



RESUMOS DE PESQUISA201

RESUMOS DE PESQUISA

ATIVIDADE MODULADORA DE DUAS BETA-NEUROTOXINAS DE MICRURUS LEMNISCATUS LEMNISCATUS
(COBRA-CORAL SUL AMERICANA) SOBRE A EXPRESSÃO DE PROTEÍNAS DO COMPLEXO SNARE..... 202

Pesquisa (ENAPI)

UNIVERSIDADE DO OESTE PAULISTA - UNOESTE

Ciências Biológicas

Comunicação oral

Farmacologia

ATIVIDADE MODULADORA DE DUAS BETA-NEUROTOXINAS DE MICRURUS LEMNISCATUS
LEMNISCATUS (COBRA-CORAL SUL AMERICANA) SOBRE A EXPRESSÃO DE PROTEÍNAS DO
COMPLEXO SNARE

RAFAEL STUANI FLORIANO
PATRICIA COSTA PANUNTO
KRISTIAN A. TORRES-BONILLA
THALITA ROCHA
PAULA A. SAENZ-SUAREZ
NELSON JORGE DA SILVA JR.
JULIAN FERNANDEZ ULATE
BRUNO LOMONTE
EDWARD G. ROWAN
STEPHEN HYSLOP

Cobras corais (*Micrurus* spp.) causam potente neurotoxicidade mediada por toxinas three-finger (3FTx) e fosfolipases A2 (PLA2). A coral *Micrurus lemniscatus lemniscatus* está amplamente distribuída no norte do Brasil e ocasionalmente causa envenenamento em humanos. Visamos identificar estrutural e farmacologicamente toxinas pré-sinápticas da peçonha de *M. l. lemniscatus*. A peçonha foi purificada por RP-HPLC (C18) e as frações PLA2 cataliticamente ativas foram testadas em preparação nervo frênico-diafragma (NFD) de camundongo para avaliar seus efeitos em potenciais de placa terminal em miniatura (MEPPs). A estrutura molecular das toxinas pré-sinápticas foi determinada por MALDI-TOF. A ação das toxinas sobre as correntes iônicas (Na⁺, K⁺ and Ca²⁺) foi avaliada em neurônios isolados de gânglios de raiz dorsal (DRG) de rato por whole cell patch-clamp, enquanto que seus efeitos sobre a excitose sináptica motora foram avaliados em preparação NFD por imunofluorescência. Procedimentos experimentais aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UNICAMP (protocolo 3477-1). A cromatografia da peçonha revelou numerosos picos e sete deles exibiram atividade PLA2 (P30-P34, P37 e P38). P30 exibiu um efeito trifásico sobre a frequência e MEPPs, enquanto que P37 causou progressiva diminuição na liberação de acetilcolina (ACh). A pureza das toxinas P30 (MLL-Tx-I; 13.699 Da) e P37 (MLL-Tx-II; 13.332 Da) foi confirmada por MALDI-TOF revelando 118 e 122 aminoácidos, respectivamente; ambas as toxinas compartilharam sequências com outras PLA2s elapídicas. As toxinas não afetaram as correntes de Na⁺ e K⁺ em DRG; no entanto, MLL-Tx-I causou progressiva diminuição da corrente de Ca²⁺, enquanto que MLL-Tx-II inicialmente aumentou o influxo de Ca²⁺ seguido por significativa diminuição. As toxinas não interagiram com receptores pós-sinápticos [beta-Btx-TRITC (+)] ou interferiram com a formação de vesículas sinápticas em placas motoras de NFD [anti-sinaptofisina (+)]; entretanto, as toxinas diminuíram a expressão de proteínas envolvidas na ancoragem das vesículas sinápticas [anti-SNAP25 (-) and anti-syntaxin (-)]. As toxinas MLL-Tx-I e MLL-Tx-II causam a supressão da neurotransmissão motora afetando os mecanismos de liberação de ACh, efeito atípico para corais porém comum em outros elapídeos. MLL-Tx-I e MLL-Tx-II são PLA2 (Asp49) que bloqueiam o influxo de Ca²⁺ em DRG e afetam a expressão de SNAP25 e syntaxina em placas motoras de mamífero. Órgão de fomento financiador da pesquisa: FAPESP (2014/24409-8; 2016/23432-1) Protocolo CEUA: 34771.