

SOBRE A FIXAÇÃO ESPECIFICA DA BOTHROPOTOXINA

II. Fixação pelo antiveneno lachetico

POR

D. VON KLOBUSITZKY & P. KÖNIG

Relatámos anteriormente (1) uma serie de experiencias sobre a fixação da Bothropotoxina (2) pelo antiveneno bothropico (para *Bothrops jararoca*), antiveneno crotalico (para *Crotalus terrificus terrificus*) e antiveneno elapinico (para *Micrurus corallinus* e *M. frontalis*). Essas experiencias evidenciaram o seguinte:

1. A Bothropotoxina é neutralizada pelo antiveneno bothropico, em proporção com o peso, tanto *in vitro*, como *in vivo* por via intravenosa, subcutanea ou intramuscular.

2. A Bothropotoxina é igualmente neutralizada pelo antiveneno crotalico sul-americano em proporção com o peso, tanto *in vitro*, como *in vivo*, neste caso só quando o soro é administrado por via intravenosa, e não pelas vias intramuscular ou subcutanea.

3. O antiveneno elapinico não possui qualquer capacidade de fixação sobre a Bothropotoxina.

Procurámos ligar essas diferenças observadas na capacidade de fixação dos antivenenos experimentados, á maior ou menos afinidade zoologica existente entre as diversas especies de serpentes ou, melhor, ás diferenças chemicas existentes entre os seus respectivos venenos e condicionadas por seu grau de parentesco phylogenetico.

Nessa occasião havia a Secção de Immunologia do Instituto preparado uma partida de soro especifico para o veneno da Surucutinga (*Lachesis muta*), pelo que resolvemos investigar tambem a capacidade de fixação desse antiveneno. Na escala zoologica, a Surucutinga é collocada mais proxima das especies de *Bothrops* do que das de *Crotalus*, dentro da mesma familia *Crotalidae*. Em-

bora ligada ao genero *Lachesis* DAUDIN, a Surucutinga pertence á mesma sub-familia (*Lachesinae*) que as *Bothropes*, ao passo que a Cascavel pertence a uma sub-familia diversa, a das *Crotalinae*. De seu lado, as serpentes elapineas correspondem a uma familia bastante differente, a das *Elapidae* (3).

I. Methodo

O methodo usado nas experiencias agora relatadas, foi o mesmo descripto em nosso trabalho anterior, sem qualquer modificação; porisso, não insistiremos sobre este ponto. A Bothropotoxina, cuja dose minima letal (D.M.L.) foi de 0.06mgm., provinha do preparado já por nós usado naquella occasião.

Tambem desta vez as experiencias foram feitas, parte *in vitro*, após permanencia de meia hora na estufa a 37°, parte *in vivo*. Nas experiencias *in vivo* o antiveneno lachetico era injectado por via intravenosa ou subcutanea.

O antiveneno lachetico neutralizava, por cc., 0,8mgm. do veneno da *Lachesis muta*.

A determinação da capacidade de fixação foi feita de accordo com o calculo por nós utilizado nas experiencias anteriores, o qual, em resumo, consiste no seguinte: suppõe-se que a secreção venenosa natural, depois de secca, da Surucutinga possa tambem conter no maximo 33% da substancia toxica activa, donde se segue que o poder do soro, determinado para o veneno natural secco, deve tambem ser reduzido ao terço. Calcula-se, pois, a propriedade neutralizante do antiveneno lachetico usado nestas experiencias, em cerca de 0,27mgm. por cc.

II. Parte experimental

a) Experiencias *in vitro*

Quantidade de Bothropotoxina injectada.	Quantidade de Bothropotoxina que permaneceu livre	Quantidade de Bothropotoxina fixada pelo antiveneno	Evolução
0.08mgm.	0.04mgm.	0.04mgm.	Nenhum symptoma
0.08	0.053	0.027	» »
0.10	0.086	0.014	Morte em 9 minutos

b) Experiencias *in vivo* (**)

O soro foi injectado por via subcutanea, depois de haver o animal entrado em decubito dorsal.

Quantidade de Bothropotoxina injectada	Quantidade de Bothropotoxina fixada pelo antiveneno	Decurso
0.08mgm.	0.13mgm.	Morte em 8 minutos.
0.08	0.27	» » 6 »
0.08	0.40	Symptomas graves; 40 minutos após administração do antiveneno os symptomas de envenenamento começam a ceder e, decorridos mais 50 minutos, o pombo está completamente restabelecido.

Administração do antiveneno, por via subcutanea, immediatamente após a injeção de Bothropotoxina.

Quantidade de Bothropotoxina injectada	Quantidade de Bothropotoxina fixada pelo antiveneno	Quantidade de Bothropotoxina que permaneceu livre	Decurso
0.08mgm.	0.13mgm.	0	Após 5 minutos symptomas de intoxicação; 3 minutos depois o pombo entra em decubito dorsal, de olhos fechados, porém restabelece-se aos poucos e, decorridos outros 50 minutos, apresenta-se perfeitamente normal.
0.08	0.054	0.026mgm.	Após 5 minutos symptomas de envenenamento. Morte 10 minutos mais tarde.

DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

As experiencias *in vitro* nada temos a acrescentar. Os resultados falam por si mesmos e são perfeitamente concordes com que anteriormente obtivemos com os antivenenos bothropico e crotalico. Naquellas experiencias, como

(**) A injeção intravenosa do antiveneno deu resultados identicos aos obtidos com a applicação do antiveneno bothropico, de maneira que, por economia de espaço, desistimos da reprodução dos respectivos protocollos de experiencia.

nestas, não se manifestaram symptomas de envenenamento em todos aquelles casos em que a quantidade de Bothropotoxina não fixada era inferior á minima letal (D.M.,L.).

As experiencias *in vivo*, porém, demonstraram alguma cousa de novo e constituem uma confirmação de nossos conhecimentos, de ordem taxonomica, sobre a questão, pois, em relação á fixação do Bothropotoxina, comprovam estar o antiveneno lachetico em situação intermediaria á do antiveneno bothropico e á do crotalico e, portanto, em estreita correspondencia com a posição das especies correspondentes de serpentes em systematica zoologica. Emquanto o antiveneno crotalico, ao contrario do bothropico, se mostrou, quando injectado por via intramuscular ou subcutanea, sempre inactivo (Quadro I., Typo de experiencia —b— em nosso citado trabalho), o antiveneno lachetico neutralizou a Bothropotoxina, quando administrado, por via subcutanea, immediatamente após a injectão desta substancia. Quando o antiveneno era injectado já depois do inicio do segundo periodo de intoxicação, o restabelecimento do animal só foi obtido mediante emprego de grande dose de antiveneno (1). Este facto indica que a acção curativa do antiveneno lachetico, em relação á Bothropotoxina, é mais fraca do que a do bothropico, e mais forte do que a do crotalico.

Estas experiencias se harmonizam perfeitamente com as considerações theoricas por nós anteriormente desenvolvidas e cuja significação phylogenetica já foi lembrada e discutida por Amaral (4) sobre a relação entre a composição chimica do principio neurotoxico do veneno de serpente e a posição occupada, em systematica zoologica, pelas respectivas especies, não havendo, portanto, nada a acrescentar a este respeito.

Esperamos que, com o auxilio do methodo ora aperfeiçoado (5), se torne possivel preparar do veneno de todas as serpentes aqui referidas uma quantidade tal do principio toxico, proprio para analyse e livre de N, que a exactidão daquella supposição possa tambem ser comprovada pela experiencia chimica.

RESUMO

As experiencias sobre fixação do Bothropotoxina por diversos antivenenos ophidicos foram continuadas com o antiveneno lachetico, especifico para a especie *Lachesis muta*.

Os resultados obtidos, além de confirmarem que a acção curativa do antiveneno lachetico é intermediaria á do bothropico e á do crotalico, estão em perfeita concordancia com a theoria da existencia de estreita relação entre a composição chimica dos venenos ophidicos e a posição das respectivas serpentes em systematica zoologica.

ABSTRACT

Experiments which have been made on the fixability of Bothropotoxin by the lachetic antivenin (specific for *Lachesis muta*), confirm this serum to be intermediate between the crotalic and the bothropic antivenins as regards its neutralizing properties. They also seem to be in conformity with the theory which claims the existence of a close relationship between the chemical composition of ophidic venoms and the position of the corresponding species of serpents in Systematics.

BIBLIOGRAPHIA

1. von Klobusitzky, D. & König, P. — Mem. Inst. Butantan X: 205. 1936 et Zschr. für Immunitätsf. LXXXVII: 202. 1936.
2. von Klobusitzky, D. — Mem. Inst. Butantan IX:259.1935 et Arch. exp. Pathol. Pharmakol. CLXX. IX:204.1935.
3. Amaral, A. do — Mem. Inst. Butantan IV:227,233,242.1929 et Bull. Antivenin Inst. America I(2):31.1927.
4. Amaral, D. do — Bull. Antivenin Inst. America III(1):6.1929.
5. von Klobusitzky, D. — Mem. Inst. Butantan X:201.1936 et Arch. exp. Pathol. Pharmakol. CLXXX:479.1936.

(Trabalho da Secção de Physico-chimica do Instituto Butantan, recebido em dezembro de 1935, publicado em alemão in Zschr. f. Immunitätsforsch. LXXXVII: 300. 1936. Dado á publicidade em maio de 1937).