

USO DE TRAÇADOR RADIOATIVO PARA O ESTUDO DE BIODISTRIBUIÇÃO DE DIFERENTES TOXINAS ANIMAIS.

Nanci do Nascimento, Patricia B. Clissa, Heitor F. Andrade Jr*, Erika P. Andriani, Bruno A. Cardi, Maria A. P. Camillo & José R. Rogero.

Coordenadoria de Bioengenharia - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN/CNEN/SP)
Travessa r., no.400 - CEP 05508-000 - São Paulo - SP

*Instituto de Medicina Tropical de São Paulo - FMUSP.

Acidentes com animais peçonhentos são frequentes em nosso meio, envolvendo geralmente a inoculação de toxinas que apresentam comportamentos biológicos diferentes, dependendo da espécie animal envolvida. Estes acidentes apresentam importante letalidade e morbidade relativamente alta, principalmente quando causados por serpentes do genero *Crotalus* ou *Bothrops*, respectivamente. Estas toxinas apresentam potência elevada, bastando poucos microgramas para o desenvolvimento do quadro clínico característico e morte, nos casos mais graves. O único tratamento possível e eficaz é a soroterapia utilizando antissoros produzidos contra toxinas específicas. Nosso laboratório tem voltado sua pesquisa para a inativação de toxinas de serpentes, através do uso da radiação ionizante, com obtenção de excelentes resultados na destoxicação de venenos, sem perda das qualidades imunológicas do produto irradiado, com o objetivo de implementar a produção de antissoros.

Ainda nesta linha de pesquisa, o conhecimento sobre a cinética da distribuição destas toxinas nos vários órgãos dos animais experimentais forneceria subsídios fundamentais para a compreensão da doença humana, com evidentes implicações na terapia imediata dos acidentes, uma vez que o tempo é fator limitante para o sucesso da soroterapia.

Infelizmente, a busca na literatura mostrou poucas e restritas análises da biodistribuição das toxinas animais, na maioria dos casos visando apenas determinar o órgão alvo da ação principal da toxina, com poucos estudos cinéticos. Um dos maiores problemas nestes estudos refere-se a alta potência destes venenos, que resultam na morte do animal e impedem que estudos mais refinados possam ser executados. Outro problema significativo é a incapacidade de detecção de pequenas quantidades pelos sistemas usuais de detecção do veneno, geralmente em ensaios biológicos ou imunológicos qualitativos, devido a baixa concentração ou inativação nos tecidos encontrada nos ensaios de biodistribuição.

A adição de traçadores radioativos, principalmente de isótopos de iodo, em proteínas permite a obtenção de altas atividades específicas, através de técnicas rotineiras em nossa instituição. A utilização de traçadores radioativos incorporados às toxinas oferece a solução para os problemas de detecção de baixas concentrações, mesmo após inativação ou degradação. Seu uso permite a utilização de microdosagens, compatíveis com a sobrevivência dos animais durante o período de estudo, sem quaisquer alterações nos mesmos.

Apresentaremos aqui nossos resultados com estudos de biodistribuição de crotoxina, principal toxina do veneno de *Crotalus durissus terrificus* (a cascavel brasileira); de veneno total de *Bothrops jararaca* e de *Apis mellifera* (abelha).

Cada veneno ou fração purificada foi submetido a marcação com ^{125}I odo, através da técnica da Cloramina T, sendo inoculados, por via intraperitoneal, em camundongos pesando aproximadamente 30g. Após esta inoculação, os animais foram sacrificados a intervalos regulares de tempo, submetidos a perfusão com solução salina tamponada, com retirada dos órgãos e determinação do peso e a radioatividade. Cada grupo experimental sacrificado no mesmo tempo era composto por pelo menos 05 animais, sendo determinada a média e o desvio de cada atividade específica encontrada, expressa sempre em cpm por mg de órgão. Os dados obtidos foram analisados num pacote estatístico Statgraphics 5.1, por análise de variância multifatorial, com nível de significância de 0,05 e verificação da homogeneidade de variancias.

Os resultados obtidos comparativamente entre as várias frações ou venenos analisados podem ser vistas na Tabela abaixo. Optamos por uma descrição semiquantitativa da distribuição nos vários órgãos, para uma melhor compreensão de nossas conclusões.

Quadro comparativo do perfil de biodistribuição dos venenos de *B.jararaca*, crotoxina e de veneno de *A.mellifera*

Órgãos	<i>A.mellifera</i>	Crotoxina	<i>B.jararaca</i>	Observações
Coração	+++	-	++	
Pulmão	+++	-	++++	Órgão Alvo (<i>B.jararaca</i>)
Rim	++++	++++	+++	Excreção
Baço	+++	+++	++	
Fígado	+++	+++	++	
Cérebro	+	+++	+++	Órgão Alvo (crotoxina)
Musculo esquelético	+++	+++	++	Órgão Alvo (crotoxina)
Sangue	nd	+	nd	

Assim, analisando a biodistribuição de crotoxina e de veneno de *A.mellifera*, com atividade fosfolipásica e atividade neurotóxica, mostraram uma relativa concentração em órgãos ricos em terminações nervosas, como o cérebro e musculo esquelético, além de apresentarem uma excreção renal, enquanto que o veneno de *B.jararaca*, por apresentar atividade relacionada com ativação dos sistemas de coagulação, apresentou uma concentração preferencial em pulmões, órgão habitualmente responsável pelo clareamento destes fatores da circulação.

Assim, o uso de traçadores radioativos mostrou-se uma técnica altamente eficiente para estudos de biodistribuição de toxinas animais.