

Area de Beca: CA - Cs. Agropecuarias

Título del Trabajo: CAPACIDAD NEUTRALIZANTE DE ANTICUERPOS ANTI-FOSFOLIPASA A2 (ANTI-PLA2) OBTENIDOS DE CONEJOS SOBRE LA MIOTOXICIDAD INDUCIDA POR EL VENENO DE BOTHROPS DIPORUS (YARARÁ CHICA)

Autores: VALADA, JESICA T., TEIBLER, PAMELA G., MARUÑAK, SILVANA L.

E-mail de Contacto: smarunak@yahoo.com.ar **Teléfono:** 3794- 425753 int 169

Tipo de Beca: UNNE Pregrado **Resolución Nº:** 1012/12 **Período:** 01/03/2013 - 01/03/2014

Proyecto Acreditado: Proyecto financiado por la Secretaría de Ciencia y Técnica- UNNE PI Nº B013- 2009. Período 1-1-10 al 31-12-2013. Res. Nº 1080/09-C.S. NUEVAS FORMULACIONES DE INMUNOBIOLOGICOS PARA EL TRATAMIENTO DE LA INTOXICACION OFIDICA

Lugar de Trabajo: Facultad de Cs. Veterinarias

Palabras Claves: Ofidio, Inmunoglobulinas, necrosis

Resumen:

Las fosfolipasas A₂ del veneno de serpientes del género Bothrops de Argentina son capaces de causar daños severos en algunos tejidos como hígado (congestión y una excesiva concentración de células necrosadas), pulmón (hemorragia), corazón (hemorragia y necrosis interfibrilar), riñón (necrosis glomerular y tubular) y músculo (necrosis). Algunos autores avalan la hipótesis de que la miotoxicidad observada es consecuencia de una acción indirecta de las fosfolipasas, que conducen al aumento de iones Ca²⁺ dentro de la célula y a la activación de proteasas intracelulares. Es un objetivo del proyecto producir antiveneno ofídico contra el veneno de las serpientes autóctonas de la región donde éste se va a aplicar, restringiendo la especificidad de los anticuerpos contra los componentes del veneno entero responsables de los efectos deletéreos de mayor gravedad para la víctima, ya que reduce la cantidad de suero a inyectar en los pacientes, por ser más específico. Existen escasos reportes relacionados con alteraciones de los animales inoculados con venenos de serpientes para la producción de antivenenos. Autores reportaron que las dosis utilizadas de enzimas aisladas del veneno de *B. alternatus* (yará grande) como de *Crotalus durissus terrificus* (cascabel) en las vacunas inducen a una buena respuesta inmunológica sin afectar órganos vitales y que en el control clínico de los conejos no se observó anormalidad alguna. En este trabajo se pretende generar información acerca de alternativas en el tratamiento de la intoxicación, como así también el grado de participación de un componente dado en la intoxicación producida por el veneno entero. Grupo de 4 ratones de la cepa CF1, fueron inyectados por vía intramuscular en el músculo gastronemio derecho (0.1 ml volumen final), con 20 µg de veneno entero otro grupo con una mezcla veneno (20µg)/anticuerpos (partiendo de una concentración de 25 mg/ml IgG) incubado 30' a 37°C, y animales controles tratados con PBS. Luego de 3 horas de exposición los animales fueron sacrificados previa anestesia y se procedió a la extracción del músculo inoculado, para su posterior procesamiento histopatológico y observación a través del microscopio óptico. Se pudo observar en los cortes de músculos de animales controles que la fibra muscular conservaban su estructura normal mientras que los músculos inoculados con veneno entero presentaban intensa hemorragia, acompañado de infiltrado inflamatorio polimorfonuclear, además de grandes áreas de mionecrosis tanto miolítica como coagulativa. Mientras que en los músculos inoculados con la mezcla de veneno/ Anticuerpos anti-PLA₂ se observó que la mayoría de las fibras musculares conservaron su estructura fusiforme y multinucleada observándose además las estriaciones transversales, mientras que en otras áreas se encontró, en menor número, fibras musculares necróticas y pequeñas áreas de infiltrado inflamatorio. En cuanto a la hemorragia su intensidad fue similar al de veneno entero. La actividad miotóxica del veneno fue reducida por las IgG presentándose cambios significativos en los niveles de CK de los ratones inoculados con veneno preincubado con las IgG específicas contra la PLA₂ aislada respecto de los animales controles (trabajo presentado anteriormente). Al apreciar una reducción de la miotoxicidad, se puede pensar en la inhibición de algún tipo de PLA₂ causante de miotoxicidad local; de una posible sinergia con las metaloproteasas o ambas. Los resultados muestran la capacidad de los anticuerpos anti-PLA₂ de neutralizar la actividad miotóxica inducida por el veneno entero. Las lesiones locales más leves observadas podrían deberse a la acción indirecta de la isquemia secundaria a la hemorragia. Estos hallazgos tienen un valor trascendental si se tiene en cuenta que al disponer de anticuerpos dirigidos contra un componente particular del veneno, se logra disminuir el efecto citotóxico por la acción sinérgica de la de la fosfolipasa con las hemorraginas presentes en el veneno.

Becario
(Firma)

Co-Autor
(Firma)

Co-Autor
(Firma)

Director de Beca
(Firma y Aclaración)

Director de Proyecto
(Firma y Aclaración)