

247

PURIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE UM ATIVADOR DE PROTROMBINA PRESENTE NO VENENO DA SERPENTE BOTHROPS JARARACA. Markus Berger Oliveira, Antônio Frederico Michel Pinto, Hermes Luis Neubauer de Amorim, Jorge Almeida Guimarães (orient.)

(UFRGS).

Introdução: Pacientes envenenados pela serpente *Bothrops jararaca* apresentam um grave quadro clínico caracterizado por severa coagulopatia de consumo. Enzimas importantes para a compreensão do processo de envenenamento, tais como fibrinogenases, enzimas do tipo trombina e ativadores da coagulação, vêm sendo identificadas e caracterizadas. Entretanto, nenhum ativador de protrombina foi até então caracterizado no veneno da serpente *Bothrops jararaca* (VBj). Metodologia: Protrombina foi incubada com VBj ou frações cromatográficas. A atividade da trombina formada foi medida pela hidrólise do substrato cromogênico S2238 ou pela coagulação de fibrinogênio. A cinética das reações foi monitorada no equipamento SpectraMAX (molecular devices) a 405 e 650 nm, respectivamente. Os fragmentos gerados no processo de ativação de protrombina foram analisados em SDS-PAGE. Veneno bruto foi submetido à cromatografia de gel filtração (Superose 12) e troca iônica (MonoQ) para a purificação do ativador. Frações cromatográficas foram submetidas a ensaios de caracterização e inibição. Resultados e conclusão: Ensaios cinéticos com VBj demonstraram que o veneno foi capaz de converter diretamente protrombina em trombina de uma maneira dose-dependente. A trombina (36 kDa) e outros fragmentos resultantes do processo de ativação foram confirmados por eletroforese. Frações parcialmente purificadas mostraram baixa atividade coagulante sobre fibrinogênio e foram capazes de ativar a protrombina na ausência dos componentes do complexo protrombinase. EDTA e EGTA foram capazes de inibir completamente a atividade sobre a protrombina. Em SDS-PAGE, o ativador de protrombina de VBj apresentou massa molecular estimada de 20,8 kDa. Ensaios para o refinamento do processo de purificação e caracterização do ativador de VBj estão em andamento.