

NEUROBIOLOGIA DA DOR E TOXINAS OFÍDICAS: INSIGHTS SOBRE EFEITOS DE TOXINAS RELACIONADOS AO PROCESSO DA ALGESIA E ANALGESIA

Joeliton dos Santos Cavalcante¹; Evaldo Joaquim de Farias Filho²; Alexa Alves de Moraes³; Maurício Reis de Araújo⁴; Cayo Antônio Soares de Almeida⁵

¹Graduando em Ciências Biológicas, Universidade Estadual da Paraíba (UEPB).

E-mail: joeliton.biologia@gmail.com

²Graduando em Ciências Biológicas, Universidade Estadual da Paraíba (UEPB).

E-mail: evofilho.frs@gmail.com

³Graduanda em Fisioterapia, Universidade Estadual da Paraíba (UEPB).

E-mail: alexamoraesx3@gmail.com

⁴Graduando em Farmácia, Faculdade Maurício de Nassau (UNINASSAU).

E-mail: mauricioreis127@gmail.com

⁵Doutorando em Neurociências, Laboratório de Neurogenética, Universidade Federal do ABC (UFABC).

E-mail: cayo.almeida@butantan.gov.br

Resumo: Venenos de serpentes consistem em misturas de alta complexidade, compostos majoritariamente por proteínas, peptídeos e aminoácidos que deflagram os mais diversos efeitos durante o envenenamento. Alguns compostos de venenos apresentam-se como algésicos ou analgésicos, que são altamente complexos para nossa compreensão de como os componentes nociceptivos operam. Algumas toxinas são indutoras de dor, outras são dotadas de propriedades analgésicas que podem ser fortes candidatos a protótipos de poderosos analgésicos num futuro próximo. Neste trabalho reuniu-se dados dos efeitos de venenos e toxinas purificadas que deflagram algésia e analgesia descobertas previamente. Para subsídio realizou-se buscas de trabalhos científicos em plataformas online: NCBI, SCIENCE DIRECT, MDPI. Constatou-se a presença de trabalhos que relatam o potencial algésico de venenos, bem como o poder analgésico da Crotoxina, toxina em maior abundância no veneno de *Crotalus durissus terrificus*. Além disso, detalhou-se neste estudo a Crotalfina, uma estrutura análoga a Crotoxina que preserva o efeito antinocepcivo apresentado pela toxina crotálica.

Palavras-chave: Algésia, analgesia, Crotoxina, Crotalfina, veneno de serpentes.

INTRODUÇÃO

Os venenos de serpentes consistem em uma mistura complexa e componentes (proteínas, peptídeos e aminoácidos) que atuam de maneira isolada ou sinérgica induzindo uma série de alterações fisiopatológicas que vão desde alterações locais, até efeitos sistêmicos complexos envolvendo vários sistemas biológicos (JACKSON et al., 2016).

Essas moléculas apresentam-se seletividade para seus alvos moleculares, permitindo ser explorados e conseqüentemente considerados uma fonte rica de potenciais agentes terapêuticos (MACKESSY, 2016). Um dos principais componentes dos venenos animais são as fosfolipases A₂, que são enzimas de uma superfamília que catalisam especificamente a hidrólise da ligação 2-acil éster de glicerofosfolipídios de membranas celulares, originando

produtos metabólicos, como o ácido araquidônico e ácidos oleicos (DOLEY; ZHOU; KINI, 2016).

Os produtos da hidrólise dos fosfolipídios realizada pelas fosfolipases A 2 são precursores de moléculas consideradas gatilhos de processos de sinalização que participam em muitos processos biológicos. As moléculas de ácido araquidônico, por exemplo, podem ser convertidas em eicosanóides, incluindo prostaglandinas e leucotrienos, que participam de uma ampla gama de processos fisiológicos e patológicos, como regulação do sono, respostas imunes, inflamação e dor (HIRATA; NARUMIYA, 2011).

A dor é uma experiência sensorial e emocional desagradável, associada a um dano tecidual real ou potencial (International Association for the Study of Pain, 1986). A sensação algica envolve diversos mecanismos neurofisiológicos, dentre os quais são mencionados a transdução do estímulo nociceptivo em potencial elétrico, condução do estímulo aos centros neuronais superiores, percepção e modulação sensorial (STOKES, 2000).

Neste contexto, a dor integra o controle homeostático, alertando o indivíduo de perigo iminente, o que a torna um sinal clínico importante para a detecção e avaliação de diversas anomalias, além de ser uma característica evolutiva essencial à vida (BASBAUM et al. 2010).

Assim, essa sensação é de extrema importância para os organismos se adaptarem a uma nova condição, todavia, caso a adaptação do indivíduo não ocorra e/ou medidas terapêuticas não sejam aplicadas, o mesmo pode vivenciar completo desconforto físico e emocional.

No geral, compostos de veneno algésico e analgésico são de alta complexidade para nossa compreensão de como componentes nociceptivos operam. Neste trabalho será evidenciado o efeito de alguns venenos e toxinas purificadas que deflagram dor, e em contraste, algumas toxinas que promovem analgesia, que apresentam fortes candidatos a protótipos de fármacos analgésicos oriundos de toxinas do veneno de serpentes regionais, motivando a preservação destas.

METODOLOGIA

A revisão de literatura foi realizada durante o período de 22 de março a 22 de abril de 2018, em plataformas online de busca de trabalhos científicos, a saber: NCBI, SCIENCE DIRECT, MDPI. As combinações de palavras-chave utilizadas foram: “Snake venom”, “toxins”, “pain”, “analgesia”, “crotoxin” e “crotalfin”.

Considerou-se para este estudo, trabalhos publicados com espécies de serpentes que ocorrem na região Nordeste do Brasil.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os venenos ofídicos são categorizados conforme sua atividade durante o envenenamento, sendo: citotóxicos ou neurotóxicos e têm acesso ao organismo da vítima através de ferimentos resultantes de encontros com mecanismos físicos de defesa capazes de romper a pele e inocular o veneno, os dentes (MACKESSY, 2016).

O mecanismo físico (dentes) que lesionam a pele e até mesmo toxinas presentes no veneno podem induzir dor no envenenamento. Entretanto, muitos venenos apresentam-se com potenciais analgésicos, uma vez que bloqueiam canais de cálcio dependentes de voltagem ou canais de sódio dependentes de voltagem, direta ou indiretamente via receptores acoplados à proteína G (SUPPLEWIS; DUTERTRE; VETTER; CHRISTIE, 2012; ADAMS; CALLAGHAN; BERECKI, 2012)

Os processos de inflamação e dor causadas pelos venenos de *B. jararaca* e *B. asper* são processos multimediados, ou seja, envolve a participação de uma grande variedade de mediadores do processo inflamatório, como histamina, 5-hidroxitriptamina, bradicinina e mediadores derivados de lipídios (prostaglandinas, leucotrienos e PAF), bem como a participação de células leucocitárias (TEIXEIRA; CURY; OGA; JANCAR, 1994; CHACUR; PICOLO; GUTIÉRREZ; TEIXEIRA CF, CURY 2001 ; CHACUR; PICOLO; TEIXEIRA; CURY, 2002).

A atividade nociceptiva dos venenos de *Philodryas olfersii* e *P. patagoniensis* foram investigadas em camundongos através de injeções na região intraplantar com 1µg dos venenos, com os animais observados por um período de 30 minutos. Os resultados mostraram que os venenos de *P. olfersii* e *P. patagoniensis* apresentaram valores quanto à nocicepção, de $53,9 \pm 10,4$ segs. e $99,7 \pm 13,5$ segs. (média \pm E.P.M.; n = 10; p < 0,05; F: 1.735), sendo que o veneno de *P. patagoniensis* foi o mais ativo (ROCHA; FURTADO, 2007).

Toxinas algésicas: PLA₂s

Inflamação e dor, particularmente no local da injeção, são sintomas importantes de envenenamento humano por animais peçonhentos.

PLA₂s isolados do veneno da espécie *Bothrops asper* induz hiperalgesia, que consiste num efeito mediado por aminas biogénicas, bradicinina, prostaglandinas, citocinas, e aminas simpatomiméticas, que podem estabelecer interações e ser sequencialmente liberados (CHACUR et al., 2003).

Algumas Lys49-PLA₂ isoladas de venenos de *Bothrops spp.* induz a liberação de ATP e K⁺ de células musculares, podendo induzir diretamente a dor, ativando os receptores purinérgicos ou induzindo a despolarização da membrana dos nervos sensoriais periféricos (CINTRA-FRANCISCHINELLI et al., 2010; BURNSTOCK, 2009).

Toxinas analgésicas: Crotoxina e Crotalina

Fármacos (Ibuprofeno®, Diclofenaco®, Nimesulida®) utilizados atualmente para tratar dor inflamatória são comumente associados a efeitos adversos incluindo depressão respiratória, náuseas, complicações cardiovasculares, hiperalgesia paradoxal, úlcera gástrica, além de tolerância (TRELLE et al. 2011).

A crotoxina (CTX) o componente tóxico de maior abundância presente no veneno da serpente *Crotalus durissus terrificus* é uma neurotoxina com atividade letal. Esta consiste num potente bloqueador da transmissão neuromuscular, principalmente no nível pré-sináptico, que inibe a liberação de acetilcolina de neurônios periféricos na junção neuromuscular (CHANG; LEE, 1977). Entretanto, a CTX apresenta-se como um potente inibidor da dor aguda e crônica, em diferentes modelos comportamentais de dor.

Em camundongos e ratos, injetada via intraperitoneal (via ip) ou no Sistema Nervoso Central - SNC (injeções de área cinzenta intracerebral ventricular ou periaquedutal), a CTX induz antinociceção, um efeito observado onde sua gênese não está relacionada possíveis danos e comprometimento da ação motora (ZHANG et al., 2006)

O efeito antinociceptivo da CTX foi constatado em um modelo de dor neuropática induzida pela transecção do nervo isquiático de ratos, após a imersão dos cotos com exposição do nervo proximal e distal em uma solução de CTX e após a transecção do nervo, a CTX impediu o desenvolvimento de dor neuropática. Este efeito antinociceptivo envolve a participação de receptores muscarínicos centrais e é parcialmente mediado pela ativação de alfa-adrenoceptores e receptores 5-HT. Os eicosanóides que foram derivados da via da lipoxigenase também modulam o efeito da crotoxina (NOGUEIRA-NETO et al., 2008).

Através de um modelo de crescimento tumoral Walker 256 de rato, foi demonstrado que a CTX inibe a hiperalgesia e a alodinia mecânica causada pelas células tumorais (BRIGATTE et al., 2013).

A partir da CTX, toxina com alto potencial antinociceptivo mediado por receptores opióides (BRIGATTE et al. 2013), sintetizou-se uma estrutura análoga que é composta por 14 aminoácidos, a esta atribui-se o nome Crotalfina, uma estrutura que preserva o efeito antinoceptivo da CTX (GUTIERREZ et al. 2008; KONNO et al. 2008).

Administrada via oral em camundongos ou ratos (200 – 1.600 µg/kg), a Crotalfina induz o processo de analgesia que é mediada através da ativação de receptores opióides do tipo κ e/ou δ (PICOLO et al. 2003). Segundo ensaios experimentais conduzidos no Laboratório Especial de Dor e Sinalização (LEDS), animais tratados cronicamente com Crotalfina não apresentam tolerância ou abstinência, observando também efeito duradouro em ratos com neuropatia induzida por compressão crônica do nervo isquiático e ratos com inflamação na pata induzida por carragenina.

Animais que apresentam processo inflamatório na pata, induzida por prostaglandina E2 (PGE2), apresentam níveis de mRNA aumentados para receptores opioides nos Gânglios da Raiz Dorsal, resultando maior expressão de mRNA μ e κ -opióide ipsilateral e contralateral e δ -opióide somente ipsilateral. Observando também aumento da expressão proteica de receptores κ e μ -opióide nos DRG e no tecido da pata (ZAMBELLI et al. 2014).

ZAMBELLI et al. (2014), apontam que o mecanismo envolvido no efeito nociceptivo tanto da expressão e como ativação de receptores opióides, incluem-se, cGMP, fosforilação de MAPKs e ativação de PKC ζ periférica (ZAMBELLI et al. 2014).

Adicionalmente, a Crotalfina contribui para o efeito antinociceptivo em modelos experimentais de neuropatia periférica induzida por constrição crônica do nervo isquiático, um efeito mediado por ativação de receptores δ e κ -opióides, ativação de NO-cGMP-PKC, seguindo por abertura de canais de K⁺ dependente de ATP (GUTIERREZ et al. 2012).

A administração intraplantar de captopril 10µg/pata, um inibidor da enzima peptidil dipeptidase que degrada opióides endógenos, induz aumento da atividade antinociceptiva a partir de uma baixa dose de crotalfina (0,04 µg/kg) somente na pata tratada com o inibidor, sem alterar o efeito antinociceptivo deste peptídeo na pata contralateral (ALMEIDA, 2015).

CONCLUSÕES

As toxinas paralíticas são frequentemente formuladas como tendo evoluído especificamente para propósitos predatórios, enquanto os venenos indutores de dor são intuitivamente adequados para propósitos defensivos. De fato, alguns dos venenos mais dolorosos - como abelha, vespa, peixe-pedra ou veneno de ornitorrinco - são usados apenas para fins defensivos ou competitivos. No entanto, os efeitos paralisantes e a atividade nociceptiva não são mutuamente exclusivos, sugerindo que os componentes do veneno indutor da dor podem ter um duplo propósito e que essa classificação simplista provavelmente será revisada após os avanços na pesquisa do veneno.

A Crotalina parece exercer um poder analgésico indicando retardamento da nocicepção na presença de Crotalina, melhorando assim os sintomas de dor, podendo esse peptídeo ser um poderoso analgésico num futuro próximo.

REFERÊNCIAS

ADAMS, D. J.; CALLAGHAN, B.; BERECKI, G. Contoxinas analgésicas: Modulação do receptor em bloco e acoplada à proteína G dos canais de cálcio do tipo N (Ca V 2.2). **Fr. J. Pharmacol.** 2012 , 166 , 486-500.

BASBAUM, A. I.; BAUTISTA, D. M.; SCHERRER, G.; JULIUS, D. 2010. Cellular and molecular mechanisms of pain. **Cell**, v. 139, n. 2, p. 267-284, 2009.

BRIGATTE, P., KONNO, K; GUTIERREZ, V. P., SAMPAIO, S. C., ZAMBELLI, V. O., PICOLO, G.; CURY, I. Peripheral kappa and delta opioid receptors are involved in the antinociceptive effect of crotalphine in a rat model of cancer pain. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 109, p. 1-7, 2013.

BURNSTOCK, G. Purines and sensory nerves. In: **Sensory Nerves**. Springer, Berlin, Heidelberg, 2009. p. 333-392.

CHACUR, M.; PICOLO, G.; GUTIÉRREZ, J. M. ; TEIXEIRA C. F.; CURY, Y. Pharmacological modulation of hyperalgesia induced by *Bothrops asper* (terciopelo) snake venom. **Toxicon**, v. 39, n. 8, p. 1173-1181, 2001.

CHACUR M., LONGO I., PICOLO G., GUTIÉRREZ JM, LOMONTE B., GUERRA JL, TEIXEIRA CFP, CURY Y. Phospholipase-induced hyperalgesia Asp49 and Lys49 A 2 of *Bothrops asper* snake venom: pharmacological mediation and molecular determinants. **Toxicon**, v.1, p. 667-678, 2003.

CHACUR, M.; PICOLO, G.; TEIXEIRA, C. F. P.; CURY, Y. Bradykinin is involved in hyperalgesia induced by *Bothrops jararaca* venom. **Toxicon**, v. 40, n. 7, p. 1047-1051, 2002.

CHANG, C. C.; LEE, J. D. Crotoxin, the neurotoxin of South American rattlesnake venom, is a presynaptic toxin acting like β -bungarotoxin. **Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology**, v. 296, n. 2, p. 159-168, 1977.

CINTRA-FRANCISCHINELLI, M.; CACCIN, P.; CHIAVEGATO, A.; PIZZO, P.; CARMIGNOTO, G.; ÂNGULO, Y.; LOMONTE, B.; GUTIÉRREZ, J. M.; MONTECUCCO, C. *Bothrops* snake myotoxins induce a large efflux of ATP and potassium with spreading of cell damage and pain. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 107, n. 32, p. 14140-14145, 2010.

DOLEY, R.; ZHOU, X.; KINI, R. Manjunatha. Snake venom phospholipase A2 enzymes. **Handbook of venoms and toxins of reptiles**, v. 1, p. 173-205, 2016.

GUTIERREZ, V. P.; KONNO, K.; CHACUR, M.; SAMPAIO, S. C.; PICOLO, G. BRIGATTE, P.; ZAMBELLIA, V. O.; CURY, Y. Crotalphine induces potent antinociception in neuropathic pain by acting at peripheral opioid receptors. **European journal of pharmacology**, v. 594, n. 1-3, p. 84-92, 2008.

HIRATA, T.; NARUMIYA, S. Prostanoid receptors. **Chemical reviews**, v. 111, n. 10, p. 6209-6230, 2011.

JACKSON, T. N.; KOLUDAROV, I.; ALI, S. A.; DOBSON, J.; ZDENEK, C. N.; DASHEVSKY, D.; CIPRIANI, V. Rapid radiations and the race to redundancy: An investigation of the evolution of Australian elapid snake venoms. **Toxins**, v. 8, n. 11, p. 309, 2016.

KONNO, K.; PICOLO, G.; GUTIERREZ, V. P.; BRIGATTE, P.; ZAMBELLI, V. O.; CAMARGO, A. C.; CURY, Y. Crotalphine, a novel potent analgesic peptide from the venom of the South American rattlesnake *Crotalus durissus terrificus*. **Peptides**, v. 29, n. 8, p. 1293-1304, 2008.

MACKESSY, Stephen P. **Handbook of venoms and toxins of reptiles**. CRC press, 2016.

NETO, N.; DE SOUSA, F. Avaliação dos efeitos da crotoxina isolada do veneno de serpente *Crotalus durissus terrificus* sobre a transecção do nervo ciático de ratos: avaliação histológica da formação do neuroma e capacidade de interferir com a condutividade nervosa (dor). 2008.

PICOLO, G.; CASSOLA, A. C.; CURY, Y. Activation of peripheral ATP-sensitive K⁺ channels mediates the antinociceptive effect of *Crotalus durissus terrificus* snake venom. **European journal of pharmacology**, v. 469, n. 1-3, p. 57-64, 2003.

STOKES, M. **Neurologia Para Fisioterapeutas**. São Paulo. Editora Premier, 2000.

LEWIS, R. J.; DUTERTRE, S.; VETTER, I.; CHRISTIE, M. J. Conus venom peptide pharmacology. **Pharmacological reviews**, v. 64, n. 2, p. 259-298, 2012.

Trelle, S.; Reichenbach, S.; Wandel, S.; Hildebrand, P.; Tschannen, B.; Villiger, P. M.; Jüni, P. Cardiovascular safety of non-steroidal anti-inflammatory drugs: network meta-analysis. **Bmj**, v. 342, p. c7086, 2011.

Zambelli, V. O.; de Oliveira Fernandes, A. C.; Gutierrez, V. P.; Ferreira, J. C. B.; Parada, C. A.; Mochly-Rosen, D.; Cury, Y. Peripheral sensitization increases opioid receptor expression and activation by crotalphine in rats. **PloS one**, v. 9, n. 3, p. e90576, 2014.