



XXIII Comunicaciones Científicas y Tecnológicas

Orden Poster: CE-010 (ID: 626)

Autor: Fusco, Luciano Sebastian

Título: Caracterización de la fracción fosfodiesterasa del veneno de *Crotalus durissus terrificus*

Director:

Palabras clave: Fosfodiesterasa, Veneno, Cascabel

Área de Beca: Cs. Naturales Y Exactas

Tipo Beca: Cofinanciadas Pos-doctorales

Periodo: 01/04/2016 al 28/02/2018

Lugar de trabajo: Iquiba Nea - Inst. De Química Básica Y Aplicada Del Nordeste Argentino

Proyecto: (13CF01) Proteínas de venenos ofídicos con potencial aplicación farmacológica

Resumen:

Las fosfodiesterasas (PDEs) pertenecen a una super-familia de enzimas que tienen múltiples funciones en el metabolismo de nucleótidos. Los venenos de serpientes contienen PDE (e.j. *Trimeresurus stejnegeri*, *Daboia russelli russelli*, *Bothrops jararaca*) pero su función, hasta el presente, no es totalmente comprendida. En este trabajo, se aisló una fracción PDE del veneno de *Crotalus durissus terrificus* (CDT-PDE) a través de dos etapas cromatográficas. La primera consistió en una columna de exclusión molecular (Superdex G-75) donde los componentes del veneno se resolvieron en seis picos cromatográficos, de los cuales el primero presentó actividad PDE. Estas fracciones fueron mezcladas en un pool, concentradas y luego aplicadas a una columna de intercambio aniónico (Q-FF). Las fracciones que eluyeron en primer término exhibieron actividad PDE, las que fueron colectadas para su análisis. La homogeneidad de las bandas visualizadas por electroforesis en geles de poliacrilamida en SDS-PAGE fue verificada por espectrometría de masa. Se identificaron dos isoformas con una masa de 96,32 y 91,69 kDa, y con un punto isoeléctrico de 7,84 y 8,7 respectivamente. Se estudió la influencia de la temperatura en un rango de 4-80°C y del pH (4-10) sobre la actividad enzimática de la fracción PDE, empleando bis-p-nitrofenilfosfato como sustrato y adicionalmente su actividad sobre diferentes sustratos como Adenosin mono, di y trifosfato (AMP, ADP y ATP). Los resultados demuestran la factibilidad de aislamiento de esta fracción fosfodiesterasa con pureza apropiada, la cual contiene dos isoformas. Los estudios de caracterización enzimática de esta fracción de PDEs mostró que la actividad es óptima a 50-60°C por encima de la cual pierde totalmente actividad. La fracción mostró máxima actividad a pH 6 y a pH 8, probablemente debido a la presencia de dos isoformas.

Los resultados demuestran que esta fracción PDEs puede actuar sobre diferentes sustratos como AMP > ADP > ATP, así la fracción tendría también actividad 5'nucleotidasa, comportamiento similar a la enzima aislada del veneno de *Agkistrodon acutus*.

De este estudio, es de interés destacar, que el efecto enzimático de las PDEs es capaz de liberar adenosina. Son diversos los efectos asociados a este nucleosido (vasodilatación, edema, cardiovascular, etc) y futuros estudios bioquímicos y moleculares podrán dilucidar el rol de estas proteínas en la intoxicación crotálica como así también su potencial aplicación farmacológica.