

Isolamento das Toxinas do Veneno de *Crotalus durissus terrificus*

Marina Gordillo Fernandes e Patrick Jack Spencer
Instituição de Pesquisas Energéticas e Nucleares – IPEN

INTRODUÇÃO

O gênero de serpente *Crotalus*, existente nas mais diversas regiões do Brasil tem uma grande importância e vem sendo bastante estudado. É representada por uma única espécie, *C. durissus*, classificada em subespécies como, *C. d. terrificus*, *C. d. ruruima*, *C. d. collilineatus*, *C. d. cascavella* e *C. d. marajoensis*. A mais estudada é a *C. d. terrificus*, cujo veneno tem ação neurotóxica, miotóxica e coagulante, e as toxinas que o compõe são crotóxina, crotamina, giroxina e convulxina [1].

Os venenos de serpentes apresentam diferentes composições químicas, acarretando variações das propriedades biológicas, toxicidades e características farmacodinâmicas e farmacocinéticas. É de suma importância a pesquisa sobre caracterização das peçonhas pois contribui para um melhor conhecimento da fisiopatologia do envenenamento, e conseqüentemente leva a melhorias no tratamento de acidentados. Os venenos de serpentes são constituídos por proteínas e peptídeos (90 %), sendo o restante, carboidratos, nucleosídeos, aminas, cátions metálicos, aminoácidos livres e lipídeos. [2].

OBJETIVO

O objetivo do trabalho é caracterizar as frações do veneno bruto da espécie *Crotalus durissus terrificus*.

METODOLOGIA

O “pool” de veneno de *C. d. terrificus* foi cedido gentilmente pelo Instituto Butantan já liofilizado. Foram pesados 30 mg do veneno e dissolvidos em 0.6 ml tampão Fosfato de sódio 20 mM em pH 7,5. Para a caracterização do veneno no equipamento AKTA Purifier, utilizamos a coluna Superdex 75 10/300 GL (GE Healthcare), que foi previamente ambientada com o tampão Fosfato de sódio. Utilizamos absorvância de 280 nm, com fluxo de 0,6 ml/min. Os picos indicados no cromatograma foram coletados, congelados à -80 °C e liofilizados para a realização de novos experimentos, que serão: Eletroforese (SDS-PAGE), *western-blot* e cromatografia de troca iônica para purificação final das toxinas.

RESULTADOS

A cromatografia de exclusão molecular resultou em 5 picos (figura 1) que representam as principais frações do veneno crotálico, sendo elas por ordem de eluição :convulxina , giroxina , crotóxina, crotamina, e, por último o pico V que vem sendo estudado por apresentar intensa atividade analgésica. Analisando as áreas relativas dos picos, observamos que cerca de 50 % da área total do cromatograma corresponde ao pico da crotóxina (pico 3).

APOIO FINANCEIRO AO PROJETO

CNPq

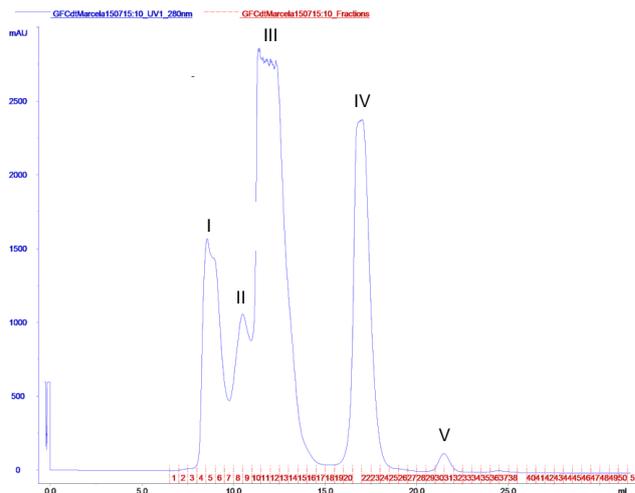


Figura 1. Fracionamento do veneno de *C. d. terrificus* por cromatografia de exclusão molecular, correspondendo respectivamente a: convulxina (I), giroxina (II), crotoxina (III), crotamina (IV) e peptídeos (V).

CONCLUSÕES

O método cromatográfico foi eficiente no isolamento das toxinas do veneno de *C. d. terrificus*. O perfil obtido está em plena consonância com a literatura [3].

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] CARVALHO, D. Efeitos comportamentais do veneno de *Crotalus durissus terrificus* e do soro anticrotálico em Ratos Wistar. Dissertação – Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, São Paulo. 2010.
- [2] CAPRONI, P. Ação da *Bothrops* toxina-1 do veneno total de *Bothrops jararacussu* irradiados sobre o sistema imune. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Universidade de São Paulo, São Paulo 2009.
- [3] AIRD SD, YATES JR 3RD, MARTINO PA, SHABANOWITZ J, HUNT DF, KAISER II. The amino acid sequence of the acidic subunit B-chain of crotoxin. *Biochim Biophys Acta*. Sep 3;1040 (2):217-24 1990.