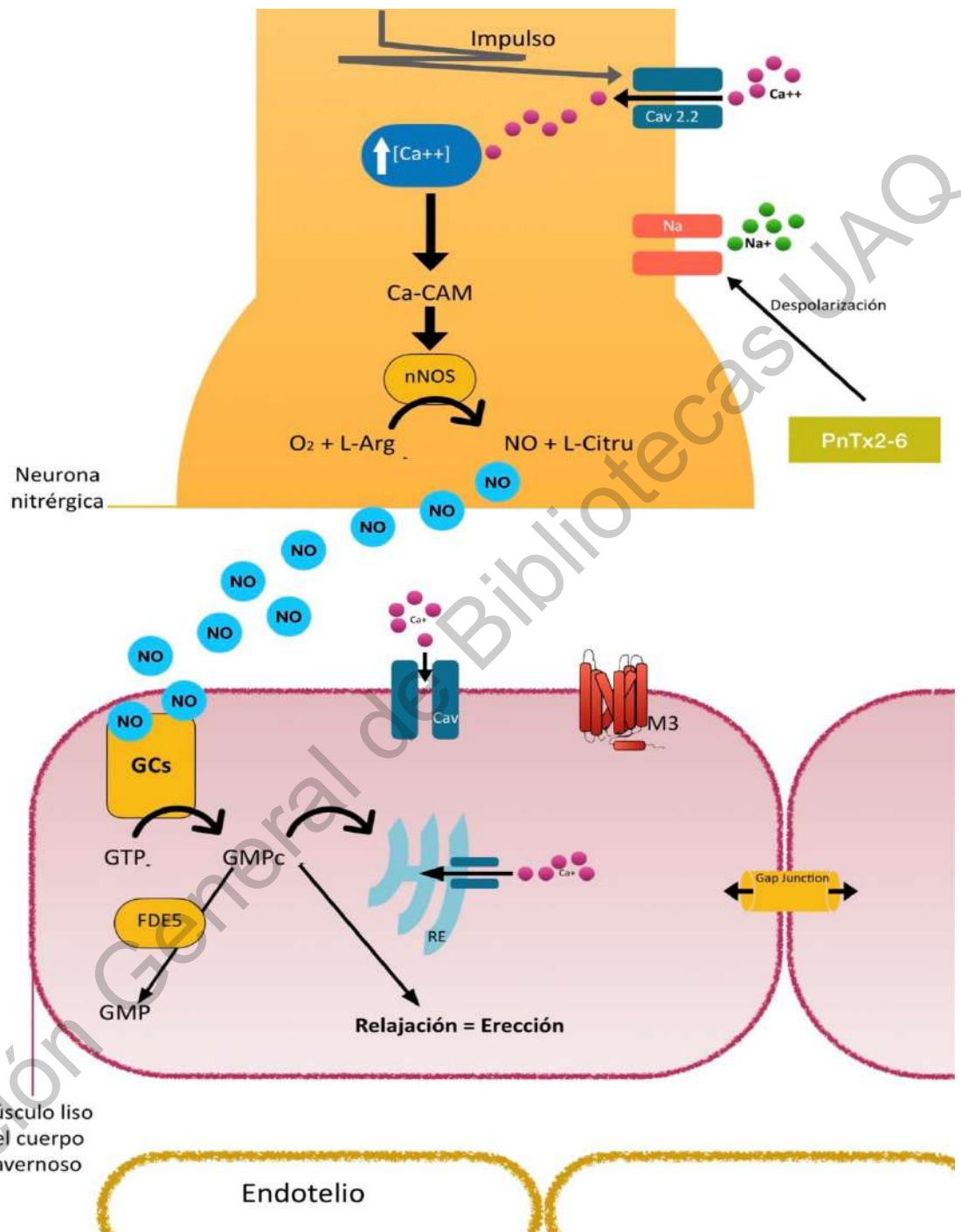
*Phoneutria nigriventer* (Figura 5; Tabla 3) es una de las arañas brasileñas con un tamaño relativamente grande, es considerada de importancia médica para la salud humana debido a los síntomas que se han descrito, por ejemplo, vómitos profusos, priapismo, diarrea, bradicardia, hipotensión, arritmia cardíaca, edema pulmonar agudo y shock (Diniz et al., 2018). El veneno de esta especie contiene varias toxinas que tienen bioactividad en mamíferos e insectos. Los accidentes que involucran a los seres humanos se caracterizan por varios síntomas que incluyen la erección del pene prolongada y persistente. La toxina PnTx2-6 purificada del veneno de araña *P. nigriventer* causa priapismo en ratas y ratones y es capaz de inducir y facilitar la liberación de NO. Tx2-6 es una herramienta potencial para el desarrollo de nuevas terapias para el tratamiento de la disfunción eréctil (Nunes et al., 2008). En la figura 6 se muestra una descripción del posible mecanismo de acción.

**Tabla 3.** Taxonomía de *P. nigriventer*.

Taxonomía	
Reino	Animalia
Filo	Arthropoda
Clase	Arachnida
Orden	Araneae
Suborden	Araneomorphae
Familia	Ctenidae
Género	<i>Phoneutria</i>
Especie	<i>P. nigriventer</i>



**Figura 5.** *P. nigriventer*.  
*Phoneutria nigriventer* es conocida como araña bananera, es un arácnido con un comportamiento agresivo y considerada de importancia médica (Diniz et al., 2018).



**Figura 6.** Mecanismo de acción de la toxina PnTx2-6. La toxina PnTx2-6 provoca priapismo en ratones, a diferencia del sildenafilo, esta toxina no actúa sobre la FDE5, PnTx2-genera la despolarización neuronal, retrasa el período de inactivación de los canales de sodio, pues las erecciones están reguladas por un sistema no adrenérgico-no colinérgico (NANC) los investigadores lograron aislar esta toxina.



### 2.2.3. *Acanthoscurria paulensis*.

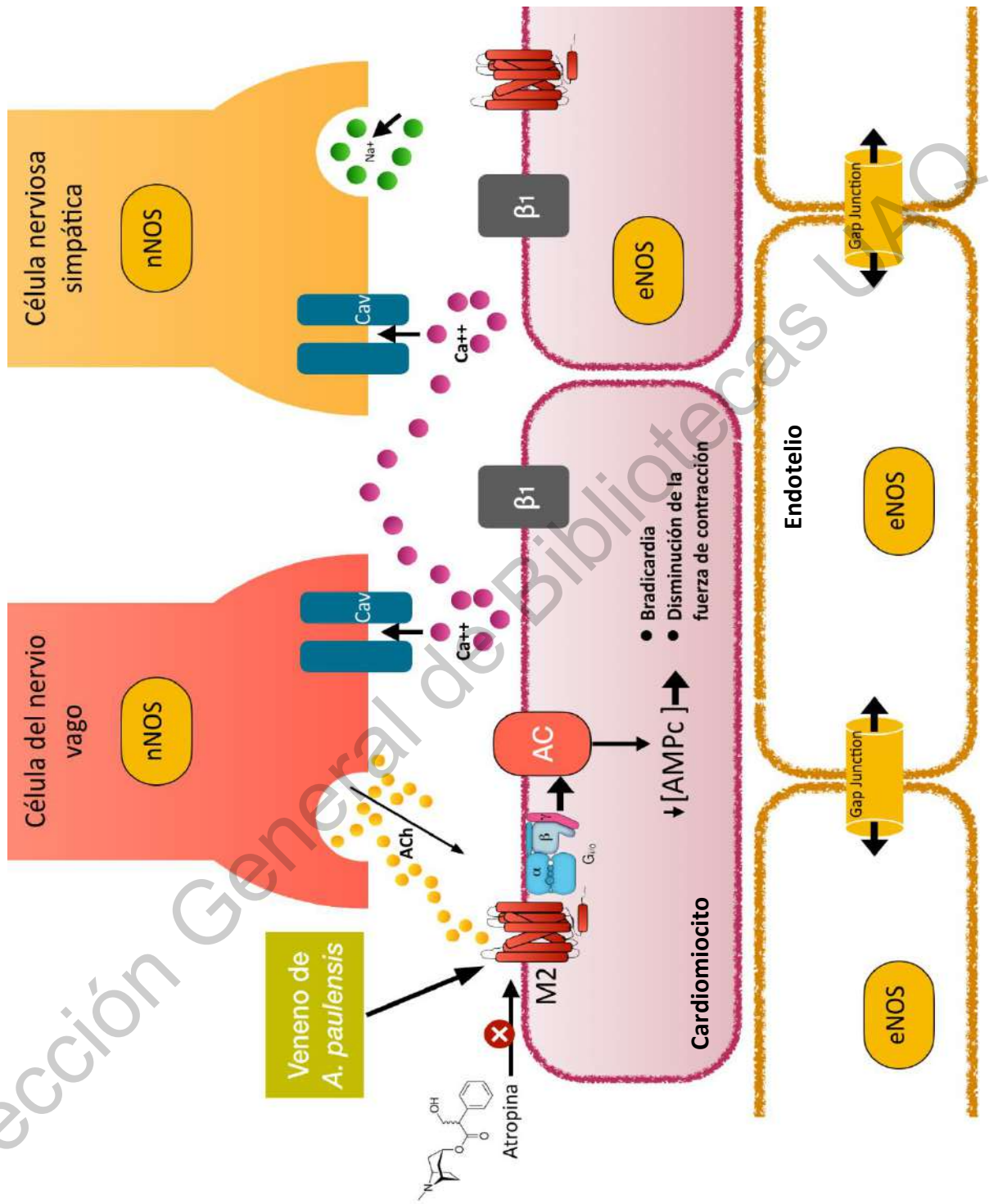
*Acanthoscurria paulensis* (Figura 7; Tabla 4) es un terafósido que produce toxinas que causan daño en la membrana basal y en la matriz extracelular por acción de sus proteasas y hialuronidasas. El veneno induce un rápido bloqueo de la actividad eléctrica y paro diastólico en preparación *in situ* del corazón de rana. Los estudios sobre la cardiotoxicidad indicaron que esta tarántula tiene actividad en los receptores de acetilcolina, pues la atropina inhibió dicho efecto, es decir el efecto del veneno es principalmente parasimpático induciendo bradicardia y la disminución en la fuerza de contracción, convirtiéndolo en un agonista colinérgico (Mourão et al., 2013). En la figura 8 se muestra una descripción del posible mecanismo de acción.

**Tabla 4.** Taxonomía de *A. paulensis*.

Taxonomía	
Reino	Animalia
Filo	Arthropoda
Clase	Arachnida
Orden	Araneae
Suborden	Mygalomorphae
Familia	Theraphosidae
Subfamilia	Ischnocolinae
Género	<i>Acanthoscurria</i>
Especie	<i>A. paulensis</i>



**Figura 7.** *A. paulensis*. *Acanthoscurria paulensis* es una tarántula que produce veneno con actividad cardiovascular (Mourão et al., 2013).



**Figura 8.** Mecanismo de la actividad cardiovascular del veneno de *A. paulensis*.



#### 2.2.4. *Lasiadora* spp.

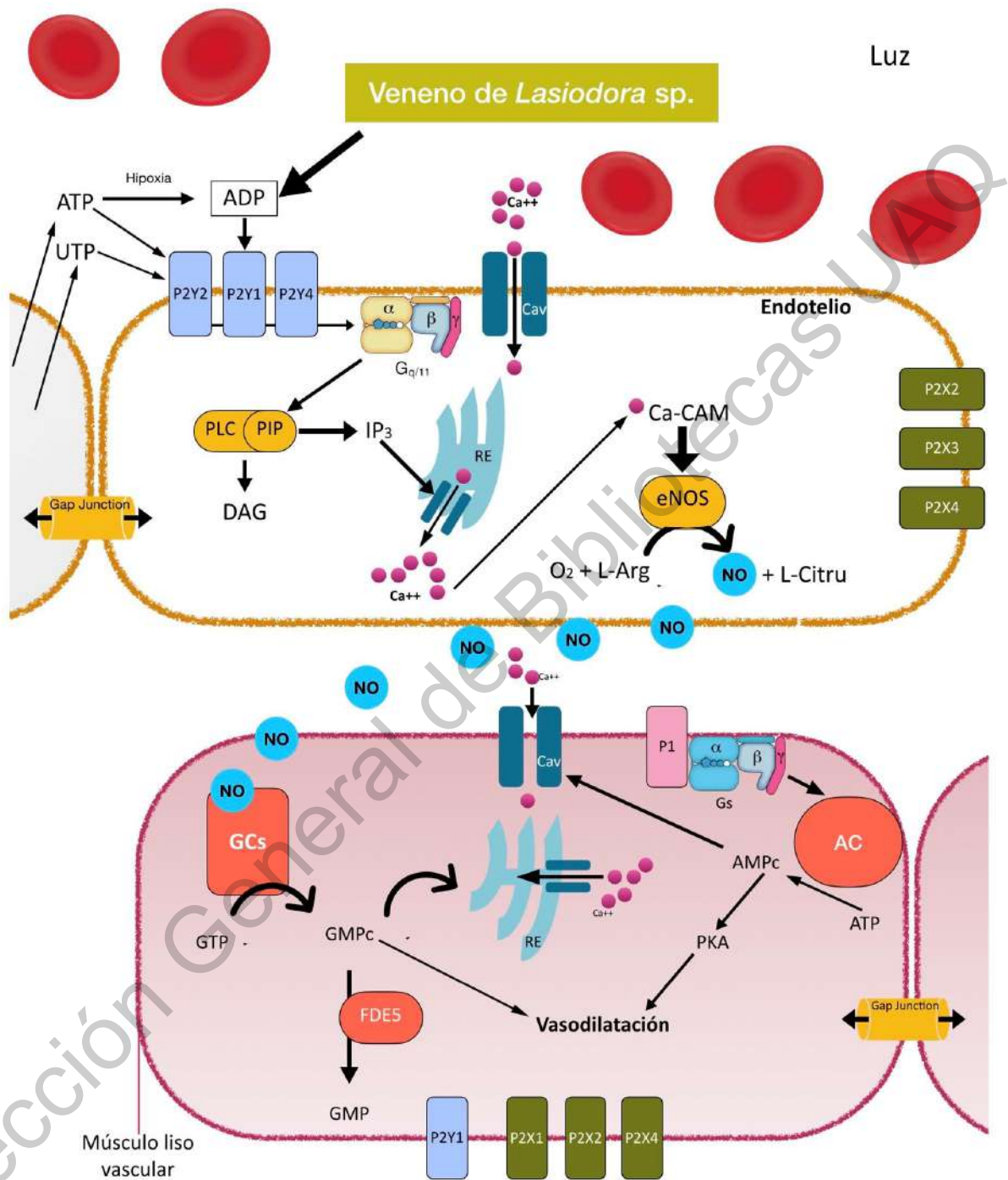
Los efectos producidos por las toxinas presentes en el veneno de la tarántula *Lasiadora* spp. (Figura 9; Tabla 5) son la cardiotoxicidad, causando bradicardia dependiente de la dosis con alteraciones en el ritmo cardiaco, es decir, provoca la liberación de ACh vesicular en las terminaciones nerviosas parasimpáticas; en el corazón y provoca la activación de canales de Na<sup>+</sup> resistentes a TTX (Horta et al., 2013; Kalapothakis et al., 2003), así como la toxina recombinante (rLiD1) y la esfingomielinasa deterioran la función del corazón. El veneno de araña *Lasiadora* induce vasodilatación dependiente de la concentración en los anillos de aorta de rata, que depende de la presencia de un endotelio y fue abolida por L-NAME un inhibidor de la NOS. Adicionalmente, se describe que el ADP es el principal compuesto vasodilatador presente en el veneno de *Lasiadora* sp. En la figura 10 se describe el posible mecanismo de acción.

**Tabla 5.** Taxonomía de *Lasiadora* sp.

Taxonomía	
Reino	Animalia
Filo	Arthropoda
Clase	Arachnida
Orden	Araneae
Suborden	Mygalomorphae
Familia	Theraphosidae
Subfamilia	Theraphosinae
Género	<i>Lasiadora</i>



**Figura 9.** *Lasiadora* sp. *Lasiadora* sp. es una tarántula originaria de Sudamérica y Centroamérica (Kalapothakis et al., 2003).



**Figura 10.** Mecanismo vasodilatador del veneno de *Lasiodora* sp.  
El ADP es principal componente vasodilatador.

### 2.2.5. *Lycosa singoriensis*.

La familia de las arañas lobo “Lycosidae” (Figura 11; Tabla 6) es una de las más diversas en el mundo y son caracterizadas por su gran tamaño (Luch, 2010; Rahmani et al., 2014). Estas arañas sintetizan un péptido denominado licosina-I, el cual induce vasodilatación dependiente de endotelio y activa la vía NO/GCs/GMPc en segmentos de aorta aislada de rata y tiene un efecto de hipotensión *in vivo* y fue comparado con el captopril que se origina de la víbora brasileña *Bothrops jararaca* (Dibianco, 1986), este péptido tiene diversas funciones terapéuticas (Ma et al., 2018), algunos estudios mencionan que licosina-I tiene efectos inhibitorios en células tumorales promoviendo apoptosis celular (Shen et al., 2018) y alta actividad antibacteriana sobre *Acinetobacter baumannii* multirresistente (Wang et al., 2014). Una descripción del posible mecanismo de acción se muestra en la figura 14.

**Tabla 6.** Taxonomía de *L. singoriensis*.

Taxonomía	
Reino	Animalia
Filo	Arthropoda
Clase	Arachnida
Orden	Araneae
Suborden	Araneomorphae
Familia	Lycosidae
Género	<i>Lycosa</i>
Especie	<i>L. singoriensis</i>



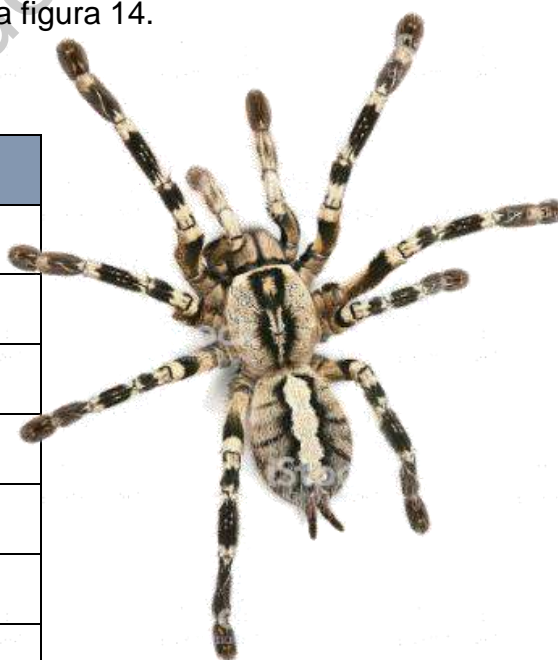
**Figura 11.** *L. singoriensis*.  
*Lycosa singoriensis* o araña lobo distribuida en el noreste de china (Rahmani et al., 2014).

### 2.2.6. *Poecilotheria regalis*.

*Poecilotheria regalis* (Figura 12; Tabla 7), comúnmente conocida como la "araña arborícola ornamental de la India", es una tarántula arbórea del sudeste de la India (García-Arredondo et al., 2015). El veneno de *P. regalis* induce una vasodilatación dependiente de la concentración en aorta de rata y muestra su efecto dependiente del endotelio, el cual implica la activación de la vía NO/GMPc (Figura 14). Por otro lado, se reveló que la función vasodilatadora de este veneno no es afectada después de un tratamiento de incubación en baño de ebullición, pero que se reduce su efecto significativamente en un tratamiento reductor. De forma interesante, las toxinas peptídicas "ICK" presentes en venenos de tarántulas, exhiben una estructura tridimensional que les provee resistencia térmica y enzimática. De acuerdo con esta evidencia, los autores sugieren que las toxinas peptídicas "ICK" presentes en el veneno de *P. regalis* son los componentes responsables de su efecto vasodilatador (Díaz-Peña et al., 2019). Una descripción del posible mecanismo de acción se muestra en la figura 14.

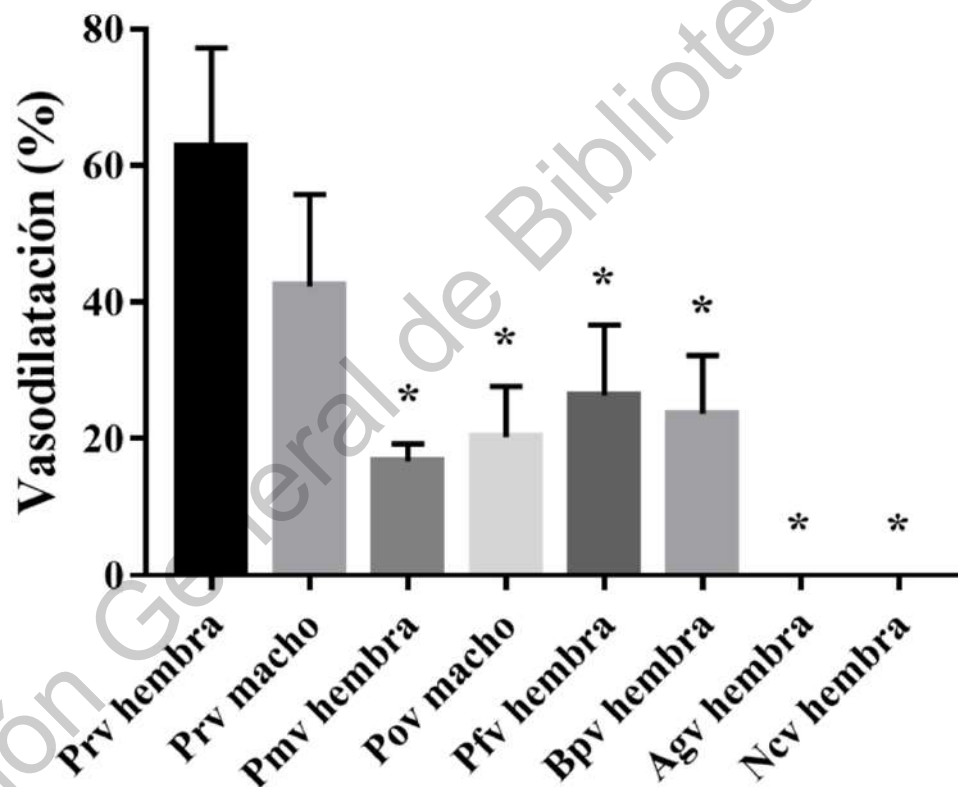
**Tabla 7.** Taxonomía de *P. regalis*.

Taxonomía	
Reino	Animalia
Filo	Arthropoda
Clase	Arachnida
Orden	Araneae
Suborden	Mygalomorphae
Familia	Theraphosidae
Subfamilia	Poecilotheriinae
Género	<i>Poecilotheria</i>
Especie	<i>P. regalis</i>



**Figura 12.** *P. regalis*.  
*Poecilotheria regalis* o tarántula de la india que produce veneno con actividad vasodilatadora (Peàez-Miles et al., 2015).

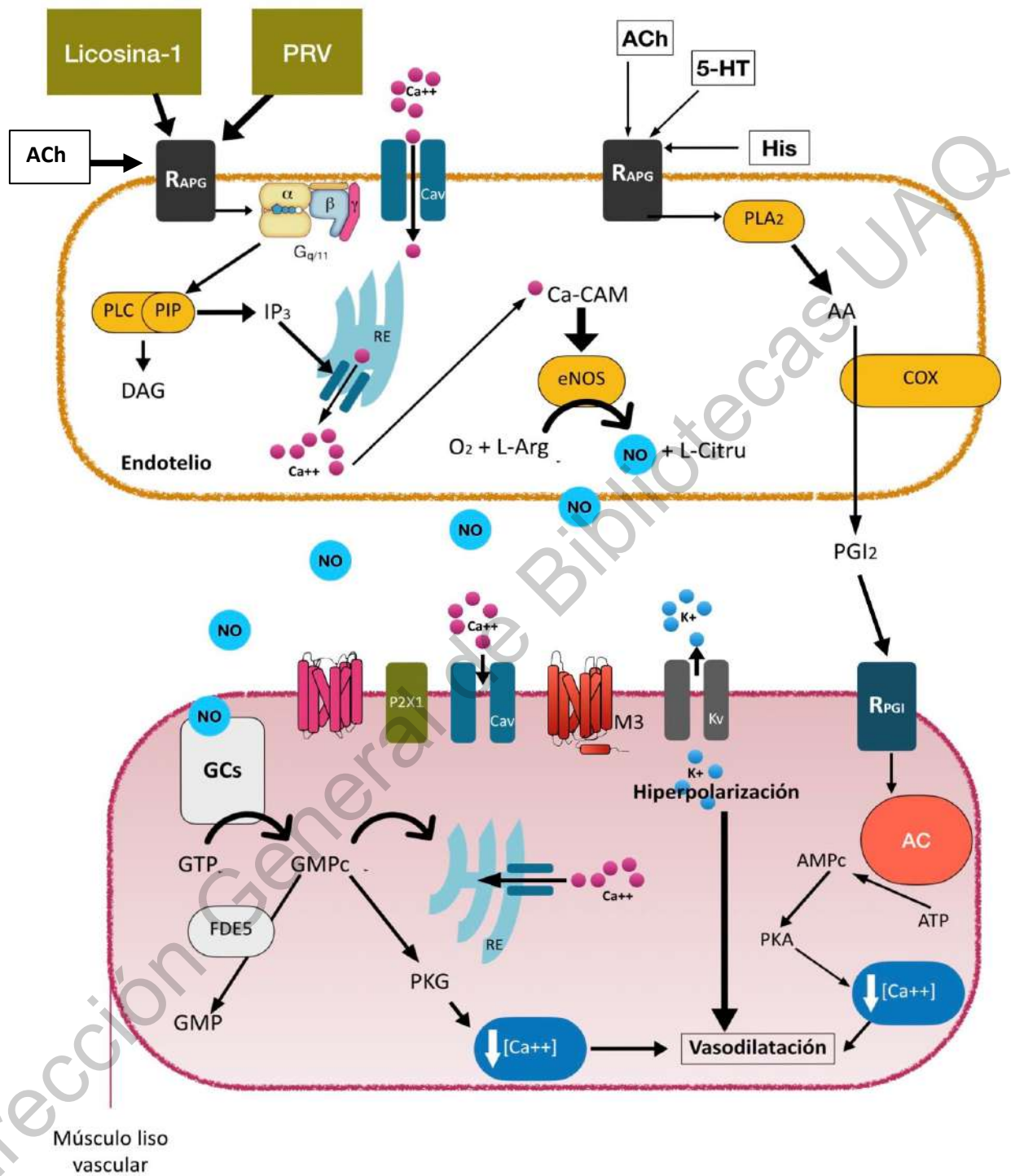
La tarántula *P. regalis* junto a otras especies de terafósidos se han sometido a pruebas de actividad vasodilatadora en segmentos de aorta aislada de rata (Figura 13), pues algunos incidentes han descrito síntomas relacionados con el sistema cardiovascular, sin embargo, no representan un peligro en comparación con otras arañas como *Latrodectus mactans*, *Phoneutria nigriventer* o especies del género *Loxosceles*. Los estudios sobre la actividad vasodilatadora inducida por el veneno de terafósidos sugieren a estos organismos como una fuente importante de nuevos compuestos vasodilatadores (Díaz-Peña *et al.* 2019).



**Figura 13.** Actividad vasodilatadora de diferentes venenos de tarántulas. Experimentos de diferentes venenos de tarántulas en segmentos de aorta aislada de rata preincubados con fenilefrina (1  $\mu$ M) a una concentración de 10  $\mu$ g de proteína/ml. Venenos de: *P. regalis* (Prv), *P. metallica* (Pmv), *P. ornata* (Pov), *P. formosa* (Pfv), *Bonnetina papalutlensis* (Bpv), *Acanthoscurria geniculata* (Agv) y *Nhandu chromatus* (Ncv).

Modificado de Díaz-Peña *et al.*, 2019.





**Figura 14.** Mecanismo vasodilatador del veneno de *P. regalis* (PRV) y del péptido licosina-1. El veneno de *P. regalis* (PRV) y la licosina-1 tienen actividad NO/GMPc, son dependientes de endotelio vascular para inducir vasodilatación.

### 2.2.7. *Grammostola* spp.

Las tarántulas del género *Grammostola* (Figura 15; Tabla 8) habitan en Sudamérica (Argentina, Bolivia, Brasil, Chile, Paraguay y Uruguay), una de estas especies identificada como *G. spatulata* produce un veneno del que se aisló un péptido de 35 aminoácidos denominado GsMTx-4 (Suchyna et al., 2000) que inhibe la fibrilación atrial produciendo un potente y específico bloqueo de los canales activados por estiramiento (SACs), es decir por mecanismos mecanosensibles, entre los cuales están los canales como TRPC6 y TRPC3, este último tiene la característica de ser catiónico no selectivo y se encuentran en la membrana plasmática de las células marcapasos y en los cardiomiocitos. Los SACs tienen una función importante en el corazón, pues regulan la entrada de calcio provocando la aceleración de la frecuencia cardíaca/aceleración diastólica y son importantes para la respuesta de fuerza baja (SFR) en el corazón. Sin embargo, todavía es necesario profundizar el estudio de los canales TRPC en el miocardio atrial (Hof et al., 2019; Kaur et al., 2020). Una descripción del posible mecanismo se muestra en la Figura 16.

**Tabla 8.** Taxonomía de *G. spatulata*.

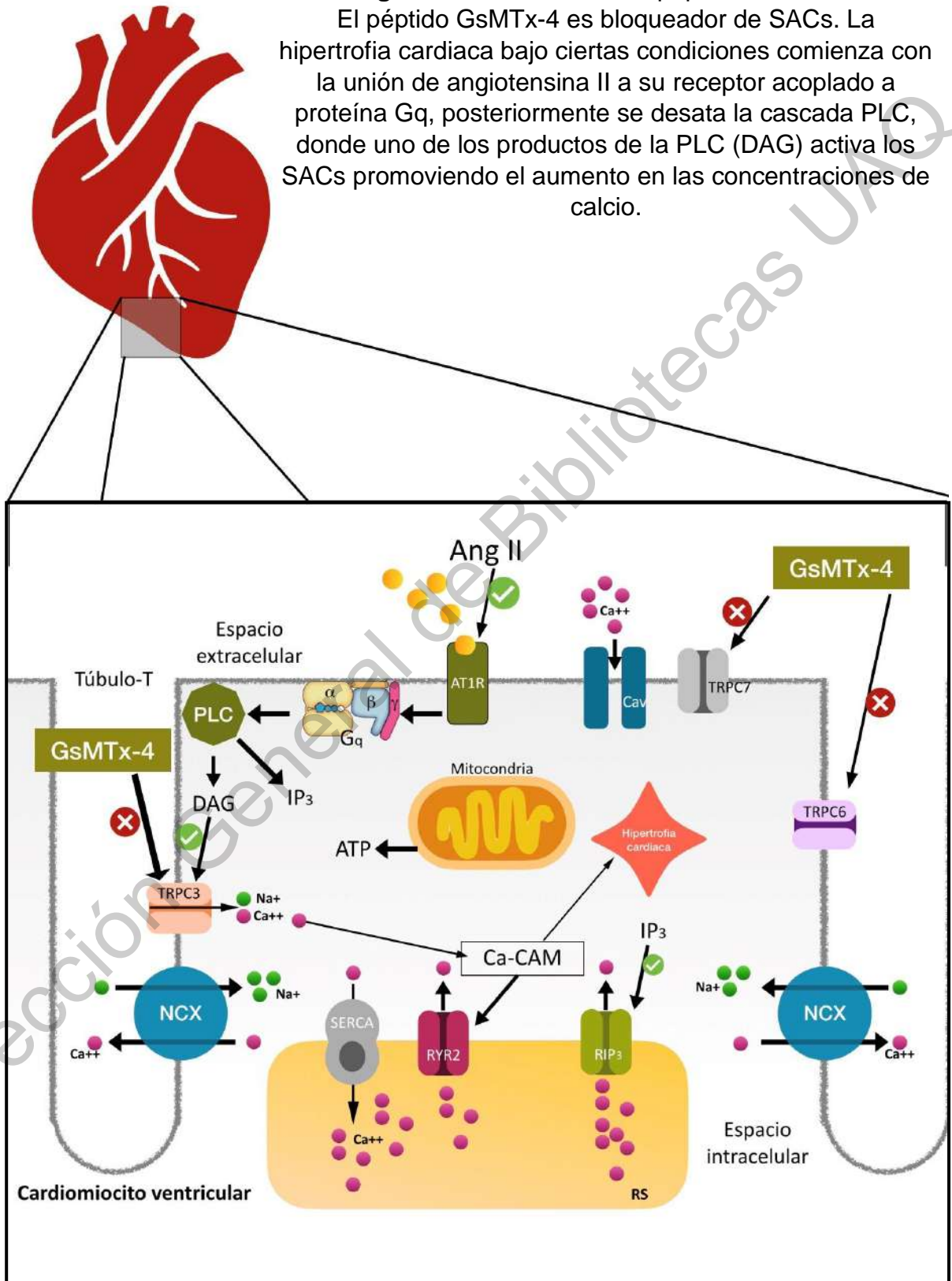
Taxonomía	
Reino	Animalia
Filo	Arthropoda
Clase	Arachnida
Orden	Araneae
Suborden	Mygalomorphae
Familia	Theraphosidae
Género	<i>Grammostola</i>
Especie	<i>G. spatulata</i>



**Figura 15.** *Grammostola* sp. *G. spatulata* produce un veneno del que se aisló un péptido denominado GsMTx-4 (Suchyna et al., 2000).

**Figura 16.** Mecanismo del péptido GsMTx-4.

El péptido GsMTx-4 es bloqueador de SACs. La hipertrofia cardiaca bajo ciertas condiciones comienza con la unión de angiotensina II a su receptor acoplado a proteína Gq, posteriormente se desata la cascada PLC, donde uno de los productos de la PLC (DAG) activa los SACs promoviendo el aumento en las concentraciones de calcio.





### **2.3. La familia Theraphosidae.**

Las tarántulas (Araneae: Theraphosidae) son uno de los grupos más basales de arañas y están contenidas dentro de las Mygalomorphae, que se diversificaron de la mayoría de las otras arañas hace casi 300 millones de años. Las arañas que pertenecen a la familia Theraphosidae en general son conocidas como tarántulas y son un grupo con 975 especies (distribuidas en 128 géneros) descritas de animales venenosos que, con respecto a otros arácnidos, se caracterizan por su gran tamaño y amplia distribución mundial (WSC, 2018). Estos animales pueden ser clasificados en función del hábitat en el que construyen sus madrigueras, como tarántulas arborícolas o excavadoras, las cuales tienen presas y depredadores diferentes (Peàez-Miles et al., 2015). Por otro lado, con el fin de mantener la adaptación de estos animales a sus ambientes, la evolución les permitió desarrollar glándulas especializadas a través de dispositivos puntiformes en los cuales se administran secreciones con el fin de infligir heridas en sus presas y depredadores. Estas secreciones son conocidas como veneno, constituido por mezclas complejas de sustancias bioactivas y múltiples compuestos orgánicos denominados toxinas, las cuales han sido diseñadas por cuestiones evolutivas acoplando su acción biológica de manera sinérgica hacia diversos efectos: parálisis para alimentarse y dolor para defenderse (Morales-González et al., 2015; Vassilevski et al., 2009). Así mismo, estos componentes varían en su composición y concentración en virtud de múltiples factores, siendo el sexo uno de los más importantes (Herzig y Hodgson, 2009), así como su morfología en cefalotórax (Santana et al., 2017).

### 2.3.1. *Poecilotheria ornata*.

El género *Poecilotheria* abarca alrededor de 15 especies, entre ellas se encuentran *P. regalis*, *P. formosa*, *P. metallica* y la más relevante para este estudio *P. ornata*, todas estas especies son tarántulas utilizadas como mascotas. Originalmente su origen es de Sri Lanka, en un clima tropical, pueden llegar a medir hasta 7 cm se puede diferenciar de sus congéneres por la ausencia de coloración amarilla brillante en las caras ventrales de los pares de patas (Sherwood, 2019). Esta tarántula arborícola se alimenta de langostas, saltamontes, grillos con los que los coleccionistas pueden alimentar comúnmente a estas especies. Se conoce que los venenos de estas especies contienen compuestos vasodilatadores (Díaz-Peña et al., 2019), se evaluó la actividad junto con otras tarántulas, entre ellas *P. regalis*, *P. metallica*, *P. ornata*, *P. formosa*, *Bonnetina papalutlensis*, *Acanthoscurria geniculata* y *Nhandu chromatus* (Figura 13). Otros estudios acerca de la composición de su veneno indican la importancia de hialuronidasas como enzimas frecuentes en los venenos de estas especies (Rodríguez-Ríos et al., 2017).

**Tabla 9.** Taxonomía de *P. ornata*.

Taxonomía	
Reino	Animalia
Subfilo	Chelicerata
Filo	Arthropoda
Clase	Arachnida
Orden	Araneae
Suborden	Mygalomorphae
Familia	Theraphosidae
Género	<i>Poecilotheria</i>
Especie	<i>P. ornata</i>



**Figura 17.** *P. ornata*.  
*Poecilotheria ornata* es conocida como tarántula ornamental de la india (Sherwood, 2019).

## 2.4. Toxinas de terafósidos.

Los componentes principales de estos venenos son los péptidos que se dirigen a los canales iónicos dentro del sistema nervioso central o periférico, también están presentes proteínas y pequeñas moléculas con actividades interesantes (Escoubas y Rash, 2004; Rodríguez-Rios et al., 2017). En general, los venenos de araña son ampliamente reconocidos como una nueva fuente emergente de posibles herramientas de investigación, biopesticidas, fármacos y agentes terapéuticos (Escoubas y Rash, 2004; King y Hardy, 2013; Pennington et al., 2018). Convenientemente, el tamaño de las tarántulas permite llevar a cabo la extracción del veneno sin necesidad de diseccionar las glándulas de veneno, y por lo tanto garantiza que los ensayos bioquímicos y farmacológicos se realicen fácilmente. A pesar de que la mayoría de las toxinas de araña caracterizadas hasta ahora actúan en el sistema neuromuscular, existen estudios previos que sugieren que los venenos de araña pueden ser fuentes importantes de nuevas moléculas con posibles aplicaciones terapéuticas contra las enfermedades cardiovasculares. Por ejemplo, el veneno de *Loxosceles intermedia* produce una relajación parcial y dependiente del endotelio en anillos aórticos aislados de ratas al involucrar la vía del NO/GC (Rattmann et al., 2008).

Se han logrado purificar toxinas de venenos de numerosas tarántulas con diversos mecanismos de acción, destacando la modulación de canales de  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$  (Escoubas y Rash, 2004). Algunas toxinas de tarántulas presentan efectos analgésicos, hemaglutinantes y antiarrítmicos, incluso se han encontrado toxinas que activan al receptor TRPV1 generando dolor (Cromer y McIntyre, 2008). Las toxinas que tienen como blanco a los canales iónicos han sido utilizadas para la generación de conocimiento de la estructura y la función de estos (Diochot et al., 1999). Dentro de los estudios metabolómicos se han estudiado los componentes del veneno y varían según la predisposición genética de los animales productores, las condiciones ambientales, la edad, el sexo, las especies de sus presas y depredadores, etc. (Daly y Wilson, 2018). Sin embargo, estos componentes actúan

de manera sinérgica, logrando modificar procesos fisiológicos en sus presas y/o depredadores para producir efectos sistémicos inmediatos. Los principales sistemas afectados suelen ser el sistema nervioso central, el sistema circulatorio y el sistema inmunológico (Fry, 2005; Gonçalves-Machado et al., 2016). Es importante agregar, que las toxinas que componen el veneno actúan en conjunto, alterando con alta potencia y especificidad, distintas dianas biológicas de procesos fisiológicos determinados para producir los efectos toxicológicos durante el envenenamiento (Utkin, 2015).

## **2.5. Estudios en la composición del veneno de terafósidos.**

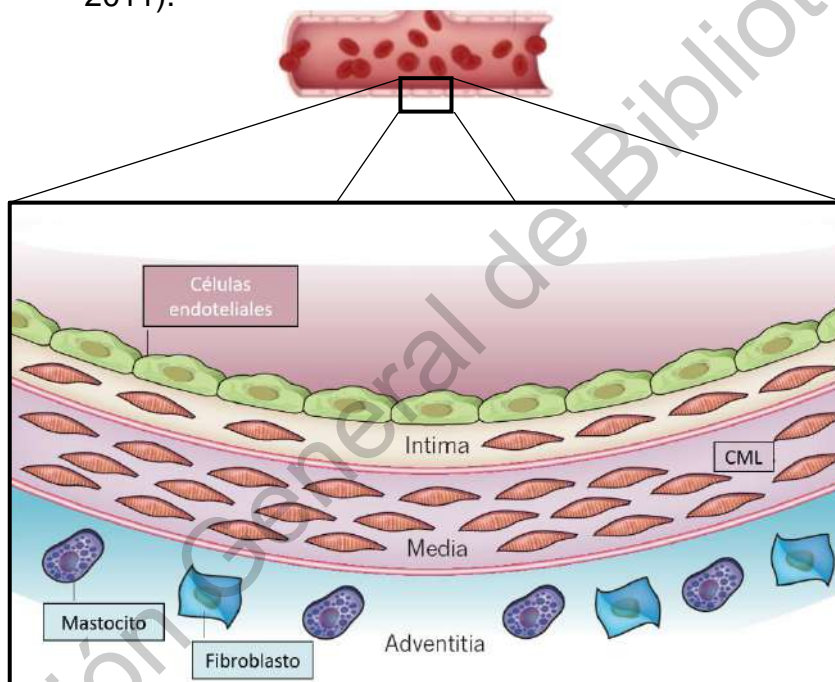
Una manera de clasificar y caracterizar las toxinas funcionales es basándose en sus dianas biológicas y mediante técnicas bioinformáticas y de química computacional, se adjudican posibles funciones a aquellas que aún no han sido caracterizadas (Herzig y King, 2015). En relación a sus dianas biológicas, se ha determinado mediante técnicas electrofisiológicas su actividad sobre múltiples canales iónicos dependientes de ligando como los receptores pentaméricos de GABA (ácido  $\gamma$ -aminobutírico), receptores serotoninérgicos, receptores tetraméricos de glutamato del tipo NMDA (*N*-metil-D-Aspartato), AMPA (ácido  $\alpha$ -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropionico), kainato y finalmente sobre canales iónicos dependientes de voltaje ejemplo, potasio  $K_v^+$ , sodio  $Na_v^+$  y calcio  $Ca_v^{+2}$  tipo P y L (Estrada-Gomez et al., 2013; Kuhn-Nentwig et al., 2011). Es importante mencionar que, para una gran parte de estas toxinas no se han caracterizado dianas determinadas y que las acilpoliaminas son las toxinas más estudiadas (Vassilevski et al., 2009).

## 2.6. Sistema vascular.

La función del sistema vascular es irrigar de sangre a los tejidos, órganos y mantener la homeostasis celular transportando elementos esenciales para las células y está constituido por arterias venas y capilares (Pugsley y Tabrizchi, 2000).

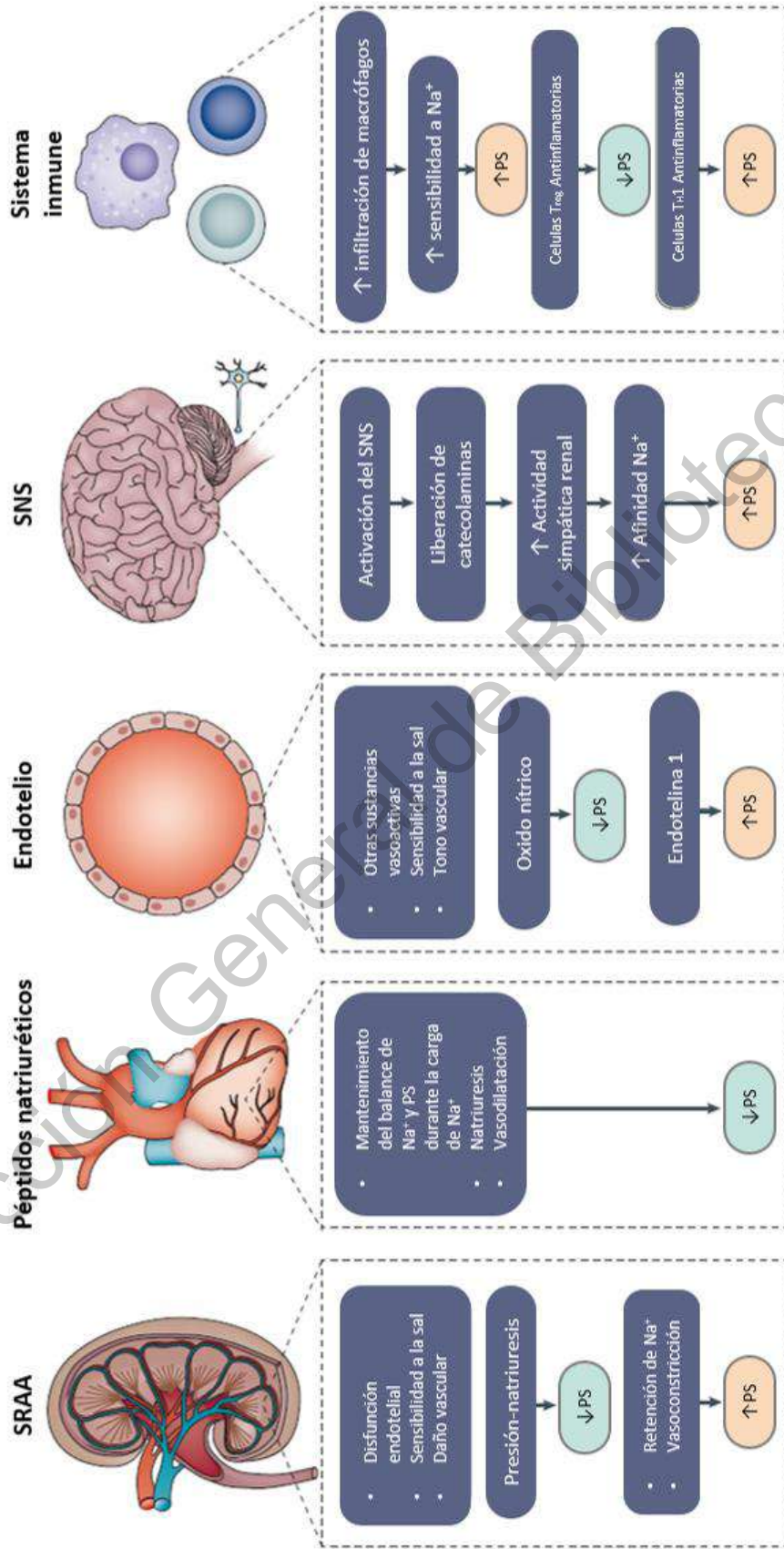
Un vaso sanguíneo tiene capas bien caracterizadas:

- Capa interna o túnica íntima, esta capa contiene células endoteliales (CE).
- Capa media o túnica media, contiene células del músculo liso (CML).
- Capa externa o túnica adventicia, formada por fibroblastos (Libby et al., 2011).



**Figura 18.** Estructura de una arteria normal. Modificado de Libby et al., 2011.

Las enfermedades cardiovasculares son la principal causa de muerte y la hipertensión es el principal factor de riesgo para desarrollar estas enfermedades (Oparil et al., 2018). La etiología de la hipertensión se debe a diversos factores ambientales y fisiopatológicos que afectan a múltiples sistemas, el riñón, corazón, sistema vascular, sistema nervioso simpático o inmune (Figura 19).



**Figura 19.** Sistemas neuroendocrinos que regulan la presión arterial. Presión arterial (PA), sodio (Na<sup>+</sup>), sistema renina-angiotensina-aldosterona (RAAS), sistema nervioso simpático (SNS), T, reguladora (Treg). Modificado de Oparil et al., 2018.

### 2.6.1. Endotelio.

El endotelio es un tejido que mantiene el flujo sanguíneo, la fluidez de la sangre y la permeabilidad de la pared de los vasos (Pober y Sessa, 2007). Las células endoteliales pueden responder a mensajeros químicos y reaccionar liberando diversos factores vasoactivos (Tabla 10).

**Tabla 10.** Compuestos liberados por el endotelio.

Compuestos liberados por el endotelio	
Abreviatura	Nombre
PGI <sub>2</sub>	Prostaciclina
NO	Óxido nítrico
EDHF	Factor hiperpolarizante derivado del endotelio
ET	Endotelina
PGH <sub>2</sub>	Prostaglandina H <sub>2</sub>
TXA <sub>2</sub>	Tromboxano A <sub>2</sub>
TGFβ	Factor de crecimiento transformante β
VEGF	Factor de crecimiento endotelial vascular
bFGF	Factor de crecimiento de fibroblastos básicos

El NO es un radical libre producido por las descargas eléctricas, tiene un electrón desapareado que se encuentra situado en un orbital  $\pi$  antienlazante y juega un papel fundamental en la vasodilatación de los vasos sanguíneos estimulando principalmente la guanilato ciclasa soluble (GCs) para producir monofosfato cíclico de guanosina (GMPc) activando la ATPasa de calcio del retículo sarco/endoplásmico (SERCA) disminuyendo las concentraciones de calcio de las células provocando vasodilatación en el músculo liso vascular (Zhao et al., 2015).

### 2.6.2. Músculo liso vascular.

Las células del músculo liso vascular tienen un papel importante en la contracción y relajación del vaso sanguíneo, modifican el diámetro del vaso para aportar la cantidad necesaria de sangre a cada tejido y órgano (Basatemur et al., 2019).

El mecanismo de contracción es bien conocido, puede resumirse en el aumento de la concentración de calcio intracelular provocado por diversos mecanismos, estimulación nerviosa u hormonal. Un cambio en el potencial de membrana, inducido por el potencial de acción o canales iónicos que pueden provocar la contracción, esta se debe a la fosforilación de las cadenas ligeras de miosina, generando la interacción de actina-miosina.

El mecanismo de relajación consta de varias vías de señalizaciones iniciado por componentes liberados por el endotelio como NO, PGI<sub>2</sub> o EDHF. La vía del NO puede iniciar con la unión de agonistas como ACh (como se muestra en la Figura 14) y activar receptores acoplados a proteínas G (RAPG), después de la activación de estos receptores se induce la actividad de PLC cuyos productos de reacción son DAG e IP<sub>3</sub>, el último se une a receptores IP<sub>3</sub> del RE provocando la liberación de calcio de estos almacenes intracelulares, el aumento de la concentración de calcio provoca el complejo Ca-CAM, la cual activa la eNOS que sintetiza NO a partir del sustrato L-Arg, el NO sale de la célula y viaja hasta el músculo liso vascular donde activará la GCs que genera un aumento de GMPc y activa la PKG, esta cinasa disminuye la concentración de calcio en la célula y como resultado la relajación. Por otro lado, los RAPG también pueden activar la fosfolipasa A<sub>2</sub> y producir el ácido araquidónico (AA), mismo que es usado por la COX para producir prostaciclina que se unen a su receptor en el músculo liso vascular promoviendo la activación de la adenilato ciclasa (AC) aumentando la producción de AMPc para la activación de PKA disminuyendo las concentraciones de calcio intracelular para finalizar con la vasorelajación.

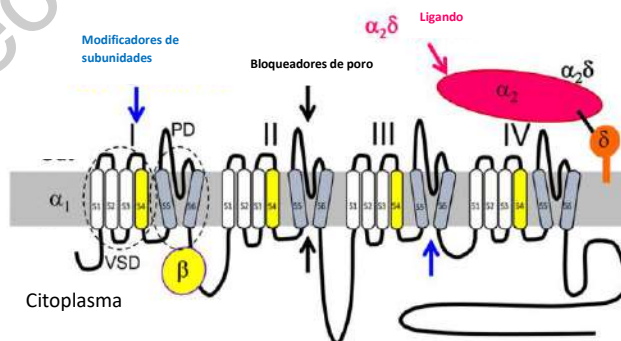


### 2.6.3. Canales de calcio (Ca<sup>2+</sup>).

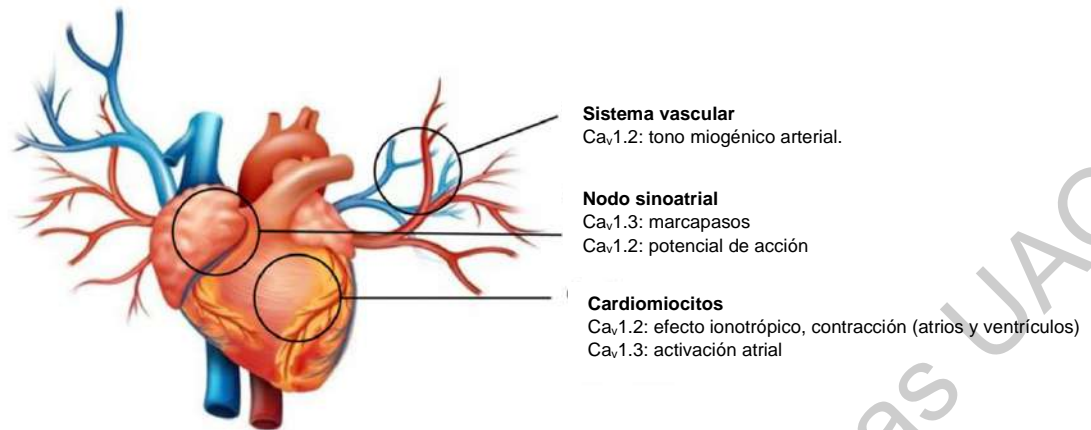
Los canales de calcio pueden nombrarse de acuerdo con el tipo, por ejemplo, los canales de calcio tipo L pueden llamarse Cav1<sup>2+</sup>, LTCC, Cav<sup>2+</sup> o Cav1Ca<sup>2+</sup>, dependiendo. Existen familias de estos canales:

- Familia de los canales Cav1: (Tipo L), Cav1.1, Cav1.2, Cav1.3 y Cav1.4.
- Familia de los canales Cav2: (Tipo P, Q, N y R), Cav2.1, Cav2.2 y Cav2.3.
- Familia de los canales Cav3: (Tipo T), Cav3.1, Cav3.2, y Cav3.3.

Los canales de calcio en general tienen funciones primordiales en las células como la liberación de neurotransmisores o la secreción de hormonas, estos canales tienen una descripción bien conocida, pues su estructura se ha identificado gracias a la purificación de este canal del músculo esquelético en los túbulos transversales en donde se presenta con mayor abundancia (Zamponi et al., 2015). La estructura de los canales de calcio dependientes de voltaje muestra los sitios de unión de fármacos (Figura 20), la inhibición se da por la modificación de las subunidades S5 y S6 (Flecha azul) esto provocado por la interacción de compuestos externos a cualquiera de los otros cuatro dominios sensores de voltaje (VSD) o del dominio del poro (PD), moléculas pequeñas pueden bloquearlo desde el espacio citoplasmático, otra forma de bloquearlo es la obstrucción de la permeación del canal por moléculas (Flecha negra), algunos ligando pueden modificar el flujo de los canales (Flecha roja). En el sistema cardio vascular podemos encontrar algunos tipos (Figura 21). Actualmente existen aproximadamente 50 toxinas de terafósidos que pueden interactuar con canales de calcio (Tabla 11)



**Figura 20.** Estructura de los canales de calcio y sus sitios de bloqueo. Modificado de Zamponi et al., 2015.



**Figura 21.** Canales de calcio en el sistema cardiovascular. Modificado de Zamponi et al., 2015.

#### 2.6.4. Canales de potasio (K<sup>+</sup>).

Los canales de potasio dependientes de voltaje (K<sub>v</sub>) se encuentran en el músculo liso vascular, donde su principal función es regular el potencial de membrana de estas células. La activación de estos canales puede estar mediado por componentes que produce el endotelio como el EDHF, una vez activado el canal ocurre la salida de K<sup>+</sup> causando hiperpolarización del potencial de membrana y como resultado un cierre de los canales de calcio provocando la disminución de la concentración de calcio en la célula y en el caso de células del músculo liso vascular, se genera una vasorelajación. Por el contrario, un cierre de estos canales permite la activación de los canales de calcio y generar una contracción. El mal funcionamiento de estos canales genera enfermedades como la hipertensión crónica (Sobey, 2001).

**Tabla 11.** Toxinas obtenidas de venenos de tarántulas que modulan la actividad de canales iónicos dependientes de voltaje. Modificado de ArachnoServer, 2020.

Nombre	Sinónimo	Género	Especie
$\beta$ -theraphotoxin-Gr1a	Toxin GrTx1	<i>Grammostola</i>	<i>rosea</i>
$\beta/\omega$ -theraphotoxin-Tp1a	Protoxin I	<i>Thrixopelma</i>	<i>pruriens</i>
$\kappa$ -theraphotoxin-Cg1a	Jingzhaotoxin-11	<i>Chilobrachys</i>	<i>guangxiensis</i>
$\kappa$ -theraphotoxin-Cg1b	Jingzhaotoxin-30	<i>Chilobrachys</i>	<i>guangxiensis</i>
$\kappa$ -theraphotoxin-Cg1c	Jingzhaotoxin-29	<i>Chilobrachys</i>	<i>guangxiensis</i>
$\kappa$ -theraphotoxin-Cg1d	Jingzhaotoxin-61	<i>Chilobrachys</i>	<i>guangxiensis</i>
$\kappa$ -theraphotoxin-Gr1a	Hanatoxin-1	<i>Grammostola</i>	<i>rosea</i>
$\kappa$ -theraphotoxin-Gr1b	Hanatoxin-2	<i>Grammostola</i>	<i>rosea</i>
$\kappa$ -theraphotoxin-Gr1c	-	<i>Grammostola</i>	<i>rosea</i>
$\kappa$ -theraphotoxin-Gr1d	-	<i>Grammostola</i>	<i>rosea</i>
$\kappa$ -theraphotoxin-Gr1e	Hanatoxin I	<i>Grammostola</i>	<i>rosea</i>
$\kappa$ -theraphotoxin-Gr1f	Hanatoxin II-1	<i>Grammostola</i>	<i>rosea</i>
$\kappa$ -theraphotoxin-Gr2c	Peptide GSAF II	<i>Grammostola</i>	<i>rosea</i>
$\kappa$ -theraphotoxin-Ps1a	Phrixotoxin-1	<i>Paraphysa</i>	<i>scrofa</i>
$\mu$ -theraphotoxin-Hhn1b	Hainantoxin-IV	<i>Haplopelma</i>	<i>hainanum</i>
$\mu$ -theraphotoxin-Hhn2a	Hainantoxin-III.12	<i>Haplopelma</i>	<i>hainanum</i>
$\mu$ -theraphotoxin-Tp1a	Protoxin III	<i>Thrixopelma</i>	<i>pruriens</i>
$\mu/\omega$ -theraphotoxin-Hs1a	Huwentoxin-1	<i>Haplopelma</i>	<i>schmidti</i>
$\mu/\omega$ -theraphotoxin-Hs1b	Huwentoxin-1a3	<i>Haplopelma</i>	<i>schmidti</i>
$\mu/\omega$ -theraphotoxin-Hs1c	Huwentoxin-1a10	<i>Haplopelma</i>	<i>schmidti</i>
$\mu/\omega$ -theraphotoxin-Hs1d	Huwentoxin-1a6	<i>Haplopelma</i>	<i>schmidti</i>
$\mu/\omega$ -theraphotoxin-Hs1e	Huwentoxin-1a14	<i>Haplopelma</i>	<i>schmidti</i>
$\mu/\omega$ -theraphotoxin-Hs1f	Huwentoxin-1a15	<i>Haplopelma</i>	<i>schmidti</i>
$\omega$ -theraphotoxin-Asp1a	Péptido 6-6	<i>Aphonopelma</i>	sp.
$\omega$ -theraphotoxin-Asp1b	Péptido 6-8	<i>Aphonopelma</i>	sp.
$\omega$ -theraphotoxin-Asp1c	Péptido 7-15.2	<i>Aphonopelma</i>	sp.
$\omega$ -theraphotoxin-Asp1d	Péptido 7-17.1	<i>Aphonopelma</i>	sp.
$\omega$ -theraphotoxin-Asp1e	Péptido 7-17.1	<i>Aphonopelma</i>	sp.
$\omega$ -theraphotoxin-Asp1f	Eurypelma (isoforma 1)	<i>Aphonopelma</i>	sp.
$\omega$ -theraphotoxin-Asp1g	Eurypelma (isoforma 2)	<i>Aphonopelma</i>	sp.
$\omega$ -theraphotoxin-Asp2a	Péptido 7-6.1	<i>Aphonopelma</i>	sp.
$\omega$ -theraphotoxin-Asp2b	Péptido 7-13.1	<i>Aphonopelma</i>	sp.
$\omega$ -theraphotoxin-Asp3a	Péptido 7-13.2	<i>Aphonopelma</i>	sp.
$\omega$ -theraphotoxin-Ba1a	Ba1	<i>Brachypelma</i>	<i>albiceps</i>
$\omega$ -theraphotoxin-Ba1b	Ba2	<i>Brachypelma</i>	<i>albiceps</i>
$\omega$ -theraphotoxin-Bs1a	Venom protein 1	<i>Brachypelma</i>	<i>smithi</i>
$\omega$ -theraphotoxin-Bs1b	<i>Brachypelma smithi</i> toxin 5	<i>Brachypelma</i>	<i>smithi</i>

Nombre	Sinónimo	Género	Especie
$\omega$ -theraphotoxin-Bs2a	Bs1	<i>Brachypelma</i>	<i>smithi</i>
$\omega$ -theraphotoxin-Gr1a	$\omega$ -grammotoxin SIA	<i>Grammostola</i>	<i>rosea</i>
$\omega$ -theraphotoxin-Gr2a	Péptido A4-1	<i>Grammostola</i>	<i>rosea</i>
$\omega$ -theraphotoxin-Gr2b	-	<i>Grammostola</i>	<i>rosea</i>
$\omega$ -theraphotoxin-Hg1a	SNX482	<i>Hysteroocrates</i>	<i>gigas</i>
$\omega$ -theraphotoxin-Hhn1a	Hainantoxin-IX-2.2	<i>Haplopelma</i>	<i>hainanum</i>
$\omega$ -theraphotoxin-Hhn1b	Hainantoxin-IX-3	<i>Haplopelma</i>	<i>hainanum</i>
$\omega$ -theraphotoxin-Hhn1c	Hainantoxin-IX-4	<i>Haplopelma</i>	<i>hainanum</i>
$\omega$ -theraphotoxin-Hhn1d	Hainantoxin-IX-5	<i>Haplopelma</i>	<i>hainanum</i>
$\omega$ -theraphotoxin-Hhn1e	Hainantoxin-IX-6	<i>Haplopelma</i>	<i>hainanum</i>
$\omega$ -theraphotoxin-Hhn1f	Peptide F1-29.54	<i>Haplopelma</i>	<i>hainanum</i>
$\omega$ -theraphotoxin-Hhn2a	Hainantoxin-X.3	<i>Haplopelma</i>	<i>hainanum</i>
$\omega$ -theraphotoxin-Hhn2b	Hainantoxin-X-2	<i>Haplopelma</i>	<i>hainanum</i>
$\omega$ -theraphotoxin-Hhn2c	Hainantoxin-X-3	<i>Haplopelma</i>	<i>hainanum</i>
$\omega$ -theraphotoxin-Hs1a	Huwentoxin-10	<i>Haplopelma</i>	<i>schmidti</i>
$\omega$ -theraphotoxin-Hs2a	Huwentoxin-5	<i>Haplopelma</i>	<i>schmidti</i>
$\omega$ -theraphotoxin-Hs2b	Mutant Huwentoxin-5	<i>Haplopelma</i>	<i>schmidti</i>

### 3. JUSTIFICACIÓN

Las enfermedades cardiovasculares son catalogadas como la principal causa de muerte a nivel mundial (OMS, 2016). Según las estadísticas de IHME, por sus siglas en inglés (Institute for Health Metrics and Evaluation) indican que 17.8 millones de muertes en todo el mundo en 2017 se atribuyeron a enfermedades cardiovasculares y el número continúa creciendo (Lyle y Taylor, 2019). De estas enfermedades, la hipertensión es uno de los principales factores de riesgo. Entre los tratamientos antihipertensivos más relevantes destacan los fármacos vasodilatadores. Sin embargo, debido a algunos factores como: la hipertensión refractaria, las contraindicaciones medicamentosas y los grupos de riesgo, es recomendable estudiar nuevas fuentes de compuestos vasodilatadores que pueden servir para el futuro desarrollo de nuevos tratamientos o de herramientas de investigación farmacológica que contribuyan en la generación de conocimiento acerca de las enfermedades cardiovasculares.

Los venenos de terafósidos están constituidos por toxinas que presentan características químicas y farmacológicas interesantes que las convierten en fuentes ideales para la búsqueda de nuevos compuestos bioactivos. En un estudio previo, se encontró información que sugiere que los venenos de las especies del género *Poecilotheria* contienen compuestos peptídicos vasodilatadores (Díaz-Peña et al., 2019). Considerando los efectos vasodilatadores del veneno presente en algunos terafósidos como *P. regalis*, en este estudio se caracterizará por primera vez el efecto vasodilatador del veneno de *P. ornata*. La información derivada de este estudio será fundamental para diseñar otros estudios dirigidos al aislamiento y purificación de los compuestos vasodilatadores presentes en este veneno. Además, las mordeduras causadas por las especies del género *Poecilotheria* son consideradas por algunos autores como de importancia clínica (Ahmed et al., 2009; Fuchs et al., 2014) por lo que esta información también podrá ayudar a entender el comportamiento y función del veneno de esta especie en particular.

#### **4. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN**

¿Cuáles son las principales vías de señalización que participan en la inducción del efecto vasodilatador inducido por el veneno de la tarántula *Poecilotheria ornata* en el modelo de aorta aislada de rata?

#### **5. HIPÓTESIS**

El veneno de la tarántula *Poecilotheria ornata* induce un efecto vasodilatador en el modelo de aorta aislada de rata provocado por la presencia de compuestos termoestables; este efecto depende del endotelio vascular e involucra parcialmente a la vía del NO/GMPc y a los canales de calcio dependientes de voltaje.

## 6. OBJETIVOS

### 6.1. Objetivo General

Caracterizar el mecanismo de acción el efecto vasodilatador inducido por el veneno de la tarántula *Poecilotheria ornata*.

### 6.2. Objetivos específicos

1. Evaluar el efecto vasodilatador del veneno mediante el ensayo de aorta aislada de rata a diferentes concentraciones.
2. Evaluar la participación del endotelio vascular en el efecto vasodilatador inducido por el veneno.
3. Evaluar la participación de la vía del NO/GMPc en el efecto vasodilatador del veneno mediante el uso de inhibidores farmacológicos.
4. Determinar la participación del calcio en el efecto vasodilatador del veneno mediante el uso de un medio libre de calcio y mediante el empleo de inhibidores de canales de calcio  $Ca_V^{+2}$  tipo L.
5. Determinar la participación de canales de  $K_V^{+}$  mediante el uso de inhibidores farmacológicos.
6. Determinar la estabilidad del efecto vasodilatador del veneno ante la desnaturalización del contenido proteínico mediante condiciones reductoras y un tratamiento térmico.

## 7. MATERIALES Y MÉTODOS

### 7.1. Obtención y mantenimiento de las tarántulas de la especie *P. ornata*.

Las tarántulas fueron adquiridas en los criaderos oficiales: Tarántulas de México (SEMARNAT-UMA-IN-0062-JAL), en la unidad de manejo para la conservación de la vida silvestre ARACHNIDA (DGVS-PIMVS-CR-IN-0977-DV08) y en el aracnario de la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad Autónoma de Querétaro (CITES/DGVS-CR-IN-0619-QRO/00), mismos que cuentan con registros de especiación y determinación de género. Las tarántulas fueron mantenidas individualmente en jaulas altas de polimetilmetacrilato con fibra de coco molida como sustrato y un recipiente para agua, para mimetizar su hábitat natural. Las tarántulas fueron alimentadas cada 15 días con grillos *Acheta domestica*, además de agua purificada *ad libitum*.

### 7.2. Extracción de veneno.

El veneno de las tarántulas *P. ornata* se obtuvieron por estimulación eléctrica de acuerdo con un método descrito previamente (Rocha-e-Silva et al., 2009) teniendo en cuenta algunas modificaciones. Las tarántulas se anestesiaron ligeramente en una atmósfera de isoflurano y luego los colmillos se levantaron colocándolos en un tubo de microcentrífuga de 1.5 mL, asegurando que no existiera contaminación con líquidos y saliva digestivos. La electroestimulación se aplicó con un par de electrodos utilizando una fuente de alimentación de electroforesis (PowePac Basic, Bio-Rad, Hercules) a 10 V durante dos segundos, con un intervalo de tres segundos entre descargas para 1 min. Después de la extracción, el veneno se centrifugó y se almacenó a -70 °C hasta su uso. Se preparó un conjunto de liofilizados de varias extracciones a partir de diversos especímenes.



### **7.3. Liofilización.**

Para llevar a cabo el proceso de deshidratación del veneno, se utilizó un equipo de liofilización 'FreeZone 4.5 L Benchtop' marca Labconco. La muestra de veneno se congeló en un ultracongelador 'Irilab 800' marca Angelatoni a -40 °C y se liofilizó.

### **7.4. Cuantificación de proteína.**

El veneno fue disuelto en 0.4 mL de agua grado HPLC (J.T. Baker). El contenido de proteína del veneno de cada extracción se determinó mediante el método de ácido bicinconínico 'BCA' (Smith et al., 1985), utilizando albumina sérica bovina (Bio-Rad) como estándar.

### **7.5. Bioensayos**

#### **7.5.1. Animales de experimentación.**

Para las evaluaciones biológicas en este estudio se utilizaron ratas macho de la cepa Wistar con un peso de 200 a 250 g, las cuales fueron adquiridas en el Bioterio del Instituto de Neurobiología de la UNAM, campus Juriquilla, Querétaro. Todos los animales se mantuvieron en jaulas de acrílico en condiciones de agua y alimento *ad libitum* por un periodo de 5 días de climatización (Obernier y Baldwin, 2006). El manejo de los animales de experimentación se realizó de acuerdo con la NOM-062-ZOO-1999.

#### **7.5.2. Actividad vasodilatadora.**

La actividad vasodilatadora del veneno se determinó mediante el ensayo de aorta aislada de rata (García-Arredondo et al., 2016) en el que se sacrificaron ratas macho de la cepa Wistar (250 g de peso) por decapitación y se diseccionó la aorta torácica descendente y se colocó en hielo. Se preparó la solución de Krebs-Henseleit fría y

oxigenada (NaCl 126.8 mM, KCl 5.9 mM, CaCl<sub>2</sub> 2.5 mM, MgSO<sub>4</sub> 1.2 mM, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.2 mM, NaHCO<sub>3</sub> 30 mM y D-glucosa 5 mM; pH 7.4). La aorta se lavó inmediatamente con solución de Krebs-Henseleit para evitar la formación de coágulos intravasculares, se limpió del tejido conectivo circundante y se fraccionó en anillos a intervalos de 4 a 5 mm. Los anillos aórticos se montaron en ganchos de acero inoxidable y se suspendieron en baños de 5 mL que contendrán solución de Krebs-Henseleit oxigenada (95 % de O<sub>2</sub> y 5 % de CO<sub>2</sub>) a 37 °C. Los tejidos se dejaron equilibrar durante 60 minutos bajo una tensión de reposo de 1 g. Durante este período, el medio de baño se renovó cada 15 min. Después de un ajuste final de la tensión de reposo pasivo a 1 g, los segmentos aórticos se contrajeron con KCl 100 mM. Una vez que se alcanzó un tono contráctil estable, el medio de baño se renovó para restablecer una tensión de reposo de 1 g. Luego, los tejidos se contrajeron nuevamente con fenilefrina 1 μM (Sigma, St. Louis, Missouri), se registró la fuerza de contracción y esta contracción se estableció como el 100 %. Posteriormente, el veneno fue añadido al baño a concentraciones acumulativas de: 0.1, 0.3, 1.0, 3.1, 10.0, 31.6, 100 y 200 μg de proteína/mL. Las tensiones isométricas de los tejidos se midieron con un transductor de fuerza-desplazamiento Grass FT03, conectado a un polígrafo Grass 7D. Las respuestas causadas por las muestras se expresaron como porcentajes de la contracción inicial lograda con fenilefrina (1 μM). La concentración efectiva media (EC<sub>50</sub>) y el efecto máximo (E<sub>max</sub>) se estimó ajustando las curvas concentración-respuesta utilizando un análisis de regresión no lineal. El valor de EC<sub>50</sub> representó la concentración de veneno donde se observa el 50 % de su efecto máximo, mientras que el valor de E<sub>max</sub> representó el efecto máximo inducido por el veneno de *P.ornata*.

### **7.5.3. Determinación de los mecanismos de acción involucrados en el efecto vasodilatador.**

Se realizaron experimentos para investigar los mecanismos de acción implicados en la actividad vasodilatadora del veneno. Para determinar si la actividad

vasodilatadora dependía de la presencia de células endoteliales vasculares, se evaluó la actividad del veneno de *P. ornata* en segmentos de aorta sin presencia de endotelio a diferentes concentraciones. Para esto, se eliminó el endotelio vascular mediante perfusión *in situ* de la aorta con 5 mL de solución salina, que contenía 0.2 % de ácido desoxicólico, inmediatamente después del enjuague inicial con la solución de Krebs-Henseleit. La ausencia de endotelio se confirmó al mostrar la respuesta vasodilatadora de la acetilcolina (10  $\mu$ M) sea  $\leq$  10 % en segmentos de aorta precontraídos con fenilefrina (1  $\mu$ M).

Para determinar la participación de la vía NO/GMPc en la actividad vasodilatadora, se evaluó la actividad del veneno de *P. ornata* a diferentes concentraciones en presencia de L-NAME 1  $\mu$ M (Sigma, St. Louis, Missouri), un inhibidor de la enzima óxido nítrico sintetasa y ODQ 1  $\mu$ M (Sigma, St. Louis, Missouri), un inhibidor de la enzima guanilato ciclasa soluble. Estos inhibidores se agregaron al baño 20 min antes de la adición de fenilefrina; las concentraciones se seleccionaron de acuerdo con estudios previos (Ma et al., 2018).

Para determinar si la actividad vasodilatadora del veneno de *P. ornata* implicaría el bloqueo de canales de calcio del tipo L, los segmentos de aorta libres de endotelio se estabilizaron en solución Krebs-Henseleit de acuerdo con el método original. Después de precontraer los segmentos de aorta con KCl 100 mM, se reemplazó el medio por una solución de Krebs-Henseleit libre de calcio con EDTA (1.2 mM) y se realizaron los 3 lavados con esta solución. Posteriormente se agregó el CaCl<sub>2</sub> (10 mM) en ausencia (control), en presencia del veneno *P. ornata* (100  $\mu$ g de proteína/mL) o verapamilo (1  $\mu$ M, control positivo).

Finalmente, se determinó la participación de los canales de potasio en la actividad vasodilatadora del veneno. Para esto, se evaluó la actividad del veneno a diferentes concentraciones en presencia de tetraetilamonio TEA (3 mM), un inhibidor inespecífico de canales de potasio (Ibarra-Alvarado et al., 2007).

#### **7.5.4. Estabilidad de la vasoactividad del veneno.**

Con el propósito de determinar si los compuestos responsables de la vasoactividad del veneno son sensibles a la temperatura, el veneno se incubó en un baño de agua a ebullición durante 20 min con agitación constante. Posteriormente, se evaluó su efecto mediante el ensayo de aorta aislada de rata a una concentración de 100 µg de proteína/mL. Adicionalmente, se evaluó la estabilidad de la actividad biológica del veneno ante condiciones reductoras, esto se realizó incubando el extracto a ebullición durante 20 min en presencia de β-mercaptoetanol, la concentración final del agente reductor en las cámaras de baño orgánico fue 0.05 %. Después de este tratamiento se evaluó el veneno de *P. ornata* a una concentración de 100 µg de proteína/mL.

#### **7.5.5. Análisis estadísticos**

Las evaluaciones se expresaron como la media ± error estándar de la media (SEM) de cuatro repeticiones (n = 4). Las curvas concentración-respuesta se realizaron mediante un ajuste no lineal empleando el programa estadístico GrapPad Prism versión 5.0. Las comparaciones múltiples se realizaron mediante un análisis de varianza (ANOVA) de una vía, seguido una prueba post-hoc de Dunnett.

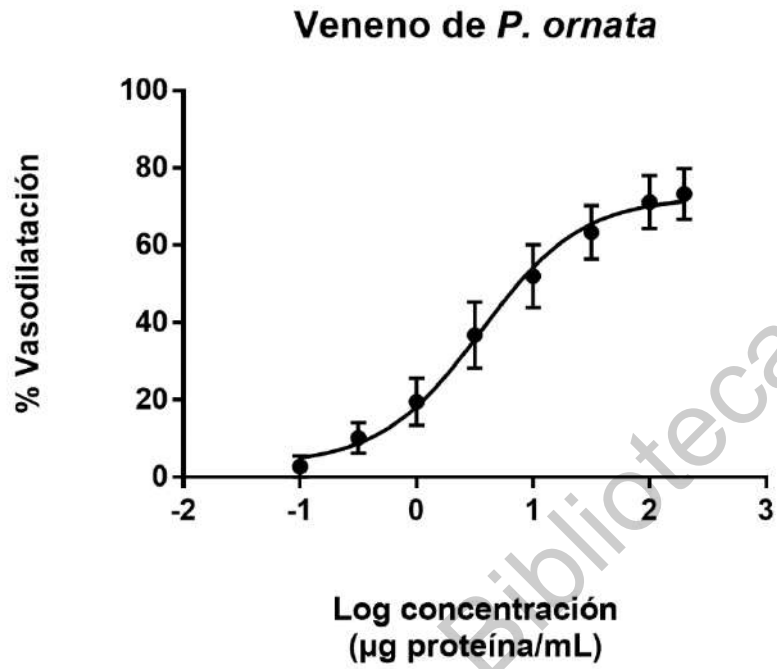
## 8. RESULTADOS

### 8.1. Preparación del extracto venenoso de *P. ornata*.

El veneno extraído de *P. ornata* utilizado para este estudio fue colectado en febrero del 2020. La determinación de proteínas totales indicó que hay 20.29 µg de proteína por cada microlitro de veneno. Para los ensayos, se utilizó un conjunto de varias extracciones para tener una cantidad suficiente de veneno liofilizado.

### 8.2. Evaluación de la actividad vasodilatadora del veneno de *P. ornata*.

En la Figura 22 se muestra la curva concentración-respuesta de la actividad vasodilatadora del veneno a diferentes concentraciones de proteína sobre segmentos de aorta aislada de rata, donde se observó que el veneno de *P. ornata* genera un efecto vasodilatador dependiente de la concentración. Los resultados de estos experimentos indicaron que la menor concentración del veneno (0.1 µg de proteína/mL) indujo una vasodilatación de 2.7 % y la mayor concentración (200 µg de proteína/mL) indujo un efecto vasodilatador del 72.54 %. Mediante un ajuste no lineal se determinó la actividad vasodilatadora del veneno [ $CE_{50} = 3.60$  (1.64 - 7.90) µg de proteína/ml;  $E_{max} = 72.54 \pm 4.36$  %]. También, para una mejor visualización y descripción del efecto vasodilatador se realizó un experimento a una sola concentración máxima (200 µg de proteína/mL), los resultados mostraron que no se genera un efecto máximo espontaneo, es decir, el efecto vasorrelajante se aprecia minutos después de añadir el veneno (Figura 23).



**Figura 22.** Curva concentración-respuesta de la actividad vasodilatadora inducida por el veneno de *P. ornata*.



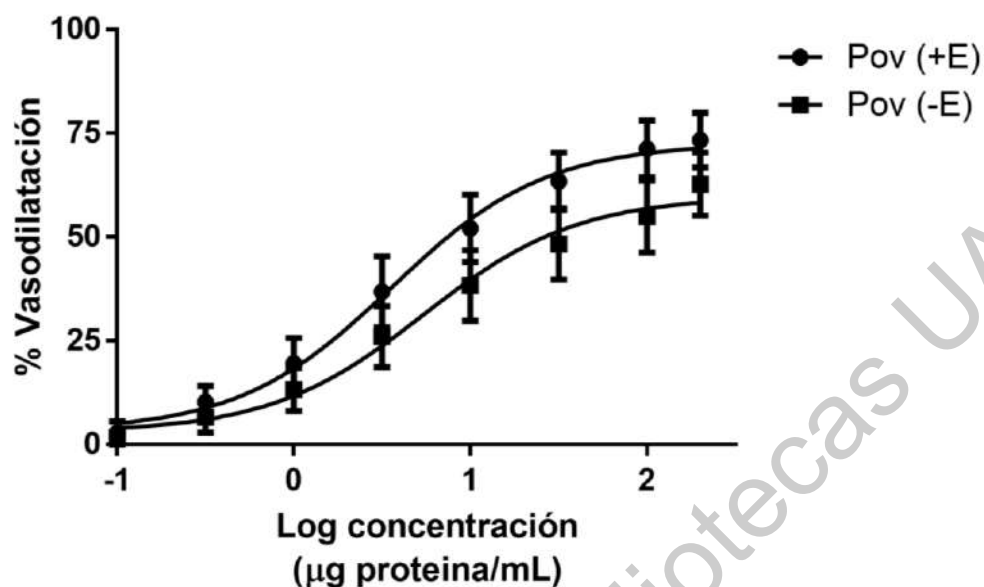
**Figura 23.** Registro del efecto vasodilatador del veneno de *P. ornata* a la concentración máxima.

### **8.3. Determinación del mecanismo de acción involucrado en el efecto vasodilatador del veneno de *P. ornata*.**

#### **8.3.1. Participación del endotelio vascular.**

Se evaluó el efecto del veneno de *P. ornata* sobre la aorta de rata desprovista de endotelio. Este experimento se realizó para determinar si el endotelio vascular participa en el mecanismo vasodilatador del veneno. Los resultados de estos experimentos demostraron que el veneno de *P. ornata* no contiene compuestos capaces de inducir un efecto vasodilatador significativo [ $CE_{50} = 5.47$  (1.98 – 15.12)  $\mu\text{g}$  de proteína/mL;  $E_{\text{max}} = 59.76 \pm 4.95$  %] (Figura 24). Al eliminar el endotelio se observó un registro del efecto vasodilatador (Anexo 1A) similar al registro del experimento con endotelio (Anexo 1B). Como ya se mencionó, la actividad vasodilatadora no se redujo de manera significativa al examinar el veneno a diferentes concentraciones sobre los segmentos libres de endotelio. Sin embargo, sí ocurre una ligera disminución no significativa de la actividad vasodilatadora que indica una participación parcial del endotelio en el efecto vasodilatador del veneno de *P. ornata*.

Se realizaron experimentos de controles para demostrar la presencia y ausencia del endotelio vascular (Anexo 2), la inhibición de la contracción inducida por fenilefrina es llevada a cabo por ACh en aorta aislada de rata desprovista de endotelio, las células endoteliales se removieron químicamente con ácido desoxicólico al 0.2 %. La ausencia de endotelio se confirmó mediante la adición de ACh en diferentes concentraciones, la mayor que no indujo más del 19 % de relajación, según los registros (Anexo 3A; Anexo 3B).

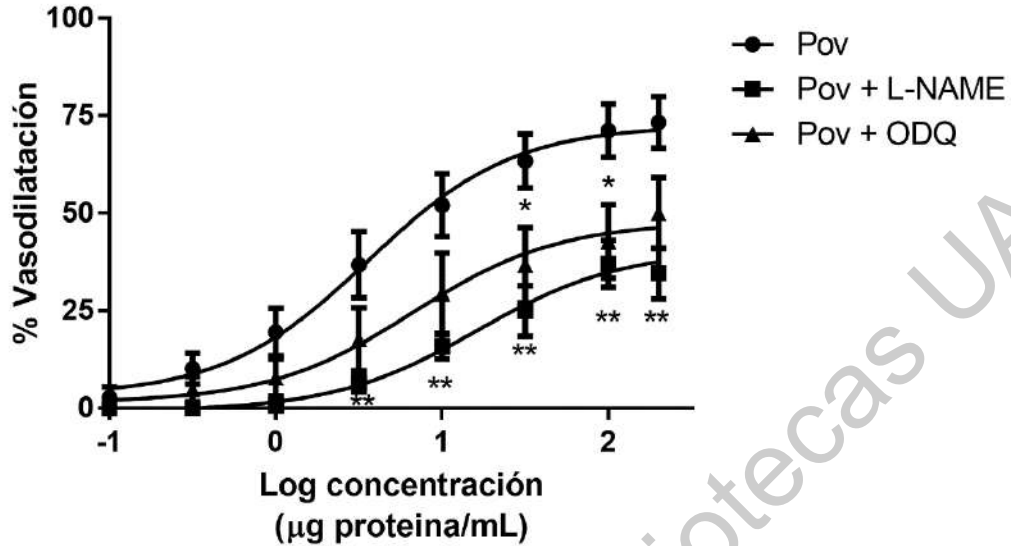


**Figura 24.** Curvas concentración-respuesta del efecto vasodilatador del veneno de *P. ornata* en presencia y ausencia de endotelio vascular. Veneno de *P. ornata* (Pov) en los segmentos de aorta aislada de rata en presencia (+E) o ausencia (-E) de endotelio vascular. Los valores están expresados como la media  $\pm$  S.E.M. de 5 repeticiones.

### 8.3.2. Participación de la vía NO/GMPc en la actividad vasodilatadora del veneno de *P. ornata*.

Los resultados demostraron cómo el efecto vasodilatador del veneno de *P. ornata* se redujo significativamente mediante la inhibición de la NO sintasa endotelial (eNOS) con N<sup>G</sup>-nitro-L-arginina metil éster (L-NAME). Dicho efecto también se redujo significativamente en presencia de ODQ (Figura 25) un inhibidor de la guanilato ciclasa soluble (GCs); se observó que la inhibición del efecto vasodilatador ocurre en mayor grado con la presencia de L-NAME. Los registros muestran el efecto vasodilatador el veneno de *P. ornata* en presencia de L-NAME (Anexo 4) y ODQ (Anexo 5).



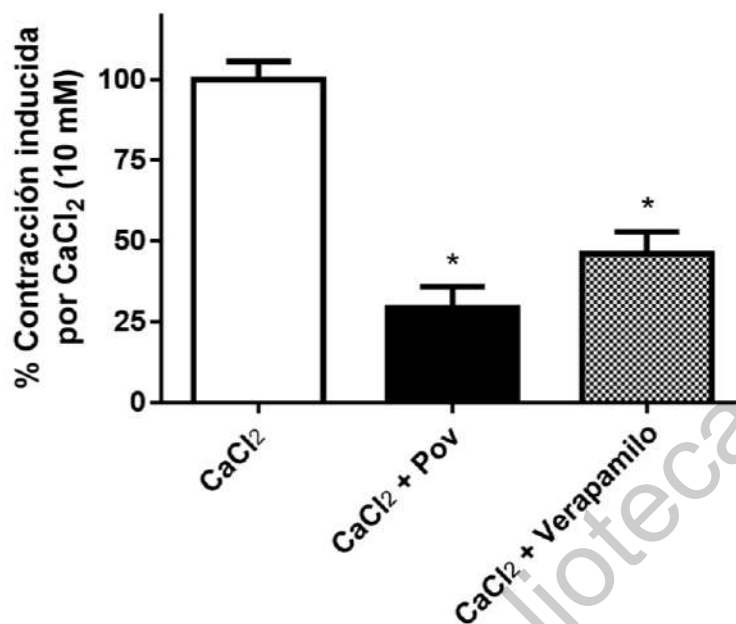


**Figura 25.** Curvas concentración-respuesta del efecto vasodilatador del veneno de *P. ornata* (Pov) en presencia de los inhibidores L-NAME y ODQ. Los valores están expresados como la media  $\pm$  S.E.M. de 5 repeticiones. Se realizó un análisis estadístico mediante una ANOVA de dos vías con una prueba post hoc de Bonferroni, cada curva se comparó contra la curva del veneno sin inhibidor.

\* Pov + L-NAME ( $p < 0.05$ ), \*\* Pov + ODQ ( $p < 0.01$ ).

### 8.3.3. Participación de los canales de calcio tipo L (LVCC) en la actividad vasodilatadora del veneno de *P. ornata*.

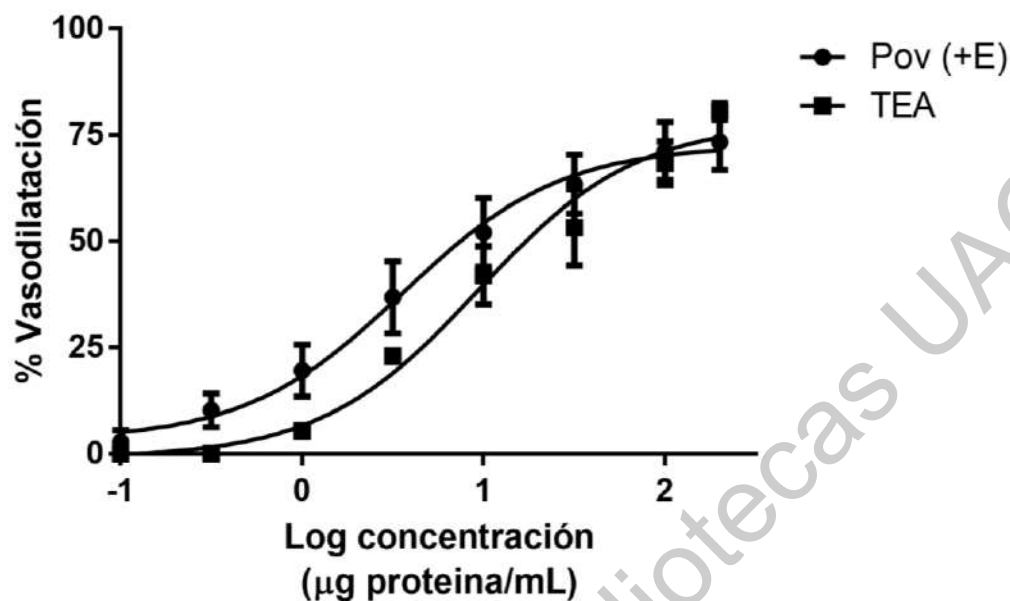
Al examinar la actividad del veneno sobre el efecto vasoconstrictor inducido por 10 mM  $\text{CaCl}_2$  en un medio libre de calcio, donde la vasoconstricción producida por el  $\text{CaCl}_2$  es considerada como el 100 % de vasoconstricción, los resultados mostraron que el efecto vasoconstrictor del  $\text{CaCl}_2$  se disminuye significativamente en presencia del veneno de *P. ornata*. Al mismo tiempo se evaluó un control con verapamilo, un inhibidor de canales de calcio dependientes de voltaje tipo L, el cual también disminuyó significativamente el efecto vasoconstrictor (Figura 26). Registros del efecto sobre los canales de calcio tipo L (Anexo 6A) del veneno de *P. ornata* (Anexo 6B) y verapamilo (Anexo 6C).



**Figura 26.** Evaluación del veneno de *P. ornata* en los canales de calcio tipo L. Efecto vasoconstrictor del CaCl<sub>2</sub> en un medio libre de calcio a una concentración de 10 mM. La vasoconstricción disminuye significativamente en presencia del veneno de *P. ornata* (Pov; 100 µg de proteína/mL) y en presencia de verapamilo (1 µM).

#### 8.3.4. Participación de los canales de potasio (Kv) en la actividad vasodilatadora del veneno de *P. ornata*.

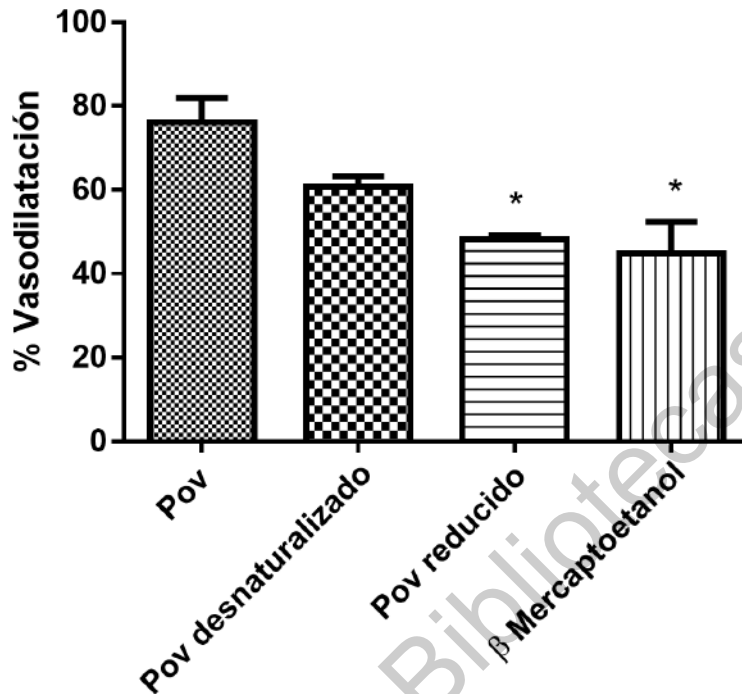
Para dictaminar la participación de los canales de potasio en el efecto vasodilatador del veneno se realizó un experimento donde se evaluó la actividad del veneno de *P. ornata* en presencia de TEA, un inhibidor de canales de K<sup>+</sup>. Los experimentos confirmaron que la presencia de TEA no afecta significativamente la actividad vasodilatadora del veneno, es decir, que los canales de K<sup>+</sup> no están involucrados en el mecanismo vasorrelajante (Figura 27). Registro de la actividad vasodilatadora del veneno de *P. ornata* sobre canales de K<sup>+</sup> (Anexo 7).



**Figura 27.** Curvas concentración-respuesta del efecto vasodilatador del veneno de *P. ornata* en presencia de TEA. Los valores están expresados como la media  $\pm$  S.E.M. de 3 repeticiones.

### 8.3.5. Estabilidad de la actividad vasodilatadora.

Finalmente, se evaluó la estabilidad de la actividad vasodilatadora del veneno de *P. ornata* ante condiciones desnaturalizantes, del mismo modo que se realizó en experimentos previamente reportados con *P. regalis*, por nuestro equipo de investigación. El efecto vasodilatador del veneno de *P. ornata* disminuyó, pero no de manera significativa al someterlo a desnaturalización por incubación a ebullición. Sin embargo, la incubación del veneno a ebullición en presencia del agente reductor ( $\beta$ -mercaptoetanol) provocó una disminución significativa del efecto vasodilatador. Es importante mencionar que el  $\beta$ -mercaptoetanol por si solo a esa concentración induce un efecto vasodilatador similar al observado con el veneno sometido a condiciones reductoras, lo cual sugiere que el efecto vasodilatador se perdió por completo y lo que se observa es el efecto del  $\beta$ -mercaptoetanol (Figura 28). Registros de Pov desnaturalizado (Anexo 8A) y Pov reducido (Anexo 8B).



**Figura 28.** Actividad vasodilatadora del veneno de *P. ornata* en condiciones desnaturalizantes y reductoras.

Actividad vasodilatadora del veneno de *P. ornata* a una concentración de 100 µg de proteína/ml bajo las siguientes condiciones experimentales: Sin tratamiento (Pov), después de la incubación en un baño de agua a ebullición durante 20 minutos (Pov desnaturalizado), después de la incubación en un baño de agua a ebullición durante 20 minutos en presencia de β-mercaptoetanol al 0.05 % (Pov reducido); se evaluó el efecto del β-mercaptoetanol al 0.05 % como control. Los valores están expresados como la media ± S.E.M. de 4 repeticiones.

\*Significativamente diferentes al compararse con la actividad del veneno sin tratamiento mediante un análisis de varianza de una vía con una prueba de Dunnett ( $p < 0.01$ ).

## 9. DISCUSIÓN

Los venenos de las arañas son mezclas de compuestos bioactivos como iones inorgánicos, proteínas, nucleótidos y enzimas, que pueden desencadenar una amplia variedad de efectos, como hemorragias, dolor, necrosis, neurotoxicidad e incluso algunas especies causan la muerte en humanos (Luch, 2010; Rahmani et al., 2014). De acuerdo con la Asociación Estadounidense de Centros de Control de Envenenamientos en 2018 se le reportaron 44 informes donde solo 17 de estos necesitaron una evaluación en un centro de atención médica. A pesar de su gran tamaño, los terafósidos no representan peligro para la especie humana, pues hasta el momento no se han reportado muertes humanas causadas por mordeduras de tarántulas. Sin embargo, al igual que el resto de las arañas, los venenos de los terafósidos son ricos en compuestos bioactivos, muchos de ellos con actividad neurotóxica; razón por la cual se ha encontrado que algunos venenos de tarántula pueden ser letales en insectos y ratones (García-Arredondo et al., 2015). Además de las neurotoxinas peptídicas, se ha propuesto que algunos compuestos como poliaminas, neurotransmisores, aminoácidos libres, nucleótidos y enzimas de tipo hialuronidasa pueden trabajar sinérgicamente para lograr una toxicidad más efectiva. Algunas especies como *Lampropelma nigerrimum* (Ornithoctoninae) y *Pterinochilus murinus* (Harpactirinae), provocan dolor local intenso, hinchazón y calambres musculares episódicos. En un reporte de un cuadro clínico se encontró que los calambres persistieron 7 días y se observó una elevación leve de la concentración sérica de creatinina (Ahmed et al., 2009). También se ha reportado que las mordeduras de tarántulas del género *Poecilotheria* en humanos generan dolor intenso, necrosis tisular local y específicamente calambres musculares graves que también pueden durar una semana aproximadamente (Fuchs et al., 2014). Sin embargo, las mordeduras de estos organismos pueden ser en algunos casos indoloras y los síntomas pueden demorar horas o días, generando solo una reacción tisular local (Nentwig et al., 2013). A pesar de los efectos como respuesta de la defensa de las tarántulas en humanos, se ha comprobado que los

venenos son una fuente importante de compuestos con aplicación potencial en el desarrollo de herramientas de investigación y fármacos terapéuticos (Holford et al., 2018). Algunas investigaciones han demostrado que los venenos de arácnidos pueden contener compuestos vasodilatadores interesantes con posibles aplicaciones terapéuticas (Duarte Weinberg et al., 2002; Horta et al., 2013; Ma et al., 2018; Rattmann et al., 2008a).

La diversidad no solo existe en los fenotipos de las especies venenosas o en la composición química de los venenos, también se encuentra en los mecanismos de acción para provocar toxicidad, particularmente la actividad vasodilatadora, pues se ha reportado previamente que los venenos de varias especies de arácnidos producen vasodilatación por diferentes mecanismos, por ejemplo, el veneno de la tarántula *Lasiodora* spp. indujo vasodilatación dependiente de la concentración en segmentos de aorta aislada de rata y requiere del endotelio vascular, dicho efecto se disminuyó con la presencia de L-NAME y suramina. Entre los principales compuestos vasodilatadores se encontraron el ADP que resultó ser el principal componente vasodilatador en el veneno de *Lasiodora* spp; aproximadamente 90 %, mientras que también se detectaron pequeñas cantidades de AMP aproximadamente 10 % (Horta et al., 2013).

Algunas investigaciones mencionan el género *Poecilotheria* como una fuente potencial de compuestos vasodilatadores, pues el veneno de *P. regalis* también indujo vasodilatación dependiente de endotelio en segmentos de aorta de rata (Díaz-Peña et al., 2019). De acuerdo con los resultados de ese estudio, ambos efectos fueron más potentes que el efecto inducido por ADP. Un dato importante observado en ese estudio fue que el veneno de la tarántula *Nhandu chromatus* no produjo un efecto vasodilatador a las concentraciones evaluadas. Una de las posibles funciones de los compuestos vasodilatadores de los venenos es ayudar a distribuir mejor el veneno en los tejidos. Los venenos de tarántula contienen enzimas de tipo hialuronidasa que también actúan como factores de propagación, las cuales ayudan en la distribución de las toxinas en los tejidos (García-Arredondo et al., 2015; Rodríguez-Rios et al., 2017). Estas enzimas hidrolizan el ácido

hialurónico del polisacárido de matriz extracelular, lo que facilita la difusión de toxinas de veneno en los tejidos. El efecto facilitador de la distribución causado por las enzimas de tipo hialuronidasa y el efecto vasodilatador podrían incrementar la distribución del veneno en los tejidos, haciendo un veneno más efectivo con respecto a otros.

Considerando el valor potencial de las especies del género *Poecilotheria* como fuentes de nuevos compuestos vasodilatadores, se realizó el presente estudio con la finalidad de obtener más información sobre el efecto vasodilatador del veneno de la tarántula *P. ornata* y su mecanismo de acción. Una característica distintiva que se encontró fue que, a diferencia del veneno de *P. regalis*, la vasodilatación inducida por el veneno de *P. ornata* no depende completamente de la presencia de endotelio vascular. Esto podría deberse a que el efecto vasodilatador de este veneno es causado por una mezcla de toxinas con diferentes mecanismos de acción, por lo que la variación en la concentración de los compuestos vasodilatadores presentes en los venenos de cada especie podría marcar estas diferencias. Aunque la ausencia de endotelio vascular no provocó una disminución significativa sobre el efecto vasodilatador, sí se observó una leve disminución de la actividad vasorrelajante, lo cual puede deberse a que algunos compuestos pueden tener alguna interacción a nivel endotelial. Es bien conocido que el endotelio vascular puede liberar diversas sustancias vasodilatadoras, como NO, prostaciclina y el factor hiperpolarizante derivado del endotelio (Tare et al., 1990; Triggle et al., 2003). Como ya se mencionó, un papel importante de los componentes vasodilatadores en la toxicidad de los venenos de araña puede ser como factor de propagación, se ha encontrado que varias sustancias vasodilatadoras que inducen vasodilatación aumentan la permeabilidad vascular; por ejemplo, se ha demostrado que el NO producido por la óxido nítrico sintasa en las células endoteliales promueve el aumento de la permeabilidad microvascular causada por un choque anafiláctico en el cual se liberan mediadores de inflamación y citocinas (Ramanlal y Gupta, 2020). Esta hipótesis explica por qué el veneno de *L. intermedia* indujo permeabilidad vascular y vasodilatación (Rattmann et al., 2008b). Por lo tanto, la presencia de

componentes vasodilatadores y de hialuronidasas en los venenos de las especies del género *Poecilotheria* contribuye a un proceso de envenenamiento más efectivo, facilitando la distribución de otros compuestos del veneno a través de los tejidos.

En estudios anteriores se ha demostrado una participación importante de la vía NO/guanilatociclasa en la vasodilatación inducida por algunos venenos de araña (Duarte Weinberg et al., 2002; Horta et al., 2013; Ma et al., 2018; Rattmann et al., 2008b). La vasodilatación ocurre cuando el músculo liso vascular se relaja, mediante varios mecanismos, entre ellos la activación de la vía NOS endotelial, que forma el gasotransmisor NO. En las células endoteliales se forma el NO a partir de la conversión de L-arginina por la óxido nítrico sintasa endotelial y con la presencia de cofactores como la tetrahidrobiopterina (BH<sub>4</sub>), dinucleótido de flavina-adenina, mononucleótido de flavina (FMN), calmodulina y la protoporfirina IX (Ramanlal y Gupta, 2020). El NO es un segundo mensajero que juega un papel importante en la homeostasis del sistema cardiovascular, como un potente vasodilatador, estimulando la GCs en las células del músculo liso vascular con el objetivo de formar GMPc, el cual activa la proteína quinasa dependiente de GMPc (PKG). La PKG evita la entrada de calcio extracelular por los canales de calcio voltaje dependientes y la salida del calcio en los almacenes del retículo sarcoplasmático mediada por el receptor IP<sub>3</sub>, o también ejercer actividad sobre la ATPasa de calcio del retículo sarcoplásmico (SERCA) que promueve la recaptura del calcio intracelular, como resultado se produce una relajación del vaso (Förstermann y Sessa, 2012; Pons et al., 2016; Yafi et al., 2016; Zhao et al., 2015b).

Los experimentos de este estudio demuestran que el inhibidor L-NAME provocó una disminución significativa de la actividad vasorrelajante, estos resultados en concordancia a estudios previos con L-NAME demuestran que el efecto de la inversión de la relajación no siempre está relacionado con la inhibición de la NOS endotelial o la NOS inducible, ya que se ha demostrado que los efectos vasculares de L-NAME en los anillos aórticos de la rata aislada no se limita a la inhibición de NOS en las células endoteliales, sino que este inhibidor (L-NAME) puede actuar directamente sobre el músculo liso, se sugieren que L-NAME ejerce una acción



directa sobre algunas proteínas no caracterizadas de la membrana plasmática del músculo liso vascular, afectando su reactividad a los cationes divalentes ( $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$  y  $Ni^{2+}$ ) que inducen la reversión de la relajación o bien, mejoran la contracción (Das et al., 1999). Generalmente se cree que la NOS no se encuentra de forma constitutiva en el músculo liso vascular, pues existen pocos estudios sobre estas afirmaciones. En la primera década de 1990 se realizaron los primeros experimentos donde la relajación vascular dependiente de endotelio es atribuida principalmente a la hiperpolarización del músculo liso vascular (Nagao et al., 1992). Dicho grupo de investigación también había examinado los efectos de L-arginina en los tejidos vasculares en presencia y ausencia del endotelio vascular donde lograron observar relajaciones dependientes de la concentración en ambos, pero mayormente en anillos de aorta con endotelio, se probaron otro tipo de aminoácidos básicos los cuales no tuvieron ningún efecto. Sus resultados afirmaron que la L-arginina relaja la aorta de rata con y sin endotelio, demostraron que tanto las células endoteliales como el músculo liso vascular poseen vías bioquímicas que convierten la L-arginina en óxido nítrico (Schini y Vanhoutte, 1991). Otros investigadores comprobaron la hipótesis de la producción de NO de origen no endotelial en el tejido vascular, los investigadores propusieron la participación de una NOS constitutiva en el músculo liso (Bourreaux et al., 1992). Otros autores han profundizado sobre la existencia de una de una óxido nítrico sintasa constitutiva en músculo liso vascular y han evaluado la actividad de cationes divalentes como el  $Mg^{2+}$  y  $Ni^{2+}$  en la relajación y los efectos de inhibición por L-NAME sobre dicho efecto y descartaron la participación de NOS inducible al evaluar aortas incubadas con aminoguanidina y no observar cambios en la reversión de la relajación inducida por  $Mg^{2+}$ . Se logró confirmar la presencia de una NOS en el músculo liso vascular por medio de experimentos electrofisiológicos que proporcionaron una fuerte evidencia farmacológica, así como evidencia inmunohistoquímica (Cheah et al., 2002). Con base en lo anterior, se pueden explicar los efectos del veneno de *P. ornata* en ausencia de endotelio y su disminución significativa en presencia de L-NAME, pues

el veneno estaría actuando a nivel del músculo liso vascular, posiblemente en una óxido nítrico sintasa constitutiva independiente de endotelio.

Por otra parte, los experimentos con el inhibidor de la GCs, el ODQ muestra una disminución significativa del efecto vasodilatador, lo que sugiere como parte del mecanismo la implicación de ruta GMPc/PKG, pues la guanilato ciclasa soluble promueve la conversión de GTP a GMPc y como resultado generar en los vasos sanguíneos una relajación. Con respecto al inhibidor ODQ, puede bloquear la inhibición de la actividad contráctil por histamina, atropina e indometacina (Franck et al., 1997). Además, el ODQ puede decrementar la actividad del canal  $K_{Ca}$  activado por calcio en las células vasculares del músculo liso de las arterias coronarias (Li et al., 1998). En general, el veneno de *P. ornata* puede contener compuestos que se unen a varias dianas presentes en el músculo liso, ya que el efecto vasodilatador se produce principalmente a nivel del músculo liso vascular.

El  $Ca^{2+}$  cumple funciones importantes como segundo mensajero en todas las células, cada célula, tejido u órgano lo usa con alguna función característica como secreción, contracción, conducción neuronal, movimiento, dolor, etc. Sin embargo, una alta concentración de calcio puede ser tóxico para la misma célula y generar daños como isquemia, por lo tanto, es indispensable la regulación del  $Ca^{2+}$  intracelular y por eso se han desarrollado sistemas de regulación como la liberación o almacenamiento de  $Ca^{2+}$  (en el retículo sarcoplasmático) que logra una contracción rápida mediante la liberación de  $Ca^{2+}$  de los orgánulos, el aumento en la concentración de  $Ca^{2+}$  se puede obtener por 1) la liberación rápida pero transitoria de  $Ca^{2+}$  de las reservas de  $Ca^{2+}$  intracelulares y 2) entrada de  $Ca^{2+}$  bastante lenta desde el espacio extracelular. La evidencia ha demostrado que el influjo de  $Ca^{2+}$  desde el espacio extracelular a través de los canales de calcio es especialmente importante para la regulación de dichas concentraciones, pues existen numerosos estudios sobre los antagonistas de canales de calcio útiles como las dihidropiridinas (Yamakage y Namiki, 2002). Los canales de calcio tipo L cumplen una gran variedad de funciones en el organismo humano y se encuentran en neuronas, células endócrinas y mayormente en el músculo esquelético, lo que permitió su purificación

y caracterización en 1953 (Fatt y Katz, 1953). Los canales de calcio se expresan en el músculo esquelético, son esenciales en la regulación de la contracción muscular, en la retina para la función visual, en las neuronas, feocromocitos, cardiomiocitos auriculares, linfocitos, etc. Estos canales son necesarios para el funcionamiento normal del cerebro y cumplen diferentes funciones en el sistema cardiovascular y en las funciones endocrinas (Zamponi et al., 2015). Al evaluar la actividad del veneno de *P. ornata* sobre los canales de calcio tipo L (Pov 100 µg de proteína/mL y en presencia de verapamilo 1 µM) los resultados mostraron que el veneno bloqueó la contracción inducida por calcio de manera ligeramente mayor a como lo hizo el verapamilo, sugiriendo que el veneno de *P. ornata* presenta compuestos capaces de bloquear la entrada de calcio a la célula de músculo liso, mediante la interacción con canales de calcio dependientes de voltaje tipo L. Se han reportado síntomas generados por el envenenamiento del género *Poecilotheria* en humanos como calambres musculares, acompañados de otros síntomas como hinchazón local, dolor intenso, sensación de ardor, fiebre, mialgia similar a la gripe, dificultad respiratoria, aumento del ritmo cardíaco y pérdida de la conciencia (Fuchs et al., 2014). Así como los estudios en ratones, donde se informó la toxicidad de los venenos de nueve especies del género *Poecilotheria* administrados por vía intravenosa demostraron que la toxicidad era muy similar, con valores de DL<sub>50</sub> entre 5 y 14 µg/g. Los síntomas observados en ratones fueron convulsiones tónico-clónicas, sacudidas e hiperalgesia. Antes de morir, los ratones presentaron paro respiratorio, convulsiones y se observó al tacto que el corazón latía constantemente a un nivel inferior al ritmo normal (Andreev-Andrievskiy et al., 2017). Sin embargo, es posible que los mecanismos para la contracción del músculo esquelético en el caso de los calambres estén relacionados con la actividad vasodilatadora del veneno de *Poecilotheria*, pues existen estudios donde se ha demostrado la relación de la dilatación de venas con calambres musculares, pero los mecanismos desafortunadamente aún no han sido profundamente explorados (Bahk et al., 2012). Por otra parte, las corrientes de calcio por parte de los canales de calcio tipo L son insignificantes y no se consideran sustanciales para las funciones del músculo

maduro, por eso el uso terapéutico de los bloqueadores de los canales de calcio tipo L no afecta la función del músculo esquelético maduro (Tuluc y Flucher, 2011). Las mordeduras del género *Poecilotheria* causan dolor, que es un síntoma relacionado con la actividad de canales de calcio, pero la participación de los tipo L en el dolor todavía no es clara, pero se ha propuesto que los canales de calcio de tipo L en el asta dorsal espinal desempeñan un papel importante en el procesamiento del dolor y que el mantenimiento del dolor neuropático crónico depende específicamente de los canales Cav1.2 (Fossat et al., 2010). Algunos expertos relacionan las convulsiones con la actividad de los canales de calcio tipo L. Sin embargo, es un sistema complejo donde es posible que no implique directamente la actividad del veneno de *P. ornata*, pues hay investigaciones donde sugieren que los bloqueadores de los canales de calcio actúan como fármacos antiepilépticos y que los fármacos que abren los canales de calcio actúan como convulsivos y se ha propuesto que la modulación de los canales de calcio tipo L y tipo T tiene efectos opuestos en la epilepsia no convulsiva (J M van Luijtelaaar et al., 1995). La relación de los canales de calcio tipo L y sistema vascular es bien conocido, es común encontrar Cav 1.2 en el músculo liso vascular, la contracción del músculo liso vascular es provocada por  $Ca^{2+}$ , el flujo de este calcio es a través de los canales tipo L (Moosmang et al., 2003). Al evaluar el veneno de *P. ornata* en un medio libre de calcio, se observó que bloqueaba la entrada de calcio pues al añadir una concentración de  $CaCl_2$  no se contrajo la aorta, entonces se propone que el bloqueo de canales de calcio tipo L es uno de los principales mecanismos vasodilatadores del veneno, esto explica los reportes de hipotensión en algunos casos de envenenamiento por especies del género *Poecilotheria* podría ser provocada por la vasodilatación inducida por el veneno. El incremento del ritmo cardiaco es una respuesta compensatoria común para mantener una adecuada perfusión de los tejidos en la hipotensión (Wieling et al., 2007).

En los experimentos con canales de potasio, éstos no se vieron involucrados, pues la presencia de TEA no generó ninguna señal de interferencia en la actividad vasodilatadora del veneno de *P. ornata*.

También se investigaron algunas características bioquímicas de los componentes responsables de la actividad vasodilatadora inducida por el veneno de *P. ornata*. Se observó que la actividad vasodilatadora inducida por los venenos no es afectada por el tratamiento térmico, pero dicha actividad se redujo significativamente por el tratamiento en condiciones reductoras, como en la tarántula *P. regalis* (Díaz-Peña et al., 2019). Los resultados sugieren que la vasodilatación provocada por estos venenos puede deberse a una actividad combinada de componentes como péptidos ricos en puentes disulfuro y compuestos de bajo peso molecular. La presencia de péptidos vasodilatadores termoestables en venenos de araña es viable (Ma et al., 2018), ya que se ha reportado un péptido de 24 residuos en el veneno de la araña *Lycosa singoriensis* que provocó una relajación significativa dependiente de la concentración en aorta con endotelio. Es interesante que la presencia de péptidos con un nudo inhibidor de cistina (ICK) sea un componente frecuente de los venenos de araña y, por lo general, tenga altos niveles de estabilidad química, térmica y enzimática (Herzig y King, 2015). Con respecto a los vasodilatadores de bajo peso molecular, se ha propuesto que algunos venenos de tarántula contienen compuestos de masa molecular baja con actividad vasodilatadora que involucra la vía NO/GMPc; tales como acetilcolina, ATP, ADP y AMP (Escoubas y Rash, 2004; Horta et al., 2013). La presencia de estos compuestos de bajo peso molecular en los venenos de araña puede potenciar la acción de las neurotoxinas peptídicas. El veneno de *P. ornata* induce vasodilatación que no depende del endotelio vascular pero que involucra a canales de calcio. Este estudio proporciona nuevos datos farmacológicos que contribuyen a la comprensión de los mecanismos involucrados en la toxicidad producida por los venenos de las especies del género *Poecilotheria* y pueden asentar las bases para futuros estudios centrados en el desarrollo de un tratamiento para el envenenamiento por terafósidos del género *Poecilotheria*. Además, estos resultados demuestran la importancia de los venenos como una fuente importante de compuestos vasodilatadores que pueden llegar a utilizarse en el desarrollo de fármacos antihipertensivos alternativos o bien como herramientas en la investigación.

## 10. CONCLUSIÓN

El veneno de *P. ornata* produce un efecto vasodilatador dependiente de la concentración que actúa de manera independiente del endotelio vascular e involucra principalmente a la vía del NO/GMPc y el bloqueo de canales de calcio tipo L. Tal efecto vasodilatador podría deberse también a péptidos ricos en puentes disulfuro. Se corrobora el panorama de los compuestos vasodilatadores presentes en terafósidos, pues existen trabajos sobre la actividad vasodilatadora de especies del género *Poecilotheria*. También, se justifican algunos síntomas en humanos ocasionados por las mordeduras de estas especies como la hipotensión. Sin embargo, aún hace falta una mayor investigación sobre la identificación de los compuestos del veneno de *P. ornata* que causan vasodilatación. También, es importante la investigación acerca de la óxido nítrico sintasa a nivel del músculo liso vascular y comprobar si existen proteínas en el músculo liso vascular por las que el L-NAME pudiese tener interacción.

## 11. REFERENCIAS

- Ahmed, N., Pinkham, M., y Warrell, D. A. (2009). Symptom in search of a toxin: Muscle spasms following bites by Old World tarantula spiders (*Lampropelma nigerrimum*, *Pterinochilus murinus*, *Poecilotheria regalis*) with review. *QJM*, 102(12), 851–857. <https://doi.org/10.1093/qjmed/hcp128>.
- Andreev-Andrievskiy, A., Popova, A., Lagereva, E., Osipov, D., Berkut, A., Grishin, E., y Vassilevski, A. (2017). Pharmacological analysis of *Poecilotheria* spider venoms in mice provides clues for human treatment. *Toxicon*, 138, 59–67. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2017.08.013>.
- Bahk, J. W., Kim, H., Jung-Choi, K., Jung, M. C., y Lee, I. (2012). Relationship between prolonged standing and symptoms of varicose veins and nocturnal leg cramps among women and men. *Ergonomics*, 55(2), 133–139. <https://doi.org/10.1080/00140139.2011.582957>.
- Barnett, A. (2007). Exenatide. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, 8(15), 2593–2608. <https://doi.org/10.1517/14656566.8.15.2593>.
- Basatemur, G. L., Jørgensen, H. F., Clarke, M. C. H., Bennett, M. R., y Mallat, Z. (2019). Vascular smooth muscle cells in atherosclerosis. In *Nature Reviews Cardiology* (Vol. 16, Issue 12, pp. 727–744). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/s41569-019-0227-9>.
- Bourreaux, J.-P., Kitchenerb, P., Kwana, C. Y., Bourreaux, J.-P., Karger, S., y Basel, A. G. (1992). Nonendothelial Aortic Source of Nitric Oxide in Wistar-Kyoto Normotensive and Spontaneous Hypertensive Rats Keywords Nitric oxide synthase NADPH diaphorase Hypertension. In *Biol Signals* (Vol. 1).
- Calmette. (1896). Antivenomous serum in snake bite. *The Treatment of Animals Poisoned with Snake Venom by the Injection of Antivenomous Serum*. <https://doi.org/10.1136/bmj.2.1859.399>.
- Casewell, N. R., Wüster, W., Vonk, F. J., Harrison, R. A., y Fry, B. G. (2013). Complex cocktails: The evolutionary novelty of venoms. In *Trends in Ecology and Evolution* (Vol. 28, Issue 4, pp. 219–229). <https://doi.org/10.1016/j.tree.2012.10.020>.
- Cheah, Das, Ballard, Yang, y Daniel. (2002). Evidence For The Existence Of A Constitutive Nitric Oxide Synthase In Vascular Smooth Muscle. Reversal of field-stimulated contraction by L-NAME of endothelium-denuded rat aorta immunohistochemical evidence for the presence of NOS in VSM cells. <https://doi.org/10.1046/j.1440-1681.2002.03707.x>.

Chen, H. H., Lainchbury, J. G., Burnett, J. C., Sullivan Foundation, J., y Rappaport Program in Vascular Biology, R. (2002). Natriuretic Peptide Receptors and Neutral Endopeptidase in Mediating the Renal Actions of a New Therapeutic Synthetic Natriuretic Peptide Dendroaspis Natriuretic Peptide. In *Journal of the American College of Cardiology* (Vol. 40, Issue 6).

Cherki, R. S., Kolb, E., Langut, Y., Tsveyer, L., Bajayo, N., y Meir, A. (2014). Two tarantula venom peptides as potent and differential Nav channels blockers. *Toxicon*, 77, 58–67. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2013.10.029>.

Conor, J. O., y Tcheng, J. E. (1999). Eptifibatide: a potent inhibitor of the platelet receptor integrin, glycoprotein IIb/IIIa. In *Exp. Opin. Invest. Drugs* (Vol. 8, Issue 11). <http://www.ashley-pub.com>.

Cromer, B. A., y McIntyre, P. (2008). Painful toxins acting at TRPV1. In *Toxicon* (Vol. 51, Issue 2, pp. 163–173). <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2007.10.012>.

Cushman, D. W., y Ondetti, M. A. (n.d.). Personal and Historical Perspectives History of the Design of Captopril and Related Inhibitors of Angiotensin Converting Enzyme. <http://hyper.ahajournals.org/>.

Daly, N. L., y Craik, D. J. (2011). Bioactive cystine knot proteins. In *Current Opinion in Chemical Biology* (Vol. 15, Issue 3, pp. 362–368). <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2011.02.008>.

Daly, N. L., y Wilson, D. (2018). Structural diversity of arthropod venom toxins. In *Toxicon* (Vol. 152, pp. 46–56). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2018.07.018>.

Das, R., Kravtsov, G. M., Ballard, H. J., y Kwan, C. Y. (1999). L-NAME inhibits Mg<sup>2+</sup> induced rat aortic relaxation in the absence of endothelium. *British Journal of Pharmacology*, 128(2), 493–499. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0702737>.

del Brutto, O. H. (2013). Neurological effects of venomous bites and stings. Snakes, spiders, and scorpions. In *Handbook of Clinical Neurology* (Vol. 114, pp. 349–368). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-53490-3.00028-5>.

De Roodt, A. R., Salomón, O. D., Lloveras, S. C., y Orduna, T. A. (2001). Envenenamiento por arañas del género *Loxosceles*.

Díaz-Peña, L. F., Ramírez, R., Cuéllar-Balleza, L., Aguilar, M. B., Lazcano-Pérez, F., Arreguín-Espinosa, R., Ibarra-Alvarado, C., y García-Arredondo, A. (2019). Rat aorta relaxation induced by the venom of *Poecilotheria regalis* involves the activation of the NO/cGMP pathway. *Toxicon*, 163, 12–18. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2019.03.010>.



Dibianco, R. (1986). Adverse drug experience review adverse reactions with angiotensin converting enzyme (ACE) Inhibitors. In Medical Toxicology: Vol. I.

Diniz, M. R. V., Paiva, A. L. B., Guerra-Duarte, C., Nishiyama, M. Y., Mudadu, M. A., de Oliveira, U., Borges, M. H., Yates, J. R., y Junqueira-de-Azevedo, I. de L. (2018). An overview of *Phoneutria nigriventer* spider venom using combined transcriptomic and proteomic approaches. In PLoS ONE (Vol. 13, Issue 8). Public Library of Science. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0200628>.

Diochot, S., Drici, M. D., Moinier, D., Fink, M., y Lazdunski, M. (1999). Effects of phrixotoxins on the Kv4 family of potassium channels and implications for the role of  $I_{to1}$  in cardiac electrogenesis. *British Journal of Pharmacology*, 126(1), 251–263. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0702283>.

Duarte Weinberg, M. L., Cordeiro, M. N., de Lima, M. E., Oliveira, L. C., y Ribeiro Diniz, C. (2002). Endothelium-Dependent relaxation of rat mesenteric arterial rings by a *Phoneutria nigriventer* venom fraction. In *Jpn. J. Pharmacol* (Vol. 88).

Escoubas, P., y Rash, L. (2004). Tarantulas: Eight-legged pharmacists and combinatorial chemists. *Toxicon*, 43(5), 555–574. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2004.02.007>.

Estrada-Gomez, S., Vargas Muñoz, L. J., y Quintana Castillo, J. C. (2013). Extraction and partial characterization of venom from the Colombian spider *Pamphobeteus aff. nigricolor* (Aranae:Theraphosidae). *Toxicon*, 76, 301–309. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2013.10.014>.

Fatt, P., y Katz, B. (1953). The effect of inhibitory nerve impulses on a crustacean muscle fibre. In *J. Physiol* (Vol. 12).

Fernández-Montraveta, C., y Moya-Laraño, J. (2007). Sex-specific plasticity of growth and maturation size in a spider: Implications for sexual size dimorphism. *Journal of Evolutionary Biology*, 20(5), 1689–1699. <https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2007.01399.x>.

Förstermann, U., y Sessa, W. C. (2012). Nitric oxide synthases: Regulation and function. In *European Heart Journal* (Vol. 33, Issue 7). <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehr304>.

Fossat, P., Dobremez, E., Bouali-Benazzouz, R., Favereaux, A., Bertrand, S. S., Kilk, K., Léger, C., Cazalets, J. R., Langel, Ü., Landry, M., y Nagy, F. (2010). Knockdown of L calcium channel subtypes: Differential effects in neuropathic pain. *Journal of Neuroscience*, 30(3), 1073–1085. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3145-09.2010>.

Franck, H., Sweeney, K. M., Sanders, K. M., y Shuttleworth, C. W. R. (1997). Effects of a novel guanilate cyclase inhibitor on nitric oxide-dependent inhibitory neurotransmission in canine proximal colon. *British Journal of Pharmacology*, 122(6), 1223–1229. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0701487>.

Fry, B. G. (2005). From genome to “venome”: Molecular origin and evolution of the snake venom proteome inferred from phylogenetic analysis of toxin sequences and related body proteins. *Genome Research*, 15(3), 403–420. <https://doi.org/10.1101/gr.3228405>.

Fuchs, J., von Dechend, M., Mordasini, R., Ceschi, A., y Nentwig, W. (2014). A verified spider bite and a review of the literature confirm Indian ornamental tree spiders (*Poecilotheria* species) as underestimated theraphosids of medical importance. *Toxicon*, 77, 73–77. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2013.10.032>.

García-Arredondo, A., Rodríguez-Rios, L., Díaz-Peña, L. F., y Vega-ángeles, R. (2015). Pharmacological characterization of venoms from three theraphosid spiders: *Poecilotheria regalis*, *Ceratogyrus darlingi* and *Brachypelma epicureanum*. *Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases*, 21(1). <https://doi.org/10.1186/s40409-015-0017-8>.

García-Arredondo, A., Rojas-Molina, A., Ibarra-Alvarado, C., Lazcano-Pérez, F., Arreguín-Espinosa, R., y Sánchez-Rodríguez, J. (2016). Composition and biological activities of the aqueous extracts of three scleractinian corals from the Mexican Caribbean: *Pseudodiploria strigosa*, *Porites astreoides* and *Siderastrea siderea*. *Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases*, 22(1). <https://doi.org/10.1186/s40409-016-0087-2>.

Gonçalves-Machado, L., Pla, D., Sanz, L., Jorge, R. J. B., Leitão-De-Araújo, M., Alves, M. L. M., Alvares, D. J., de Miranda, J., Nowatzki, J., de Moraes-Zani, K., Fernandes, W., Tanaka-Azevedo, A. M., Fernández, J., Zingali, R. B., Gutiérrez, J. M., Corrêa-Netto, C., y Calvete, J. J. (2016). Combined venomomics, venom gland transcriptomics, bioactivities, and antivenomics of two *Bothrops jararaca* populations from geographic isolated regions within the Brazilian Atlantic rainforest. *Journal of Proteomics*, 135, 73–89. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2015.04.029>.

Herzig, V., y Hodgson, W. C. (2009). Intersexual variations in the pharmacological properties of *Coremiocnemis tropix* (Araneae, Theraphosidae) spider venom. *Toxicon*, 53(2), 196–205. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2008.11.002>.

Herzig, V., y King, G. F. (2015). The cystine knot is responsible for the exceptional stability of the insecticidal spider toxin  $\omega$ -Hexatoxin-Hv1a. *Toxins*, 7(10), 4366–4380. <https://doi.org/10.3390/toxins7104366>.

Hof, T., Chaigne, S., Récalde, A., Sallé, L., Brette, F., y Guinamard, R. (2019). Transient receptor potential channels in cardiac health and disease. In *Nature Reviews Cardiology* (Vol. 16, Issue 6, pp. 344–360). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/s41569-018-0145-2>.

Holford, M., Daly, M., King, G. F., y Norton, R. S. (2018). Venoms to the rescue: Insights into the evolutionary biology of venoms are leading to therapeutic advances. In *Science* (Vol. 361, Issue 6405, pp. 842–843). American Association for the Advancement of Science. <https://doi.org/10.1126/science.aau7761>.

Horta, C. C., Rezende, B. A., Oliveira-Mendes, B. B. R., Carmo, A. O., Capettini, L. S. A., Silva, J. F., Gomes, M. T., Chávez-Olórtegui, C., Bravo, C. E. S., Lemos, V. S., y Kalapothakis, E. (2013). ADP is a vasodilator component from *Lasiadora* sp. Mygalomorph spider venom. *Toxicon*, 72, 102–112. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2013.06.006>.

Ibarra-Alvarado, C., Alejandro García, J., Aguilar, M. B., Rojas, A., Falcón, A., y Heimer de la Cotera, E. P. (2007). Biochemical and pharmacological characterization of toxins obtained from the fire coral *Millepora complanata*. *Comparative Biochemistry and Physiology - C Toxicology and Pharmacology*, 146(4), 511–518. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2007.06.002>.

J M van Luijtelaar, E. L., Ates, N., L Coenen, A. M., y J M van Luijtelaar at NICI, E. L. (1995). York role of L-Type Calcium channel modulation in nonconvulsive epilepsy in rats. In *Epilepsia* (Vol. 36, Issue 1). Raven Press.

Kalapothakis, E., Kushmerick, C., Gusmão, D. R., Favaron, G. O. C., Ferreira, A. J., Gomez, M. v, y Pinto De Almeida, A. (n.d.). Effects of the venom of a Mygalomorph spider (*Lasiadora* sp.) on the isolated rat heart. [www.elsevier.com/locate/toxicon](http://www.elsevier.com/locate/toxicon).

Kaur, S., Shen, X., Power, A., y Ward, M. L. (2020). Stretch modulation of cardiac contractility: Importance of myocyte calcium during the slow force response. In *Biophysical Reviews* (Vol. 12, Issue 1, pp. 135–142). Springer. <https://doi.org/10.1007/s12551-020-00615-6>.

King, G. F. (2011). Venoms as a platform for human drugs: Translating toxins into therapeutics. In *Expert Opinion on Biological Therapy* (Vol. 11, Issue 11, pp. 1469–1484). <https://doi.org/10.1517/14712598.2011.621940>.

King, G. F., y Hardy, M. C. (2013). Spider-Venom Peptides: Structure, pharmacology, and potential for control of insect pests. *Annual Review of Entomology*, 58(1), 475–496. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-120811-153650>.

Kuhn-Nentwig, L., Stöcklin, R., y Nentwig, W. (2011). Venom composition and strategies in spiders. is everything possible? In *Advances in Insect Physiology* (Vol. 40, pp. 1–86). Academic Press Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-387668-3.00001-5>.

Lewis, R. J., Dutertre, S., Vetter, I., y Christie, M. J. (2012). *Conus* venom peptide pharmacology. In *Pharmacological Reviews* (Vol. 64, Issue 2, pp. 259–298). <https://doi.org/10.1124/pr.111.005322>.

Lewis, R. J., y Garcia, M. L. (2003). Therapeutic potential of venom peptides. In *Nature Reviews Drug Discovery* (Vol. 2, Issue 10, pp. 790–802). European Association for Cardio-Thoracic Surgery. <https://doi.org/10.1038/nrd1197>.

Lewis, R. J., Nielsen, K. J., Craik, D. J., Loughnan, M. L., Adams, D. A., Sharpe, I. A., Luchian, T., Adams, D. J., Bond, T., Thomas, L., Jones, A., Matheson, J. L., Drinkwater, R., Andrews, P. R., y Alewood, P. F. (2000). Novel  $\omega$ -conotoxins from *Conus catus* discriminate among neuronal calcium channel subtypes. *Journal of Biological Chemistry*, 275(45), 35335–35344. <https://doi.org/10.1074/jbc.M002252200>.

Libby, P., Ridker, P. M., y Hansson, G. K. (2011). Progress and challenges in translating the biology of atherosclerosis. In *Nature* (Vol. 473, Issue 7347, pp. 317–325). <https://doi.org/10.1038/nature10146>.

Li, P.-L., Jm, M.-W., y Campbell, W. B. (1998). Effect of selective inhibition of soluble guanylyl cyclase on the K<sub>c</sub> channel activity in coronary artery smooth muscle. <http://ahajournals.org>.

Lippens, G., Najib, sJI J., Wodak, S. J., y Tartars, A. (1995). NMR Sequential Assignments and Solution Structure of Chlorotoxin, a Small Scorpion Toxin That Blocks Chloride Channels. In *Biochemistry* (Vol. 34).

Luch, A. (2010). Mechanistic insights on spider neurotoxins. DOI: 10.1007/978-3-7643-8338-1\_8.

Lyle, A. N., y Taylor, W. R. (2019). The pathophysiological basis of vascular disease. In *Laboratory Investigation* (Vol. 99, Issue 3, pp. 284–289). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/s41374-019-0192-2>.

Ma, B., Xi, Z., Li, J., Gao, T., Liao, R., Wang, S., Li, X., Tang, Y., Wang, Z., Hou, S., Jiang, J., Deng, M., Duan, Z., Tang, X., y Jiang, L. (2018). Vasodilator and hypotensive effects of the spider peptide Lycosin-I *in vitro* and *in vivo*. *Peptides*, 99, 108–114. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2017.12.011>.

Machkour-M'Rabet, S., Hénaut, Y., Winterton, P., y Rojo, R. (2011). A case of zootherapy with the tarantula *Brachypelma vagans* (Ausserer, 1875) in traditional

medicine of the Chol Mayan ethnic group in Mexico. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 7. <https://doi.org/10.1186/1746-4269-7-12>.

Meng, Z., Garrett, C. R., Shen, Y., Liu, L., Yang, P., Huo, Y., Zhao, Q., Spelman, A. R., Ng, C. S., Chang, D. Z., y Cohen, L. (2012). Prospective randomised evaluation of traditional Chinese medicine combined with chemotherapy: A randomised phase II study of wild toad extract plus gemcitabine in patients with advanced pancreatic adenocarcinomas. *British Journal of Cancer*, 107(3), 411–416. <https://doi.org/10.1038/bjc.2012.283>.

Menzio, A., Merlini, P. A., y Ardissino, D. (2005). Tirofiban in acute coronary syndromes. In *Expert Review of Cardiovascular Therapy* (Vol. 3, Issue 2, pp. 193–206). <https://doi.org/10.1586/14779072.3.2.193>.

Miljanich, G. P. (2004). Ziconotide: Neuronal Calcium Channel Blocker for Treating Severe Chronic Pain. In *Current Medicinal Chemistry* (Vol. 11).

Moosmang, Schulla, Welling, y Feil. (2003). Dominant role of smooth muscle L-type calciumchannel Cav1.2 for blood pressure regulation. *The EMBO Journal*, 22.

Morales-González, D., Flores-Martínez, E., Zamora-Bustillos, R., Rivera-Reyes, R., Michel-Morfín, J. E., Landa-Jaime, V., Falcón, A., y Aguilar, M. B. (2015). Diversity of A-conotoxins of three worm-hunting cone snails (*Conus brunneus*, *Conus nux*, and *Conus princeps*) from the Mexican Pacific coast. *Peptides*, 68, 25–32. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2015.02.002>.

Mourão, C. B. F., Oliveira, F. N., E Carvalho, A. C., Arenas, C. J., Duque, H. M., Gonçalves, J. C., Macêdo, J. K. A., Galante, P., Schwartz, C. A., Mortari, M. R., Almeida Santos, M. de F. M., y Schwartz, E. F. (2013). Venomic and pharmacological activity of *Acanthoscurria paulensis* (Theraphosidae) spider venom. *Toxicon*, 61(1), 129–138. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2012.11.008>.

Moyes, A. J., Chu, S. M., Aubdool, A. A., Dukinfield, M. S., Margulies, K. B., Bedi, K. C., Hodivala-Dilke, K., Baliga, R. S., y Hobbs, A. J. (2019). C-type natriuretic peptide co-ordinates cardiac structure and function. *European Heart Journal*. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehz093>.

Nagao, T., Illiano, S., y Vanhoutte, P. M. (1992). Heterogeneous distribution of endothelium-dependent relaxations resistant to N<sup>G</sup>-nitro-L-arginine in rats. [www.physiology.org/journal/ajpheart](http://www.physiology.org/journal/ajpheart).

Nentwig, W., Gnädinger, M., Fuchs, J., y Ceschi, A. (2013). A two year study of verified spider bites in Switzerland and a review of the European spider bite literature. *Toxicon*, 73, 104–110. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2013.07.010>.

Nunes, K. P., Costa-Gonçalves, A., Lanza, L. F., Cortes, S. F., Cordeiro, M. N., Richardson, M., Pimenta, A. M. C., Webb, R. C., Leite, R., y de Lima, M. E. (2008). Tx2-6 toxin of the *Phoneutria nigriventer* spider potentiates rat erectile function. *Toxicon*, 51(7), 1197–1206. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2008.02.010>.

Obernier, J. A., y Baldwin, R. L. (2006). Establishing an Appropriate Period of Acclimatization Following Transportation of Laboratory Animals. <https://academic.oup.com/ilarjournal/article-abstract/47/4/364/810898>.

Oparil, S., Acelajado, M. C., Bakris, G. L., Berlowitz, D. R., Cífková, R., Dominiczak, A. F., Grassi, G., Jordan, J., Poulter, N. R., Rodgers, A., y Whelton, P. K. (2018). Hypertension. In *Nature Reviews Disease Primers* (Vol. 4). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2018.14>.

Oswald, R. E., Suchyna, T. M., McFeeters, R., Gottlieb, P., y Sachs, F. (2002). Solution structure of peptide toxins that block mechanosensitive ion channels. *Journal of Biological Chemistry*, 277(37), 34443–34450. <https://doi.org/10.1074/jbc.M202715200>.

Peàez-Miles, F., Perafán, C., y Santamaría, L. (2015). Tarantulas (Araneae: Theraphosidae) use different adhesive pads complementarily during climbing on smooth surfaces: Experimental approach in eight arboreal and burrower species. *Biology Open*, 4(12), 1643–1648. <https://doi.org/10.1242/bio.013144>.

Pennington, M. W., Czerwinski, A., y Norton, R. S. (2018). Peptide therapeutics from venom: Current status and potential. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 26(10), 2738–2758. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2017.09.029>.

Pineda, S. S., Chaumeil, P.-A., Kunert, A., Kaas, Q., Thang, M. W. C., Li, L., Nuhn, M., Herzig, V., Saez, N.-T. J., Cristofori-Armstrong, B., Anangi, R., Senff, S.-T., Gorse, D., y King, G. F. (2018). Spider toxin database ArachnoServer 3.0: an online resource for automated discovery, analysis and annotation of spider toxins. *Bioinformatics*. <http://www.arachnoserver.org/>.

Pöber, J. S., y Sessa, W. C. (2007). Evolving functions of endothelial cells in inflammation. In *Nature Reviews Immunology* (Vol. 7, Issue 10, pp. 803–815). <https://doi.org/10.1038/nri2171>.

Pons, Z., Margalef, M., Bravo, F. I., Arola-Arnal, A., y Muguerza, B. (2016). Grape seed flavanols decrease blood pressure via Sirt-1 and confer a vasoprotective pattern in rats. *Journal of Functional Foods*, 24, 164–172. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2016.03.030>.

Pugsley, M. K., y Tabrizchi, R. (2000). The vascular system an overview of structure and function.

Rahmani, F., Mahdi Banan Khojasteh, S., Ebrahimi Bakhtavar, H., Rahmani, F., Shahsavari Nia, K., Faridaalae, G., Khojasteh, B. M., Bakhtavar, E. H., Nia, S. K., y Poi, F. G. (2014). Poisonous Spiders: Bites, Symptoms, and Treatment; an Educational Review (Vol. 2, Issue 2). [www.jemerg.com](http://www.jemerg.com).

Rattmann, Y. D., Pereira, C. R., Cury, Y., Gremski, W., Marques, M. C. A., y da Silva-Santos, J. E. (2008a). Vascular permeability and vasodilation induced by the *Loxosceles intermedia* venom in rats: Involvement of mast cell degranulation, histamine and 5-HT receptors. *Toxicon*, 51(3), 363–372. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2007.10.007>.

Rattmann, Y. D., Pereira, C. R., Cury, Y., Gremski, W., Marques, M. C. A., y da Silva-Santos, J. E. (2008b). Vascular permeability and vasodilation induced by the *Loxosceles intermedia* venom in rats: Involvement of mast cell degranulation, histamine and 5-HT receptors. *Toxicon*, 51(3), 363–372. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2007.10.007>.

Ravelli, K. G., Ramos, A. de T., Gonçalves, L. B., Magnoli, F. C., y Troncone, L. R. P. (2017). *Phoneutria nigriventer* spider toxin Tx2-6 induces priapism in mice even after cavernosal denervation. *Toxicon*, 130, 29–34. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2017.02.026>.

Rocha-e-Silva, T. A. A., Sutti, R., y Hyslop, S. (2009). Milking and partial characterization of venom from the Brazilian spider *Vitalius dubius* (Theraphosidae). *Toxicon*, 53(1), 153–161. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2008.10.026>.

Rodríguez-Rios, L., Díaz-Peña, L. F., Lazcano-Pérez, F., Arreguín-Espinosa, R., Rojas-Molina, A., y García-Arredondo, A. (2017). Hyaluronidase-like enzymes are a frequent component of venoms from theraphosid spiders. *Toxicon*, 136, 34–43. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2017.07.001>.

Saez, N. J., y Herzig, V. (2019). Versatile spider venom peptides and their medical and agricultural applications. *Toxicon*, 158, 109–126. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2018.11.298>.

Santana, R. C., Perez, D., Dobson, J., Panagides, N., Raven, R. J., Nouwens, A., Jones, A., King, G. F., y Fry, B. G. (2017). Venom profiling of a population of the theraphosid spider *Phlogius crassipes* reveals continuous ontogenetic changes from juveniles through adulthood. *Toxins*, 9(4). <https://doi.org/10.3390/toxins9040116>.

Sarmiento, B. E., Menezes, L. F. S., y Schwartz, E. F. (2019). Insulin release mechanism modulated by toxins isolated from animal venoms: From basic

research to drug development prospects. In *Molecules* (Vol. 24, Issue 10). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/molecules24101846>.

Scarborough, R. M., Naughton, M. A., Teng, W., Rose, J. W., Phillips, D. R., Nannizzi, L., Arfsten, A., Campbell, A. M., y Charog, I. F. (1993). Design of Potent and Specific Integrin Antagonists peptide antagonists with high specificity for glycoprotein IIb-IIIa. In *The journal of biological chemistry* (Vol. 268, Issue 2).

Schini, V. B., y Vanhoutte, P. M. (1991). L-Arginine Evokes Both Endothelium-Dependent and-Independent Relaxations in L-Arginine-Depleted Aortas of the Rat.

Sharpe, I. A., Thomas, L., Loughnan, M., Motin, L., Palant, E., Croker, D. E., Alewood, D., Chen, S., Graham, R. M., Alewood, P. F., Adams, D. J., y Lewis, R. J. (2003). Allosteric  $\alpha$ 1-Adrenoreceptor Antagonism by the Conopeptide  $\rho$ -TIA. *Journal of Biological Chemistry*, 278(36), 34451–34457. <https://doi.org/10.1074/jbc.M305410200>.

Shen, H., Xie, Y., Ye, S., He, K., Yi, L., y Cui, R. (2018). Spider peptide toxin lycosin-I induces apoptosis and inhibits migration of prostate cancer cells. *Experimental Biology and Medicine*, 243(8), 725–735. <https://doi.org/10.1177/1535370218772802>.

Sherwood, D. (2019). Revised taxonomic placement of *Poecilotheria chaojii* Mirza, Sanap y Bhosale, 2014 (Araneae: Theraphosidae) (Vol. 18, Issue 1). <http://wsc.nmbe.ch>.

Smith, P. K., Krohn, R. I., Hermanson, G. T., Mallia, A. K., Gartner, F. H., Frovenzano, M. D., Fujimoto, E. K., Goeke, N. M., Olson, B. J., y Klenk, D. C. (1985). Measurement of Protein Using Bicinchoninic Acid.

Jennifer A. Obernier and Ransom L. Baldwin. (2006). Establishing an Appropriate period of Acclimatization Following Transportation of Laboratory Animals. *ILAR Journal*, Volume 47, Issue 4, Pages 364–369, <https://doi.org/10.1093/ilar.47.4.364>.

Tare, Parkington, coleman, y neild. (1990). Hyperpolarization and relaxation of arterial smooth muscle caused by nitric oxide derived from the endothelium.

Thomas M. Suchyna, Janice H. Johnson, Katherine Hamer, Joseph F. Leykam, Douglas A. Gage, Henry F. Clemo, Clive M. Baumgarten, y Frederick Sachs. (2000). Identification of a peptide toxin from *Grammostola spatulata* spider venom that blocks cation-selective stretch-activated channels. *The Journal of General Physiology*.



Tilleya, D. C., Euma, K. S., Fletcher-Taylor, S., Austina, D. C., Dupré, C., Patrón, L. A., Garcia, R. L., Lam, K., Yarov-Yarovoy, V., Cohenc, B. E., y Sack, J. T. (2014). Chemoselective tarantula toxins report voltage activation of wild-type ion channels in live cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(44), E4789–E4796. <https://doi.org/10.1073/pnas.1406876111>.

Triggle, C. R., Hollenberg, M., Anderson, T. J., Ding, H., Jiang, Y., Ceroni, L., Wiehler, W. B., Ng, E. S. M., Ellis, A., Andrews, K., Mcguire, J. J., y Pannirselvam, M. (2003). The endothelium in health and disease—a target for therapeutic intervention. In *J. Smooth Muscle Res* (Vol. 39, Issue 6).

Tudor, P. P. N. (1996). Solution structure of ShK toxin, a novel potassium channel inhibitor from a sea anemone. *Nature*.

Tuluc, P., y Flucher, B. E. (2011). Divergent biophysical properties, gating mechanisms, and possible functions of the two skeletal muscle Cav 1.1 calcium channel splice variants. *Journal of Muscle Research and Cell Motility*, 32(4–5), 249–256. <https://doi.org/10.1007/s10974-011-9270-9>.

Underwood, C. R., Parthier, C., y Reedtz-Runge, S. (2010). Chapter 9 - Structural basis for ligand recognition of incretin receptors. *Vitamins and hormones: Incretins and insulin secretion*, 84, 251–278. [https://doi.org/10.1016/S0083-6729\(10\)84009-9](https://doi.org/10.1016/S0083-6729(10)84009-9).

Underwood, Patrick Garibay, Lotte Bjerre Knudsen, Sven Hastrup, H. Peters, Rainer Rudolph, y Steffen Reedtz-Runge. (2009). Crystal structure of textilinin-1, a Kunitz-type serine protease inhibitor from the venom of the Australian common brown snake (*Pseudonaja textilis*). *FEBS Journal*, 276(11), 3163–3175. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2009.07034.x>.

Utkin, Y. N. (2015). Animal venom studies: Current benefits and future developments. *World Journal of Biological Chemistry*, 6(2), 28. <https://doi.org/10.4331/wjbc.v6.i2.28>.

Vassilevski, A. A., Kozlov, S. A., y Grishin, E. v. (2009). Molecular diversity of spider venom. In *Biochemistry (Moscow)* (Vol. 74, Issue 13, pp. 1505–1534). <https://doi.org/10.1134/S0006297909130069>.

Wang, L., Wang, Y. J., Liu, Y. Y., Li, H., Guo, L. X., Liu, Z. H., Shi, X. L., y Hu, M. (2014). In vitro potential of lycosin-I as an alternative antimicrobial drug for treatment of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* infections. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 58(11), 6999–7002. <https://doi.org/10.1128/AAC.03279-14>.

Warkentin, T. E., Greinacher, A., y Koster, A. (2008). Bivalirudin. In *Thrombosis and Haemostasis* (Vol. 99, Issue 5, pp. 830–839). <https://doi.org/10.1160/TH07-10-0644>.

Wieling, W., Krediet, C. T. P., van Dijk, N., Linzer, M., y Tschakovsky, M. E. (2007). Initial orthostatic hypotension: Review of a forgotten condition. In *Clinical Science* (Vol. 112, Issues 3–4, pp. 157–165). <https://doi.org/10.1042/CS20060091>.

World Health Organization (WHO/OMS). (2020). The top 10 causes of death. WHO Global Health Estimates. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>.

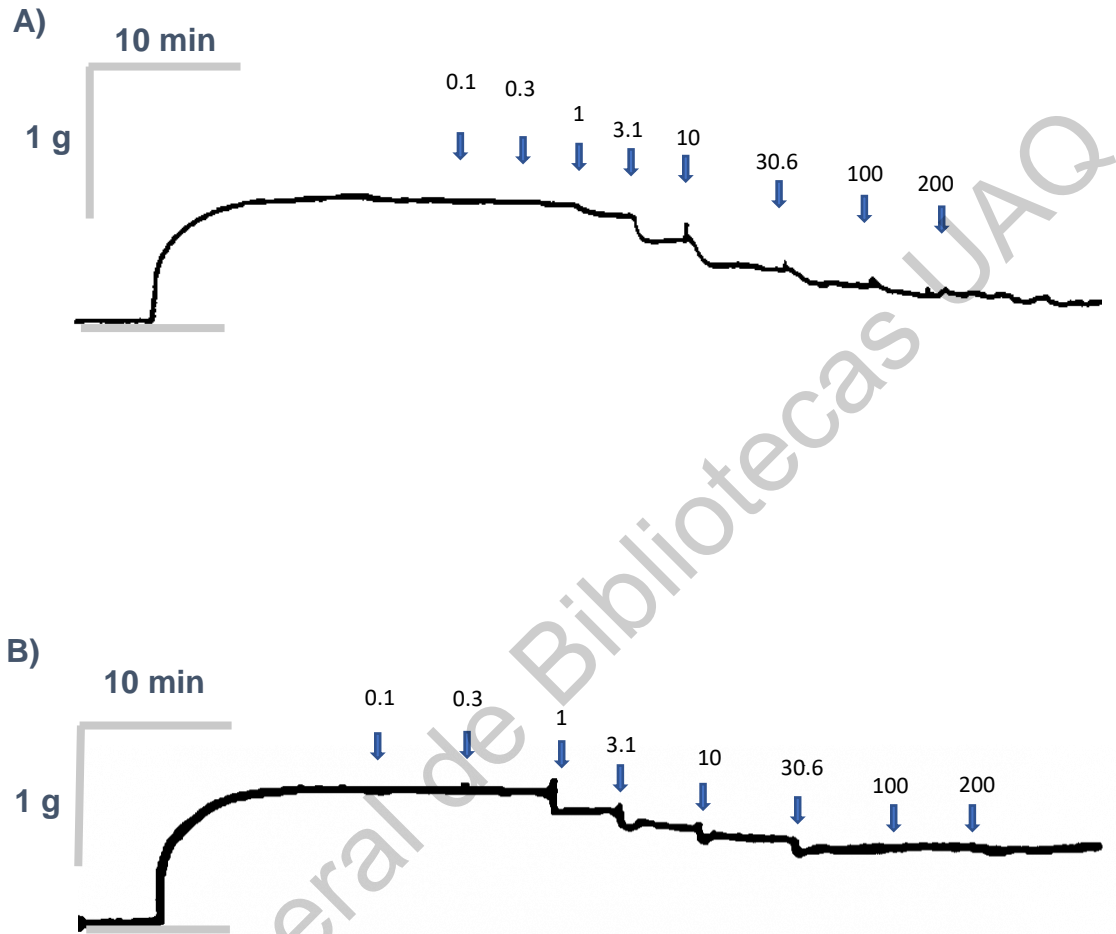
Yafi, F. A., Jenkins, L., Albersen, M., Corona, G., Isidori, A. M., Goldfarb, S., Maggi, M., Nelson, C. J., Parish, S., Salonia, A., Tan, R., Mulhall, J. P., y Hellstrom, W. J. G. (2016). Erectile dysfunction. In *Nature reviews. Disease primers* (Vol. 2, p. 16003). <https://doi.org/10.1038/nrdp.2016.3>.

Yamakage, M., y Namiki, A. (2002). Calcium channels-basic aspects of their structure, function and gene encoding; anesthetic action on the channels-a review.

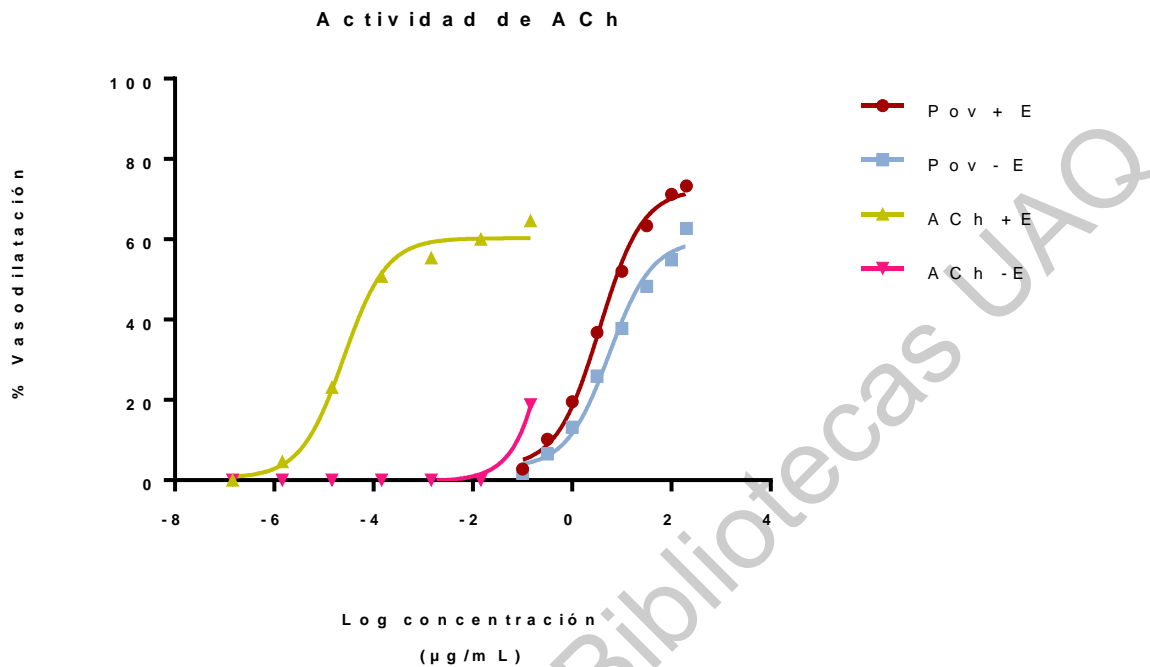
Zamponi, G. W., Striessnig, J., Koschak, A., y Dolphin, A. C. (2015). The physiology, pathology, and pharmacology of voltage-gated calcium channels and their future therapeutic potential. *Pharmacological Reviews*, 67(4), 821–870. <https://doi.org/10.1124/pr.114.009654>.

Zhao, Y., Vanhoutte, P. M., y Leung, S. W. S. (2015). Vascular nitric oxide: Beyond eNOS. In *Journal of Pharmacological Sciences* (Vol. 129, Issue 2, pp. 83–94). Japanese Pharmacological Society. <https://doi.org/10.1016/j.jphs.2015.09.002>.

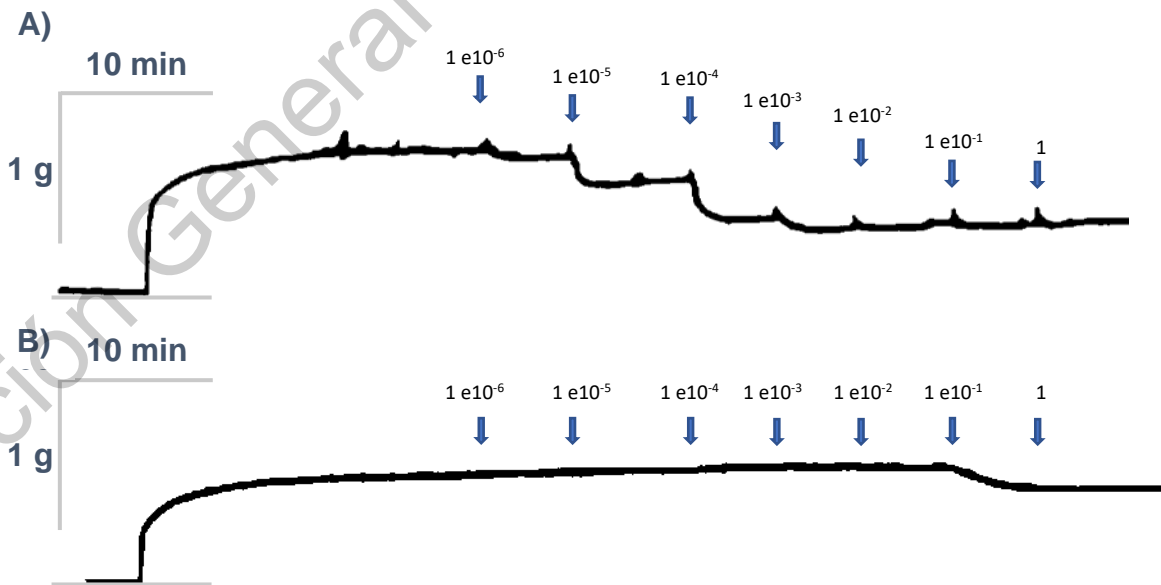
## 12. ANEXOS



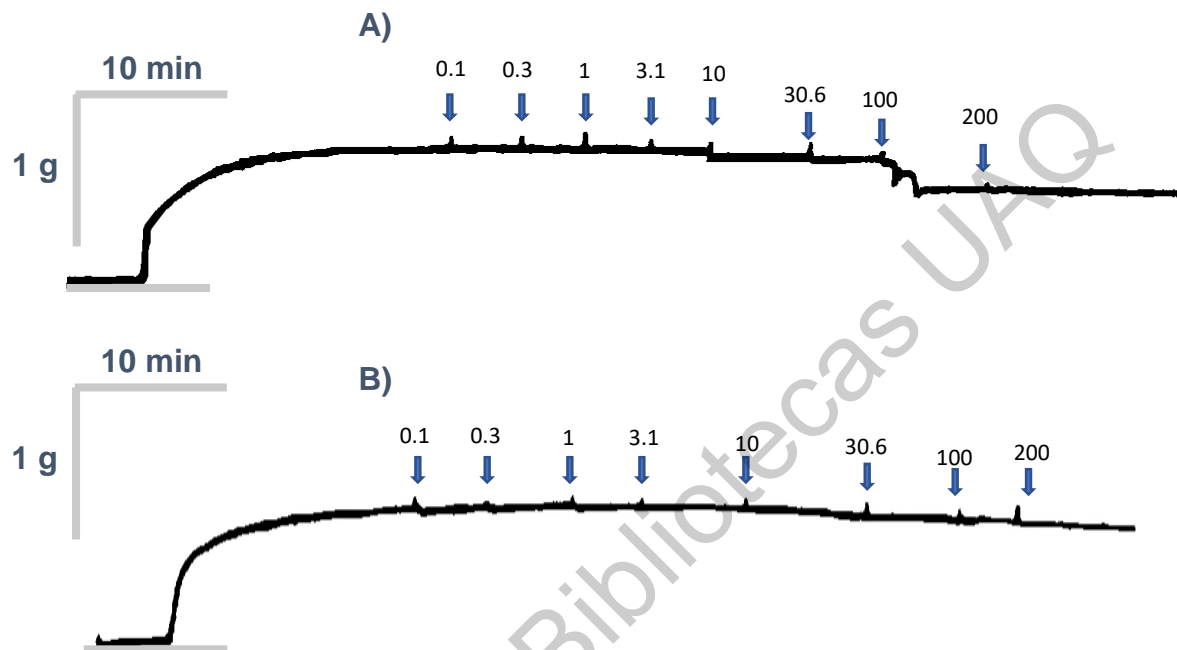
**Anexo 1.** Registro del efecto vasodilatador del veneno de *P. ornata* en presencia y ausencia de endotelio. Veneno de *P. ornata* a diferentes concentraciones [0.1, 0.3, 1, 3.1, 10, 30.6, 100 y 200 µg de proteína/mL] en aorta aislada de rata sin endotelio (A) y con endotelio (B).



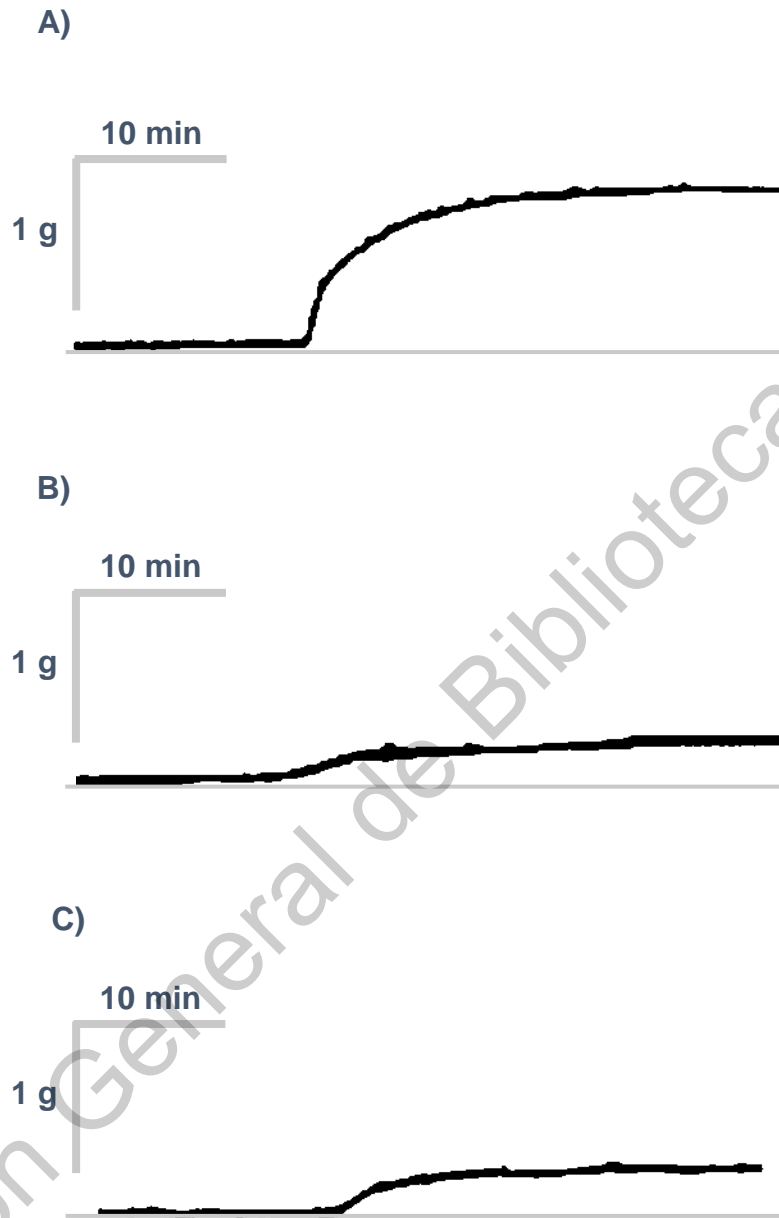
**Anexo 2.** Concentración-respuesta del efecto vasodilatador de ACh y del veneno de *P. ornata* sobre aorta aislada de rata con y sin endotelio vascular.



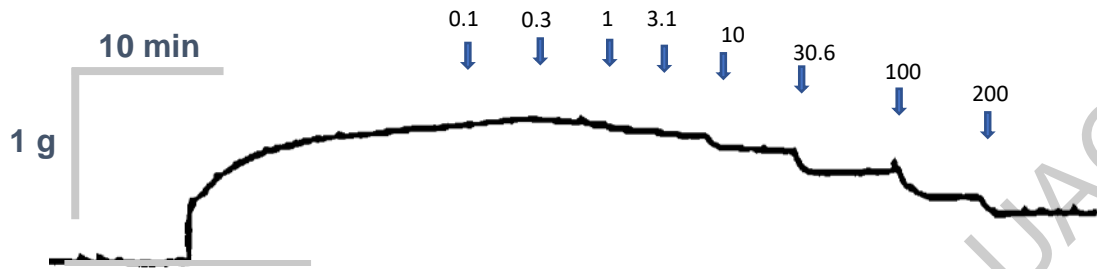
**Anexo 3.** Registro del efecto vasodilatador de las diluciones de ACh [1 x10<sup>-6</sup>, 1 x10<sup>-5</sup>, 1 x10<sup>-4</sup>, 1 x10<sup>-3</sup>, 1 x10<sup>-2</sup>, 1 x10<sup>-1</sup> y 1 µM/mL] en aorta aislada de rata con endotelio (A) y sin endotelio (B).



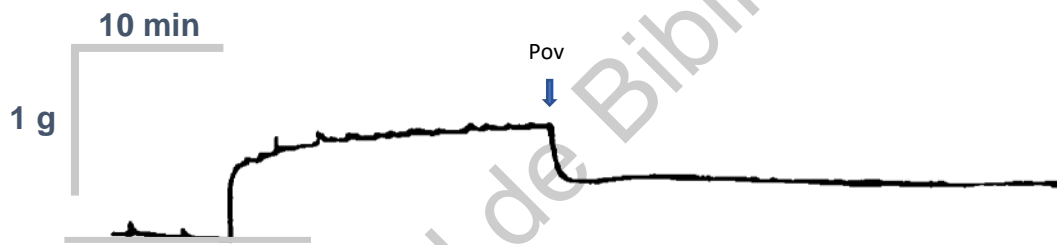
**Anexo 4.** Registro del efecto vasodilatador del veneno de *P. ornata* a diferentes concentraciones en aorta aislada de rata en presencia de (A) L-NAME y (B) ODQ.



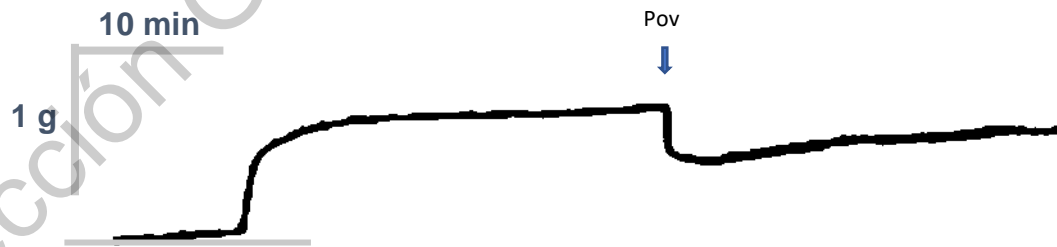
**Anexo 5.** Registros del efecto vasodilatador sobre los canales de calcio tipo L. Control (A), veneno de *P. ornata* (B) y verapamilo (C).



**Anexo 6.** Registro del efecto vasodilatador del veneno de *P. ornata* a diferentes concentraciones en aorta aislada de rata en presencia de TEA.



**Anexo 7.** Registro del efecto vasodilatador del veneno de *P. ornata* en condiciones desnaturalizantes.



**Anexo 8.** Registro del efecto vasodilatador del veneno de *P. ornata* en condiciones reductoras.