

Projeto temático isola, investiga e caracteriza toxinas de anêmonas

Fotos: Divulgação/Antoninho Perri

Equipe descobre grupo de enzimas; pesquisas envolvem 4 universidades

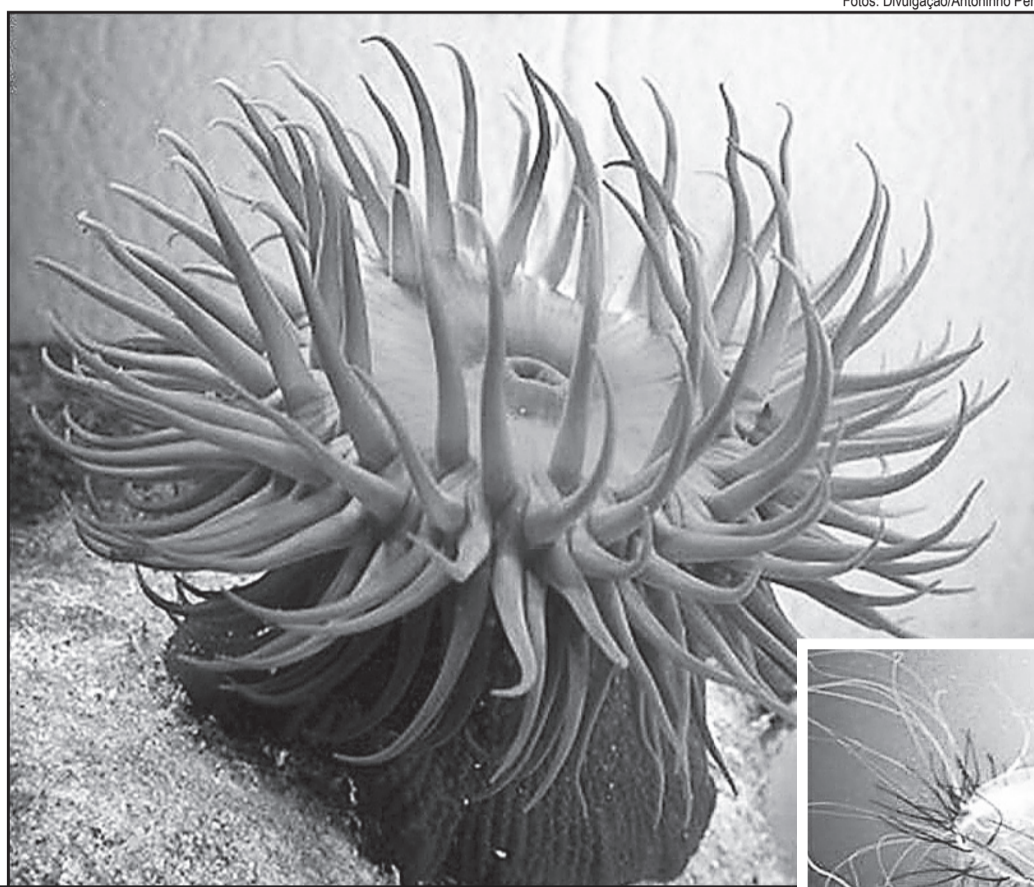
ISABEL GARDEVAL
bel@unicamp.br

As anêmonas são animais marinhos que podem produzir toxinas que são utilizadas tanto para a captura como para defesa. Elas são encontradas na forma sésil, presas a obstáculos rochosos, e na forma natante, na superfície do mar. Na forma natante, sobretudo a caravela, ou água viva – outras designações das anêmonas – eventualmente está envolvida em relatos de acidentes com seres humanos, provocando lesões na pele e desencadeando efeitos sistêmicos que muito acreditava-se estarem apenas relacionados com as toxinas liberadas por estes animais. Por conta disso, um projeto temático Fapesp-CNPq, que tem a participação do Instituto de Biologia (IB) da Unicamp e de outras universidades – Unesp-Campus Experimental do Litoral Paulista São Vicente, da Universidade Presbiteriana Mackenzie e da Universidade Federal do Ceará – está estudando e caracterizando as toxinas das anêmonas do mar encontradas no litoral paulista. Dentro do projeto estão o desenvolvimento de metodologia para o isolamento e purificação de toxinas, caracterização estrutural, biologia molecular e aspectos farmacológicos.

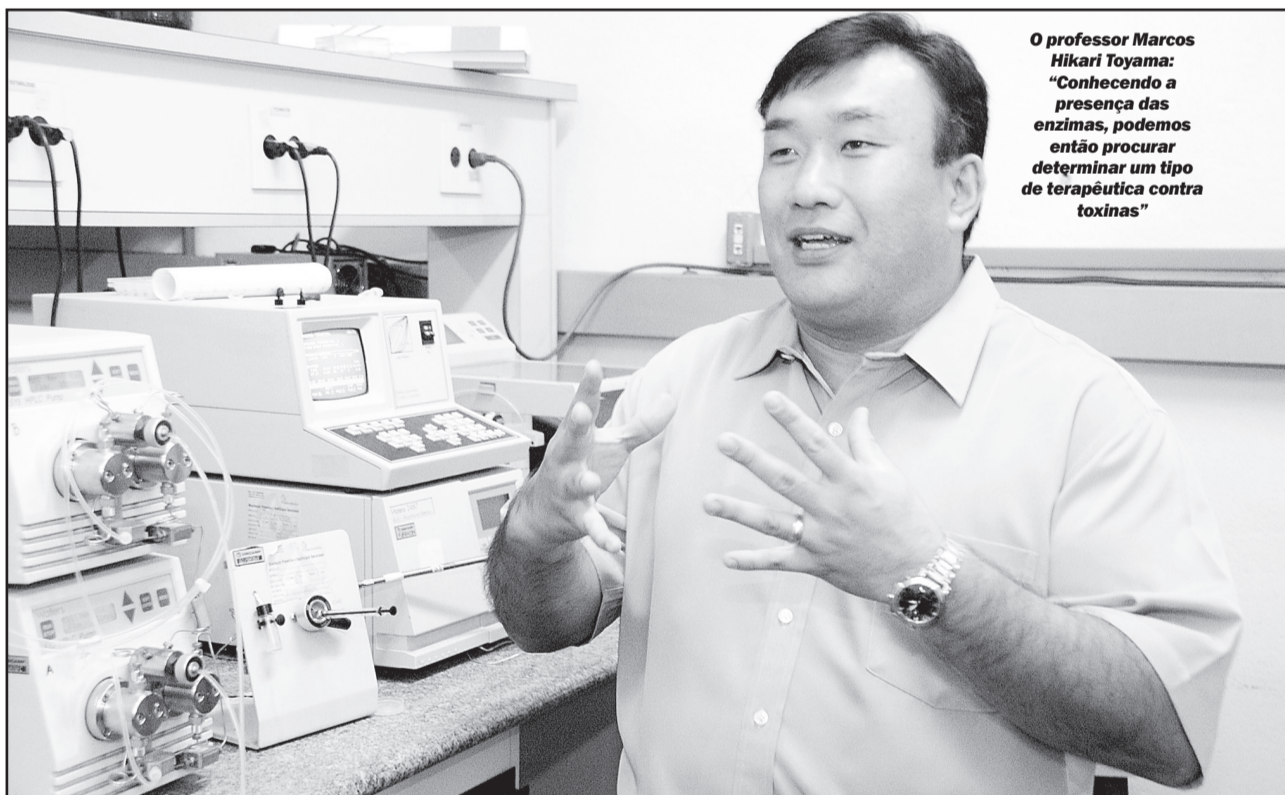
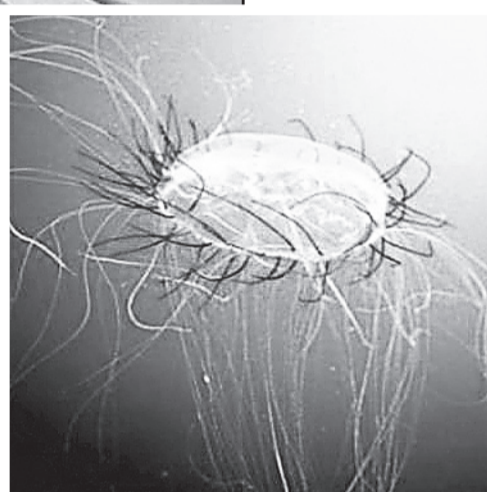
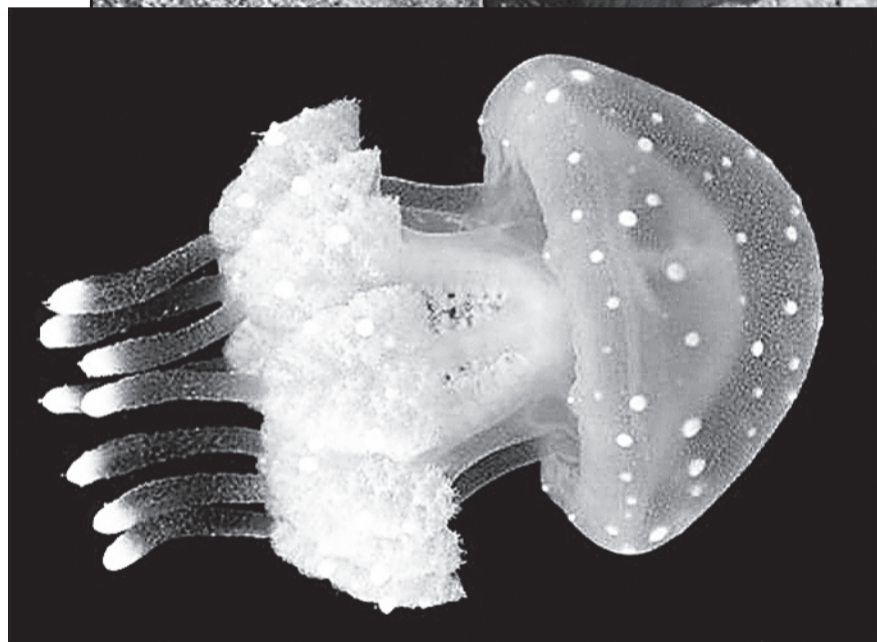
Até o momento, a equipe liderada pelo biólogo e professor da Unesp de São Vicente Marcos Hikari Toyama, com graduação e pós-graduação na Unicamp, descobriu um grupo de enzimas que ainda não havia sido descrito para estas espécies de animais, que são as fosfolipases A2 (PLA2). Estas enzimas desempenham funções como auxiliar na digestão de lipídios, mas também cumprem uma tarefa em nível celular – a de mediar vários processos fisiologicamente importantes como a inflamação e como o descontrole da função destas enzimas, que pode desencadear processos patológicos significativos. “Acreditamos que esta enzima, presente no nematocisto desses animais, tem um potencial para induzir o quadro de inflamação observado no acidente com estes animais marinhos”, frisa.

Segundo Toyama, o litoral brasileiro reúne relatos da ordem de 40 casos desses acidentes por ano, número que não é considerado de grande relevância, se comparado com outros países como a Austrália, por exemplo, onde os episódios são mais frequentes. A célula responsável por esses acidentes com seres humanos é o nematocisto, que contém toxinas e um filamento inoculador enovelado. Quando existe um contato mecânico da pele da vítima com este esporão, ocorre então o seu descarregamento na derme da pessoa. A primeira reação no organismo é o aparecimento de irritações ou edemas. Depois pode se prolongar com febre e às vezes náuseas. “Mas depende muito da sensibilidade das pessoas, do seu tamanho e da quantidade de toxinas injetadas”, expõe Toyama. “Para as crianças, pode ser fatal, ao passo que, para adultos, em geral traz somente um certo inconveniente que pode durar 72 horas.”

A conclusão do estudo, garante o coordenador do projeto, ainda está



Abaixo, lesão provocada pela anêmona *Olinidia sambaquiensis*; à esquerda, *Bunodosoma caissarum* e, na outra imagem, *Phyllorhiza punctata*



O professor Marcos Hikari Toyama: “Conhecendo a presença das enzimas, podemos então procurar determinar um tipo de terapêutica contra toxinas”

longe de ser alcançada, a priori porque seria preciso conhecer antes a família dessa fauna de predadores. “Já reunimos informações dessa fauna de predadores em seres humanos, de serpentes e de alguns tipos de insetos, porém sobre esses animais marinhos pouco se tem conhecimento acerca da sua estrutura e função. Se levada em conta a fase predadora das serpentes, já se tem um banco de dados que permite caracterizar a estrutura, a função delas e, com um software de análise de estruturas, é possível determinar a sua provável atividade farmacológica.”

No caso das anêmonas do mar, enfatiza Toyama, pela escassez de dados, nem ao menos se consegue realizar esse tipo de discussão. Ele explica que falta conhecer se as anêmonas são uma família, quais as suas características, a sua atividade farmacológica mais específica, quais as células e os tecidos-alvo e efetivamente a real importância dessas toxinas no isolamento, num acidente com águas vivas.

Na fauna marinha brasileira, as espécies de anêmonas mais encon-

tradas são três: a caravela, que é a espécie mais comum estudada no mundo inteiro; a *Olinidia sambaquiensis*, conhecida por causar acidentes no litoral; e a *Phyllorhiza punctata*, que é outra anêmona típica endêmica da Austrália – mas que migrou até o Caribe e América do sul por meio da água de lastro dos navios. Uma embarcação que vai para a Austrália e deve fazer a coleta de água a fim de promover o equilíbrio do barco, ao navegar, descarrega esta água em outros locais. “Então ela começou na Austrália, foi para o Caribe e chegou ao Brasil, onde possui histórico de se adaptar bem. Aqui as anêmonas têm, inclusive, o dobro do tamanho visto na Austrália, talvez porque não haja predador contra ela”, estima o biólogo.

Ramificações

A ideia dos participantes desse projeto temático, que já existe há cinco anos, e que ainda não tem prazo determinado para expirar, é dar continuidade aos estudos, tentando posteriormente caracterizar a

biologia molecular destes animais: a presença de RNA e DNA específico para produção de algumas toxinas. Esta parceria está sendo conduzida pela Unicamp na parte estrutural, molecular e bioquímica, além de fornecer expertise em espectrometria de massa e de outras técnicas não disponíveis nos laboratórios de São Vicente; pela Unesp, que coleta as espécies, estuda outras estruturas desses animais mediante análise histológica e tem o grupo responsável pela purificação das toxinas; e pela Universidade Federal do Ceará e Universidade Presbiteriana Mackenzie, que realizam o estudo farmacológico.

Desse projeto temático, ramificaram outros trabalhos. O primeiro parte de uma proposta de publicação em um periódico de Toxicologia Aplicada sobre a presença de toxinas de dinoflagelados (algas) nestas anêmonas do mar. Nesse estudo foi detectada, por espectrometria de massa, a presença de alguns compostos tóxicos, tipicamente presentes em algumas espécies de microalgas

e que, no entanto, são encontrados nos substratos das anêmonas do mar. “Vimos que tais animais têm colônias de dinoflagelados associadas a eles que também podem produzir toxinas. Então, imagina-se que exista uma simbiose destes dinoflagelados com a anêmona que também pode contribuir com a sua toxicidade. Os resultados iniciais indicam isso”, salienta Toyama.

Outro produto deste projeto é uma dissertação de mestrado apresentada recentemente ao IB pela pós-graduada Mariana Moura. A investigação mostra o efeito da toxina sobre culturas de células. O que foi constatado nesta pesquisa é que essa interação pode interferir no metabolismo celular. Na prática, esse trabalho foi um divisor de águas, pois conseguiu segmentar não somente a visão do estado clínico em si, mas elucidar quais fatores promovem esta alteração clínica e por que ela pode ser mais severa em algumas pessoas.” Além disso, prossegue o biólogo, consegue-se entender os aspectos de toxicologia e as ferramentas moleculares para o comportamento celular. “Um dos frutos desse projeto consistirá em isolar toxinas e utilizá-las como ferramenta molecular para a elucidação da fisiologia celular.”

Toxinas

Além das PLA2, o grupo também conseguiu isolar algumas outras toxinas bem como a presença das proteases e de algumas citolisinas (toxinas que, não tendo uma atividade enzimática específica, são capazes de promover uma alteração hemolítica em eritrócitos humanos – as hemácias). Quando as toxinas são obtidas, elas conseguem hemolizar os eritrócitos humanos, embora basicamente o seu funcionamento seja mecânico. “Existem estas toxinas e também uma outra característica peculiar que é a ação das enzimas na membrana, ou para estimular ou para afetar a vida celular.”

Toyama relata que o grupo que atua no projeto temático tinha uma visão que não coincide com o panorama do momento. Conforme ele, não se trata de uma ação simples e por isso está difícil compreender a complexidade do acidente com estes animais marinhos. “O que as pessoas imaginavam era que o nematocisto injetava toxinas. Contudo, quais eram as toxinas e como estas atuavam?”, indaga. É certo, diz, que esta ação contava com a colaboração das toxinas, das enzimas e de outras proteínas. “Entretanto, sabe-se que é possível ter uma flora de alguns organismos vivos, cujas toxinas têm condições de serem aproveitadas e até colaborar para a toxicidade dela”, acrescenta.

Essas alterações metabólicas induzidas pelas toxinas também são mostradas na tese de Mariana Moura. Ela apontou que as toxinas podem interagir especificamente com a célula e que esta interação pode induzir um aumento do metabolismo celular, culminando com um aumento da produção de radicais livres. “Quando produzidos em excesso, esses radicais às vezes danificam a estrutura das membranas (lipoperoxidação) e alteram a função e a estrutura das proteínas e dos ácidos nucleicos. Além disso, podem paulatinamente acabar com as funções vitais das células, levando à morte, à necrose e à apoptose celular”, conclui.

Não é simplesmente a presença das toxinas que “produz membrana nas células”, atesta Toyama. A interação é mais sutil, com receptores promovendo a “interação das toxinas com a célula”. E é esta interação que vai mediar o aumento de radicais livres e levar à morte celular. “Por este motivo, estabelecemos outro tipo de visão da ação dessas toxinas. A necrose, verificada em alguns acidentes com águas vivas, nunca teve uma explicação plausível. Agora, sabemos que têm toxinas que promovem essa necrose tecidual de uma forma extremamente específica.”