IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE PROTEINAS CITOTÓXICA DA PEÇONHA DA ARRAIA POTAMOTRYGON FALKNERI

LILIBETE PEREIRA DE OLIVEIRA; MARTA REGINA MAGALHÃES; ELISABETH FERRONI SCHWARTZ

lilibetepereira@gmail.com

A produção de toxinas é uma estratégia que assegura a sobrevivência em um ambiente extremamente competitivo como o ambiente aquático. Os animais pertencentes à espécie Potamotrygon falkneri, possuem um ou mais ferrões retrosserrilhados localizados na base de suas caudas, quando introduzido na vítima, possui o tecido comprimido por contrações musculares que resultam na secreção da peçonha na lesão. Algumas pesquisas publicadas identificaram atividades bioquímicas e farmacológicas com a peçonha de algumas espécies como P. motoro, P. orbignyi, P. scobina e P. henlei. Atividades tóxicas também foram relatadas em arraias dulcícolas, porém estes componentes citotóxicos ainda não foram caracterizados. Portanto o objetivo deste trabalho é identificar e caracterizar componentes de peçonha da arraia da espécie Potamotrygon falkneri. Para a extração da peconha o ferrão foi raspado e o material obtido macerado e diluído em agua. Posteriormente foi realizada a dosagem protéica e o fracionamento em uma coluna Vydac C18 em um gradiente de 0-100% de acetonitrila acidificada com TFA, amostras foram coletadas e secas. Com as frações foram realizados teste hemolítico e o de exclusão do corante azul de trypan com células H9 para triagem da molécula com atividade citotóxica. A dosagem proteica apresentou uma diferença significativa em relação á quantidade de proteínas obtida na serpente Bothrops moojeni, sendo que possuem ambientes e funcionalidades diferenciadas. O perfil proteico apresentou picos eluídos no gradiente de 0-20% houve um intervalo e novos picos foram eluídos em um gradiente a partir de 50%-80%. Enquanto que na peçonha de P.orbignyi o gradiente máximo foi de 60%. O teste hemolítico com veneno bruto mostrou apenas 6,5% enquanto uma região se destacou apresentando 26% de hemólise na concentração de 5,2.10-3 µg/µl. Paralelamente foi realizado o teste de exclusão azul de trypan com a peçonha bruta e com as frações obtidas. A peçonha bruta obteve uma citotoxicidade nas concentrações de 2,62 e 1,31 µg/µl com 24 horas de tratamento. Em relação ás frações, duas delas se destacaram, uma apresentou citotoxicidade em todos os tempos testados 24, 48 e 72 horas. A fração 1 na concentração de 12,05.10-2 μg/μl e a fração 10 na concentração 1,95.10-2 μg/μl, sendo esta mais tóxica pois apresentou citotoxicidade com uma baixa concentração. Com esta fração foi realizada uma recromatografia, purificação e repetido o teste, observou-se que nas duas concentrações 5,9.10-2 e 4.10-2 µg/µl foram citotóxicas nos tempos de 24 e 48 horas, tempo estes que ocorre o surgimento da necrose no acidentando, podendo esta ser responsável por este sintoma. Podemos concluir, portanto, que a peçonha de P. falkneri possui uma quantidade pequena de proteína em relação aos animais terrestres, a peçonha bruta apresentou uma baixa hemólise enquanto uma determinada fração apresentou uma hemólise superior e principalmente a citotoxicidade apresentada em uma baixa concentração. Este trabalho possui como perspectivas a realização de atividades para descobrir o mecanismo de ação da molécula purifica.

Palavras-chave: Toxinas, Ferrão, Dulcícolas,