

# Venenos Animais

Apresentação do curso; Introdução à toxicologia (09/03) - 1-5

Baiacu, tetrodotoxina, maré vermelha, Francesco Redi, Hambô, aleloquímicos, feromônios, alomônios, cauriomônios, sinomônios, peçonha/venenos, Classes serpentes

Cianotoxinas (15/03) - 6-8

Saxitoxinas, alcalóides, Caruaru (36), microcistina, anatoxinas, bioacumulação, nem toda floração é tóxica

Conotoxinas e Peixes peçonhentos e venenosos (22/03) - 8-12

Sijão, rádula → harpão, conotoxinas são pequenas, estáveis e específicas, loops com cisteína, peçonhas de peixe são lábeis, TTX em canais de Na<sup>+</sup>

Venenos de anfíbios (30/03) - 12-15

Anura, caudata, gymnophyona, glândulas mucosa, granulosa e paratoides, bufotenina, TTX e SAX, batracotoxina

Seminários I (06/04) - 15-16

Serpentes peçonhentas: Identificação e tratamento - 17-21 (13/04)

Viperidae → Crotalus, Bothrops, Lachesis; Elapidae - Micrurus, não faça teste niquete quando for picado, choque anafilático na 2ª dose de soro

Artrópodes I - Aranhas e escorpiões (20/04) - 21-25

Por que peçonhas tem antimicrobianos? Dimorfismo sexual na peçonha de aranhas, Phoneutria, Loxosceles, Latrodectus, Toxinas escorpiônicas são altamente específicas

Artrópodes II - Vespas e formigas; Antibióticos, resistência bacteriana e peptídeos microbianos (27/04) - 25-28

Toxinas de Invertebrados aquáticos (04/05) - 29-30



## Toxinologia

- Conhecimento popular é um bom ponto de partida para pesquisa

Proibição da ingestão de baiacus no Egito antigo (3000 a.C.) - Acumulação de toxinas bloqueadoras de sódio dependentes de coltagem (bloqueio do nervo frenético/diaphragma)

Ch'an-Su - Chá de pele de sapo cururu (3400 a.C.). Molécula esteroide cardiotônica (em baixas doses) e cardiotóxica (em altas doses)

· Aguas em sangue (maré vermelha) - Bloom (floração) de dinoflagelados, produção de saxitoxina que é neurotóxico. Ocorre em regiões de ressurgência (alto influxo de matéria orgânica)

· Bruxaria - Uso de anfíbios nas poções

· Beijar o sapo e este brar príncipe - Toxinas alucinógenas

· Francesco Redi - Descrição do aparelho inoculador de serpentes

· Indígenas nas Américas - Envenenamento de pontas de flechas (dendrobatídeos ou Curare)

tetrodotoxina - molécula extremamente estável

pó de zumbi - baiacu + cururu moídos → *Cera toypor* (visualmente 'morto-vivo')

Nem toda maré vermelha é tóxica

Baiacus são venenosos pois acumulam tetrodotoxina. Maré vermelha é um fenômeno de floração de dinoflagelados, nem sempre é tóxica



Sapo Kambô

Vacina de sapo - Feito com pererecas, queima duras para entrada do veneno via subcutânea  
↳ Caçada - mágica - Apuração dos sentidos na casa

Boom da cartilagem de tubarão nos anos 90 - Remédio milagroso

Instituto Pasteur - Vacina de malária  
Toxinologia - Engloba zoologia, botânica, microbiologia, ecologia, fisiologia, imunologia, bioquímica

Tacosol - Tratamento de câncer, fungo de pintarro, 10000 reais por sessão

Captopril - Tratamento de pressão alta  
Toxinologia - Estudo de toxinas

Aléloguímicos - Fatores responsáveis pela interação química entre organismos

• Feromônios - Comunicação intraespecífica  
• Alomônios - Ações interespecíficas

• Kairomônios - Reações de escapes da presa  
• Sinomônios - Simbioses

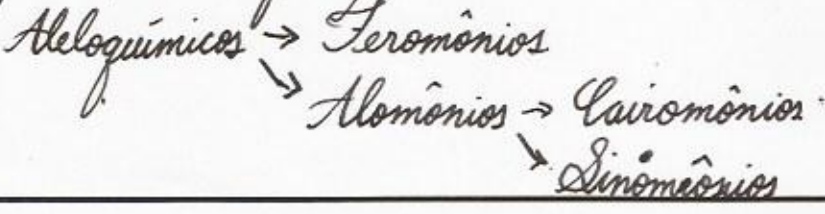
- Toxina - Princípio ativo (isolado)  
• Venenos (poison) - Produtores metabólicos produ-

angiotensina I  
↓  
angiotensina II

Repelente - Disforça aléloguímicos humanos

Repelente, venenos, peçonhas

Sapo Kambô - *Phyllomedusa bicolor*. Captopril inibe a produção de angiotensina II, que age como um vasoconstritor.





zidos ou estocados em órgãos  
 Peçonha (~~venom~~) - Produzido por uma glândula especializada

Animais venenosos - Quando são atacados por predadores, não inocula

Animais peçonhentos - Captura de alimento/Defesa, inocula

Solenóglia - Dente 'canudo'

Produzir peçonha é metabolicamente caro - Mor-dida seca

Peçonha é proteica, ingestão da presa é feita pelo sistema digestório (proteólise)

Proteroglia - Sulco anterior, grande abertura embas

Opistoglia - Dente anterior, sulco anterior

Escorpião - 2 glândulas de peçonha no telson, inoculação pelo aquilhão

Aranha - Inoculação via quelífera

Aparelho inoculador incompleto - *Synanceja horrida*; Inoculação não voluntária, i.e. apenas para defesa; Você pisa em cima do péixe-pedra, compressão da glândula

Celenterados - Nematocisto

Por que comer uma presa envenenada não faz mal à serpente?



agليا - sem dentes especializados



opistoglia - 2 vezes na história evolutiva (independentemente)



provenosas, ↑ capacidade de inoculação  
 proteroglia - spit - ting coltras



↑ venenosas, ↑ capacidade de inoculação  
 solenoglia - mais recentes



Tetrodoxina - Produzida  
por bactérias

Piolho-de-cobra - Diplopoda  
↳ acumula ácido nítrico

Ouriço-do-mar - Glândula peçonhenta no espinho;  
Também pode ser venenoso pelo acúmulo de toxinas

Abelhas/vespas - Ferrão (aparelho reprodutor  
feminino modificado)

Lagartas de leptopteras

Lacraia - Maxilípedes

Esmelodon - Mamífero peçonhento

- Animais marinhos - Filtram água do mar, acu-  
mulam toxinas

- Aves venenosas de Madagascar - Acumulam al-  
calóides

- Glândula venenosa atrás do olho → Predado-  
res atacam a cabeça (definida pelos olhos)

- Pseudomito - Existem sapos que jorram venenos  
(comportamento extremo)

Uídeos → Pererecas

- Cobra comedora de sapo → Venenosas

- A capacidade de acumular venenos depende  
de alterações morfológicas/fisiológicas para que  
o animal não seja afetado

Extração

- Estimulação elétrica da glândula

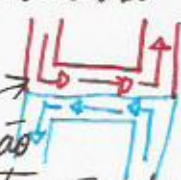
<p>gosto amargo</p> <p>e.g. acetilcolina cardiotóxicos</p> <p>seminário em dupla 6/4, 11/5, 1/6</p>	<ul style="list-style-type: none"><li>Retirada de glândulas</li><li>Extração da pele - Metanol; Melhor perfil cromatográfico</li><li>Liofilizador - Gelo é sublimado, amostra vira pó</li><li>HPLC - Separação</li><li>Proteínas - Fosfolipases, hialuronidase, citolisinases, proteíndases, nucleosidases</li><li>Peptídeos - Cinina, apamina, leomlesina, dermorfina</li><li>Aminas - Indólicas, fenólica</li><li>Alcaloide - Saxitoxina, tetrodotoxina, samandarina</li><li>Esteres de colina</li><li>Esteroides</li><li>Ácidos - Cianídrico, acético</li><li>Venenos - Defesa passiva</li><li>Ações irritantes e sistêmicas</li><li>Peçonha - Inoculação sistêmica, normalmente paralisante</li><li>- Agentes antimicrobianos - Proteção da glândula</li><li>Avaliação - Presença (40%), seminário (40%), relatório da aula prática (20%)</li></ul>
---	---



\* Abril - Novembro - Sem chuva em Brasília  
\* Olhares para o lago Paranoá - Livro  
\* Tomar banho só próximo à represa  
Pesque e pague - Compostos nitrogenados dos peixes

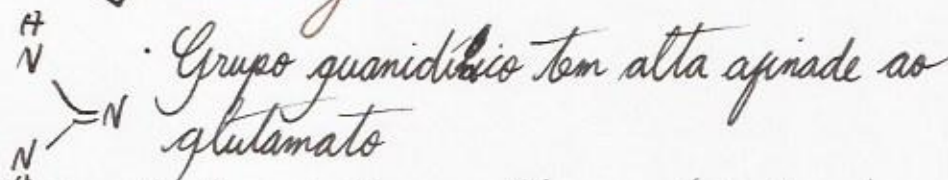
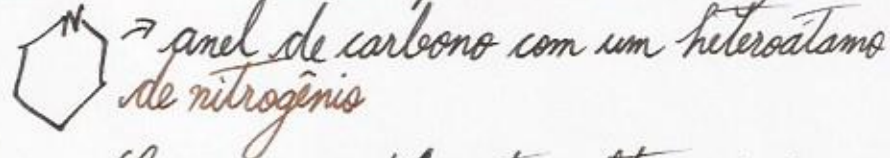
Cylindropermopsis - Ambientes aquáticos; Dinoflagelados em ambientes marinhos

Qual é a definição de alcaloide?

Hemodiálise  
  
 \* Saturação dos cartuchos de carvão

## Cianotoxinas

- Produzidas por cianobactérias, ficocianina - pigmentos acessórios azuis
- Floração em ambientes eutrofizados
- História evolutiva muito antiga
- Nem toda floração é tóxica - Não depende da espécie, depende da sepa
- Hepatotóxica / Neurotóxica / Dermatotóxica
- Saxitoxina ou PSPs e neo-saxitoxina
- Grupo de alcalóides carbamato
- Muito resistentes ao calor / estável toxina
- Atua em canais de  $Na^+$  dependentes de voltagem



Centro de hemodiálise em Caruaru (02/1996) - Cloro lisa a membrana plasmática de cianotoxinas, liberação de endotoxinas → Morte de 65 pacientes (microcistina e cilindrosperopsina)

Microcistina - Destroi o fígado (hepatócitos no sangue)

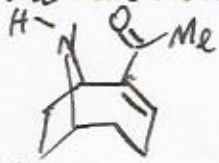
Pesque e pague são paraísos para floração. Alcalóides são definidos como compostos com um anel carbônico com um heteroátomo inserido - muito abrangente. O grupo guanidínico da saxitoxina possui alta afinidade pelo glutamato ( $R = CH_2 - CH_2 - C(=O)OH$ ) dos canais de  $Na^+$  dependentes de voltagem.



Qual é o mecanismo de ação da anatoxina e anatoxina (S)?

Método de tratamento em Brasília não retira cianotoxinas

Anatoxina e anatoxina (S) - Mimetiza acetilcolina e inibem ~~a~~ colinesterase, respectivamente.   
 Ester guanidínico metil fosfato inibem colinesterase



- Alta estabilidade

Hepatotóxico - Desestabilização do citoesqueleto

Lite três hepatoxinas e o mecanismo de ação de uma.

Microcistina - Heptapeptídeo ~~com~~ <sup>cíclico</sup>

- MC-LR - Mais comum

- Nodularina - Também é cíclico

- Cilindrospermopsina - Também é cíclico

Defina bioacumulação

Bioacumulação - Normalmente moléculas apolares

- Bivalves - Acumulam metais pesados / cianotoxinas

- Crustáceos - Camarões são herbívoros (enriquecem a água, algas crescem)

- Peixes são resistentes à bioacumulação, outros vertebrados não

\* Estudo recente do lago - Presença de bisfenol e estradiol

Bioacumulação de moluscos no lago Paranoá - Saxitoxina e microcistina

Anatoxina mimetiza a acetilcolina e a anatoxina (S) inibe a colinesterase  
 Microcistina inibe fosfatases (PP1 e PP2A) nos hepatócitos. Bioacumulação ocorre quando um organismo absorve uma substância em uma taxa maior que a substância é perdida via catabolismo/excreção.



Diferencie a produção de cianotoxinas em águas salgadas e doces

\* Bioacumulação de moluscos em ambientes marinhos - Dinoflagelados, saxitoxina

• Carpás, trutas - Alta acumulação, crescimento rápida, muita proteína

↳ Maior acumulação no período da seca, quase zero no período chuvoso

Defina a função da glutatona?

\* Sistema de excreção - Glutatonina

\* Teste de cometa - Fragmentação do DNA

\* Bioacumulação não é eterna!

22/03/16

Neurotoxinas: Um olhar atento sobre conotoxinas

Defina a importância ecológica das conotoxinas.

\* Moluscos são lentos, peixes são rápidos. Como moluscos comem peixes? Gastropodos peconhentos

• Moluscos possuem aparelho digestivo completo

- Classe gastropoda, família: Conidae

↳ Concha extremamente ornamentada

↳ Conus regius - Brasileiros

• Conus são excelentes predadores

Qual é o método de detecção e o aparato inoculador?

- Detecção: Sijão com quimiorreceptores

- Aparato inoculador: Rádula modificada ('harpão')

- Peçonha essencialmente ~~lipídica~~ proteica e neurotóxica

• Faringe → Probóscite → harpão

Conus são excelentes predadores pela eficiência de seu método de detecção e sua peçonha proteica muito potente.

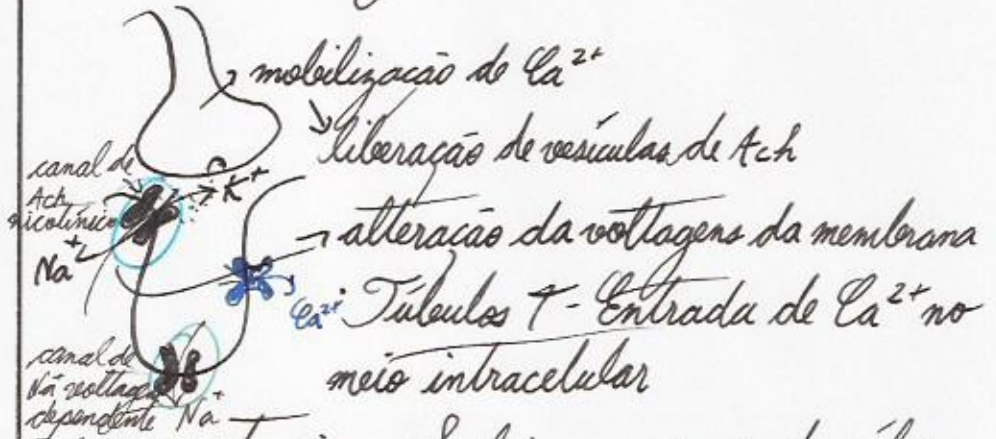
Método de detecção é o sijão

O aparato inoculador é uma rádula modificada em forma de harpão



Baldomero Oliveira  
Toxina botulínica =  
0001

Caribe - Casos de morte de mergulhadores  
Conotoxina - LD50 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) = 5,0  
↳ 20-30 moléculas distintas  
Moléculas altamente específicas - Canais de  $\text{Na}^+$  dependentes de voltagem de músculo



Que representa a família das conotoxinas?

$\omega$ -conotoxina - Se ligam a canais de cálcio  
 $\alpha$ -conotoxina - " Receptores nicotínicos de músculo  
 $\mu$ -conotoxina - " Canais de  $\text{Na}^+$  voltagem dependente



\* Toxinas pequenas - Melhor mobilidade no sistema  
↳ Potência da pequena → Seleccionada no contexto evolutivo (bactérias possuem tempo de geração muito mais curto → Evolução 'rápida' → Toxina potente e.g. botulínica)

Conotoxinas são altamente específicas em seus alvos - especificados por sua família (e.g.  $\alpha$ -conotoxina - Receptores nicotínicos de músculo). Seu pequeno tamanho auxilia seu trânsito no sistema.



Defina, molecularmente, por que conotoxinas são estáveis

Injeção intratecal de  $\alpha$ -Bombax

o que significa o aparato inocular ser incompleto?

Ordem de Conus - Retirada do harpão  
Moléculas estáveis - Loops com cisteína - Formam pontes dissulfeto <sup>aminoácidos quaisquer</sup>

↳ Arranjo: C-C-C, por exemplo

Conus psícoros - Toxinas mais tóxicas para vertebrados, incluindo mamíferos

Modificações pós-traducionais - Brominação, carboxilação, isomerização, etc.. Comum em Conus

Ziconotide - Análogo sintético de  $\omega$ -conotoxina MVIIA, bloqueador de SVCC tipo-N, efeito antinociceptivo (dores crônicas resistentes a opiáceos) → Nervos periféricos → Medula

Conantokin G - Anti-epiléptico

Peixes peçonhentos e venenosos

Peixe escorpião - Glândula de peçonha na medula dorsal; Aposemático

Scorpaena sp. - Brasilério - Três espinhos modificados com glândula de peçonha (aparato incompleto)

↳ Piroptose - Morte celular pelo aumento da temperatura devido à inflamação

↳ Efeitos sistêmicos: Queda da pressão arterial

Peçonhas de peixes são muito lábeis

Conotoxinas são estáveis pois possuem loops com resíduos de cisteína, que formam pontes dissulfeto. Não trabalhe com peçonhas de peixe, pois são muito lábeis.



Não trabalha com peçonhas de peixe

o que fazer quando for incubado por uma arraia

Nigun Mira-cu

Origem do nome 'Tetrodotoxina' -> Baiacus! Tetrodontiformes

↳ Origem proteica

Peçonha de arraia - Altamente proteolítica, inflamação (bactérias presentes na água)

↳ Recomendação: água quente, vinagre (pH), urinar em cima (↑ concentração de sal)

Bagre - Nadadeira lateral inoculadora

↳ Siluriformes - Poucos estudos

Intoxicação por tetrodotoxina (alcaloide guanidínico)

Canais de Na<sup>+</sup> dependentes de voltagem

- Bloqueio neuromuscular -> anestesia da boca



- Hipotensão

- Depressão respiratória (nervo frênico -> diafragma)

- Altamente hidrossolúvel - Intoxicações agudas (comer pouco não faz mal)

- Peixes não produzem, apenas acumulam

- Baiacus de catifeiro são atóxicos

- TTX não observem ultravioleta nem emitem fluorescência

- Diversos gêneros de bactérias produzem TTX

- No Japão, há curso superior para fazer sashimi de baiacu (spheroides)

↳ Outras espécies de baiacu acumulam saxitoxinas

Tetrodotoxina é produzida por bactérias e acumulada por peixes. Ela bloqueia canais de sódio dependentes de voltagem (anestesia da boca). Cria problemas apenas em intoxicações agudas, pois é altamente hidrossolúvel.



Lardoxina - Formadora de poros  
Eiguatera - Bioamplificação / biomagnificação  
Dinoflagelados → Peixes herbívoros → Peixes carnívoros<sup>etc</sup>  
· Altamente estável

Desina os efeitos clínicos da Eiguatera.

- Percepções de temperatura alteradas, dores de cabeça, dores musculares

Secreções cutâneas - Proteção contra bactérias  
· Peptídeos antimicrobianos

30/03/16

Venenos de anúbios

Amphibia - Anura, caudata, gymnophyona

Diferença glândulas granulosa mucosa e paratoide

· Pele - Glândula granulosa produz secreções, glândula mucosa produz muco

↳ Glândula granulosa é circundada por músculo liso - ↑ secreção pelo estresse / choque elétrico

· Glândula paratoide - Acúmulo de secreção (presente em algumas espécies)

serotonina - derivado de triptofano, promove vasoconstrição

· Secreção - Defesa / proteção contra microorganismos  
Aminas biogênicas (-NH<sub>2</sub>) - Indolquinamina (derivado de triptofano), presente em todas as classes de amphibia

· Bufotenina - Encontrada na urina de esquizofrênicos

Amphibia é dividida em três classes: Anura, caudata, gymnophyona!  
Glândula granulosa produz secreções, glândula mucosa produz muco. e é circundada por musculatura lisa (uso de choque elétrico para coleta de secreção) e glândula paratoide acumula secreção.



Por que a O-metil-leuostenina é mais tóxica?

Por que existem poucos estudos de anfíbios com parados com dramas, ser pontes, etc..?

\* Falar isso no seminário de Zoo Vert

tariachatorina = TTX

Com certeza em animais marinhos talvez em anfíbios

Deixa coloração aposemática.

Diferença a presença de SAK e TTX em ambientes distintos.

Bufo tenax é incapaz de passar a BBB, enquanto a O-metil-leuostenina é capaz. TTX e SAX são alcalóides polares. Animais aposemáticos ~~de~~ anunciam sua impalatabilidade por meio de colorações vistosas

também possui efeito psicotrópico

- O-metil-leuostenina - Passa pela barreira hematoencefálica, presente em Bufo alvarius ('lamber sapo')

Catecolamina - Derivadas de fenilalanina

Aminas imidazólicas - Derivadas de histidina

\* Anfíbios geram pouco interesse médico → Poucos estudos no mundo, especialmente no Brasil (5 pesquisadores e a maior anfibiofauna do mundo)

Esteroides - Bufanilídeos (bloqueadores de canais de  $\text{Na}^+ \text{K}^+ \text{ATPase}$ ) → cachorros que comem sapos e morrem de ataque cardíaco;

Também possuem atividade antimicrobiana → bloqueador de canais de  $\text{Na}^+$

Alcalóides - Polares (tetrodoxina e saxitoxinas)

↳ TTX está presente em várias espécies de salamandra

Chiritorina - Derivado de TTX, bloqueia canais de  $\text{Na}^+$  e  $\text{K}^+$

• TTX é produzido por Vibrio, pseudomonas, actinomyces

\* Animais vistosos - 'Sou tóxico', animais diurnos

\* Isômeros - Dois picos no HPLC

- Medicamentos à base de TTX - Tocudin, Tecdin

Fetekitorina - Derivado de saxitoxinas

\* TTX - Ambiente marinho e terrestre, não em água do



Defina a batracotoxina e sua importância cultural.

Por que pessoas que comam carnes de animais com BTX cozidas não passam mal?

Fosfolipase - Abre caminho para seconha. Por que ela está presente em um veneno?

Como pode-se distinguir sexos diferentes em HPLC usando secreções de pele?

ce. Saem em ambientes marinhos e água doce  
Alcaloides apolares - Salamandrina (convulsante), pumiliotoxina, epibatidina (↑ analgesia, 200 vezes mais potentes que morfina)

Batracotoxina - Toxina mais potente não-proteica já descrita (1 sapo pode matar 80 homens)

Indígenas usam na caça de primatas - Terabatanas  
↳ BTX é termolábil

Encontrada apenas em Phylllobates

Bioacumulação (sapos se alimentam de formiga) e biotransformação (modificação química)

Proteínas - Microhylidae (fosfolipase), syphonopsina (hemólise)

Peptídeos - Antimicrobianos, magaininas - Xenopus laevis, várias em Phyllomedusa

Bombesina - Potente contração muscular

\* Guaxinim lava sapos venenosos antes de comer

Fisalemina - Vasodilatação

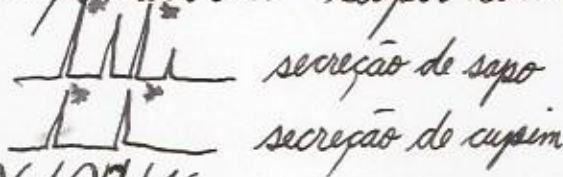
\* Cromatogramas para distinguir dimorfismo sexual nas secreções de animais (hormônios, feromônio)

Compostos odoríferos - Sulfurosos (odo podre), adesivos ('cobras coladas'), sapos que vivem em cupinzeiros

Batracotoxina - Toxina não-proteica mais potente. BTX é termolábil. Phylllobates acumulam e biotransformam BTX a partir da ~~sua~~ dieta.



Dados preliminares do Osimundo - Sapos não predados por aranha → Sapos comem cupim, aranhas não



06/09/16

Foco na metodologia!

### Seminários I

- *P. nattereri*: 'Alhos' nas costas
- Ejetos em células cancerígenas - Fosfatidil-serina, aprisionamento na fase S
- Tipos de câncer de pele: Queratonose, melanoma
- Peptídeos anti-microbianos - Parte do sistema imune de vários animais
- IC50 - Concentração de inibição de 50% das células
- Método MTT - Formazan
- Marcação com Anedina V e iodeto de propídio (PI)
- Rodamina 123 - Viabilidade das mitocôndrias
- MALDI-TOF MS - Espectrometria de massa
- HPLC reversa - Separada por hidrofobicidade
- Por que *P. nattereri*? Muito comum na Tocantins
- Células tumorais tem atividade fosfolipídica diferente - Similar a procariontes

Time of flight - Moléculas menores voam mais rápido



### *Pterois russelli* - Peixes-leão

- Ciclo de vida demorado; Vivem 15-20 anos
- Hábito noturno e coloração aposemática
- Acidentes - Mergulhadores e ~~to~~ aquaristas
- Fosfolipase A2 (PLA2) - Enzima envolvida na inflamação
- Feridas sem ~~coagulação~~ <sup>sangramento</sup> - Coagulação rápida
- \* Anestésias para peixes, anfíbios e répteis - Difíceis

### *Phyllomedusa tealtea* - *Phyllotestinas*

- Shotgun sequencing - Millions of copies of DNA are blown up - repeating sequences are a problem
- BLAST - Comparação de sequências de aminoácidos
- PCR RACE - Primer UPM (universal)
- HPLC - Começo: TFA / água ↓ solvente apolar; Fim ↓ TFA / água ↑ solvente apolar
- \* Milk progs, prog' sun cream
- Conus californicus* - s. cal-14-1a
- BAX (proteína pró-apoptótica), Bcl-2 (anti-apoptótica)

Usar isso no seminário de Leo Vert



## Serpentes peconhentas: Identificação e Tratamento

Serpentes: Ordem Squamata, sub-ordem Ophidia  
 • Ausência de membros, cinturas escapular e pélvica vestigial

Animais conjundidos com serpentes - Salamandras, cecílias

Serpentes de interesse médico: Viperidae, Elapidae, Colubridae

• Viperidae - Crotalus, Bothrops, Bothrocophias, Lachesis; Elapidae - Micrurus, Leptomicrurus; Colubridae - Philodryas

Inervação - Nervo trigêmeo (toque e calor)

Identificação - Escama loreal e Fosseta loreal (sucção - luz infravermelha, calor)

Língua - Quimiocepção, órgão de Jacobson → a serpente capta moléculas e fisicamente encosta-a no órgão de Jacobson (chiro com a língua)

• Serpentes não-peconhentas - Pupila redonda

• Serpentes peconhentas - Pupila vertical, escama quilhada, chocalho (estrutura queratinosa, não-óssea)

\* Distância do bote -  $\frac{1}{3}$  do tamanho do corpo

As serpentes peconhentas do Brasil tendem a apresentar fosseta loreal, pupila vertical e escama quilhada - com exceção da cobra coral. Micrurus também possui dentição proteróglia, enquanto as outras espécies brasileiras de interesse médico possuem dentição solenóglia.



Microurus - Sem fossa, anéis vermelhos e pretos

Fossa loreal - Bothrops (cauda lisa), Lachesis (cauda com escamas arrepiadas), Crotalus (cauda com chocalho)

Família Viperidae - Subfamília Viperinae e Crotalinae, São Solenoglijas

Acidente Crotalico - Mialgia (crotoxina), miogloblinúria, anúria (insuficiência renal aguda  $\rightarrow$   $\uparrow$  mioglobina na corrente sanguínea; xixi 'coca-cola')

\* Veneno não circula - Proteases da peçonha destroem o tecido

Crotoxinas - Fosfolipase A2 (básica) + crotopotina (ácida)  $\rightarrow$  60% do peso seco da peçonha

\* Quando for picado - Permaneça calmo ( $\downarrow$  batimentos cardíacos,  $\downarrow$  circulação), posição horizontal

\* Médicos não são instruídos a saberem qual colera é com relação aos sintomas  $\rightarrow$  Cascabel possui chocalho, identificação clara; Caso contrário  $\rightarrow$

Risco de choque anafilático

\* Não pode haver soro no campo - Risco de choque anafilático, sem tratamento médico  $\rightarrow$  morte

\* Não chupe o veneno - Não funciona!

\* Picada de água-viva - Exuente água do mar, á

HRT e HRAN possuem soro antiofídico

2º soro antiofídico - Causa choque anafilático; Deve-se usar adrenalina



Lachesis - Surucucu



Bothrops - Jararaca



hialuronidase - 'Abre espaço' para as outras toxinas

gua doce pode ativar cnidócitos residuais na pele  
Gênero Bothrops (jararaca)

Acidente Bothrópico - Sangramento local, bolhas, necrose → hialuronidase, colagenase, fosfolipase

Coagulação - Sangramento de olhos e boca, ação tipo trombeína, o corpo estoca protrombeína pois deve cicatrizar o sangramento imediatamente (produção de polímeros de fibrina)

Jararagina - Mionecrose indireta, hemorragia de mucosas

Curiosidades - Daboia russelii - Vídeo de coagulação

Laptosil - Composto que diminui a pressão sanguínea

↳ Descoberto por brasileiros, não foi patentado

Bradicinina - Vaso dilatação (↑ óxido nítrico)

Lachesis (surucucu) - Hemorrágica e coagulante ao mesmo tempo (depleção de fatores de coagulação)

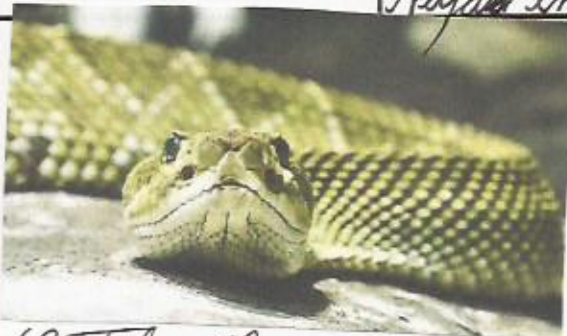
↳ Vagomimética - Similar à ação da ACh

Acidente Lachésico - Dor, edema, bradicardia, hipotensão arterial, diarreia (efeito parassimpático - ACh)

Denticão proteróglia

Família Elapidae - No Brasil → Apenas corais;

Não há em outros países



Crotalus - Cascavel



Microrurus - Coral



Corais verdadeiras - Três anéis pretos entre dois vermelhos (exceção: Corais amazônicas), olhos pequenos, anéis completos ('falras corais - Barriga branca') e muito bem definidos (sem mistura de cores dos anéis)

Grupo ophiogago - Come outras cobras  
Atuação da peçonha - Inibe a liberação de ACh e interação com receptores des ACh

Acidente elapídico - Ptose palpebral, sialorreia, diplopia, dificuldade de deglutição

Colubridae - Dentição opistoglia / áglia, produção de ~~veneno~~ peçonha → Acidentes leves

Neurotóxica - Tipo 2 - Bungarotoxina

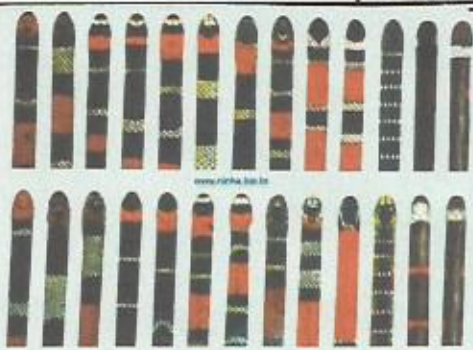
\* 80% acidentes → Pernas; 13% → Membros superiores e tronco, 1% → Cabeça

\* 90% acidentes → Jararacas; 8% Crotalus (cascavel), 1,5% Lachesis, 0,5% corais

Família Boidae (jiboia) - Dentição áglia - sem peçonha; Anaconda, python

• Não engolem boléanos com chifres

• Construção - Leva a presa para debaixo da água, ou mata por falta de ar (não oubera os ossos)



Padrões de corais verdadeiras

Exemplo de falsa coral





Spilotes pullatus - Compressão latero-lateral  
Naja - Compressão dorso-ventral  
Dibutyromorphus - Jararaguinha  
20/04/16

Artrópodes I - Aranhas e escorpiões

• Quelíceras contêm glândulas de peçonhas  
- Orthognata e Labidognatha

Tipos de peçonha - Neurotóica, neurotoxina  
- Fatores de espalhamento: E.g. hialuronidase

Outros componentes - Sais, glicose, ácidos, etc... Potencializam o efeito da peçonha

\* Peptídeos antimicrobianos - 8-30 resíduos, formam  $\alpha$ -hélice, catiónicos

• Lycotoxina - Ação contra E. coli

\* Por que peçonhas tem antimicrobianos?

Proteção da glândula contra infecções: Contato com a microbiota na presa

Acilpoliaminas - Antagonistas de receptores ionotrópicos de glutamato - ação em invertebrados e vertebrados

Técnica de patch clamp - Superexpressão de canais específicos em células de mamífero



$\omega$ -agatoxinas - Agem em canais de  $Ca^{2+}$   
Canais de  $Na^+$  - PTX-resistentes (coração e gânglios sensoriais periféricos) e TTX-sensíveis (cérebro e músculo esquelético)

PhTX2 - Salivação, priapismo, lacrimação

↳ Mecanismo - Bloqueia a inativação

Canais de  $K^+$  - Hemotoxinas, heteropodatoxinas

Canais de  $Cl^-$  - sFTX3.3

Acetilcolina - JSTX-3,  $\omega$ -agatoxina

Dimorfismo sexual na peçonha - Fêmeas tem o corpo mais robusto, são menos efêmeras que os machos, possuem cuidado parental → Peçonha mais diversa e mais tóxica que a de machos

Aranhas de interesse médico

Phonetría (armadeira), Loxosceles (aranha-marrom), Latrodectus (viúva-negra, flamenguinha)

Foneutrismo - Dor local intensa, edema discreto, eritema e sudorese, priapismo, choque neurogênico

↳ Listras brancas nas patas dianteiras e quelíceras coloridas caracterizam a armadeira

\* Estratégia de defesa das caranguejeiras do novo mundo - Pelos urticantes



Phonetría - Armadeira

Loxosceles - aranha-marrom

Latrodectus - Viúva-negra



\* Como matar gátes - Para cotornal

↳ Acidentes -



Classificação	Manifestações Clínicas	Tratamento Geral	Seroterapia
Leve	Dor local Taquicardia e agitação eventuais	Observar por 6 horas	
Moderada	Dor local intensa Sudorese e/ou vômitos ocasionais e/ou agitação e/ou hipertensão arterial	Hospitalização	1-4 ampolas
Grave	Manifestações anteriores Sudorese profunda Sialorréia e vômitos frequentes Hipertensão muscular Prurismo choque e/ou edema pulmonar agudo	Interação em CTI	5-10 ampolas

Problema - Picada indolor → nota quando há uma bolha com pus e sangue

Toxocelas - Aranha-marrom

Variedades clínicas: Forma cutânea e cutâneo-vis-

↳ Acidentes -



CLASSIFICAÇÃO	MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS	TRATAMENTO
LEVE	- Toxocelas identificada como agente causador do acidente - Lesão incharacterística - Sem comprometimento do estado geral - Sem alterações laboratoriais	Sintomático: Acompanhamento até 72 horas após a picada (**)
MODERADO	- Com ou sem identificação das toxocelas no momento da picada - Lesão sugestiva ou característica - Alterações sistêmicas (rescutânea, oculares) - Sem alterações laboratoriais sugestivas de hemólise	Seroterapia: 5 ampolas de SAb (***) via intravenosa e Prednisona: Adultos 40 mg/dia Crianças 1 mg/kg/dia durante 5 dias
GRAVE	- Lesão característica - Alteração no estado geral: anemia aguda, icterícia. - Evolução rápida - Alterações laboratoriais indicativas de hemólise	Seroterapia: 10 ampolas de SAbC via intravenosa e Prednisona: Adultos 40 mg/dia Crianças 1 mg/kg/dia durante 5 dias

Toxinas de aranha com maior peso molecular (110 kDa)

Latrodectismo - Hipertensão arterial, contraturas musculares e choque anafilático

Latrotoxinas (LTx) - Liberação massiva de neurotransmissores → Tetrâmero forma um poro na membrana do neurônio

↳ Acidentes -



Classificação	Manifestações Clínicas	Tratamento
Leve	Dor local e membros inferiores Edema local discreto Sudorese local Parestesia de membros Tremores e contraturas	Sintomáticos Observação
Moderada	Os acima mais Dor abdominal Sudorese generalizada Ansiedade/agitação Mialgia Cefaléia e tontura Hipertermia	Analgésicos + Sedativos 1 ampola de soro antilatrofético IM
Grave	Todas acima Taqui/bradicardia Hipertensão arterial Taquipnéia/dispnéia Náuseas e vômitos Prurismo Retenção urinária Facies típica	Analgésicos + Sedativos 1-3 ampolas de soro antilatrofético IM

Toxinas escorpionicas

Glândula de peçonha dentro do Telson, inserida na presa pelo aguilhão



*T. serrulatus* - Mais tóxico do Brasil, não mata adultos

Escorpiões de interesse médico: *Tityus serrulatus* (comum em Brasília, só ha fêmeas-partenogênicas, comportamento gregário), *T. bahinensis*, *T. stigmurus*



Composição da toxina: Rica, porém há mais interesse de pesquisa em peptídeos

Neurotoxinas - Estabilizadas por pontes dissulfeto → muito estáveis

•  $\alpha$ -NaScTx - Interação em domínios específicos de canais de  $Na^+$

↳  $\alpha$ -toxinas clássicas (mamíferos), anti-insetos, toxinas  $\alpha$ -like (mamíferos e insetos)

\* Ts3 (*T. serrulatus*) - Tratamento de priapismo

•  $\beta$ -NaScTx

↳ clássica (mamíferos),  $\beta$ -simile (mamíferos e insetos), anti-insetos

Atuação em canais de  $K^+$  - Também específica

Atuação em canais de  $Ca^{2+}$  - Também específico, pode atuar indiretamente via modulação de neurotransmissores



Atuação em  $Cl^-$  - Pode atuar em canais ou em GABA  
 Toxinas lineares - Modulação da inflamação  
 Hg1 - Inibidor de serino-protease  
 ↳ Acidentes leves, moderados, graves  
 Atividade anti-tumoral - Bmk AGAP para glioma,  
 Bm HYA1 para câncer de mama, Clorotoxina para  
 tumores cerebrais, TRAIL para melanoma  
 ↳ Peçonha de escorpião egípcio contra hepatite C  
 27/04/16

cheguei uma hora atrás  
sado

Outros artrópodés

Vespa solitária assassina

Vespas tem peçonhas pouco estudadas. Não deixam  
feridas no local da picada. Produzem hipersensibilidade

marimbondos são vespa

Dor aguda local, eritema, prurido

Picada de abelha - Anafilaxia, prurido generalizado,  
rinite, hipotensão

Quadros por ataques múltiplos - Hemólise intravascu-  
lar (liberação de  $K^+$  → ataque cardíaco)

40-50% do peso seco da peçonha - Melitina

- *Apis mellifera* - Abelha; Peçonha rica em PLAZ

Mutelidae - Vespas sem  
asas

Formiga - Picadas podem provocar anafilaxia, necrose  
e infecção secundária



microescamas da asa -  
irritam mucosas

- de interesse médico: Foroniga-de-fogo (solenopsina A, efeito citotóxico) e saúvas
- ~~As~~ <sup>com</sup> Formigas ~~as~~ peçonhas proteicas são mais primitivas
- ↳ Mais derivados tem peçonhas peptídicas
- Lepidoptera - Acidentes com lagartas
- Megalopygidae ('cachorrinha') - Cerdas verdadeiras são menores
- Lonomia - Espinhos ramificados e pontiagudos; Causam síndromes hemorrágicas (urina vermelha); Soro antilonômico é produzido
- Mariposas-da-cochira - Dermatite
- Antibióticos, resistência bacteriana e peptídeos antimicrobianos
- Histórico - Hipócrates (lavagem de feridas com vinho); 1630 - quinina no tratamento da malária; 1935 - Sulfapard o tratamento da sífilis; 1929 - Fleming - Penicilina (staphylococcus aureus com crescimento inibido por fungo - halo de antibiiose) → não conseguiu isolar o composto, mas distribuiu o material para outros pesquisadores
- Antileióticos - Produzidas naturalmente, destroem outros organismos; Antimicrobianos - Independente da origem

antimicrobianos



Mecanismos de ação: Inibem (1) síntese da parede celular (2) produção de proteínas (3) síntese de ácidos nucleicos (4) inibição do ácido fólico

• Penicilina de espectro aumentado: Ampicilina e amoxicilina → não efetivas contra Gram-negativas

• Inibição da ligação cruzada entre NAG e NAM - Menor controle osmótico → lise

• Cefalosporina - Inserção de radicais a tornam mais bactericida

• Macrolídeos - Eritromicina, azitromicina (atuam no ribossomo)

• Tetraciclina - Podem se depositar em dentes e ossos em crescimento; Inibe síntese proteica assim como o cloranfenicol

• Quinolonas - Inibem topoisomerases

• Rifampicina - Inibe a transcrição

• Sulfonamidas - Inibe a síntese de ácido fólico, são parecidas com o PABA (falso-substrato)

Mecanismos de resistência - Menor permeabilidade da parede (↓ porinas), bombas de efluxo, modificação de alvos

↳ Fleming alertou sobre o risco da resistência bac-

topoisomerase ii - DNA girase

humanos não produzem ácido fólico



Terianos no discurso do prêmio Nobel (1945)

↳ Seleção da variabilidade pré-existente da população

Resistência adquirida - Transmissão horizontal de genes (transformação, conjugação, transdução)

Transposon - Cromossomo → Plasmídeo

Conjugação pode ocorrer entre espécies - Enterococcus  
resistência à vancomicina → Staphylococcus → gene vanA

1940 - Início da era dos antibióticos

De 1962 a 2000 nenhum antimicrobiano novo foi lançado no mercado

Opções a antibióticos: Peptídeos

Tasloff - 'Fêmeas suturadas não tem infecções e se recuperam rapidamente' → Devem ter antimicrobianos

↳ Isolamento de magaininas

Em anuros - Pontes dissulfeto na porção C-terminal (família Ranidae), 10 a 13 resíduos, formam  $\alpha$ -hélice, catiônicos (atração às membranas procaríotas)

Alcos dos peptídeos → Membrana; Resistência mais difícil → Secreção de peptidases

membranas eucariotas são neutras



cheguei - 50 min atrasado

## Toxinas de Invertebrados aquáticos

É difícil trabalhar com peptídeos / proteínas → Grande instabilidade; Alcalóides de invertebrados possuem grande estabilidade / são mais fáceis de trabalhar

Experimento com Geot 120 - Ensaio de ferida (risca o meio de cultura com a pipeta)

Briozoários - Colônias de cerca de 1 cm

Cerca de 8 mil espécies, maioria marinhas

Moléculas com junções anti-encrustante

Briostatínas - Ação contra PKC

Comolutaninas - Ação contra células cancerígenas

Briostatineno - Inibe a angiogênese

Tunicados - Tirochordata, filtradores - acumulam vacúolos

Didecminas - Atividade contra vírus (inclusive da dengue)

- Células sanguíneas com ejetos contra bactérias

- Lepidijormina - Inibidor de canais de  $K^+$

Cnidária - Simetria radial, nematocitos

Scyphozoa / Cubozoa - Vespa-do-mar pode gerar acidentes fatais. Espécies brasileiras são menos tóxicas

ShK - Peptídeo de anêmona do mar que bloqueia canais iônicos  $K_v 1.1$  e  $K_v 1.3$

Moluscos - 10000 espécies, acumulam toxinas bacterianas



Brevetoxinas - Lipossolúveis, abertura de canais iônicos  
→ DTX e AD são produzidos por dinoflagelados

· Ácido domóico - Envenenamento amnésico

· Ipramicina - Composto antimicrobiano

Annelida - Nerisitorina (NTX)

Echinodermata

Panorama farmacológico atual

· Citarabina - Inibe DNA polimerase

· Muitos compostos com ação anti-tumoral - Halaven, do-  
lastatinas, aplicina

Aciclovir - Contra o vírus da herpes

AZT - Contra a AIDS

· Prialt - Analgésico - pacientes com tolerância à morfina

OAS-100 - Anti-inflamatório, cicatrizante

· Produtos naturais marinhos - ↓ peso molecular



análise de proteoma

- Peçonha fossilizada - Perpis de espécies <sup>Lagarto</sup> Holoderma
- 3 espécies - Divisão holotura há 30 mya e 4 mya
- Envenenamento por mordedura
- ↳ Possuem Fosfolipase A<sub>2</sub> Tipo III
- Eletroforese 2D - Massa e ponto isoelétrico
- Peçonha - Predação e defesa
- Toxina T<sub>1</sub>2 - β-toxina → ativa canais de Na<sup>+</sup> voltagem dependentes

25/05/16

- Aves venenosas e ~~venenosas~~ <sup>mamíferos</sup> peçonhentos
- Homobatracotoxina em passeriformes Pitohui -
- Químico que trabalhava com aves taxidermizadas, ficava com mãos dormentes e irritações de mucosas ao contato com penas

- ↳ Batracotoxina em anura *Phyllobates terribilis*
- Bioacumulação por meio da dieta (formigas)
- Acumulação em pele, penas, músculos

Compostos apolares →  
têcidos

- Bioacumulação por meio da dieta (coleópteros)
- Filogenia de aves a partir da toxicidade das sp.
- Acumulação proposital? (testosterona em ovos de garça)

Cortuniz - Coniina, bioacumulada de cicuta (bela)



queador nicotínico)

Pato ferrão - Cantaridina (bioacumulação por besouros do gênero *Epicauta*)

- Queimadura química, tratamento de verrugas, promove priapismo

Mamíferos peçonhentos

• Machos de ornitorrinco possuem esporões nas patas traseiras → Maturação da glândula próxima ao período reprodutivo

↳ Animal protegido - Dificuldade de amostragem

Escorpiões → Bloqueadores de canais iônicos evoluíram de defensinas

Peptídeos natriuréticos, defensinas-like (atividade antimicrobiana)

• *Soricomorpha* - Incisivos possui um sulco → glândulas de peçonha

- Blainatoxina (BLTX) - Protease

• Chiroptera - Anticoagulante (definição de peçonha?) - Incisivos modificados

• Primata - *Nycticebus*; Não possui aparato inoculador, peçonha na glândula lagrimal → Lamber → Morde a presa

- Similar a alérgeno de gato

• African crested rat - Pelo seco, acumula toxina de



plantas → promove parada cardíaca

### Toxinologia

· Extração - Estimulação elétrica, retirada de glândula, retirada de pele

· Secagem - Liofilização (diminui a hidrólise e perda de material)

· HPLC e antimicrobianos

↳ Grupos de 5-3 no HPLC e 2 em antimicrobianos

15/06/16

Seroterapia: Estrutura e Engenharia de anticorpos

· Animais peçonhentos - Associados a maus espíritos na mitologia

· Francesco Redi - Primeira descrição do sistema inoculador de serpentes

· Calmette (1891) - Processos imunológicos em resposta à peçonha de rã

· Instituto Butantan (1897) - Produção de soro monovalente - específico à espécie de serpente

· Soro antiofídico - Lida com efeitos sistêmicos, não locais

Epidemiologia - Membros inferiores (62,75%), mem



Soros superiores (12, 15%), outros (25, 1%)  
 Vacina → Preventiva; Soro - Curativa  
 • Soro - Não diminui o número de acidentes  
 • Anti-tomônico - Lagarta de fogo  
 Anti-corpos de camelídeos possuem duas ca-  
 deias pesadas, equíneos produzem anticorpos com  
 uma cadeia leve e uma pesada  
 Doença do soro - Resposta do paciente a ou-  
 tros componentes do plasma (reação tardia)  
 ↳ Filtração molecular

Choque anafilático -  
 Não grave e imediata

IgG



Anticorpos monoclonais - Genes do anticorpo  
 são inseridas em plasmídeos e colocadas em  
 uma cultura imortal de células

papaína corta a  
 região linker, pepsina  
 mantém a região linker  
 • Se degradam mais  
 rápido, diminui chance  
 de choque anafilá-  
 tico

• Neutralização é feita por partes específicas  
 do anticorpo  
 Anticorpo é altamente específico para uma substância da peçonha  
 Humanização de anticorpos por transplante



de CDR

Humano → Humanizado → Quimérico → Murino  
menos imunogênicos → mais imunogênicos

Soro anti-trotopo humano - anti-PLA2