

EFEITO DAS TOXINAS E NEUROTOXINAS DA SERPENTE DO GÊNERO *BOTHROPS*. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Cláudia dos Santos Silva¹, Bruna Renata Sperandin²

¹Universidade do Vale do Paraíba, Estrada Municipal do Limoeiro, 250 - Jd. Dora, Jacareí SP -
dhyass@ig.com.br

²Universidade do Vale do Paraíba, Estrada Municipal do Limoeiro, 250 - Jd. Dora, Jacareí SP -
yuskasjc@hotmail.com

Palavras-chave: serpentes, bothrops, neurotoxina, veneno

Área do Conhecimento: Fisiologia e Farmacologia

Resumo- O gênero *Bothrops* apresenta mais de 30 espécies e subespécies distribuídas do sul do México até o norte da Argentina e corresponde ao grupo de serpentes mais importante do ponto de vista médico porque representa 90% dos casos de acidente ofídico no Brasil. As baixas concentrações do veneno revelam freqüentemente a presença das neurotoxinas, enquanto as altas concentrações do veneno demonstram a presença de componentes miotóxicos. O veneno de *Bothrops* contém as fosfolipases, que podem ser envolvidas na ação neuromuscular do veneno. Este estudo teve o objetivo de revisar, através de pesquisas em bases e publicações científicas, o efeito das toxinas e neurotoxinas da serpente do gênero *Bothrops*.

Introdução

Existem catalogadas cerca de 2.900 espécies de serpentes no mundo, agrupadas em 465 gêneros e 20 famílias. No Brasil, há representantes em 9 famílias, 75 gêneros e 321 espécies. As serpentes do gênero *Bothrops* pertencentes à família Viperidae, são todas solenóglifas, ou seja, apresentam presas grandes, agudas e ocas que permanecem paralelos ao crânio em repouso e alcança 90° durante o bote, e de grande distribuição pelo Brasil. [8] Jararacas como são conhecidas, habitam preferencialmente áreas úmidas e apresentam hábito noturno ou crepuscular. Este gênero apresenta mais de 30 espécies e subespécies distribuídas do sul do México até o norte da Argentina e corresponde ao grupo de serpentes mais importante do ponto de vista médico porque representa 90% dos casos de acidente ofídico no Brasil. [6] As serpentes pertencentes ao gênero *Bothrops* são extremamente agressivas e por isso são responsáveis por 90,5% dos acidentes ofídicos que ocorrem no país, seguido pelo acidente crotálico (7,7%), laquéstico (1,4%) e elapídico (0,4%). [7,8,9,10,11,12]

O quadro clínico do envenenamento botrópico pode ser dividido em: a) manifestações locais: marca da presa visível e com freqüente sangramento; dor local; distúrbio proteolítico caracterizado por edema local precoce, equimose e abscesso hemorrágico, seroso ou necrótico e formação de bolhas com conteúdo hemorrágico no local da picada; b) manifestação sistêmica: hemorragia, a mais comum gengivorragia, porém

em casos graves, há ocorrência de hemorragias intensas em órgãos vitais como hipófise, sistema digestivo e sistema nervoso; distúrbios de coagulação com incoagulabilidade sangüínea ou alteração no tempo de coagulação; alterações morfológicas nos eritrócitos com a hemólise causada, sobretudo pela ação de coágulos sobre a hemácia, hidrólise dos fosfolipídios da membrana ou através da liberação de lisolectina da lecitina plasmática; alterações nos leucócitos; microembolismo pulmonar e em outros órgãos; lesões no endotélio vascular; e distúrbios renais caracterizados por albuminúria, hematúria microscópica e púrpura. São raras, porém passíveis de ocorrer hematúria macroscópica, hemoptise, epistaxe, sangramento conjuntival, hipermenorragia e hematêmese; e choque, apesar de rara quando evolui sua instalação é precoce causada principalmente pela liberação de mediadores químicos inflamatórios e ou de substâncias vasoativas, hemorragia sistêmica e ou seqüestro de líquidos para o compartimento comprometido. [6,13,14] A insuficiência renal aguda causada principalmente por necrose tubular aguda, hipotensão, ação de nefrotoxinas, pela hemólise, dentre outros fatores, é a complicação sistêmica mais evidente, porém depende da espécie de serpente botrópica que promoveu o acidente. [6]. HAAD [13] afirma que os sintomas são mais graves em crianças com até 15 anos de idade no qual são registrados em 100% dos casos edema, dor e hemorragia, percentual que diminui para casa dos 27% dos casos em adultos com 15 a 45 anos. A toxicidade da peçonha é dependente da espécie, do gênero,

da família que serpente pertence e a botrópica tem toxicidade menor se comparada a da cascavel-sul-americana, porém seu veneno é capaz de deixar seqüelas visíveis. É caracterizada pela indução ao choque, principal causa de morte, intensa atividade proteolítica, coagulação do plasma sanguíneo, hemorragia, liberação de substâncias biogênicas como histamina e bradicinina, formação de edema e necrose. [16]

Ação coagulante: a peçonha botrópica exibe atividade sobre o sistema de coagulação tornando o sangue incoagulável ou promovendo coagulação maciça. Componentes da peçonha podem agir sobre as plaquetas promovendo aglutinação e agregação (botrocetina e trombocetina, respectivamente) levando a trombocitopenia. [6,16,17,18,19]

Ação hemorrágica: é desencadeada por toxinas denominadas hemorraginas. Essas atuam sobre capilares, primeiro destruindo a lâmina basal e depois gerando instabilidade na parede endotelial vascular assim rompendo a junção entre as células, além disso, há forte atividade desintegrina com degradação de componentes da matriz extracelular como colágeno tipo IV, fibronectina e laminina e inibição da agregação plaquetária gerando por fim a hemorragia. A hemorragia instalada agrava o estado de choque e está ligada junto com a histamina na formação do edema no local da picada. [6,16,20,21,22]

Ação sobre liberação de substâncias vasoativas: a peçonha promove liberação de histamina, bradicinina, 5-hidroxitriptamina, lisofosfatídios (lisocitina e lisocefalina), prostaglandinas, catecolaminas, anafilotoxinas. [6] **Ação citotóxica:** é promovida pela atividade proteolítica da peçonha e associada à liberação de mediadores químicos da resposta inflamatória, da ação de hemorraginas sobre o endotélio vascular e da ação pró-coagulante causam localmente dor, edema e necrose. [6,16,22,23] **Ação inflamatória:** causadas pela ação de várias frações do veneno como aminas biogênicas pré-formadas, fosfolipases A2 e proteases, que tem, em geral, ação indireta na formação do edema ou no processo inflamatório agudo observado em acidentes botrópicos, induzindo ou mesmo promovendo a liberação de mediadores como bradicinina, prostaglandinas, prostaciclina e leucotrienos, que atuando em conjunto estão relacionados na gênese da inflamação local. Cabe ainda salientar que a formação de trombos devido a agregação plaquetária, alteração na coagulabilidade sanguínea e hemorragia pode levar a hipóxia o que, conseqüentemente agrava o quadro de necrose e o edema.[6]

Materiais e Métodos

O presente trabalho foi realizado através de pesquisas bibliográficas em bases da Bireme, Scielo e Science Direct, utilizando palavras chaves como toxinas, neurotoxinas, *B. neuwiedi* e serpentes. Os autores citados nesta revisão utilizaram a técnica de BULBRING [4] para isolar o diafragma e o nervo frênico de ratos e camundongos. Esta técnica consiste em dissecar a pele ao nível do tórax e cuidadosamente isolar o diafragma juntamente com o nervo frênico, tomando-se o cuidado para não lesar nem o músculo, nem o nervo. [5] Foram utilizados vários venenos, antivenenos e toxinas de várias espécies de serpentes. A preparação foi posicionada em cuba com solução nutritiva de Tyrode aerado com carbogênio. O músculo foi submetido a estímulos elétricos provenientes de estimulador elétrico S88 Grass Instruments, através de eletrodos bipolares no nervo com estímulos diretos e indiretos. O registro da força de contração muscular foi verificado através de um transdutor isométrico.

Discussão

Os venenos de serpentes do gênero *Bothrops* induzem reações locais caracterizadas por mionecrose, hemorragia, edema e dor. Diferentemente do que ocorre no quadro sistêmico, essas reações locais não são neutralizadas de modo eficiente pelos antivenenos, ainda que seja administrado logo após o acidente. ABREU, em seu trabalho efetuou um estudo comparativo dos efeitos do veneno bruto de três subespécies de *Bothrops neuwiedi*: *B.n.goyazensis*, *B.n.paranaensis* e *B.n.diporus* sobre a junção neuromuscular de ave (músculo biventer cervicis de pintainho) e de mamífero (nervo frênico-diafragma de camundongo, BULBRING [4]), a 37 e a 22°C. A atividade fosfolipásica dos venenos foi também comparada em diferentes temperaturas. Em preparações de ave, 10-200 µg/ml, os três venenos mostraram-se menos ativos do que em preparações de mamífero. Na concentração de 50 µg a 37°C, na preparação de ave, o veneno de *B.n.goyazensis* exibiu maior atividade. No entanto, a 22°C, o veneno de *B.n.diporus* exibiu maior atividade, demonstrando que esses venenos atuam de maneira diferenciada sobre a junção neuromuscular. Testados em preparação de mamífero, 10-100 µg /ml, os venenos estudados causaram o bloqueio total da resposta contrátil, tanto a 37, quanto a 22°C, demonstrando nesse caso, que a ação do componente ou componentes responsáveis pelo bloqueio neuromuscular independe da

temperatura. Os venenos de *B.n.goyazensis* e *B.n.paranaensis* inibem a ação contraturante da acetilcolina, além de inibirem a resposta ao K⁺, sugerindo efeitos neurotóxicos pós-sinápticos e também miotóxicos. Esses venenos exibem ainda um leve, mas significativo aumento da amplitude da resposta contrátil, seguida de bloqueio e contratura, o que poderia sugerir uma atividade anticolinesterásica. O veneno de *B.n.diporus* inibiu a ação contraturante da acetilcolina e a resposta ao potássio, causando contratura, o que também sugere efeitos neurotóxicos pós-sinápticos, além de miotóxicos. Com a substituição do Ca⁺ pelo Sr⁺ na solução Tyrode, o veneno de *B.n.diporus* não apresentou seu efeito bloqueador, sugerindo que, provavelmente, esse efeito envolva uma atividade catalítica. Comparando-se os três venenos quanto à atividade fosfolipásica, os resultados apresentaram a seguinte ordem de potência: *B.n.diporus*, seguido por *B.n.paranaensis* e, por último, *B.n.goyazensis*, o de atividade fosfolipásica menos potente.[2] Muitos fatores tais como a idade, o sexo, a dieta, a origem geográfica, e as condições de armazenamento do veneno podem afetar a atividade biológica dos mesmos. DURIGON *et al* [1] verificou as variações significativas nos potenciais neurotóxicos de venenos de *B. neuwiedii* em diferentes regiões. Nas concentrações 20 mg/ml, a maioria de venenos reduziram a contração-tensão sem completamente abolir a contratura ao acetilcolina exógenas, sugerindo uma ação pré-sináptica. Embora os resultados confirmassem a miotoxicidade em todos os venenos do *B. neuwiedii*, nem todas as amostras responderam ao KCl nas baixas concentrações (5-20 mg/ml). Como relatado por Harvey *et al*, as baixas concentrações do veneno revelam freqüentemente a presença das neurotoxinas, enquanto as altas concentrações do veneno demonstram a presença de componentes miotóxicos. O veneno de *B. neuwiedii* contém as fosfolipases, que podem ser envolvidas na ação neuromuscular do veneno. A variação intraespecífica na atividade do fosfolipase, tal como relatado em *B. asper*, *C. durissus*, *C. ruber* e *Daboia russelli* poderia esclarecer a variação na atividade neuromuscular de *B. neuwiedii*. Embora a ação neuromuscular fosse demonstrada *in vitro* para os vários venenos de *Bothrops*, não há nenhuma evidência conclusiva para tal efeito *in vivo*. No exemplo de *B. neuwiedii*, os efeitos principais do envenenamento são muito similares àqueles de outros *Bothrops* e incluem o edema, a hemorragia, a necrose, e as desordens de coagulação. [3] O veneno do *B. n. pauloensis* (20-100 µg/ml) produziu bloqueio neuromuscular

em concentrações-dependentes na preparação indiretamente estimulada do nervo-músculo do rato. Em 20 µg/ml, o veneno produziu 60 ± 10% de bloqueio ($p < 0.05$; $n = 6$) após 120 minutos; uma concentração de 50 µg/ml ou de 100 µg/ml causou o bloqueio completo da contração-tensão. Na ausência de Ca₂⁺, o veneno (50 µg/ml), produziu o bloqueio parcial somente após uma incubação de 80 minutos, que alcançasse 40,3 ± 7,8% ($p < 0.05$; $n = 3$) após 120 minutos. Na solução de Ca₂⁺-livre, os resultados diferiram significativamente ($p < 0.05$) daquele obtido nas experiências com o Ca₂⁺ após uma incubação de 35 minutos com veneno. Nenhum bloqueio neuromuscular significativo foi observado em concentrações < 20 µg/ml. A concentração do veneno de 50 µg/ml inibiu as contrações induzidas pela estimulação direta do músculo nas preparações curarizadas (80 ± 8% inibição após 120 minutos; $p < 0.05$; $n = 6$). [1] O estudo comparativo procedido por Rocha *et al*, *apud* SANTOS [5] demonstrou que a maioria dos componentes das peçonhas de *P. olfersii* e *P. patagoniensis* são glicoproteínas. Acosta *et al* *apud* SANTOS [5] mencionam que a toxicidade (LD50) das peçonhas destas duas espécies de *Philodryas* é comparável a de várias espécies do gênero *Bothrops* ainda que a atividade proteolítica seja diferenciada.

Conclusão

Pode-se concluir a importância dos diversos estudos sobre as serpentes do gênero *Bothrops*, principalmente pelos efeitos tóxicos, servindo como base para o tratamento clínico.

Referências

- [1] DURIGON, A. M., BORJA-OLIVEIRA, C. R., DAL BELO, C. A. *et al*. Neuromuscular activity of *Bothrops neuwiedi pauloensis* snake venom in mouse nerve-muscle preparations. *J. Venom. Anim. Toxins incl. Trop. Dis*, Jan./Mar. 2005, vol.11, no.1, p.22-33. ISSN 1678-9199.
- [2] ABREU, V.A. Estudo comparativo dos efeitos do veneno bruto de *Bothrops neuwiedi goyazensis*, *B.n.paranaensis* e *B.n.diporus* sobre a junção neuromuscular de preparações isoladas de ave e de mamífero. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) – Departamento de Farmacologia - FCM, UNICAMP, Campinas, 2004
- [3] BORJA-OLIVEIRA, C. R., SOARES, A. M., ZAMUNER, S. R. *et al*. INTRASPECIFIC VARIATION IN NEUROTOXIC AND MYOTOXIC ACTIVITIES OF *Bothrops neuwiedi* VENOMS. *J. Venom. Anim. Toxins*. [online]. 2002, vol.8, no.1 [citado 26 Maio 2005], p.88-101

- [4] BÜLBRING E. Observations on the isolated phrenic nerve diaphragm preparation of the rat. Br. J. Pharmacol., 1946, 1, 38-61.
- [5] SANTOS, L.P. Estudo da ação neuromuscular de variadas concentrações de peçonha da colubrídea opistóglifa *Philodryas patagoniensis* em preparações musculares de aves e mamíferos. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento, Universidade do Vale do Paraíba, São José dos Campos, 2004.
- [6] CARDOSO, J.L.C.; FAN, H.W.; MÁLAQUE, C.M; Jr, V.H; CAMPOS, F.O.S. Animais Peçonhentos no Brasil – Biologia, Clínica e Terapêutica dos Acidentes. Ed. Sarvier Fapesp, 2003.
- [7] WHO – World Health Organization. Progress in the characterization of the venom and standartization of anti venom. Geneve WHO Publication, 1981. p58.
- [8] RIBEIRO, L.A. Epidemiology of ofidic accidents. Mem. Instituto Butantan, 52(supl), 1990. p15-16.
- [9] RIBEIRO, L.; JORGE, M. Epidemiologia e quadro clínico dos acidentes por serpentes *Bothrops jararaca* adultas e filhotes. Ver. Inst. Méd Tropical, 32,1990. p436-442.
- [10] RIBEIRO, L.; PIRES DE CAMPO, V.A.F; ALBUQUERQUE, M.J.; TAKAOKA, N.Y. Acidente ofídico no Estado de São Paulo. Revista da Associação Médica Brasileira, 39(1), 1993. p4-7.
- [11] SECRETARIA DO ESTADO DE SÃO PAULO DE SAÚDE. Acidentes por animais peçonhentos: identificação, diagnóstico e tratamento. Manual de Vigilância Epidemiológica, 1993.
- [12] CARDOSO, J.L.C.; FAN, H.W.; FONSECA, S.O.S.; JORGE, M.T.; LEITE, R.P. et al. Randomised comparative trial of three anti-venom in the treatment of envenoming by lance headed zips (*Bothrops jararaca*). São Paulo. Q.J. Med, 1993. p83.
- [13] HAAD, J.S. Acidentes humanos por serpentes do gênero *Bothrops*. Mem. Instituto Butantan, 44/45, 1980/81. p403-423.
- [14] CARDOSO, J.L.C. Acidentes ofídicos. Hospital Vital Brazil. Mem. Instituto Butantan, 52(supl), 1990. p43-44.
- [15] LIRA-DA-SILVA, RM. Estudo farmacológico do veneno de *Bothrops leucurus* (serpente viperidae). Dissertação de Doutorado. Faculdade de Ciências Médicas, UNICAMP, Campinas, SP. 2001.
- [16] BRAZIL, O.V. Peçonhas in Cobert-Farmacodinâmica. 6 ed. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, 1982. p57-79.
- [17] KAMAGUTI, A. S.; MATSUNAGA, S.; SPIR, M.; SANO-MARTINS, I.S.; NAHAS, L. Alterations of the blood coagulation system after accidental human inoculation by *Bothrops jararaca* venom. Braz. J. Biol. Res, 19, 1986; 199-204.
- [18] SANO-MARTINS, I.S. Distúrbios hematológicos induzidos por venenos botrópicos. Mem. Instituto Butantan, 52(supl), 1990. p39.
- [19] HAVT, A.; FONTELES, M.C.; MONTEIRO, H.S.A. The renal effects of *Bothrops jararacussu* venom and the role of PLA2 and PAF blockers. Toxicon, 39, 2001. p1841-1846.
- [20] MANDELBAUM, F. Venenos hemorrágicos de serpentes. Mem. Instituto Butantan, 52(supl), 1990. p35-36.
- [21] GUTIERREZ, J.M. Efeito patológico local induzido por venenos de serpentes do gênero *Bothrops*. Mem. Instituto Butantan, 52(supl), 1990. p37-38.
- [22] GUTIERREZ, J.M.; LOMONTE, B. Local tissue damage induced by *Bothrops* snake venoms. Mem. Instituto Butantan, 51, 1989.p211-223.
- [23] ARNI, R.K.; WARD, R.J. Phospholipase A2 – A structural review. Toxicon, 34, 1996. p827-841.