

FARMACOCINÉTICA E NEUTRALIZAÇÃO DO VENENO DA SERPENTE *BOTHROPS ERYTHROMELAS* (JARARACA DA SECA): NOVAS FONTES TERAPÊUTICAS E DESAFIOS

Maurício Reis de Araújo¹; Joeliton dos Santos Cavalcante²; Evaldo Joaquim de Farias Filho³; Cayo Antônio Soares de Almeida⁴

¹Graduando em Farmácia, Faculdade Maurício de Nassau (UNINASSAU).

E-mail: mauricioreis127@gmail.com

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

E-mail: joeliton.biologia@gmail.com

³Graduando em Ciências Biológicas, Universidade Estadual da Paraíba (UEPB).

E-mail: evofilho.frs@gmail.com

⁴Doutorando em Neurociências, Laboratório de Neurogenética, Universidade Federal do ABC (UFABC).

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

Resumo: A compreensão da farmacocinética do veneno de serpentes é de grande relevância para o entendimento dos processos fisiopatológicos durante o ofidismo, bem como para o desenvolvimento de estratégias de avaliação de risco e determinação da dose e do momento ideais para o uso do antiveneno. Esta revisão tem como objetivo explorar o conhecimento atual disponível sobre a farmacocinética e a neutralização deste veneno da serpente *Bothrops erythromelas* por antivenenos. Em adição, o estudo visou investigar o andamento de estudos com sugestões de novas fontes terapêuticas. Pesquisas bibliográficas foram conduzidas utilizando a plataforma *online* PUBMED, através da combinação de diferentes palavras-chave. A busca pelo conhecimento sobre a temática foi realizada no período correspondente a 01 e 28 de março de 2018. Dessa forma, constatou-se que o veneno de *B. erythromelas* não se distribui na maioria dos órgãos internos resultando em efeitos fisiopatológicos de forma indireta, mas na presença de um antiveneno a biodistribuição do veneno é alterada, sua radioatividade no plasma é maior e sua meia-vida de eliminação menor que na ausência do antiveneno. Antivenenos disponibilizados pelo Ministério da Saúde do Brasil apresentam déficit na capacidade neutralizante para este veneno, que poderá futuramente ser suprida com o auxílio de substâncias presentes em extratos de plantas do gênero *Jatropha*. Entretanto, desafios acerca deste veneno existem e entre eles estão uma melhor exploração dos efeitos e neutralização deste veneno por antivenenos e extratos, além do desenvolvimento de um produto mais eficaz para uso na terapêutica.

Palavras-chave: Biodistribuição, ofidismo, veneno de serpente, terapêutica.

INTRODUÇÃO

Acidentes ofídicos foram categorizados pela OMS a Categoria A das doenças tropicais negligenciadas em 09 de junho de 2017, devido às elevadas taxas de morbimortalidade (CHIPAUX, 2017 a). Os envenenamentos por serpentes são geralmente registrados em áreas rurais e geograficamente difíceis, levando em prática a gestão das vítimas, que depende em grande parte do acesso aos cuidados, influenciando assim o curso clínico de envenenamento e na acessibilidade de antivenenos (CHIPPAUX, 2017 b).

Os antivenenos consistem em a única forma de tratamento salvando milhares de vidas a cada ano, e para que ocorra a validação da efetividade do produto, esse é submetido à ensaios que avaliem seu potencial neutralizante contra o efeito letal de venenos. Atualmente, mesmo um grande universo heterogêneo de indústrias produtoras de antivenenos, as limitações na disponibilidade, acessibilidade do antiveneno e na eficácia da neutralização de atividades tóxicas em várias partes do mundo representam um problema de grande relevância de saúde pública (GUTIÉRREZ et al., 2017).

A dose e o tempo de administração do antiveneno ainda são em grande parte empíricos e muitas vezes baseados em estudos de neutralização em animais, nos quais os efeitos tóxicos diferem em relação aos humanos. Na prática, a dose administrada é determinada pelos médicos que tratam com base em sintomas subjetivos ou resultados clínicos e laboratoriais (SANHAJARIYA; DUFFULL; ISBISTER, 2018).

Compreender a farmacocinética do veneno de serpentes, sobre tudo as endêmicas de determinadas regiões que muitas vezes são exclusas do *pool* utilizado para fabricação de antivenenos é essencial para o desenvolvimento de estratégias de avaliação de risco, além de determinar a dose ideal e tempo de antiveneno necessário para neutralizar todo o veneno em pacientes com mordida de serpentes.

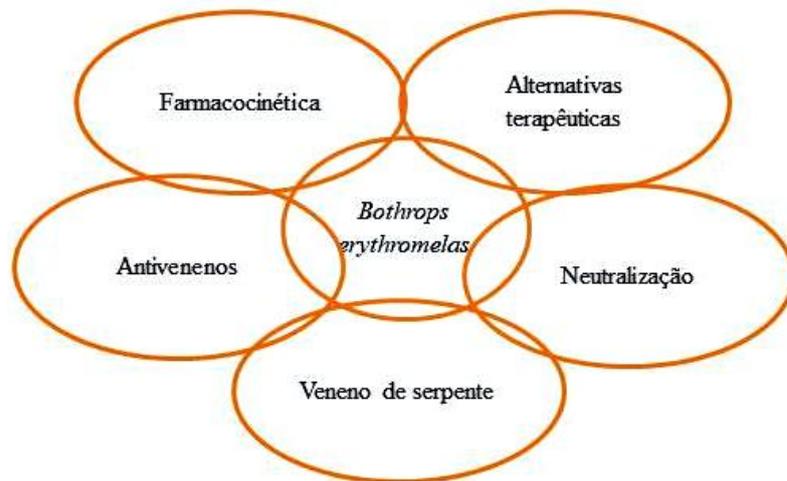
No nordeste brasileiro, a serpente *Bothrops erythromelas* é a principal responsável por casos de envenenamento e não está inserida no *pool* de imunização para produção de antivenenos, gerando consequentemente falhas na neutralização das atividades tóxicas durante o envenenamento (NERY et al., 2016).

Dessa forma, o presente estudo teve por objetivo uma análise bibliográfica sobre os perfis farmacocinéticos e de neutralização para o veneno de *B. erythromelas*, bem como relatar os avanços na busca de ferramentas alternativas para o tratamento em casos de ofidismo para essa espécie.

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, usando um conjunto de palavras-chave em língua inglesa e portuguesa combinadas conforme esquematizado na figura 1.

Figura 1 – Conjunto de palavras-chave e combinações utilizadas na busca virtual pela plataforma PUBMED.



Fonte: Elaborado pelos autores.

Compreendendo o perfil farmacocinético do veneno de *B. erythromelas*

Os efeitos locais variam desde a dor local e inchaço até a necrose tecidual [13,14]. A lesão tecidual local é causada por uma variedade de componentes miotóxicos e citotóxicos, tais como miotoxinas não-catalíticas de fosfolipases A₂, metaloproteases e citotoxinas, o que pode levar a extensa necrose tecidual e potencial e amputação (MAGALHÃES et al., 2017).

Os efeitos sistêmicos são potencialmente fatais, entre eles distúrbios da coagulação e manifestações hemorrágicas, neurotoxicidade, lesão renal aguda, além de miotoxicidade. A coagulopatia de consumo induzida por veneno é, indiscutivelmente, a síndrome de envenenamento sistêmico mais comum em todo o mundo e é causada por muitas serpentes (SANCHEZ et al., 2017).

A administração do veneno de *B. erythromelas* por via subcutânea em camundongos, resultam em uma maior quantidade de veneno nos tecidos subcutâneos do que no coração, bexiga, cérebro ou diafragma. Isso indica que o veneno de *B. erythromelas* não se distribui na maioria dos órgãos internos, e os processos fisiopatológicos que ocorrem no envenenamento de *B. erythromelas* estarão relacionados a uma ação indireta do veneno (VASCONCELOS et al., 1998).

Detalhadamente, o estudo de Vasconcelos e colaboradores (1998) constatou que após 30 min da injeção a pele continha mais de 50% do veneno. Até a terceira hora após a injeção, o veneno se concentrava no estômago, intestino delgado e em 6 horas após a administração do veneno este chega e se concentra no intestino grosso. Adicionalmente, ocorreu baixa ligação do veneno no fígado, tireoide e pulmões, e nenhuma concentração de veneno foi detectado no cérebro, coração, diafragma, baço ou bexiga.

Na presença de um antiveneno, o perfil farmacocinético do veneno de *B. erythromelas* apresenta um perfil modificado, sua radioatividade no plasma é maior e sua meia-vida de eliminação menor que na ausência do soro. Isso indica que ocorre uma redistribuição do veneno dos tecidos para o compartimento vascular associado com o tratamento de envenenados com um antiveneno 15 minutos após a inoculação do veneno (ROCHA et al., 2008).

Neutralização do veneno de *B. erythromelas* por antivenenos brasileiros

O tratamento do envenenamento por serpentes envolve a administração de antivenenos específicos para o gênero da espécie que está envolvida no acidente, e cuidados de suporte. Os antivenenos são anticorpos ou fragmentos de anticorpos que são derivados do plasma de animais (tipicamente cavalos e ovelhas) que foram imunizados com veneno. Os anticorpos injetados intravenosamente (imunoglobulina IgG) ou os fragmentos de anticorpos [F(ab')₂ ou Fab] se ligam e neutralizam o veneno livre no plasma do paciente, que tem como objetivo reverter ou evitar mais efeitos tóxicos (SEGURA et al., 2010).

Entretanto, é de relevância mencionar que a produção de imunoglobulinas empregadas para imunização passiva contra viroses, que em geral apresentam baixos níveis de variações conforme a incidência geográfica, as imunoglobulinas empregadas na terapêutica de envenenamento de serpentes diferem de sua especificidade segundo as características individuais dos venenos selecionados no processo de produção de anticorpos. Isso implica em um soro que pode apresentar diferentes níveis de potencial neutralizante, podendo um soro ser eficaz para o envenenamento por uma espécie inserida pool de imunização de uma região, e pouco eficaz para o tratamento com uma espécie que não tem seu veneno inserido na mistura imunizante (GUTIÉRREZ et al., 2017).

O antiveneno produzido e distribuído pelo Programa de Imunizações do Ministério da Saúde do Brasil, apresenta déficits relevantes quanto

ao seu potencial neutralizante ao veneno de *B. erythromelas*, isto já vem sendo alvo de algumas investigações e justifica-se pela ausência do veneno dessa espécie no pool de imunização, sendo este composto pelos venenos de *B. jararaca*, *B. jararacuçu*, *B. alternatus*, *B. neuwiedi* e *B. moojeni* (SEGURA et al., 2010)

A quantidade de ampolas preconizada pelo Ministério da Saúde para o tratamento de casos leves (n = 3 ampolas), moderados (n = 6 ampolas), e graves (n = 12 ampolas) não apresentam o efeito desejado quando aplicada no tratamento da incoagulabilidade sanguínea em vítimas de ofidismo por essa espécie (CAVALCANTE et al., 2017).

Dados indicam que uma proteína de 38 KDa é observada antes e 24h após a terapia de envenenamentos com a *B. erythromelas*, ou seja, essa proteína não é reconhecida pelos antivenenos botrópicos brasileiros mesmo após 24 horas após a introdução soroterápica (LUNA et al., 2010).

Antivenenos brasileiros e costarriquenhos não apresentaram imunorreatividade contra os peptídeos potenciadores de bradicinina encontrados no veneno de *B. erythromelas*. Estes antivenenos mostram reconhecimento parcial da fosfolipases A₂, com exceção para o veneno das populações distribuídas na Paraíba. Além disso, a imunorreatividade não é eficiente para desintegrina. A dificuldade encontrada na neutralização do veneno de *B. erythromelas* pode ser justificado pela ausência da peçonha dessa serpente no *pool* de venenos usado no Brasil para fabricação do soro antibotrópico, que é construído por outras cinco espécies: *Bothrops jararaca*, *B. jararacussu*, *B. alternatus*, *B. moojeni* e *B. neuwiedi* (JORGE et al., 2015).

Em busca de novas fontes com potenciais terapêuticos

A importância da biodiversidade para a saúde humana é constantemente destacada, sendo facilmente constatada quando mais de 50% do arsenal terapêutico disponível comercialmente deriva-se de bioativos extraídos de fontes vegetais ou outras substâncias de origem não humana.

O extrato aquoso de *Jatropha mollissima* (Pohl), apresenta um potencial redutor sobre a atividade hemorrágica causada pelo veneno de *B. erythromelas*. Além do potencial redutor de hemorragia, o extrato aquoso de *J. mollissima* apresenta atividade antiedematogênica, é capaz de causar uma redução do influxo leucocitário, e em adição, causa redução nos níveis de creatina kinase, indicando propriedades inibitórias da atividade miotóxica causada pelo veneno de *B. erythromelas* (GOMES et al., 2016).

Outro extrato aquoso com propriedades terapêuticas para atividades tóxicas do veneno de *B. erythromelas*, é obtido a partir da espécie vegetal *Jatropha gossypifolia* L. *B. erythromelas*. O extrato desta planta inibiu quase que completamente o efeito edematogênico do veneno de quando administrado antes da inoculação do veneno, porém não produz um efeito inibitório quando o extrato é administrado após o veneno. Parcialmente, o extrato inibi a hemorragia causada por este veneno, observando o mesmo efeito no potencial edematogênico, havendo uma inibição estatisticamente significativa, quando feita a utilização do extrato antes da inoculação do veneno (FÉLIX-SILVA et al., 2017).

Desafios acerca do veneno de *B. erythromelas*

Muitas contribuições têm permitido uma melhor compreensão dos mecanismos pelos quais ocorrem os processos fisiopatológicos decorrente da ação das toxinas animais, como impedi-los e tratá-los. No entanto, o número de publicações disponíveis não é suficiente para elucidar os mecanismos de ação do veneno da *B. erythromelas*, e o reconhecimento deste por soros antiofídicos, sendo estas investigações de grande relevância, uma vez que esta espécie é a causa da maioria dos acidentes ofídicos no Nordeste do Brasil. Verifica-se então a presença de três grandes desafios:

O primeiro desafio consiste na obtenção de um quadro de referência abrangente para efeitos do veneno no organismo, podendo ser utilizado para o delineamento de intervenções clínicas mais adequadas em casos de envenenamento nas regiões que ocorrem acidentes por essa espécie. Para isso, são necessários estudos que investiguem os mecanismos pelos quais o veneno induz hemorragia, juntamente com outros processos que resultam em distúrbios da hemostasia, ainda não esclarecidos para o envenenamento por *B. erythromelas*.

O segundo desafio consiste em explorar a eficácia dos antivenenos brasileiros em realizar o reconhecimento imunológico de componentes do veneno dessa espécie, além da investigação da eficácia da neutralização destes soros sobre a toxicidade coagulopática desencadeada por este veneno de populações de diferentes regiões geográficas. Com isso, poderão ser delineados melhores protocolos para terapêutica e evolução dos quadros clínicos de pacientes.

O terceiro desafio consiste no melhoramento e/ou desenvolvimento de um produto mais eficaz, bem como sua validação por um estudo clínico em seres humanos antes de poder ser comercializado. Isto permitirá a obtenção de um

antiveneno eficiente para o tratamento eficaz e seguro para pacientes acometidos pela *B. erythromelas*.

CONCLUSÕES

Os efeitos fisiopatológicos decorrentes no envenenamento por *B. erythromelas* são um resultado de mecanismos de ação indireta deste veneno, uma vez que ele não tem como alvo os órgãos internos. Entretanto, a redistribuição apresentada pelo veneno de regiões centrais para regiões periféricas associada à infusão do tratamento soroterápico em 15 minutos após a inoculação do veneno é de difícil compreensão, sendo de grande relevância uma exploração adicional da relação entre parâmetros e covariáveis para examinar os fatores que podem influenciar os perfis farmacocinéticos do veneno de *B. erythromelas* e construir um modelo substancial a partir de dados em uma série maior de casos de envenenamento por serpentes.

Por outro lado, verifica-se que fontes naturais a partir de extratos vegetais podem ser fortes candidatos a suplementação e/ou alternativas para o tratamento de alguns efeitos do envenenamento com *B. erythromelas*, reforçando a necessidade de preservação de áreas que apresente plantas com potenciais terapêuticos para o ofidismo que possam ser encontradas no Nordeste.

REFERÊNCIAS

CAVALCANTE, J. S.; ARAUJO, M. R. ; COUTINHO, M. S. ; SOUZA, M. S. R. ; SILVA, R. C. E. ; SOUZA, E. C. A. M. ; ASSIS, L. R. ; VASCONSELOS, M. E. D. ; FOOK, S. M. L. ; LIMA, V. M. G. D. M. . Avaliação terapêutica da incoagulabilidade sanguínea em pacientes envenenados pela serpente *Bothrops erythromelas*. In: Congresso Brasileiro de Hematologia, Hemoterapia e Terapia Celular - HEMO 2017, 2017, Curitiba. **Brazilian Journal of Hematology and Hemotherapy**, 2017. v. 39. p. 218-218.

CHIPPAUX, J. Incidence and mortality due to snakebite in the Americas. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 11, n. 6, p. e0005662, 2017 a.

CHIPPAUX, J. Snakebite envenomation turns again into a neglected tropical disease!. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, v. 23, n. 1, p. 38, 2017 b.

FÉLIX-SILVA, J.; GOMES, J. A. S.; XAVIER-SANTOSA, J. B.; PASSOS, J. G. R.; SILVA-JUNIOR, A. A.; TAMBOURGI, D. V.; FERNANDES-PEDROSA, M. F. Inhibition of local effects induced by *Bothrops erythromelas* snake venom: assessment of the effectiveness of Brazilian polyvalent bothropic antivenom and aqueous leaf extract of *Jatropha gossypifolia*. **Toxicon**, v. 125, p. 74-83, 2017.

GOMES, J. A. S.; Félix-Silva, J.; Morais Fernandes, J.; Geraldo Amaral, J.; Lopes, N. P.; Tabosa do Egito, E. S.; Silva-Júnior, A. A.; Zucolotto S. M.; Fernandes-Pedrosa, M. D. F. Aqueous leaf extract of *Jatropha mollissima* (Pohl) Bail decreases local effects induced by bothropic venom. **BioMed research international**, v. 2016, 2016.

GUTIÉRREZ, J. M.; SOLANO, G.; PLA, D.; HERRERA, M.; SEGURA, Á.; VARGAS, M.; VILLALTA, M.; SÁNCHEZ, A.; SANZ, L.; LOMONTE, B.; LEÓN, G.; CALVETE, J. J. Preclinical evaluation of the efficacy of antivenoms for snakebite envenoming: State-of-the-art and challenges ahead. **Toxins**, v. 9, n. 5, p. 163, 2017.

JORGE, R. J. B.; Jorge, R. J. B., Monteiro, H. S., Gonçalves-Machado, L., Guarnieri, M. C., Ximenes, R. M., Borges-Nojosa, D. M. LUNA, K. P. O.; ZINGALI, R. B.; CORRÊA-NETTO, C.; GUTIÉRREZ, J. M.; SANZ, L.; CALVETE, J. J.; PLA, D. Venomics and antivenomics of *Bothrops erythromelas* from five geographic populations within the Caatinga ecoregion of northeastern Brazil. **Journal of proteomics**, v. 114, p. 93-114, 2015.

LUNA, Karla Patricia Oliveira et al. Humoral immune response of patients bitten by the snake *Bothrops erythromelas*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 43, n. 6, p. 731-732, 2010.

MAGALHÃES, Hemerson Iury et al. Relato de acidente botrópico que resultou em amputação. **Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade**, v. 10, n. 1, 2017.

MCCLEARY, R. JR.; KINI, R. Manjunatha. Non-enzymatic proteins from snake venoms: a gold mine of pharmacological tools and drug leads. **Toxicon**, v. 62, p. 56-74, 2013.

NERY, N. M.; LUNA, K. P.; FERNANDES, C. F. C.; ZULIANI, J. P. An overview of *Bothrops erythromelas* venom. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 49, n. 6, p. 680-686, 2016.

ROCHA, M. L.; VALENÇA, R. C.; MAIA, M. B.; GUARNIERI, M. C.; ARAUJO, I. C.; ARAUJO, D. A. Pharmacokinetics of the venom of *Bothrops erythromelas* labeled with ¹³¹I in mice. **Toxicon**, v. 52, n. 3, p. 526-529, 2008.

SANCHEZ, E. F.; FLORES-ORTIZ, R. J.; ALVARENGA, V. G.; EBLE, J. A. Direct Fibrinolytic Snake Venom Metalloproteinases Affecting Hemostasis: Structural, Biochemical Features and Therapeutic Potential. **Toxins**, v. 9, n. 12, p. 392, 2017.

SANHAJARIYA, S.; DUFFULL, S. B.; ISBISTER, G. K. Pharmacokinetics of Snake Venom. **Toxins**, v. 10, n. 2, p. 73, 2018.

SEGURA, A., CASTILLO, M. C., NÚÑEZ, V., YARLEQUÉ, A., GONÇALVES, L. R. D. C.,

VILLALTA, M.; HERRERA, M.; VARGAS, M.; FERNÁNDEZ, M.; YANO, M. Y.; ARAÚJO, H. P.; BOLLER, M. A. A. LEÓN, P.; TITAYA, B.; SANO-MARTINS, I. S.; GÓMEZ, A.; FERNÁNDEZ, G. P.; GUTIÉRREZ, J. M. Preclinical assessment of the neutralizing capacity of antivenoms produced in six Latin American countries against medically-relevant *Bothrops* snake venoms. **Toxicon**, v. 56, n. 6, p. 980-989, 2010.

VASCONCELOS, C. M. L.; VALENÇA, R. C.; ARAÚJO, E. A.; MODESTO, J. C. A.; PONTES, M. M.; BRAZIL, T. K.; GUARNIERI, M. C. Distribution of ¹³¹I-labeled *Bothrops erythromelas* venom in mice. **Brazilian journal of medical and biological research**, v. 31, n. 3, p. 439-443, 1998.