

208

ESTUDOS CINÉTICOS E DE INIBIÇÃO DE UMA SERINO PROTEASE DE *Lonomia obliqua*. A. F. M. Pinto, M. A. Silva-da-Silva, J. A. Guimarães (Centro de Biotecnologia, UFRGS).

O envenenamento acidental pelo contato com a lagarta *Lonomia obliqua* (Lepidoptera, Saturniidae) vem ocorrendo em escala crescente no Sul do Brasil. O acidente provoca um grave quadro clínico que resulta da ação de princípios anti-hemostáticos presentes nas secreções da lagarta causando intensa hemorragia periférica e central, hematúria, coagulação intravascular disseminada, insuficiência renal aguda e com frequência morte do paciente não tratado com o soro disponível. Os princípios ativos incluem diversas enzimas, inclusive serino proteases com paradoxal ação procoagulante. A melhor caracterização dessas enzimas carece ainda de estudos cinéticos e de inibição. Nosso trabalho objetiva caracterizar, por estudos cinéticos, a ação de uma serino protease presente no veneno e na hemolinfa de *L. obliqua*. A determinação de proteína foi obtida utilizando o ensaio com o reagente BCA (Pierce, USA). A atividade proteolítica foi ensaiada utilizando Bezoil-Arginina-p-Nitroanilida (BAPNA), um típico substrato para serino proteases, em uma concentração de 0,9mM em um volume de 100uL, usando um ensaio do tipo ELISA em placas de 96 poços, no equipamento SpectraMAX (Molecular Devices) equipado com um software para registros de leituras simultâneas da cinética de reação em 405nm. Verificamos que a atividade dessa serino protease é ativada até 5 vezes por cálcio (0,05 a 20mM) e inibida por Benzamidina (0,5uM a 100uM). Uma inibição de 50% da atividade ativada por cálcio (10mM), foi obtida com 50uM de Benzamidina. SBTI (Soybean Trypsin Inhibitor) não teve efeito inibitório. A atividade dessa serino protease ativada por cálcio é um dos fatores que seriam responsáveis por uma coagulopatia de consumo, advindo daí o quadro hemorrágico, mas que não justificam muitas das demais desordens anti-hemostáticas provocadas pelo envenenamento causado pelas lagartas de *L. obliqua*. (CNPq, FAPERGS).