

DAS FLORESTAS TROPICAIS SUL-AMERICANAS PARA O SEU DIA A DIA: USO CLÍNICO DE TOXINAS ANIMAIS E SEUS DERIVADOS

Gisele Picolo¹, Flavia Souza Ribeiro Lopes¹, Louise Faggionato Kimura¹, Lorena de
Morais Ribeiro Silva¹ e Morena Brazil Sant'Anna¹

1. Laboratório de Dor e Sinalização, Instituto Butantan, São Paulo, São Paulo, Brasil.

RESUMO

Venenos e toxinas animais têm sido utilizados há milênios no tratamento de diferentes condições clínicas. Os venenos são misturas complexas, formados por proteínas, peptídeos, sais, nucleotídeos, aminas biogênicas, enzimas, íons inorgânicos, fatores de crescimento neurais, entre outros, com ação em diversos alvos terapêuticos como receptores, canais iônicos, transportadores de membranas e enzimas. Além do seu uso empírico, diversos medicamentos originados a partir de venenos animais são utilizados clinicamente no tratamento de diversas doenças (como câncer, dor crônica, doenças neuromusculares, doenças autoimunes, doenças cardiovasculares e hematológicas). Discutiremos a seguir o uso de toxinas animais como fonte para obtenção de novas moléculas terapêuticas, bem como as limitações e desafios existentes no percurso desde a descoberta até a prateleira. Ainda, serão apresentados os compostos derivados de animais originários de florestas sul-americanas que obtiveram êxito neste processo, e que encontram-se atualmente disponíveis para uso clínico, utilizados para o tratamento de hipertensão, dor e distúrbios da coagulação.

Palavras-chave: Venenos e toxinas animais, Floresta sul-americanas e Novos fármacos

ABSTRACT

Animal venoms and toxins have been used for millennia in the treatment of different clinical conditions. Venoms are complex mixtures, containing proteins, peptides, salts, nucleotides, biogenic amines, enzymes, inorganic ion, and neurological growth factors, among others, acting on diverse therapeutic targets such as receptors, ionic channels, membrane transporters and enzymes. Apart from their empirical use, various drugs originated from animal venoms have been clinically used for the treatment of many diseases (such as cancer, chronic pain and neuromuscular, autoimmune, cardiovascular and hematological diseases). Here, it will be discussed the use of animal toxins as a source for new therapeutic molecules, as well as the limitations and challenges that exist in the journey from the discovery to the pharmacy shelf. In addition, the compounds derived from animals from South American forests that have been successful in this process, and which are currently available for clinical use, for the treatment of hypertension, pain, and coagulation disorders will be presented.

Keywords: Animal venoms and toxins, South American forests and New drugs.

1. INTRODUÇÃO

Baseado nas propriedades moduladoras sobre diversos sistemas fisiológicos, venenos, toxinas animais e seus derivados têm sido utilizados como uma rica fonte na obtenção de moléculas com potencial terapêutico. Os venenos animais são misturas complexas, compostos por proteínas, peptídeos, sais, nucleotídeos, aminas biogênicas, enzimas, íons inorgânicos, fatores de crescimento neurais e neurotransmissores, entre outros (CHEN et al., 2018; BORDON et al., 2020), que acarretam efeitos variados por ação em diversos alvos terapêuticos como receptores, canais iônicos, transportadores de membranas e enzimas (CHEN et al., 2018).

Os diversos componentes presentes nos venenos exercem funções adaptativas variadas, relacionadas a sobrevivência animal; podem ser parte do sistema digestivo, atuando na degradação/digestão do alimento, como podem estar relacionados ao sistema de defesa, com função de imobilizar, paralisar ou matar presas e predadores (KARDONG, 1996). Cada espécie de animal peçonhento é, em sua maioria, altamente especializada no que diz respeito à captura de suas presas, uma vez que milhares de anos de evolução permitiram que as toxinas se tornassem cada vez mais eficazes em relação às suas funções (KORDIS; GUBENSEK, 2000). Portanto, a diversidade de ações associada à alta especificidade, seletividade e potência em relação aos seus alvos, tornam as toxinas alvos atrativos na busca de novos componentes terapêuticos (CURY; PICOLO, 2006; CHEN et al., 2018).

2. REVISÃO DE LITERATURA

Não se pode precisar o momento em que o homem aprendeu que venenos animais possuíam capacidade terapêutica, trazendo benefícios diversos com seu uso, contudo, existem evidências que a utilização de venenos animais no tratamento de diferentes doenças é milenar. Hipócrates (460-370 a.C.), médico grego e pai da medicina moderna, foi o primeiro a relatar o uso de veneno de abelhas no tratamento de doenças (KIM, 2013). Existem relatos de, na Roma antiga, venenos animais serem utilizados no tratamento de varíola, lepra, febre, bem como para a cicatrização tecidual (UTKIN, 2015). O veneno do escorpião *Buthus martensii* Karsch tem sido utilizado há mais de 2.000 anos, na medicina tradicional chinesa,

para o tratamento de enxaqueca, paralisia facial, reumatismo e dor de origem tumoral (SHAO et al., 2007). Carlos Magno (742-814), o “Rei dos Francos” e Ivan, “o Terrível” (1530-1584), czar da Rússia, utilizavam-se de veneno de abelhas para o tratamento de gota (KIM, 2013). Serpentes imersas em bebidas alcoólicas diversas e ingeridas na forma de “vinho de cobra” ou “licor de cobra”, tem sido usadas desde os primeiros tempos como parte de medicina tradicional em países como Camboja, China, Japão, Coréia, Laos, Taiwan, Tailândia e Vietnã (LAWRENCE, 1978; NEWMAN, 2000; SOMAWEERA; SOMAWEERA, 2010). Em relação ao uso clínico, os primeiros relatos sobre o uso de veneno de serpentes, como analgésico e antitumoral, datam de 1930 (CALMETTE; SAENZ; COSTIL, 1933), incluindo pesquisas realizadas no Brasil (BRAZIL, 1934).

Nesse sentido, as propriedades terapêuticas de venenos, toxinas animais e seus derivados tem sido amplamente investigadas e diversos compostos estão atualmente em fase pré-clínica e clínica de desenvolvimento, para o tratamento de uma diversidade de doenças, entre elas, câncer, dor crônica, doenças neuromusculares, doenças autoimunes, doenças cardiovasculares e alterações hemostáticas (BORDON et al., 2020) enquanto outros já estão disponíveis clinicamente (CHEN et al., 2018; BORDON et al., 2020).

Apresentaremos a seguir os casos de sucesso de fármacos atualmente utilizadas na clínica, obtidos a partir de venenos de animais originários de florestas tropicais da América do Sul.

2.1. VENENO DE SERPENTES DO GÊNERO *Bothrops* E SUA AÇÃO SOBRE A CASCATA DE COAGULAÇÃO

Os acidentes causados por serpentes do gênero *Bothrops* spp. na América do Sul ocorrem há séculos, desde a colonização de seus habitats naturais até os dias de hoje. Pela característica hemorrágica desses acidentes, os estudos sobre as propriedades da peçonha desses animais foram explorados e, já na década de 1950, foram isoladas toxinas que apresentaram efeitos diretos sobre a cascata de coagulação. Abordaremos inicialmente a cascata de coagulação de uma maneira simples e concisa, e em seguida serão descritas algumas toxinas isoladas das peçonhas de serpentes do gênero *Bothrops* spp., as quais já foram caracterizadas, e atualmente são comercializadas por suas ações na coagulação.

2.1.1. Cascata da coagulação sanguínea

A principal função do sistema de coagulação sanguínea é a formação do coágulo de fibrina. Na ocorrência de lesão vascular, as plaquetas são ativadas e se agregam para formar um tampão temporário que reduz o extravasamento de sangue e fornece fosfolípidios negativamente carregados, como a fosfatidilserina, expostos na superfície das plaquetas e células endoteliais ativadas. A partir daí, inúmeras reações químicas acontecem, como apresentadas na figura 1, que culminam com a formação de coágulos de fibrina insolúveis, reforçando o tampão plaquetário. Estas reações geralmente são divididas em duas vias: a via extrínseca (via do fator tecidual) e via intrínseca (ativada por contato).

Na via extrínseca, o fator tecidual (FT), que é um receptor transmembrana de alta afinidade e também cofator do fator VIIa, formam juntos um complexo quaternário que dá início a esta via. A clivagem do fator X pelo complexo FT-fator VIIa origina o fator Xa que, ao se complexar com o fator Va (conhecido como complexo protrombinase), cliva a protrombina em trombina. A trombina, por sua vez, por proteólise, converte o fibrinogênio em fibrina, que se polimeriza formando uma rede de fibrina, originando o coágulo sanguíneo com as plaquetas agregadas. Na via intrínseca, as proteínas plasmáticas pré-caliceína, cininogênio de alto peso molecular e o fator XII, quando em contato com superfícies não biológicas, como vidro ou caulim, ou a recém-formada trombina, ativam o fator XI. O fator XIa juntamente com o fator VIIIa e o fator tecidual convertem o fator IX em sua forma ativa (fator IXa) na presença de íons cálcio. O fator IXa, então, se complexa com o fator VIIIa e ativam o fator X. O fator Xa se liga ao fator Va (protrombinase) e convertem a protrombina em trombina, assim como na via extrínseca, culminando com a formação do coágulo (DAVIE; FUJIKAWA; KISIEL, 1991; LAPELUSA; DAVE, 2021).

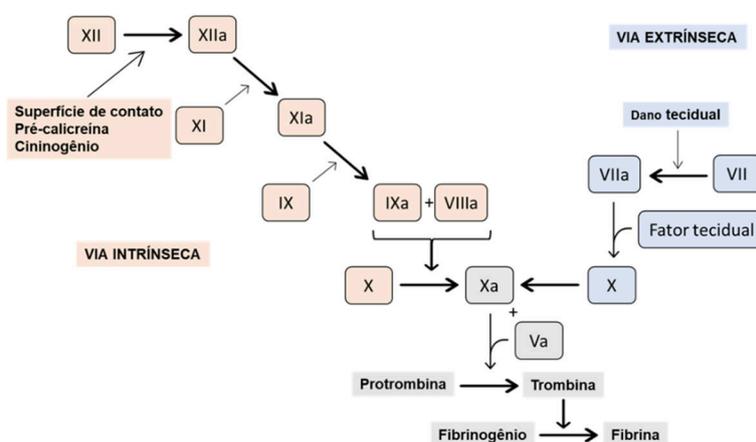


Figura 1. Representação gráfica simplificada da cascata da coagulação sanguínea, mostrando os fatores envolvidos nas vias intrínseca e extrínseca.

2.1.2. Toxinas botrópicas que afetam a cascata de coagulação e produtos derivados

Distribuídas por toda região tropical da América do Sul, as serpentes do gênero *Bothrops* spp., como a *B. atrox*, *B. moojeni* e *B. jararaca*, são as maiores causadoras de acidentes neste local, ocasionando um quadro clínico hemorrágico nos pacientes, característico dos acidentes botrópicos. Já na década de 1930, os estudos com a peçonha de *B. atrox* começaram a ser aprofundados e, atualmente, diversas enzimas que contribuem para a coagulopatia e o extenso dano tecidual já estão isoladas e caracterizadas, tais como metaloproteinases ou SVMPs (do inglês *snake venom metalloproteinases*), serino proteinases ou SVSPs (do inglês *snake venom serine proteinases*), fosfolipases A₂, entre outras (MONTEIRO et al., 2020). No que diz respeito às SVSPs, algumas possuem função bastante similar à trombina, sendo, portanto, denominadas enzimas do tipo trombina (ou trombina símile, ou SVTLEs do inglês *snake venom thrombin-like enzymes*). A batroxobina, sem dúvida, é a SVTLE mais famosa dentre as enzimas da peçonha de serpentes (CASTRO et al., 2004).

Descrita pela primeira vez como uma proteinase do veneno de espécies *Bothrops* spp. em 1939, a batroxobina foi isolada e caracterizada na década de 1970. Esta toxina tem função anticoagulante por clivar especificamente a cadeia alfa do fibrinogênio, o qual é convertido espontaneamente em coágulos frouxos de fibrina, diferentemente da trombina, que converte o fibrinogênio em fibrina ao separar os fibrinopeptídeos A e B. A redução do fibrinogênio plasmático pela formação desses pequenos coágulos, que são facilmente eliminados pelo sistema reticulo-endotelial, diminui a alta viscosidade do sangue. Vale a pena mencionar também que a atividade da batroxobina não é influenciada pela heparina (MONTEIRO et al., 2020). Assim, esta toxina apresenta diversas aplicabilidades terapêuticas, sendo inclusive comercializada em alguns países para determinados fins, como descrito a seguir:

2.1.2.1. Defibrase®

O produto da empresa Pentapharm corresponde ao ingrediente farmacêutico ativo (IFA) da batroxobina, purificada da peçonha da serpente *Bothrops moojeni*. A enzima é usada clinicamente para o tratamento de doenças trombóticas, possuindo diversas funções além da redução dos níveis de fibrinogênio e viscosidade do sangue, tais como melhoria da hemorreologia e microcirculação, infarto cerebral agudo (registrado apenas na China),

isquemia causada por doenças vasculares oclusivas (como tromboangíte obliterante, trombose venosa profunda e embolia pulmonar), disfunções periféricas e da microcirculação (como surdez súbita, doença vibratória). Atualmente, a Defibrase® encontra-se registrada na China e Japão (PENTAPHARM, 2021a).

2.1.2.2. Reptilase®

Este produto foi originalmente registrado também pela empresa Pentapharm em 1954 e refere-se ao IFA denominado *Haemocoagulase* que consiste em um sistema enzimático isolado da peçonha de *B. atrox* composto por duas enzimas diferentes que atuam na coagulação do sangue: uma SVLTE (batroxobina) que cliva o fibrinogênio para produzir fibrinopeptídeo A e monômeros de fibrina, e uma metaloproteinase, semelhante à tromboplastina, que leva à ativação de FX em FXa na presença de fosfolípidios carregados negativamente (no local de uma lesão). O FXa converte a protrombina em trombina, como já mencionado, exibindo múltiplas ações na agregação plaquetária, na ativação de fatores plasmáticos e na formação de fibrina. Estudos *in vitro* mostram que a hemocoagulase induz a coagulação do fibrinogênio ao clivar gradualmente o fibrinopeptídeo A dando origem a monômeros de fibrina, que polimerizam de ponta a ponta em fibrina. Na presença de fator plaquetário 3, precursor da tromboplastina que transforma a protrombina em trombina na presença de íons cálcio, a hemocoagulase ativa o fator X. *In vivo*, é importante mencionar que as doses terapêuticas de hemocoagulase não causam coagulação dentro dos vasos sanguíneos. O monômero de fibrina produzido pela hemocoagulase permanece em solução uma vez que forma um complexo com o fibrinogênio nativo. Desta maneira, a Reptilase® reduz o tempo de sangramento e da coagulação sendo utilizada para sangramentos pulmonar, oral, traumático, pós-operatório e outras hemorragias internas e externas. Atualmente, este composto está registrado nos países Japão, Coréia e Índia (PENTAPHARM, 2021b).

Outra importante aplicação da Reptilase® é no ensaio denominado tempo de reptilase, que avalia o tempo necessário para a formação de um coágulo de fibrina estável a partir da adição da batroxobina à amostra de plasma (cerca de 18–22 s). O ensaio geralmente é realizado para confirmar ou excluir a suspeita de disfibrinogenemias, para confirmar a contaminação por heparina ou para obter informações semelhantes às do tempo de coagulação da trombina em pacientes heparinizados e hemofílicos (KARAPETIAN, 2013).

2.1.2.3. Plateltex® e Vivostat®

São outros produtos que utilizam a batroxobina em sua formulação. Pelo fato da batroxobina não ativar diretamente as plaquetas, estas retêm todos os seus fatores de crescimento que ajudam na cicatrização local. Desta maneira, plaquetas (oriundas da preparação do plasma rico em plaquetas) embebidas em um material semi-sólido (e.g. gel), na presença de batroxobina, originam coágulos macios que podem ser aplicados a lesões para facilitar a cicatrização local. Esse processo foi patenteado em 2001 dando origem ao Plateltex®, utilizado em cirurgias e para tratar feridas crônicas. Já o Vivostat® origina um sistema selante, atuando como cola, pela adição da batroxobina ao plasma humano, diferentemente do selante de fibrina humano que, além de custoso, geralmente utiliza trombina bovina em sua composição, o que pode gerar infecções e reações imunes à trombina bovina. Assim, o Vivostat® compõe um sistema que depende exclusivamente do fibrinogênio e trombina do próprio doador, além da batroxobina, sendo bastante útil na manutenção da hemostasia em diversas cirurgias (WAHEED; MOIN; CHOUDHARY, 2017).

2.2. VENENO DE SERPENTES *Bothrops jararaca* E O CONTROLE DA HIPERTENSÃO

2.2.1. Doenças cardiovasculares: hipertensão arterial sistêmica

De acordo com a Organização Mundial da Saúde, a pressão arterial elevada ou hipertensão tem sido apontada desde 2003 como o mais importante fator de risco global para morbidade e mortalidade. É o fator de risco predominante para quase todas as doenças cardiovasculares adquiridas durante a vida, incluindo doença coronariana, hipertrofia ventricular esquerda e doenças cardíacas valvares, arritmias cardíacas incluindo fibrilação atrial, acidente vascular cerebral e insuficiência renal (KJELDSEN, 2018). Ainda, é responsável por aproximadamente 45% dos casos de mortes relacionadas a doenças cardíacas, sendo altamente influenciada por hábitos de vida que conferem risco como tabagismo, uso de drogas, uso de pílula anticoncepcional, sedentarismo, obesidade e dieta (em particular ingestão excessiva de sal e potássio).

A hipertensão arterial sistêmica é caracterizada pela pressão arterial (PA) persistentemente elevada nas artérias. De acordo com a maioria das diretrizes, a hipertensão é diagnosticada quando a PA sistólica (PAS) for maior ou igual 140 mmHg e/ou a PA diastólica (PAD) for maior ou igual 90 mmHg (UNGER et al., 2020). A farmacoterapia anti-

hipertensiva dispõe de várias classes de medicamentos, sendo que normalmente, o tratamento inicia-se com medicamentos anti-hipertensivos de primeira linha como inibidores da enzima conversora de angiotensina (iECA), bloqueadores do receptor da angiotensina II (também conhecidos como sartans), bloqueadores dos canais de cálcio diidropiridina e diuréticos tiazídicos (ARONOW, 2018).

2.2.1.1. Regulação da pressão arterial

O sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) é o sistema hormonal mais importante no controle cardiovascular e na patogênese das doenças cardiovasculares e/ou associadas, como a hipertensão. Fisiologicamente, quando há uma queda na pressão arterial, as células justaglomerulares são ativadas e passam a produzir a proteína renina em grande quantidade, que é então secretada na corrente sanguínea para aumentar a reabsorção de água e eletrólitos no rim, que compensará a queda no volume sanguíneo aumentando a pressão arterial (MUÑOZ-DURANGO et al., 2016). Na circulação, a renina atua sobre o angiotensinogênio, produzido e liberado principalmente pelo fígado, formando a angiotensina I (Ang I) que, sob ação da ECA, é convertida em Ang II. Esta por sua vez, é o principal peptídeo efetor do SRAA, desempenhando diversas funções, entre elas, a estimulação da secreção de aldosterona pelo córtex das glândulas adrenais (BAVISHI; BANGALORE; MESSERLI, 2016). Seus efeitos biológicos são decorrentes da interação com receptores específicos acoplados à proteína G. Agindo em receptores AT1, que são expressos na maioria das células dos vasos sanguíneos, coração, adrenal, rins e pulmões, induz vasoconstrição, estimulação da secreção de aldosterona, retenção de eletrólitos e crescimento celular. Por outro lado, sua ligação a receptores AT2 apresenta efeitos opostos aos da ativação do AT1, como por exemplo, vasodilatação, inibição do crescimento celular, da diferenciação celular e apoptose (SINGH; KARNIK, 2016). Ainda, o SRAA possui outros peptídeos ativos, como os fragmentos da Angiotensina (1-7) (Ang 1-7) que induz vasodilatação, natriurese, diurese e efeito anti-trófico. A Ang 1-7 pode ser formada após a clivagem da Ang I pela enzima prolil endopeptidase neutra, ou após a conversão da Ang II pela enzima conversora de angiotensina II (ECA 2) (CAREY; PADIA, 2018).

É importante mencionar que o SRAA pode ser modulado por um outro sistema que também é importante na regulação da função cardiovascular, o Sistema Caliceína-Cinina (SCC). O SCC é composto por caliceínas, enzimas encontradas no plasma e no tecido, que clivam os cininogênios, produzidos pelo fígado, liberando cininas como a bradicinina (BK),

calidina (Lys-BK) e Met-Lys-BK (SU, 2014). Os efeitos hemodinâmicos sistêmicos e endoteliais das cininas são rápidos devido a sua metabolização por enzimas, principalmente a cininase II ou ECA que inativa a BK e Lys-BK, podendo ainda gerar fragmentos bioativos (des-Arg9-BK e Lys-des-Arg9-BK), que posteriormente são inativados pela ECA (RHALEB; YANG; CARRETERO, 2011).

A principal intersecção entre os SRAA e SCC ocorre pela ECA, que regula a pressão arterial por meio da geração de Ang II e da inativação de BK. Nesse sentido, os inibidores da ECA representaram grandes avanços no tratamento da hipertensão arterial e doenças cardiovasculares (SCHMAIER, 2003).

2.2.2. Captopril e a história do seu desenvolvimento

Em 1949, o Prof. Maurício Rocha e Silva, estudando a fisiopatologia do envenenamento por *Bothrops jararaca*, descobriu que, após a incubação de plasma sanguíneo de animais com o veneno desta serpente, era gerado, no sangue, uma substância com efeito hipotensor e espasmogênico sobre a musculatura lisa, nomeada bradiginina (do grego brady-, lento e kinin, κῖν para se mover) (HAWGOOD, 1997). Entretanto, ao ser sintetizada, o efeito da bradiginina sintética sobre a musculatura lisa era mais curto e menos intenso quando comparado ao efeito causado pelo veneno bruto. Posteriormente, em 1965, seu aluno de doutorado e colaborador Sergio Henrique Ferreira identificou que no próprio veneno havia um fator potenciador da bradiginina (ou FPB, posteriormente denominado de BPP do inglês *bradykinin-potentiating peptide*) muito potente, e a partir de então, ficou evidente a razão pela qual a bradiginina sintética não apresentava o mesmo efeito do que a natural na ausência do veneno. Na época, o FPB foi descrito como uma família de peptídeos encontrados no veneno de *Bothrops jararaca* que atuavam de forma específica potencializando os efeitos da bradiginina (FERREIRA; BARTELT; GREENE, 1970). Posteriormente, realizando pós-doutorado no Instituto de Ciências Médicas Básicas do Royal College of Surgeons, na Inglaterra, sob a supervisão do Professor John Vane, Ferreira iniciou estudos para avaliar a interferência do FPB sobre a ECA, mostrando que o FPB era um potente inibidor desta enzima (FERREIRA; BARTELT; GREENE, 1970). No final dos anos 1960 e início dos anos 1970, como consultor da Squibb Pharmaceutical Company em New Jersey, EUA, Vane iniciou os estudos pré-clínicos e clínicos do FPB para desenvolver uma nova terapia para tratar a hipertensão juntamente com esta empresa.

Com o avanço dos estudos, as dificuldades que surgiram em relação às características do peptídeo como o curto tempo de duração de ação devido suscetibilidade à degradação enzimática por via oral - considerados inaceitáveis para uso clínico; a síntese em larga escala considerada muito cara e a necessidade da realização da pesquisa clínica (SMITH; VANE, 2003) foram contornadas através de mudanças na molécula (BYERS; WOLFENDEN, 1973), permitindo que pesquisadores da Squibb desenvolvessem o Captopril, aprovado pelo FDA (do inglês, *Food and Drug Administration*) no início dos anos 1980 com o nome comercial Capoten®, permitindo que o primeiro medicamento da empresa vendesse um bilhão de dólares (SMITH; VANE, 2003).

O sucesso da Squibb no desenvolvimento do primeiro inibidor da ECA, o captopril, forneceu um grande impulso para que surgissem outros medicamentos. O concorrente do captopril produzido pela Merck & Co, comercializado com o nome de Vasotec®, o maleato de enalapril foi o primeiro inibidor da ECA a superar as limitações do captopril (IP; BRENNER, 1987). Apesar de terem estrutura e aspectos farmacológicos similares, o maleato de enalapril diferencia-se do captopril por ser pró-fármaco. Após a administração por via oral, o enalapril é biotransformado por enzimas do tipo esterases, assumindo a forma de uma molécula ativa inibidora da ECA, o enalaprilato. Além disso, devido a diferença química estrutural o maleato de enalapril possui uma melhor absorção gastrointestinal, podendo ser administrado antes, durante ou após as refeições. Vale ressaltar que, os efeitos adversos relacionados ao captopril, como proteinúria, erupções cutâneas e distúrbios de paladar no qual após a administração o paciente passava a sentir um sabor metálico são bem menos frequentes com o uso do enalapril (THIND, 1990).

2.3. VENENOS DE ABELHAS E APITOXINA (OU APITOX®)

As abelhas do gênero *Apis* e espécie *A. mellifera* são nativas da Europa e África, e são as mais cultivadas no Brasil. Inicialmente, a espécie europeia foi introduzida no Brasil no século XIX; posteriormente, no ano de 1956, com o objetivo de aumentar a produção de mel, a mesma espécie nativa da África foi introduzida, mesmo está apresentando um comportamento mais agressivo quando comparada as abelhas europeias. Devido à falha de manejo, ocorreu o cruzamento da espécie europeia com a espécie africana, resultando na abelha africanizada. Nos dias atuais a apicultura (denominação da atividade de criação de espécies de abelhas do gênero *Apis* para fins de produção de mel, pólen apícola, própolis, cera de abelhas, geleia real e apitoxina, ou para serviços de polinização) utiliza as

subespécies europeias *Apis mellifera mellifera*, *Apis mellifera ligustica* e *Apis mellifera carnica* (africanizada) (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE ESTUDO DAS ABELHAS, 2021). As fêmeas desta espécie possuem ferrão conectado a glândulas de veneno, utilizado para defesa (RUVOLO-TAKASUSUKI,; SOUZA, 2019). Um estudo epidemiológico que analisou casos de envenenamentos por animais terrestres em um período de 12 anos, mostrou que acidentes com abelhas tem uma das maiores taxa de fatalidade (0,33%) sendo apenas menor que acidentes por serpentes (0,43%) (CHIPPAUX, 2015; PUCCA et al., 2019). Dentre os componentes bioativos do veneno destacam-se adrenalina, dopamina, histamina, hialuronidase, noradrenalina, fosfolipases A₂ (PLA₂s), fosfolipases B (PLBs), serotonina, melitina, apamina e peptídeo de degranulação de mastócitos (PUCCA et al., 2019). Melitina é o principal componente do veneno de abelha, e em conjunto com a hialuronidase e PLA₂, são os principais responsáveis pelas propriedades alergênicas do veneno, levando ao rompimento da membrana celular e aumentando seu efeito citotóxico. Esse dano celular, por sua vez, leva à liberação de outros compostos como enzimas lisossomais, serotonina e histamina. Além disso, a melitina induz dor através da ativação direta de receptores TRPV1 através da cascata de PLA₂ (CHEN et al., 2016; CHEN; GUAN, 2017).

O veneno de *A. mellifera*, denominado apitoxina, é uma complexa mistura de componentes, como proteínas, peptídeos, aminoácidos, fosfolipídios, feromônios, açúcares, aminas biogênicas, compostos voláteis e uma grande porção de água (em torno de 80%). Existem registros da utilização do veneno de abelha para fins terapêuticos desde 3.000 a.C. na Grécia e no Egito, entretanto a compreensão química exata de sua composição e o mecanismo de ação dos componentes ocorreu por volta de 50 atrás (MORENO; GIRALT, 2015). Embora o seu mecanismo de ação não esteja totalmente elucidado, a apitoxina pode ser utilizada em pacientes como prática integrativa e complementar, e pode ser aplicada tanto em pontos de acupuntura selecionados de acordo com o diagnóstico do paciente baseado nas teorias da Medicina Tradicional Chinesa (prática denominada apipuntura), quanto pelas vias sublingual, subcutânea com agulhas, injeções ou tópicas (BARROS, 2018). Devido a sua ação anti-inflamatória amplamente descrita, a administração do veneno (via subcutânea ou apipuntura) é utilizada para o alívio da dor e inflamação crônica, induzidas por algumas doenças como artrite reumatoide e esclerose múltipla, além de outras aplicações como cosméticos (antienvelhecimento), tratamento complementar para doenças como câncer, doenças de pele e Parkinson (MORENO; GIRALT, 2015; PASCOAL et al., 2019). É importante ressaltar que poucos estudos foram realizados em humanos; grande parte dos achados em relação a propriedades farmacocinéticas destes componentes são

provenientes de estudos *in vitro* (em células) e *in vivo*, predominantemente em modelos animais (PASCOAL et al., 2019). Deste modo, destacamos na sequência alguns efeitos da aplicação da apitoxina com estudos realizados em humanos.

2.3.1. Antienvhecimento e doenças de pele

O exato mecanismo antienvhecimento do uso tópico (sérum) do veneno de abelha é desconhecido, porém estudos mostram que aplicação do veneno reduz a liberação de metaloproteinases de matriz induzida pela irradiação ultravioleta (UV) e aumenta a síntese de colágeno. A aplicação tópica leva a redução significativa da área total, da contagem total e da profundidade média das rugas. Cosméticos contendo veneno de abelha, se mostraram eficazes para o tratamento de doença de pele como acne e dermatite atópica (doença inflamatória cutânea crônica e recorrente), e a aplicação intradérmica para o tratamento de psoríase (doença inflamatória cutânea crônica). Estudos mostram que o efeito é decorrente da sua ação anti-inflamatória, pela redução da liberação de citocinas pró-inflamatórias, supressão de receptores *toll-like* do tipo 2 (TLR2) e inibição da degranulação de mastócitos (KIM; PARK; LEE, 2019)

2.3.2. Dor e dor neuropática

Diversos estudos investigam a ação da apipuntura, ou farmacocupuntura com veneno de abelha, em dores crônicas; entretanto são necessários estudos adicionais para comprovar a sua eficácia. Foi demonstrado que o tratamento é eficaz em pacientes com neuropatias induzidas por quimioterápicos, osteoartrose e artrite reumatoide. O mecanismo de ação da apipuntura vem sendo amplamente estudado, contudo não estão totalmente esclarecidos. Evidências sugerem que o efeito analgésico pode ser mediado pela ativação de receptor alfa2-adrenérgico e componentes da via serotoninérgica do sistema inibitório descendente de dor, além de reduzir a expressão de c-Fos e citocinas pró-inflamatórias (SON et al., 2007; YOON et al., 2012).

2.3.4. Doenças neurodegenerativas

Apesar dos estudos clínicos a respeito dos efeitos benéficos de toxinas de abelhas para os pacientes serem controversos (CHO et al., 2018) dificultando sua avaliação precisa,

sabe-se que o veneno de abelha e seus compostos, como a melitina e apamina, apresentam efeitos anti-inflamatórios, por meio da supressão da ativação de fator nuclear *kappa* B (NF- κ B) e suprimindo a transcrição de genes da ciclooxigenase (COX)-2 e citocinas pró-inflamatórias (AUFSCHNAITER et al., 2020). Adicionalmente, evidências sugerem efeitos neuroprotetores, através da ativação de receptores muscarínicos inibitórios de terminais nervosos motores, podendo, assim, proteger ou restaurar a perda de neurônios dopaminérgicos. Estes efeitos vêm sendo explorados para tratamentos de doenças neurodegenerativas como doença de Parkinson, esclerose múltipla e Alzheimer. Estudos recentes mostram que apamina também inibe os canais Kv1.3 (potássio voltagem dependente) com alta afinidade e canais de potássio de pequena condutância ativados por cálcio, que são frequentemente co-expressos em células do sistema imune, como células T, macrófagos e células dendríticas (MORENO; GIRALT, 2015), mostrando assim o potencial terapêutico desta toxina.

2.4. DESAFIOS E SOLUÇÕES

É importante lembrar que, apesar do interesse no uso de componentes derivados de venenos animais para o desenvolvimento de novos fármacos, a obtenção de medicamentos a partir de moléculas animais apresenta grandes dificuldades, com diversos obstáculos a serem superados para o sucesso nessa trajetória. Alguns venenos são de difícil obtenção, devido a quantidade extraída ser limitada, o que restringe não só o seu uso nos ensaios necessários para comprovação do efeito como o isolamento de qualquer composto dele derivado (CHEN et al., 2018). Muitas das toxinas peptídicas possuem estruturas complexas, ricas em pontes dissulfídicas, o que dificulta sua síntese ou obtenção por processo recombinante, em razão da impossibilidade de garantir a formação exata de todas as pontes, o que é essencial uma vez que as estruturas secundárias e terciárias de proteínas e peptídeos são cruciais para a ligação em seus respectivos alvos e funcionalidade (CHEN et al., 2018). Ainda, a baixa biodisponibilidade e baixa estabilidade em plasma e em outros fluidos corpóreos são algumas das características que limitam o uso de peptídeos e proteínas animais como medicamentos, ou exigem administração parenteral, normalmente intravenosa ou mesmo no local de ação, por exemplo administração direta na lâmina espinal, o que restringe a sua utilização a ambientes hospitalares (ANDREWS et al., 2015; HOGG, 2006). Ainda, muitos derivados de venenos e toxinas animais apresentam um grande potencial imunogênico (CHEN et al., 2018).

Para superar as limitações existentes na utilização de compostos naturais como protótipos de fármacos, o avanço nas pesquisas e metodologias disponíveis tem permitido que diferentes estratégias sejam amplamente utilizadas, favorecendo a superação dos desafios apresentados. Estratégias de modificações químicas de moléculas são capazes de contornar as questões relacionadas a baixa permeabilidade e baixa estabilidade de compostos diversos. A síntese química e produção recombinante de peptídeos diminuem os custos de obtenção e resolvem a limitação de quantidade de compostos extraídos naturalmente. Técnicas de “*high-throughput screening*” tem permitido determinar a ação de compostos em diferentes alvos em um tempo recorde. Ainda, ensaios de desenho racional são capazes de trazer melhoramentos nas moléculas relacionados a potência e seletividade a seus alvos (BITENCOURT et al., 2011; HERZIG et al., 2020). Adicionalmente, a nanotecnologia tem permitido que diversos tipos de carreadores sejam utilizados com sucesso para proteção de compostos bioativos contra degradação, tornando-os ativos por via oral e permitindo novas formulações com vias alternativas de administração (como a administração nasal por exemplo) (SANT’ANNA et al., 2019; HERZIG et al., 2020).

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Milhares de anos de evolução de venenos e toxinas animais conferiram características importantes a estes compostos. Este fato, juntamente com a diversidade de moléculas neles contidos com alta especificidade por uma gama de alvos farmacológicos, com diferentes ações, permitem que sejam considerados uma fonte extremamente rica de compostos bioativos. Somado a estes fatos, os avanços científicos e tecnológicos têm permitido, cada vez mais, encontrar soluções capazes de contornar as dificuldades associadas ao uso de moléculas naturais como modelos para o desenvolvimento de novos fármacos.

O mercado global de medicamentos está estimado em 1.1 trilhão de dólares por ano, sendo que 35% destes medicamentos foram originados direta ou indiretamente de produtos naturais, sendo eles, plantas (25%), microorganismos (13%) e animais (cerca de 3%) (CALIXTO, 2019). Considerando que o a América do Sul contém a maior floresta tropical do mundo (a floresta amazônica, que se estende por nove países incluindo Brasil, Peru, Colômbia, Venezuela, Equador e Bolívia) e um ecossistema único, rico em espécies endêmicas (Pantanal, que ocupa a região centro-oeste do Brasil, norte do Paraguai e leste

da Bolívia e sofre influência de 3 biomas, sendo eles Cerrado, Amazônia e Mata Atlântica), pode-se presumir que utilizando a ciência e a tecnologia aliadas à natureza, exista um imenso potencial para descoberta de novas moléculas terapêuticas. Políticas públicas efetivas, capazes de viabilizar este processo em relação a regulamentação e investimento financeiro necessários, podem permitir que em um futuro próximo possamos realmente nos tornar uma potência no desenvolvimento de novos fármacos.

4. AGRADECIMENTOS

LFK é mantida pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP, #2019/05882-8); MBS e FSRL são mantidas pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil [CAPES- Código de Financiamento 001]. GP é financiada pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) – Centro de Toxinas, Resposta Imune e Sinalização Celular (CeTICS, auxílio número 2013/07467-1).

5. REFERÊNCIAS

ANDREWS, L.; et al. A snapshot of biologic drug development: Challenges and opportunities. **Human & experimental toxicology**, v. 34, n. 12, p. 1279–85, 2015.

ARONOW, W. S. Antihypertensive drug therapy. **Annals of translational medicine**, v. 6, n. 7, p. 123, 2018.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE ESTUDO DAS ABELHAS. **A.B.E.L.H.A.** Disponível em: <<https://abelha.org.br/>>. Acesso em: 05/07/2021.

AUFSCHNAITER, A.; et al. Apitoxin and Its Components against Cancer, Neurodegeneration and Rheumatoid Arthritis: Limitations and Possibilities. **Toxins**, v. 12, n. 2, p. 66, 2020.

BARROS, R. **Ministério da Saúde**. [s.l.: s.n.].

BAVISHI, C.; BANGALORE, S.; MESSERLI, F. H. Renin Angiotensin Aldosterone System Inhibitors in Hypertension: Is There Evidence for Benefit Independent of Blood Pressure Reduction? **Progress in cardiovascular diseases**, v. 59, n. 3, p. 253–261, 2016.

BITENCOURT, C. S. et al. Hyaluronidase recruits mesenchymal-like cells to the lung and ameliorates fibrosis. **Fibrogenesis & tissue repair**, v. 4, n. 1, p. 3, 2011.

BORDON, K. DE C. F. et al. From Animal Poisons and Venoms to Medicines: Achievements, Challenges and Perspectives in Drug Discovery. **Frontiers in Pharmacology**, v. 11, p. e1132, 2020.

BRAZIL, V. **Do emprego da peçonha na terapêutica**. São Paulo, 1934.

BYERS, L. D.; WOLFENDEN, R. Binding of the by-product analog benzylsuccinic acid by carboxypeptidase A. **Biochemistry**, v. 12, n. 11, p. 2070–8, 1973.

CALIXTO, J. B. The role of natural products in modern drug discovery. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 91, n. suppl 3, p. e20190105, 2019.

CALMETTE, A; SAENZ, A; COSTIL, L. Effects du venin de cobra sur les greffes cancéreuses et sur le cancer spontané (adeno-carcinome) de la souris. **C R Acad Sci**, v. 197, p. 205–210, 1933.

CAREY, R. M.; PADIA, S. H. **Physiology and Regulation of the Renin–Angiotensin–Aldosterone System**. In: Textbook of Nephro-Endocrinology. Elsevier, 2018.

CASTRO, H. C.; et al. Snake venom thrombin-like enzymes: from reptilase to now. **Cellular and molecular life sciences : CMLS**, v. 61, n. 7–8, p. 843–56, 2004.

CHEN, J.; et al. Melittin, the Major Pain-Producing Substance of Bee Venom. **Neuroscience Bulletin**, v. 32, n. 3, p. 265–272, 2016.

CHEN, J.; GUAN, S.-M. **Bee Venom and Pain**. In: GOPALAKRISHNAKONE, P. C.; LOURDES, J.; LUO, S. Toxins and Drug Discovery, Netherlands: Springer, 2017

CHEN, N.; et al. Animal protein toxins: origins and therapeutic applications. **Biophysics reports**, v. 4, n. 5, p. 233–242, 2018.

CHIPPAUX, J.-P. Epidemiology of envenomations by terrestrial venomous animals in Brazil based on case reporting: from obvious facts to contingencies. **The journal of venomous animals and toxins including tropical diseases**, v. 21, n. 1, p. 13, 2015.

CHO, K.-H.; et al. Pharmacopuncture for Idiopathic Parkinson's Disease: A Systematic Review of Randomized Controlled Trials. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2018, p. 1–8, 2018.

CURY, Y.; PICOLO, G. Animal toxins as analgesics--an overview. **Drug news & perspectives**, v. 19, n. 7, p. 381–92, 2006.

DAVIE, E. W.; FUJIKAWA, K.; KISIEL, W. The coagulation cascade: initiation, maintenance, and regulation. **Biochemistry**, v. 30, n. 43, p. 10363–70, 1991.

FERREIRA, S. H.; BARTELT, D. C.; GREENE, L. J. Isolation of bradykinin-potentiating peptides from Bothrops jararaca venom. **Biochemistry**, v. 9, n. 13, p. 2583–93, 1970.

HAWGOOD, B. J. Maurício Rocha E Silva MD: Snake venom, bradykinin and the rise of autopharmacology. **Toxicon**, v. 35, n. 11, p. 1569–1580, 1997.

HERZIG, V.; et al. Animal toxins - Nature's evolutionary-refined toolkit for basic research and drug discovery. **Biochemical pharmacology**, v. 181, p. e114096, 2020.

HOGG, R. C. Novel approaches to pain relief using venom-derived peptides. **Current medicinal chemistry**, v. 13, n. 26, p. 3191–201, 2006.

- IP, D. P.; BRENNER, G. S. Enalapril Maleate. In: **Analytical Profiles of Drug Substances and Excipients**. Academic Press, 1987.
- JACQUELINE M. N. Snake as Food and Medicine. **Flavor & Fortune**, v. 7, n. 2, p. 13- 29, 2000.
- KARAPETIAN, H. Reptilase Time (RT). **Methods in Molecular Biology**, v. 992, p. 273-277, 2013.
- KARDONG, K. V. Snake Toxins and Venoms: An Evolutionary Perspective. **Herpetologica**, v. 52, n. 1, p. 36–46, 1996.
- KIM, C. M. H. Apitherapy – Bee Venom Therapy. In: **Biotherapy - History, Principles and Practice**. Dordrecht: Springer Netherlands, 2013.
- KIM, H.; PARK, S. Y.; LEE, G. Potential therapeutic applications of bee venom on skin disease and its mechanisms: A literature review. **Toxins**, v. 11, n. 7, p. 4–6, 2019.
- KJELDSEN, S. E. Hypertension and cardiovascular risk: General aspects. **Pharmacological research**, v. 129, p. 95–99, 2018.
- KORDIS, D.; GUBENSEK, F. Adaptive evolution of animal toxin multigene families. **Gene**, v. 261, n. 1, p. 43–52, 2000.
- LAPELUSA, A.; DAVE, H. D. **Physiology, Hemostasis**. StatPearls Publishing, 2021.
- LAWRENCE, C. The healing serpent--the snake in medical iconography. **The Ulster medical journal**, v. 47, n. 2, p. 134–40, 1978.
- MONTEIRO, W. M. et al. Bothrops atrox, the most important snake involved in human envenomings in the amazon: How venomomics contributes to the knowledge of snake biology and clinical toxicology. **Toxicon: X**, v. 6, p. 100037, 2020.
- MORENO, M.; GIRALT, E. Three valuable peptides from bee and wasp venoms for therapeutic and biotechnological use: Melittin, apamin and mastoparan. **Toxins**, v. 7, n. 4, p. 1126–1150, 2015.
- MUÑOZ-DURANGO, N.; et al. Role of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System beyond Blood Pressure Regulation: Molecular and Cellular Mechanisms Involved in End-Organ Damage during Arterial Hypertension. **International journal of molecular sciences**, v. 17, n. 7, 2016.
- PASCOAL, A. et al. An overview of the bioactive compounds, therapeutic properties and toxic effects of apitoxin. **Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association**, v. 134, p. 110864, 2019.
- PENTAPHARM. **Defibrase® – Batroxobin**. 2021a. Disponível em: <<https://www.pentapharm.com/markets-and-products/products/pharma/defibrase-batroxobin/>>. Acesso em: 05/07/2021.
- PENTAPHARM. **Reptilase® – Haemocoagulase**. 2021b. Disponível em: <<https://www.pentapharm.com/markets-and-products/products/pharma/haemocoagulase/>>. Acesso em: 05/07/2021.
- PUCCA, M. B.; et al. Bee Updated: Current Knowledge on Bee Venom and Bee Envenoming Therapy. **Frontiers in immunology**, v. 10, p. e2090, 2019.

- RHALEB, N.-E.; YANG, X.-P.; CARRETERO, O. A. The kallikrein-kinin system as a regulator of cardiovascular and renal function. **Comprehensive Physiology**, v. 1, n. 2, p. 971–93, 2011.
- RUVOLO-TAKASUSUKI, M. C. C.; SOUZA, P. M. DE. Apitoxina: Utilização do Veneno da abelha *Apis mellifera*. **Pubvet**, v. 13, n. 8, p. 1–7, 2019.
- SANT'ANNA, M. B.; et al. Crotoxin Conjugated to SBA-15 Nanostructured Mesoporous Silica Induces Long-Last Analgesic Effect in the Neuropathic Pain Model in Mice. **Toxins**, v. 11, n. 12, p. e679, 2019.
- SCHMAIER, A. H. The kallikrein-kinin and the renin-angiotensin systems have a multilayered interaction. **American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology**, v. 285, n. 1, p. R1-13, 2003.
- SHAO, J. et al. Analgesic Peptides in *Buthus martensii* Karsch : A Traditional Chinese **Animal Medicine**, v. 2, p. 45–50, 2007.
- SINGH, K. D.; KARNIK, S. S. Angiotensin Receptors: Structure, Function, Signaling and Clinical Applications. **Journal of cell signaling**, v. 1, n. 2, p. 111, 2016.
- SMITH, C. G.; VANE, J. R. The discovery of captopril. **FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology**, v. 17, n. 8, p. 788–789, 2003.
- SOMAWEERA, R.; SOMAWEERA, N. Serpents in jars: the snake wine industry in Vietnam. **Journal of Threatened Taxa**, v. 2, n. 11, p. 1251–1260, 2010.
- SON, D. J.; et al. Therapeutic application of anti-arthritis, pain-releasing, and anti-cancer effects of bee venom and its constituent compounds. **Pharmacology and Therapeutics**, v. 115, n. 2, p. 246-270, 2007.
- SU, J. B. Different cross-talk sites between the renin-angiotensin and the kallikrein-kinin systems. **Journal of the renin-angiotensin-aldosterone system : JRAAS**, v. 15, n. 4, p. 319–28, 2014.
- THIND, G. S. Angiotensin converting enzyme inhibitors: comparative structure, pharmacokinetics, and pharmacodynamics. **Cardiovascular drugs and therapy**, v. 4, n. 1, p. 199–206, v. 1990.
- UNGER, T. et al. 2020 International Society of Hypertension Global Hypertension Practice Guidelines. **Hypertension**, v. 75, n. 6, p. 1334–1357, 2020.
- UTKIN, Y. N. Animal venom studies: Current benefits and future developments. **World journal of biological chemistry**, v. 6, n. 2, p. 28–33, 2015.
- WAHEED, H.; MOIN, S. F.; CHOUDHARY, M. I. Snake Venom: From Deadly Toxins to Life-saving Therapeutics. **Current medicinal chemistry**, v. 24, n. 17, p. 1874–1891, 2017.
- YOON, J.; et al. Sweet Bee Venom Pharmacopuncture for Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy. **JAMS Journal of Acupuncture and Meridian Studies**, v. 5, n. 4, p. 156–165, 2012.

Ficha Catalográfica

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

A886

Atualidades em medicina tropical na América do Sul :
veterinária / Leonardo Augusto Kohara Melchior ... [et al]
(org.). – Rio Branco : Stricto Sensu, 2021.

254 p. : il.

ISBN: 978-65-86283-59-4

DOI: 10.35170/ss.ed.9786586283594

1. Medicina. 2. Veterinária. 3. Tropical. I. Melchior,
Leonardo Augusto Kohara. II. Meneguetti, Dionatas Ulises de
Oliveira. III. Camargo, Luís Marcelo Aranha. IV. Oliveira,
Jader de. V. Título.

CDD 22. ed. 636.089918

Bibliotecária Responsável: Tábata Nunes Tavares Bonin / CRB 11-935

O conteúdo dos capítulos do presente livro, correções e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores.

É permitido o download deste livro e o compartilhamento do mesmo, desde que sejam atribuídos créditos aos autores e a editora, não sendo permitido à alteração em nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

www.sseditora.com.br