

Area de Beca: CA - Cs. Agropecuarias

Título del Trabajo: **PLA2 ISOFORMAS DEL COMPLEJO CROTOXINA COMO POTENCIAL INMUNOGENO EN LA PRODUCCIÓN DE SUERO ANTIOFÍDICO.**

Autores: FUSCO, LUCIANO S.- ACOSTA, OFELIA C.- RODRIGUEZ, JUAN P.

E-mail de Contacto: fuscoluciano@hotmail.com

Teléfono: 3794457996 Int. 112

Tipo de Beca: Cofinanciadas Tipo I

Resolución Nº: 0843/11 CD

Período: 01/04/2011 - 31/03/2014

Proyecto Acreditado: PI B013-2010. "Nuevas formulaciones de inmunobiológicos para el tratamiento de la intoxicación ofídica" SGCyT. UNNE. 2010-2013

Lugar de Trabajo: Facultad de Cs. Veterinarias

Palabras Claves: Cascabel, Seroterapia, Fosfolipasa.

Resumen:

El veneno de *Crotalus durissus terrificus* (*C.d.t.*; Cascabel) es una secreción neurotóxica y miotóxica que induce la muerte en el intoxicado si la seroterapia no se aplica a tiempo. Esta consiste en la administración de antiveneno crotálico generado en caballos por inmunizaciones sucesivas de cantidades crecientes de veneno. Actualmente, la investigación en la producción de tales antisueros, está centrada en la búsqueda de nuevas alternativas que eviten la inoculación del veneno entero en animales productores, el cual provoca los mismos síntomas de intoxicación que en el accidente crotálico, aunque en menores proporciones, dadas las reducidas dosis empleadas en el proceso de inmunización. Trabajos previos desarrollados en nuestro laboratorio demostraron que el uso de un antiveneno anti fracción fosfolipasa A₂ (PLA₂) neutraliza su letalidad y evita la inoculación del veneno entero en los animales productores. Así con el objeto de profundizar el conocimiento del empleo de PLA₂ crotálica como inmunógeno en la producción de antivenenos, en este trabajo se estudio la fracción PLA₂ a fin de separar sus isoformas y comparar sus propiedades farmacológicas, inmunogénicas y toxicológicas en un proceso de inmunización. Se purificaron cuatro isoformas de la fracción PLA₂ de *C.d.t.*, designadas P9a (*Cdt*-PLA₂), P9b (*Cdt*-PLA₂) y P10a (*Cdt*-PLA₂), P10b (*Cdt*-PLA₂). Para la purificación de las PLA_{2(s)} crotálicas, se utilizó cromatografía líquida de alta presión de fase reversa (HPLC-RP) en columna C18 (Discovery, Fluka-Sigma). Se determinaron las masas moleculares de las isoformas por espectrometría de masas (MALDI-TOF; para P9a - PLA₂: 14,193.8340; P9b - PLA₂:14,242.6289; P10a - PLA₂: 14,134.9102; P10b PLA₂: 14,183.8730) y se secuenciaron parcialmente por espectrometría de masa en tándem (ESI Q-TOF). Adicionalmente, se estudiaron las actividades neurotóxica, en preparaciones musculares de biventer cervis de pollo, y miotóxica, en músculo gastrocnemio. En última instancia se inmunizaron grupos de ratones (n = 5) para evaluar la síntesis de anticuerpos frente a las proteínas inyectadas por la técnica de ELISA. Los resultados obtenidos en estos ensayos demostraron que P9a (*Cdt*-PLA₂) es sensiblemente menos tóxica que las restantes fosfolipasas (*Cdt*-PLA₂) y que las cuatro isoformas por su elevada homología (>90%) estimulan la producción de anticuerpos en el mismo orden (10⁶) en los animales utilizados. Por esto, P9a (*Cdt*-PLA₂) podría ser seleccionada como mejor inmunógeno para la producción de antiveneno crotálico.

Becario
(Firma)

Co-Autor
(Firma)

Co-Autor
(Firma)

Director de Beca
(Firma y Aclaración)

Director de Proyecto
(Firma y Aclaración)