

PRINCIPAIS COMPOSTOS QUÍMICOS PRESENTE NOS VENENOS DE COBRAS DOS GÊNEROS *BOTHROPS* E *CROTALUS* – UMA REVISÃO

Elaine Moio da Cunha^{1*} e Otávio Augusto Martins^{1,2}

¹Departamento de Exatas, Faculdades Integradas Regionais de Avaré, Fundação Regional Educacional de Avaré, Avaré, São Paulo, Brasil; ²Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, São Paulo, Brasil; *E-mail: elainemoio@hotmail.com.

Resumo – Os venenos de cobra são misturas complexas de proteínas que possuem uma grande variedade de atividades biológicas. Essas moléculas compreendem cerca de 90% a 95% do peso seco do veneno, incluindo muitas enzimas, toxinas não enzimáticas e proteínas não tóxicas. O presente trabalho teve como objetivo fazer uma revisão da literatura científica dos principais componentes presentes nos venenos de cobra dos gêneros *Bothrops* (jararaca) e *Crotalus* (Cascavel) no Brasil. Os principais componentes químicos presentes no veneno de cobra do gênero *Bothrops* (jararaca) são: (a) metaloproteínas; (b) serinoproteases; (c) fosfolipases; (d) desintegrinas; (e) miotoxinas; e (f) neurotoxinas. E os principais componentes químicos presentes no veneno de cobra do gênero *Crotalus* (cascavel) são: (a) crotóxina; (b) crotamina; (c) convulsina; e (d) girotoxina. Após a revisão de literatura, a principal conclusão que chegamos foi que, mesmo com o avanço em pesquisa científica sobre a composição química dos venenos de cobras ao redor do mundo, ainda necessita de muito detalhe científico de metabolismo, estrutura molecular e fisiologia dos compostos isolados ou agregados.

Palavras-chave – Veneno ofídico; toxina; proteína.

Abstract – The snake venoms are complex mixtures of proteins that possess a variety of biological activities. These molecules comprise about 90% to 95% of the dry weight of venom, including many enzymes, toxins, non-enzymic and non-toxic proteins. This study aimed to review the scientific literature of the main components present in the venom of the snake *Bothrops* and *Crotalus* in Brazil. The main chemical components present in the venom of snakes of the genus *Bothrops* are: (a) metalloproteinases, (b) serine proteases (c) phospholipase (d) disintegrins, (e) myotoxins and (f) neurotoxins. And the main chemical components present in the venom of snakes of the genus *Crotalus* are: (a) crototoxin, (b) crotamine (c) convulsin, and (d) girotoxin. After

reviewing the literature, the main conclusion we reached was that, even with the advancement in scientific research on the chemical composition of the venoms of snakes in the world, still requires much scientific detail of metabolism, physiology and molecular structure of the isolated compounds or aggregates.

Key-words - Snakes venoms; toxin, protein.

I. INTRODUÇÃO

Atualmente existe no mundo cerca de 2.900 espécies de serpentes catalogadas [1], distribuídas em 465 gêneros e 20 famílias [2] das quais 410 espécies são venenosas [3].

No Brasil, temos representantes de 9 famílias, 75 gêneros e 321 espécies [2], sendo 69 delas venenosas. Das 69 espécies venenosas, 32 pertencem ao gênero *Bothrops* e 6 ao gênero *Crotalus* [3]. Portanto, o Brasil possui cerca 10% das espécies catalogadas no mundo [2].

Dentre as famílias conhecidas, somente duas abrangem as serpentes consideradas peçonhentas: a família *Viperidae*, destacando-se a subfamília *Crotalinae*, à qual pertencem os gêneros *Crotalus* (cascavel), *Bothrops* (jararaca) e *Lachesis* (surucucu); e a família *Elapidae*, que engloba o gênero *Micrurus*, cujas espécies são conhecidas popularmente por corais verdadeiras [4].

As serpentes da família *Viperidae* (*Bothrops* e *Crotalus*), é a que apresenta o mais alto grau de especialização no aparelho venenífero, portanto um complexo sistema de produção e estocagem de veneno [5].

Segundo Russel (1980), venenos são substâncias tóxicas produzidas por plantas ou animais em um órgão secretor bem desenvolvido, ou mesmo num grupo de células as quais são

liberadas durante o ato da picada ou mordida. Os venenos ofídicos são provavelmente os fluidos secretórios mais concentrado que se tem notícias [1].

As peçonhas de serpentes são misturas complexas de proteínas que possuem uma grande variedade de atividades biológicas. Essas moléculas compreendem cerca de 90 a 95% do peso seco do veneno, incluindo muitas enzimas, toxinas não enzimáticas e proteínas não tóxicas. As frações não proteicas são compostas por cátions metálicos, carboidratos, nucleosídeos, aminas biogênicas e níveis menores de aminoácidos livres e lipídios [6]. Apresentam diferentes composições químicas, o que reflete em variações das propriedades biológicas, toxicidade e características farmacocinéticas e farmacodinâmicas. Venenos em geral têm baixa imunogenicidade e por outro lado, alta toxicidade [7].

A toxicidade de venenos apresenta-se em tempos variados e com diferenças nas manifestações clínicas, que são decorrentes não apenas de suas propriedades específicas, mas também da toxicocinética (referente à velocidade de absorção e habilidade de penetrar em membranas e tecidos), da composição e potência. Parte destas variações depende do tamanho, idade e hábito alimentar da cobra, bem como do clima e época do ano [8].

Os componentes do veneno de serpente podem apresentar diferentes atividades fisiológicas, hematológicas e neurotransmissoras no ser humano. O estudo desses fatores tem contribuído para a descoberta de vários mecanismos moleculares envolvidos nesse processo fisiológico e no desenvolvimento de novos agentes terapêuticos para o tratamento de doenças cardiovasculares e hematológicas [12].

O presente trabalho teve como objetivo fazer uma revisão da literatura científica dos principais componentes presentes nos venenos de cobra dos gêneros *Bothrops* (jararaca) e *Crotalus* (Cascavel) no Brasil.

II. METODOLOGIA

Para realizar a revisão de literatura científica foi utilizado pesquisas em sites científicos da internet. Os principais sites científicos foram:

- (a) www.scielo.br
- (b) www.scholar.google.com
- (c) www.pubmed.com
- (d) <http://highwire.stanford.edu>
- (e) Outros.

Foram utilizados nessa revisão os artigos científicos, livros, teses, dissertações e monografias.

III. COBRAS DOS GÊNEROS *BOTHRUPS* E *CROTALUS*

As serpentes do gênero *Bothrops* morfológicamente apresentam cabeça triangular coberta com pequenas escamas que são diferentes das escamas quilhadas que recobrem o restante do corpo, possuem pupilas verticais que indicam uma melhor adaptação à visão noturna. Além disso, possui fosseta loreal, estrutura localizada entre os olhos e as narinas das serpentes que tem a função da termorrecepção auxiliando na caça em ambientes escuros [9].

Possui também um aparelho inoculador de veneno constituído por dentes localizados na região anterior da cavidade bucal, eles ficam postados perpendicularmente ao palado quando a serpente se encontra com a boca fechada, projetando-se a frente no momento em que realiza o ataque [9].

As serpentes do gênero *Crotalus*, apresentam características comuns às serpentes peçonhentas, tais como cabeça triangular, um par de fossetas loreais (órgão sensorial termorreceptor), olhos pequenos com pupilas em fenda, escamas na cabeça e dentes inoculadores de veneno. Além disso, apresentam na porção terminal da cauda, o guizo ou chocalho, uma característica peculiar desse gênero que facilita a sua identificação [10].

IV. DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DOS GÊNEROS *BOTHRUPS* E *CROTALUS* NO BRASIL

As serpentes do gênero *Bothrops* compreendem cerca de 32 espécies, distribuídas por todo o território nacional. As espécies mais conhecidas são: *B. atrox*, encontradas no norte do Brasil; *B. erythromelas*, encontradas na região nordeste; *B. neuwiedi*, encontradas em

todo território nacional, exceto região norte do país; *B. jararaca*, distribuídas na região sul e sudeste; *B. jararacussu*, encontradas no cerrado da região central e em florestas tropicais do sudeste e *B. alternatus*, distribuídas ao sul do país [5].

As serpentes do gênero *Crotalus* compreendem no Brasil cerca de 6 espécies, das quais as mais importantes são: *C. durissus terrificus*, encontrada nas zonas altas e secas da região sul oriental e meridional; *C. durissus collilineatus*, distribuídas nas regiões secas da região centro-oeste, Minas Gerais e norte de São Paulo; *C. durissus cascavella*, encontrada nas áreas da caatinga do nordeste; *C. durissus ruruima*, observada na região norte do país; *C. durissus marajoensis*, observada na Ilha de Marajó [5].

V. PRINCIPAIS COMPONENTES PRESENTES NOS VENENOS (*BOTHRUPS* E *CROTALUS*)

Gênero *Bothrops*

Metaloproteinasas

As metaloproteinasas são hidrolases do tipo endopeptidases que dependem da ligação com um metal, geralmente o zinco, em seu sítio catalítico para a manifestação das atividades enzimáticas [11] são responsáveis pela mionecrose no local da picada, hemorragias e reações inflamatórias [12].

Elas são classificadas em quatro grupos conforme seus domínios estruturais: P-I, P-II, P-III e P-IV. O grupo P-I apresenta somente o domínio metaloprotease, com cerca de 24 KDa de massa molecular e pouca ou nenhuma atividade hemorrágica. O grupo P-II apresenta além do domínio metaloprotease, o domínio desintegrina. O grupo P-III é considerado como o de maior atividade hemorrágica, apresentando domínio tipo desintegrina e um domínio rico em cisteína e finalmente, o grupo P-IV com os domínios tipo desintegrina, rico em cisteína e lectina tipo-C [12].

Estas enzimas são os principais fatores hemorrágicos causadores dos mais drásticos efeitos provocados pelo veneno e, por isso, são geralmente chamados de fatores hemorrágicos [11].

O mecanismo pelo qual a hemorragia é desencadeada no local da picada tem participação de dois eventos que parecem estar fortemente relacionados: a degradação enzimática da membrana basal e também o efeito direto sobre as células endoteliais dos capilares [11].

No que se refere à degradação enzimática da membrana basal, sabe-se que as toxinas hemorrágicas, em geral, representadas pelas Metaloproteinasas, possuem uma afinidade específica por proteínas presentes na matriz extracelular [11], apresentam também o efeito direto sobre as células endoteliais dos capilares considerados como os principais mecanismos de ação indutores de hemorragia [12].

Serinoproteases

As serinoproteases são enzimas capazes de hidrolisar ligações peptídicas utilizando mecanismos covalentes de catálise, através de uma tríade de resíduos formada por histidina, ácido aspártico e serina (His, Asp e Ser). A organização desses resíduos em uma conformação espacial gera um sítio catalítico muito bem caracterizado, que define esse grupo de proteases [11]. Apresentam diversas ações no organismo dos seres vivos como o auxílio no processo de digestão de proteínas da dieta alimentar, em algumas vias de sinalização, diferenciação e desenvolvimento celular e participação da cascata de coagulação [12].

As serinoproteases presentes no veneno botrópico são caracterizadas como enzimas que tem atividade do tipo trombina [12] e de maneira geral afetam a cascata de coagulação pela ativação dos componentes sanguíneos envolvidos na coagulação, fibrinólise e agregação plaquetária e também pela degradação proteolítica das células, causando um desequilíbrio no sistema hemostático da presa. De maneira resumida, a trombina libera os fibrinopeptídeos A e B do fibrinogênio convertendo-o a fibrina. A trombina também intervém no processo hemostático, agindo como ativadora de componentes da cascata de coagulação [11].

Fosfolipases

As fosfolipases (PLA₂) são proteínas importantes em uma série de atividades

celulares, já que hidrolisam fosfolipídeos de membrana, gerando precursores de mensageiros como prostaglandinas, tromboxanas, leucotrienos e outros importantes mediadores de fenômenos fisiológicos envolvidos, principalmente, em processos inflamatórios [11].

As PLA2 iniciam a cascata inflamatória pelo aumento da permeabilidade microvascular com recrutamento de leucócitos para os tecidos e liberação de mediadores inflamatórios, iniciando distúrbios inflamatórios locais e sistêmicos em humanos. As PLA2 modificam a microviscosidade da fase lipídica da bicamada hidrofóbica de membranas, afetando a atividade funcional de enzimas ligadas à membrana [12].

As PLA2 presentes nos venenos de serpentes apresentam diversos efeitos fisiológicos como neurotoxicidade, miotoxicidade, hipotensão e hemorragia interna, atividade antiplaquetária, anticoagulante e inflamatória. No entanto, nem todas as fosfolipases apresentam todos esses efeitos. Elas catalisam a hidrólise na ligação 2-acil éster de fosfolipídios, liberando como produtos os lisofosfolipídios e ácidos graxos livres. Esse processo resulta na liberação do ácido araquidônico, precursor de prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos, iniciando uma série de reações inflamatórias. As PLA2 apresentam efeito anticoagulante pela hidrólise e destruição da superfície de membrana necessária para a formação do complexo de coagulação [12].

Desintegrinas

As desintegrinas derivadas do veneno de cobra são peptídeos de baixo peso molecular, que se ligam às integrinas, proteínas de superfície celular responsáveis pela proliferação, diferenciação e ativação celular. Nesse contexto, as desintegrinas bloqueiam as integrinas para se ligarem a outras células, podendo bloquear o principal receptor de fibrinogênio mediador da agregação plaquetária [12] induzida por colágeno e por adenosina difosfato [11].

Miotoxinas e Neurotoxinas

A mionecrose presente na picada de cobra pode ser causa direta da ação de PLA2 miotóxicas em membranas plasmáticas das células musculares ou causa indireta da ação de metaloproteinases hemorrágicas que degeneram

vasos e causam isquemia. Elas desorganizam os fosfolipídeos e induzem o influxo de Ca^{2+} agindo na membrana sarcoplasmática [11].

As neurotoxinas presentes no veneno da cobra são responsáveis pelos efeitos no sistema nervoso central. A principal ação das neurotoxinas é a capacidade de bloqueio da transmissão neural, pela ligação competitiva, com os receptores pós-sinápticos das membranas do músculo esquelético e neurônios, impedindo a transmissão neuromuscular e causando morte por asfixia, elas apresentam bloqueadores altamente potentes dos canais de potássio nos neurônios [11].

Gênero *Crotalus*

Crotoxina

A crotoxina corresponde a maior fração do veneno do gênero crotálico, [13] é responsável pela composição de 65% do total da peçonha e considerado o principal componente tóxico do veneno [14].

Esta toxina é formada por 2 subunidades, sendo uma básica, a fosfolipase A_2 , e uma ácida, a crotapotina, que inibe a atividade enzimática e potencializa a letalidade da fosfolipase A_2 [15].

A fosfolipase A_2 presente na crotoxina possui ação miotóxica e principalmente neurotóxica, agindo na junção neuromuscular inibindo a liberação de neurotransmissores, em menor escala, bloqueando os receptores envolvidos na neurotransmissão. Entretanto, esta atividade está presente somente quando a fosfolipase A_2 se encontra associada à crotapotina; com o complexo dissociado ocorre a perda da atividade neurotóxica pela enzima [14].

Crotamina

A crotamina é um polipeptídeo de baixo peso molecular, não enzimático e extremamente básica, formado por 42 aminoácidos e massa molecular de 4,8 kDa e com propriedade de resistir à temperatura de 70°C por até 18 horas, sem que haja alteração na sua atividade tóxica [14]. É uma miotoxina que age nas membranas das fibras musculares [15], responsável por causar mionecrose no tecido muscular e induzir a paralisia espasmódica em músculos esqueléticos de origem periférica através da

despolarização do potencial de membrana das células musculares [14]. Em baixas concentrações a crotamina é capaz de induzir um efeito analgésico [13].

Convulxina

A convulxina é uma glicoproteína que representa cerca de 5% do peso seco do veneno crotálico, cuja massa molecular é de 68 kDa [14], esta neurotoxina de alto peso molecular é responsável por apresentar um quadro clínico de perda de equilíbrio, alterações gastrintestinais, convulsões e alterações visuais logo após sua inoculação. Hematologicamente induz agregação plaquetária com subsequente isquemia cerebral, podendo levar a convulsões, frequentemente seguidas de morte [13].

Girotoxina

A girotoxina é descrita como uma glicoproteína tóxica, porém não letal da peçonha crotálica, com peso molecular 35 kDa. Destaca-se como uma enzima semelhante à trombina com atividade esterásica *trombina-like* e fibrinogenolítica [14]. Age sobre o sistema nervoso central, levando à lesão labiríntica [13].

VI. CONSIDERAÇÕES FINAIS

I - Os principais componentes químicos presentes no veneno de cobra do gênero *Bothrops* (jararaca) são (a) metaloproteínases; (b) serinoproteases; (c) fosfolipases; (d) desintegrinas; (e) miotoxinas; e (f) neurotoxinas.

II - Os principais componentes químicos presentes no veneno de cobra do gênero *Crotalus* (cascavel) são (a) crotóxina; (b) crotamina; (c) convulxina; e (d) girotoxina.

III – Mesmo com o avanço em pesquisa científica sobre a composição química dos venenos de cobras ao redor do mundo, ainda necessita de muito detalhe científico de metabolismo, estrutura molecular e fisiologia dos compostos isolados ou agregados.

AGRADECIMENTOS

Aos professores das Faculdades Integradas Regionais de Avaré.

REFERÊNCIAS

1. Ribeiro, A. M. (2008). Estudo comparativo do veneno de *Bothrops jararaca* do continente e de espécimes da ilha de São Sebastião. 85f. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Universidade de São Paulo, São Paulo.
2. Zablith, B.M. (2007). Vias de sinalização desencadeadas pela estimulação do adrenoceptor b em células secretoras da glândula secretora do veneno da serpente *Bothrops jararaca*. 70f. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, Universidade de São Paulo, São Paulo.
3. Tokarnia, H. C. & Peixoto V.P. (2006). A importância dos acidentes ofídicos como causa de mortes em bovinos no Brasil. *Pesq. Vet. Bras.*, 26(2): 55-68.
4. Lemos, C.J. et al. (2009). Epidemiologia dos acidentes ofídicos notificados pelo Centro de Assistência e Informação Toxicológica de Campina Grande (Ceatox-CG), Paraíba. *Rev. Bras. Epidemiol.* 12(1): 50-59.
5. Pinho, F. M. O. & Pereira, I. D. (2001) Ofidismo. *Rev. Ass. Med. Brasil.*27(1): 24-29.
6. Caproni, P.(2009). Ação da Bothropstoxina-1 do veneno total de *Bothrops jararacussu* irradiados sobre o sistema imune. 60f. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Universidade de São Paulo, São Paulo.
7. Silva, G.J. (2009). Estudo dos efeitos do veneno de *Crotalus durissus terrificus* sobre o metabolismo e estresse oxidativo em fígado de ratos. 52f. Dissertação (Mestrado) - Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
8. Cabral, F. A. M. (2011). Estudo dos potenciais terapêuticos do veneno as serpente *Bothrops jararaca*. 26f. Monografia (Graduação) – Consócio Setentrional de

Educação à distância, Universidade de Brasília, Brasília.

9. Pinho, et al. (2000). Atualização em insuficiência renal aguda: Insuficiência renal aguda após acidente crotálico. J Bras Nefrol. 22(3): 162-168.

10. Rivero, J.V.R. (2010). Avaliação da atividade não citotóxica do veneno de *Bothrops Jararacussu* em células mononucleares do sangue periférico. 114f. Dissertação (Mestrado) – Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Goiás.

11. Castro, F.O.F. (2011). Avaliação da atividade não citotóxica do veneno da cobra *Bothrops Pauloensis* em células mononucleares do sangue periférico humano. 67f. Dissertação (Mestrado) – Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Goiás.

12. Silva, J.G. (2009). Estudo dos efeitos do veneno de *Crotalus durissus terrificus* sobre o metabolismo e estresse oxidativo em fígado de ratos. 52f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

13. Dobrachinsk , L. (2012). Avaliação da potencial atividade citotóxica da peçonha de *Caudissona durissa terrificus* em células mononucleares do sangue periférico humano. 127f. Dissertação (Mestrado) – Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Goiás.

14. Clissa, P.B. (1997). Otimização da atenuação da toxicidade do veneno crotálico irradiado e estudo de suas propriedades imunológicas. 79p. Dissertação (Mestrado) – Instituto de pesquisas energéticas e nucleares, Universidade de São Paulo, São Paulo.