

REVISIÓN

Venenos animais como possíveis ferramentas terapêuticas contra o estresse oxidativo em diversas doenças: Revisão da Literatura Animal venoms as possible therapeutic tools against oxidative stress in several diseases: Literature Review

Silva, Maísa^{1,*}; Lima Marçal, Fernanda²; de Matos, Ione Maria¹

¹Departamento de Ciências Básicas da Vida, Universidade Federal de Juiz de Fora, campus Governador Valadares, Minas Gerais, Brasil. Av. Dr. Raimundo Monteiro Rezende, 330, Centro, 35010177, Governador Valadares, Minas Gerais, Brasil. ²Departamento de Medicina, Universidade Federal de Juiz de Fora, campus Governador Valadares, Minas Gerais, Brasil.

* maisa.silva@ufjf.edu.br

Recibido: 6 de noviembre de 2020

Aceptado: 27 de octubre de 2022

Resumo. Venenos são substâncias tóxicas (compostas por um ou mais toxinas) que podem causar lesão fisiológica dependente da dose. As toxinas são moléculas bioativas formadas principalmente por compostos enzimáticos e não enzimático que porque provocam consequências indesejáveis nas presas, além disso, exibem atividades biológicas únicas, diversas e específicas que perturbam os processos fisiológicos normais. Entretanto, muitas toxinas, de diferentes animais, têm sido isoladas e muitas delas são consideradas ótimas ferramentas para pesquisa básica e alvos terapêuticos. Foi relatado que o estresse oxidativo desempenha um papel fundamental na patogênese de várias doenças, como distúrbios neurodegenerativos, distúrbios cardiovasculares e câncer. O mecanismo pelo qual as toxinas animais atuam nos parâmetros de estresse oxidativo em várias doenças, ainda não está estabelecido. O foco principal desta revisão é destacar os principais estudos com toxinas animais como ferramenta terapêutica em diversas doenças, atuando no balanço redox do organismo.

Palavras-chave: Venenos; Ferramentas terapêuticas; Estresse oxidativo; Antioxidantes.

Abstract. Venoms are a toxic substance (comprised of one or more toxins) that can cause dose-dependent physiological injury. Toxins are bioactive molecules formed primarily by enzymatic and non-enzymatic compounds that cause undesirable consequences in prey, in addition, exhibit unique, diverse and specific biological activities that disrupt normal physiological processes. However, many toxins, from different animals, have been isolated and many of them are considered great tools for basic research and therapeutic targets. Oxidative stress has been reported to play a key role in the pathogenesis of various diseases such as neurodegenerative disorders, cardiovascular disorders and cancer. How animal toxins act on oxidative stress parameters in several diseases is not yet established. The main focus of this review is to highlight the main studies with animal toxins as a therapeutic tool in several diseases, acting on the organism's redox balance.

Key words: Venom; Therapeutic tools; Oxidative stress; Antioxidants.

Resumen. Los venenos son sustancias tóxicas (compuestas por una o más toxinas) que pueden causar daño fisiológico dependiente de la dosis. Las toxinas son moléculas bioactivas formadas principalmente por compuestos enzimáticos y no enzimáticos que debido a que causan consecuencias indeseables en las presas, además, exhiben actividades biológicas únicas, diversas y específicas que alteran los procesos fisiológicos normales. Sin embargo, se han aislado muchas toxinas de diferentes animales, y muchos de ellos se consideran grandes herramientas para la investigación básica y dianas terapéuticas. Se ha informado que el estrés oxidativo juega un papel clave en la patogenia de diversas enfermedades, como los trastornos neurodegenerativos, enfermedades cardiovasculares y cáncer. El mecanismo por el cual las toxinas animales actúan sobre los parámetros de estrés oxidativo en varios enfermedades, aún no está establecido. El enfoque principal de esta revisión es resaltar los principales estudios con toxinas animales como herramienta terapéutica en diversas enfermedades, actuando en el equilibrio redox del organismo.

Palabras llave: Venenos; Herramientas terapéuticas; Estrés oxidativo; Antioxidantes.

Introdução

As toxinas estão presentes em diferentes animais, plantas e microrganismos com o objetivo de interromper ou influenciar componentes essenciais

do processo fisiológico de outros organismos, o que pode trazer vantagens em sua sobrevivência e evolução. Esses venenos podem causar dor,

paralisa e até mesmo a morte de suas presas ou predadores. Essas toxinas funcionam sinergicamente ou individualmente, geralmente com grande potência (Walker 2020). A toxicidade do veneno geralmente está ligada a poucas toxinas que compõem o veneno. Apesar do nome, muitas toxinas não são tóxicas e podem ter aplicações terapêuticas (Ferraz *et al.* 2019).

Os peptídeos de toxinas animais apresentam alta especificidade e potência para alvos moleculares específicos. São compostos biologicamente ativos que muito estimulam o interesse dos pesquisadores e podem ser candidatos a fármacos extremamente valiosos. Essas substâncias quando caracterizados, possibilitam sua compreensão funcional, além de promover sua possível aplicabilidade biotecnológica (Boldrini-Franca *et al.* 2017). Existe uma enorme biblioteca natural inexplorada de compostos bioativos contidos em secreções de venenos, pois uma única secreção pode conter vários compostos diferentes, principalmente proteínas, pequenos peptídeos, mas também contêm sais e compostos orgânicos, como aminoácidos e neurotransmissores (Madio *et al.* 2017).

A secreção do veneno de muitos animais peçonhentos, como cobras, escorpiões, aranhas, insetos e anfíbios, pode ser aplicada na fabricação de agentes e/ou ferramentas para pesquisa básica e aplicada para serem usados em aplicações farmacológicas e biotecnológicas (da Silva *et al.* 2014; Peigneur e Tytgat 2018). As toxinas têm sido uma importante fonte de ferramentas moleculares para o desenvolvimento de medicamentos que visam uma variedade de condições tais como a dor crônica (Hamad *et al.* 2018), diabetes (Furman 2012), câncer (Qiao *et al.* 2017), acidente vascular cerebral (Chassagnon *et al.* 2017) e doenças autoimunes (Tarcha *et al.* 2017). Entretanto, o mecanismo de como essas toxinas ajudam no tratamento de várias doenças permanece desconhecido.

O estresse oxidativo e o efeito de antioxidantes são importantes na avaliação do estado de saúde/doença. Qualquer desequilíbrio entre a produção de radicais livres e a defesa antioxidante gera estresse oxidativo que promove ou agrava várias condições fisiopatológicas, tais como envelhecimento, diabetes, câncer, doenças de Alzheimer e Parkinson (Valko *et al.* 2007; Negre-Salvayre *et al.* 2010; Matsushima *et al.* 2014; Marrocco *et al.* 2017).

Tendo em vista que o estresse oxidativo está envolvido na evolução de muitos distúrbios e que os venenos são misturas complexas de compostos

com funções farmacológicas específicas que podem ser um alvo potencial para o desenvolvimento de drogas, revisamos a participação de toxinas animais em doenças, como câncer, Parkinson, Alzheimer, toxicidade hepática e renal e artrite, atuando como possíveis ferramentas terapêuticas contra o estresse oxidativo.

Marcadores do estresse oxidativo

A definição de estresse oxidativo inclui dois mecanismos diferentes, um relacionado ao dano molecular e outro relacionado à interrupção da sinalização redox. Assim, o estresse oxidativo pode ser definido como um desequilíbrio entre oxidantes e antioxidantes, que resulta em dano macromolecular e alteração na sinalização redox (Sies e Jones 2017).

Biomoléculas, como proteínas, lipídios e ácidos nucleicos, podem ser irreversivelmente oxidadas por espécies reativas de oxigênio e nitrogênio (ERO/ERN) produzidas sob estresse oxidativo (Roberts *et al.* 2010). Existem vários sistemas de defesa intracelular para evitar o aumento descontrolado de ERO/ERN. Essas espécies reativas são moléculas químicas heterogêneas que incluem radicais, como óxido nítrico (NO), ânion superóxido e radicais hidroxila. As mitocôndrias são a fonte predominante de EROs em todos os tipos de células (Musatov e Robinson 2012). As espécies reativas são geradas principalmente no nível da cadeia transportadora de elétrons mitocondrial ou também podem ser produzidas enzimaticamente por várias enzimas ligadas à inflamação, como NADPH oxidase, óxido nítrico sintase (NOS), xantina oxidase, mieloperoxidase (MPO), lipoxigenase (LOX), e ciclooxigenase (COX) (Forrester *et al.* 2018).

Um marcador amplamente utilizado para determinar o aumento do estresse oxidativo é a peroxidação lipídica (Negre-Salvayre *et al.* 2010). Este marcador pode estar presente em diversos distúrbios como doenças cardiovasculares, câncer, doenças neurodegenerativas e envelhecimento (Niki *et al.* 2005; Forman *et al.* 2008). Reações enzimáticas ou reações em cadeia autocatalizadas desencadeadas por EROs podem promover a oxidação de lipídios. Malondialdeído (MDA) é um dos vários produtos finais de baixo peso molecular formado através da decomposição de certos produtos de peroxidação lipídica primária e secundária (Signorini *et al.* 2013). MDA constitui as substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), que podem reagir com dois equivalentes de ácido tiobarbitúrico dando origem a um complexo de aduto rosa, facilmente

medido por um ensaio colorimétrico ou fluorimétrico (Sousa *et al.* 2017). A paraoxonase-1 (PON-1) tem papel fundamental na defesa da peroxidação lipídica. PON 1 é uma enzima sérica ligada às lipoproteínas de alta densidade (HDL). A atividade dessa enzima mostrou ser modulada em condições de estresse oxidativo, e foi reconhecida também como um agente modulador do papel antioxidante e antiinflamatório do HDL (Ferretti *et al.* 2010).

Enzimas geradoras de EROs e sistemas de defesa antioxidante, que mudam em resposta ao aumento do estresse oxidativo, podem ser usados para avaliar o estado redox do organismo ou o estado saúde/doença de células específicas. Os sistemas antioxidantes são compostos por enzimas, como superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathione peroxidase (GPX), além de moléculas não enzimáticas, como glutathione, vitaminas A, C e E e diversos antioxidantes presentes em nossa alimentação (Valko *et al.* 2007; Sies e Jones 2017). Os antioxidantes atuam nos organismos vivos por meio de diferentes mecanismos. Dentre eles, podem ser citados: a complexação de íons metálicos, a captura de radicais livres, a decomposição de peróxidos, a inibição de enzimas responsáveis pela geração de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio e a modulação de vias de sinalização celular (Vasconcelos *et al.* 2006) (Figura 1).

A dismutação do radical superóxido em oxigênio e H_2O_2 é catalisada por uma família de enzimas chamada SOD. Essas enzimas ajudam a controlar a concentração intracelular de EROs e a manter o fluxo de H_2O_2 adequado para a regulação redox da sinalização intracelular, em conjunto com CAT e GPx (Zelko *et al.* 2002). CAT é uma proteína homotetramérica que contém quatro íons de ferro e está amplamente localizada nos peroxissomos. É uma das enzimas que catalisam a conversão de H_2O_2 em água e oxigênio (Vives-Bauza *et al.* 2007). A glutathione (GSH) também converte H_2O_2 em água e oxigênio por meio da oxidação reversível em glutathione oxidada (GSSG), pela ação da glutathione peroxidase (GPX). GSSG pode ser reciclado enzimaticamente em GSH pela atividade da glutathione redutase (GR) e pelo poder redutor de NADPH (Bachhawat e Yadav 2018) (Figura 2). A capacidade antioxidante total é definida como a concentração de oxidantes neutralizados por um litro de fluidos corporais (Apak *et al.* 2010). Vários ensaios para determinar a capacidade antioxidante total medem sua eficiência em eliminar ou reduzir radicais livres. Uma das técnicas usadas para detectar a presença de compostos antioxidantes, é um método baseado na estabilização do radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), onde o composto testado fornece um elétron ao radical acorrentando a mudança de cor na amostra (Mensor *et al.* 2001). Outro método, que mede o

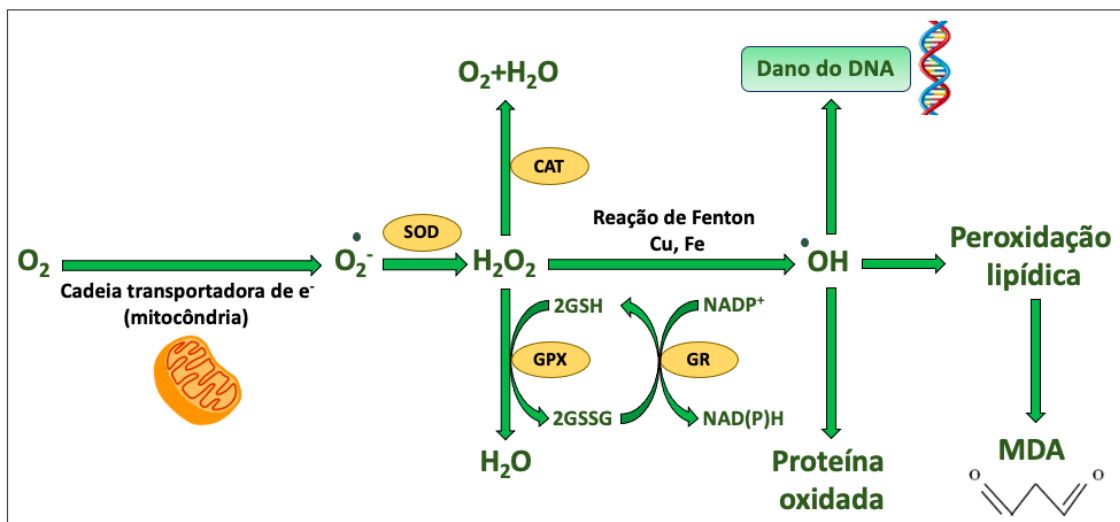


Figura 1. Várias vias de formação de EROs e sua eliminação por mecanismos de defesas antioxidantes. Abreviaturas: CAT: catalase, GSH: glutathione reduzida, GSSG: glutathione oxidada, GPx: glutathione peroxidase, GR: glutathione redutase, MDA: malondialdeído, SOD: superóxido dismutase.

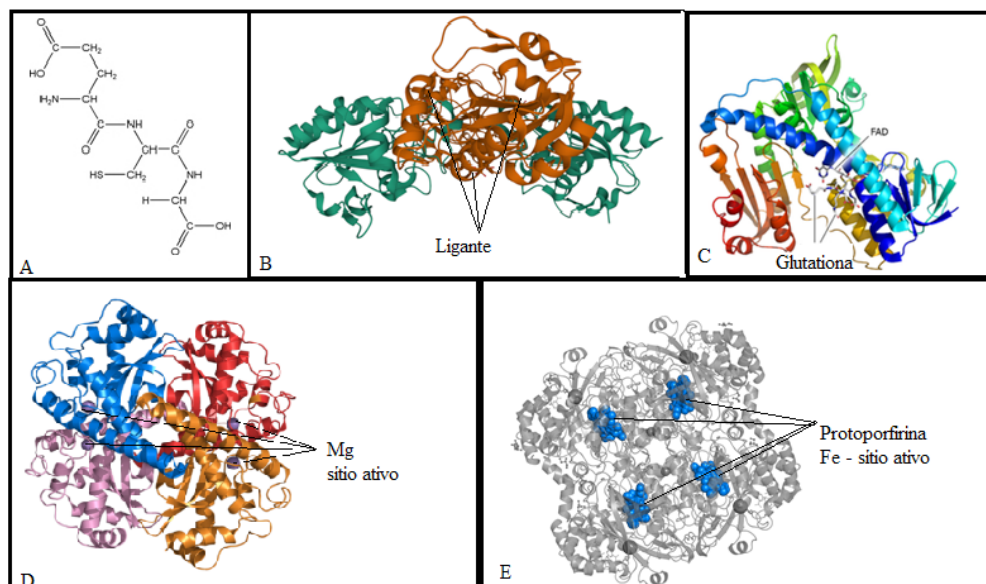


Figura 2. A: Estrutura da glutationa—disponível em <http://www.chemistry.wustl.edu/~edudev/LabTutorials/AirQuality/images/Glutathione.jpg>. B: Glutaciona peroxidase GPX1 adaptada do Protein Data Bank. C: Glutaciona redutase 1GRE - adaptada do Protein Data Bank. D: Superóxido dismutase 2 humana adaptada do Protein Data Bank. E: Catalase adaptada do Protein Data Bank.

poder redutor dos antioxidantes é por meio da reação redox com o ferro, conhecido como potencial antioxidante redutor férrico (FRAP) (Benzie e Strain 1996).

Toxinas animais como ferramentas terapêuticas contra o estresse oxidativo

Veneno de Escorpião

O escorpião é um dos mais antigos artrópodes conhecidos do reino Animalia. Eles existem na Terra há mais de 400 milhões de anos e são amplamente distribuídos em todo o mundo. Dentre as 2000 espécies descritas até hoje, a família Buthidae é mais amplamente estudada e considerada a mais perigosa para o homem (Hauke e Herzig 2017; Lourenço 2018). Venenos de escorpião têm sido usados em terapias tradicionais desde a antiguidade em diferentes países, particularmente na Índia, China, África, Cuba e Espanha (Díaz-García *et al.* 2013; González e Vallejo 2013; Khusro *et al.* 2018).

O veneno do escorpião é uma mistura complexa de neurotoxinas, cardiotoxinas, toxinas hemolíticas, peptídeos antimicrobianos, enzimas, lipídeos, nucleotídeos, mucopolissacarídeos e aminas biogênicas. Este veneno é um coquetel de compostos biologicamente ativos, principalmente de natureza proteica, compreendendo

desde pequenos peptídeos até proteínas de alta massa molecular e de múltiplos domínios, com dobramentos complexos e muitas modificações pós-traducionais (Peigneur e Tytgat 2018). Possui uma mistura complexa de aproximadamente 100 a 1000 compostos diferentes. Estes atuam em diversos alvos fisiológicos e bioquímicos do corpo da presa, causando um desequilíbrio em sua homeostase. O veneno de escorpião representa uma rica fonte de moléculas bioativas e modelos estruturais para o desenvolvimento de novos medicamentos e ferramentas biotecnológicas (Ortiz *et al.* 2015; Ahmadi *et al.* 2020).

Muitos estudos sobre os peptídeos do veneno do escorpião enfocam os mecanismos de toxicidade e seus componentes farmacológicos e bioativos. A maioria dos peptídeos são neurotoxinas e são responsáveis pela toxicidade do veneno. Outros peptídeos, incluindo peptídeos sem ponte de dissulfureto, hialuronidases, fosfolipases e enzimas inibitórias, apresentam potenciais efeitos terapêuticos anticancerígenos, antimicrobianos, analgésicos e antiepiléticos. Peptídeos de baixo peso molecular derivados do veneno de escorpião são altamente diversos em estruturas primárias e atividades biológicas e têm potencial ação terapêutica a ser explorada (Uzair *et al.* 2018; Ghosh *et al.* 2019; Ahmadi *et al.* 2020).

Nadjia e Fatima (2015), estudaram o nível de an-

tioxidantes e marcadores de estresse oxidativo em células tumorais hepáticas induzidas por micotoxina Fumonisina B1 (FB1) após tratamento com veneno de escorpião *Androctonus australis hector* e sua fração não tóxica. Os níveis de NO e MDA aumentaram significativamente com FB1, no entanto, componentes do veneno foram capazes de diminuir os níveis desses marcadores. Os níveis de GSH também foram medidos, mas o veneno não alterou seus níveis. O mecanismo pelo qual o veneno foi capaz de alterar os marcadores de estresse oxidativo não está claro, esse efeito necessita ser elucidado. Os autores também estudaram a atividade da catalase e encontraram uma redução nesta atividade promovida pelo veneno e sua fração não tóxica, sugerindo uma redução na produção de EROs, causando uma melhora no balanço redox.

O veneno do escorpião *Buthus martensii Karsch* (BmK) tem sido usado na medicina tradicional chinesa para tratar inúmeras condições por milhares de anos. A presença de peptídeos biologicamente ativos no veneno desse escorpião tem gerado grande interesse em possíveis alvos terapêuticos, como anticancer, antimicrobiano, analgésico, antiepilético e que atuam no sistema cardiovascular ou cerebrovascular (Li *et al.* 2019). Na década passada, dezenas de diferentes peptídeos BmK foram identificados, como o PESV (Extrato de Polipeptídeo de Veneno de Escorpião) que induz a inibição do crescimento e apoptose de células humanas de câncer de próstata (Zhang *et al.* 2009), o BmKn2 que possui atividade antimicrobiana (Zeng *et al.* 2012) e o peptídeo ANEP que apresenta atividade analgésica e também também mostrou atividade antiepiléptica em diferentes modelos animais (Zhang *et al.* 2001; Song *et al.* 2017).

Yin *et al.* (2014), investigando o efeito neuroprotetor do veneno de escorpião BmK na doença de Parkinson, conduziram um estudo com o peptídeo resistente ao calor do veneno de escorpião (SVHRP). Eles avaliaram se este poderia atenuar o estresse oxidativo nos neurônios do cérebro em um modelo de estudo do Parkinson em estágios iniciais. Este peptídeo reverteu significativamente os níveis aumentados de MDA e aumentou a atividade de SOD nas mitocôndrias de ratos nos estágios iniciais do Parkinson. A atividade antioxidante total e a capacidade de inibir o radical livre hidroxila foram aumentadas pela SVHRP.

Zhang *et al.* (2016) avaliaram os efeitos protetores do peptídeo SVHRP do veneno de BmK em um modelo para o estudo da doença de Alzheimer. O estudo tentou elucidar alguns dos mecanismos

envolvidos nestes efeitos em *Caenorhabditis elegans*. Devido a muitos estudos que associam o estresse oxidativo e a toxicidade da doença de Alzheimer, esses autores investigaram, *in vivo*, a atividade dos EROs nessa linhagem transgênica. A SVHRP atenuou os níveis de EROs nas células de uma maneira dose dependente. Este resultado sugere que a paralisia tardia observada neste modelo tratado com SVHRP pode estar relacionada, em parte, à diminuição de EROs. Também existe a possibilidade de que a SVHRP tenha efeitos de eliminação diretos nos EROs, uma vez que as propriedades antioxidantes da SVHRP também foram observadas em outro modelo experimental (Yin *et al.* 2014).

Os venenos de escorpião podem ser classificados em peptídeos com ligações dissulfeto e peptídeos sem ligações dissulfeto (PSPDs) (Zeng *et al.* 2005). Peptídeos aniônicos de escorpiões correspondem a PSPDs ricos em ácido aspártico e/ou ácido glutâmico em sua sequência primária, estando presentes nas famílias Buthidae e não Buthidae (He *et al.* 2013). Peptídeos aniônicos são abundantes no veneno do escorpião *Tityus stigmurus* (espécie prevalente no nordeste do Brasil) (Melo *et al.* 2016).

Melo *et al.* (2016), avaliaram a atividade biológica de um peptídeo aniônico presente no veneno do escorpião *Tityus stigmurus*, denominado TanP. Para avaliar o possível potencial antioxidante do TanP, foi realizado o teste de sequestro do radical DPPH. Os autores observaram que esse peptídeo apresentou percentual de redução do radical de aproximadamente 32%. O ácido ascórbico, usado como controle positivo, reduziu o DPPH em aproximadamente 26%. Sugerindo, preliminarmente, que TanP possui uma potente capacidade de sequestro de radicais livres, estando esta condição relacionada a uma provável atividade antioxidante do peptídeo.

Os venenos animais contêm uma variedade de toxinas altamente seletivas e potentes. Em particular, vários desses componentes do veneno (por exemplo, peptídeos potenciadores da bradicinina, sarafotoxinas e peptídeos natriuréticos) têm efeitos profundos no sistema cardiovascular (Hodgson e Isbister 2009). A bradicinina e seus peptídeos relacionados são amplamente distribuídos em animais peçonhentos, incluindo escorpiões, serpentes e venenos de águas-vivas (Camargo *et al.* 2012). Foi demonstrado que o veneno do escorpião egípcio, *Buthus occitanus*, contém uma fração de peptídeo com atividade potenciadora da bradicinina (El-Saadani 2004). Bekheet *et al.* (2011), conduziram um estudo para

investigar se o tratamento com fator de potenciação da bradicinina (BPF) isolado do veneno do escorpião *Buthus occitanus* oferece efeitos benéficos na reversão do estresse oxidativo induzido pelo cádmio no fígado e rim de ratos. Eles descobriram que a exposição ao estresse oxidativo causou um aumento significativo no nível de MDA e uma diminuição significativa ou inibição nas atividades de GSH, SOD e CAT. Porém, quando o cádmio foi adicionado com BPF, induziu uma diminuição significativa no nível de MDA e um aumento nas atividades de GSH, SOD e CAT.

Bekheet *et al.* (2013), investigaram os efeitos protetores do BPF isolado do veneno de escorpião, *Buthus occitanus*, no modelo de rato com hepatotoxicidade e nefrotoxicidade induzidas por gentamicina. Ratos induzidos por gentamicina mostraram um aumento no MDA sérico, que indica um aumento na geração de radicais livres. Como o BPF impediu o aumento do MDA sérico, parece que esses resultados estão relacionados à propriedade antioxidante do BPF. Além disso, o BPF aumentou as atividades das enzimas antioxidantes SOD, CAT e GPx em animais com hepatotoxicidade induzida por gentamicina. Isso sugere que a redução do estresse oxidativo neste cenário desempenha um papel no mecanismo de seu efeito hepatoprotetor.

Salman *et al.* (2016), investigaram o efeito do BPF, do escorpião *Buthus occitanus*, na toxicidade hepática e renal induzida pelo cloreto de mercúrio em ratos. O nível de MDA aumentou significativamente e diminuiu as atividades de SOD, CAT e GSH-Px em tecidos de fígado e rins de ratos tratados com HgCl₂. Estas alterações foram revertidas com a administração do BPF, o que pode sugerir uma redução na produção de radicais livres.

Hasan *et al.* (2020), avaliaram se o BPF isolado do veneno de escorpião *Leiurus quinquestriatus* poderia atuar como um modulador natural no dano cardíaco induzido por radiação. Eles observaram uma diminuição significativa nos níveis de GSH e FRAP e um aumento significativo no nível de MDA após a exposição à radiação. BPF normalizou os níveis de GSH e FRAP e reduziu os níveis de MDA. Esses achados podem apontar para uma redução na produção de radicais livres promovida pela administração de BPF.

Secreções de anuro

Os anfíbios, em sua evolução, desenvolvem segmentos cutâneos com compostos bioativos que atuam como mecanismos de defesa contra predadores e microrganismos (Meng *et al.* 2016). Far-

macologicamente, essas substâncias, presentes em as glândulas cutâneas e parotoideas, podem ser neurotóxicas, cardiotoxinas, hemotóxicas ou miotóxicas e causar efeitos anestésicos, hipotensores e/ou hipertensivos (Sakate e Oliveira 2000). Componentes das glândulas dos sapos são usados para tratar vários tipos de câncer, como de próstata, fígado e leucemia (Yeh *et al.* 2003; Gomes *et al.* 2011) e também usados como agentes terapêuticos na medicina tradicional chinesa, bem como em outros países asiáticos (Chow *et al.* 2003).

As principais toxinas da secreção de sapos são classificadas em dois grupos: derivados de esteróides e compostos básicos. No primeiro estão os bufadienolidos e bufotoxinas; no segundo, aminas biogênicas e bufoteninas. Os derivados esteróides são responsáveis pelos efeitos cardiotoxicos e os compostos básicos atuam no sistema nervoso autônomo simpático e no sistema nervoso central (Cao *et al.* 2019).

Baldo *et al.* (2016), avaliaram a capacidade da fração de baixo peso molecular da secreção do sapo *Rhinella schneideri* denominada VR em reduzir espécies reativas de oxigênio em mitocôndrias isoladas de fígado de rato. A fração VR apresentou efeito protetor contra a produção de EROs. Essa característica protetora é muito relevante, uma vez que a VR demonstrou não causar danos (citotoxicidade) nesta organela e, portanto, exercer apenas o efeito benéfico de proteção contra o estresse oxidativo. Para tentar elucidar por quais mecanismos ocorre essa proteção, Baldo *et al.* realizaram testes para avaliar os efeitos do VR sobre a oxidação de NAD(P)H e também para avaliar seus efeitos sobre os níveis de glutathiona reduzida e glutathiona oxidada. Os dados obtidos no estudo indicam que o VR não interferiu no processo de oxidação do NAD(P)H e nenhuma proteção ocorreu contra a oxidação da glutathiona. Portanto, o VR não foi capaz de interferir neste sistema antioxidante nas concentrações utilizadas, o que sugere não ser esse o processo pelo qual o VR é capaz de diminuir a formação de EROs. Assim, o mecanismo permanece desconhecido.

Veneno de serpente

O veneno de serpente é uma secreção glandular que as mesmas usam para imobilizar e digerir suas presas. Também é usado como uma ferramenta defensiva e de sobrevivência (Waheed *et al.* 2017). Essa mistura letal é composta por aminoácidos, ácidos nucleicos, carboidratos, lipídios, proteínas e peptídeos. O avanço tecnológico e o contínuo interesse em toxinas têm apoiado a descoberta

de um grande número de peptídeos de veneno de serpentes. Eles podem ser usados diretamente ou como compostos principais para a descoberta de drogas e pesquisas de desenvolvimento de fármacos, pois são fáceis de sintetizar e menos propensas a induzir uma resposta imune (Munawar *et al.* 2018). Os peptídeos do veneno de serpentes são classificados em famílias distintas com base nas semelhanças estruturais e funcionais na organização dessas moléculas.

Querobino *et al.* (2018 e 2019), estudaram a fração de baixo peso molecular do veneno da serpente *Bothrops jararaca*. Esta fração contém peptídeos ricos em prolina (Bj-PROs), que são conhecidos como BPPs. Eles têm um efeito neuroprotetor contra o estresse oxidativo induzido por H_2O_2 . Os autores demonstraram que Bj-PRO-5a é um peptídeo neuroprotetor que diminui a peroxidação lipídica, a produção de EROs e o aumento dos níveis de NO causados pela exposição ao H_2O_2 (Querobino *et al.* 2018). Querobino *et al.* (2019), verificaram que os peptídeos Bj-PRO-5a e Bj-PRO-7a apresentaram efeito neuroprotetor contra o estresse oxidativo induzido por H_2O_2 , reduzindo o dano celular e a morte das células SH-SY5Y. Além disso, a capacidade antioxidante foi medida usando o método de eliminação de radicais livres DPPH. Entretanto, esta atividade não foi detectada pelos peptídeos Bj-PRO-5a e Bj-PRO-7a. Este resultado sugere que esses peptídeos não têm propriedades de eliminação direta de radicais livres. O mecanismo de ação sobre o estresse oxidativo ainda precisa ser esclarecido.

Veneno de Abelha

As toxinas de insetos têm uma grande variedade de produtos químicos, como pequenas moléculas, poliaminas e toxinas peptídicas (Kachel *et al.* 2018). O veneno de abelha é composto por vários peptídeos ativos, incluindo melitina, fosfolipase A2, apamina, adolapina e peptídeo degranulador de mastócitos (Eiseman *et al.* 1982). Apamina, fosfolipase A2 e melitina têm efeito neuroprotetor (Armugam *et al.* 2009; Alvarez-Fischer *et al.* 2013) e a adolapina tem um efeito antiinflamatório (Koburova *et al.* 1985). O veneno de abelha tem sido usado na medicina oriental para tratar algumas doenças neurodegenerativas (Cho *et al.* 2012) e doenças relacionadas à imunidade, como artrite reumatóide (Kwon *et al.* 2002). Ele também aumenta a ativação da via de sinalização apoptótica em linhas de células de câncer de mama e pulmão (Chu *et al.* 2007; Ip *et al.* 2008). Khalil *et al.* (2015) desenvolveram um estudo para avaliar o efeito neuroprotetor da terapia com

acupuntura com veneno de abelha (BVA) contra o estresse oxidativo induzido por rotenona, neuroinflamação e apoptose no modelo de camundongo com doença de Parkinson. Os autores encontraram um aumento significativo nos níveis de MDA no cérebro de animais tratados com rotenona. O uso de rotenona com BVA diminuiu esses níveis aos valores encontrados para o grupo controle. A atividade de PON1 e os níveis de GSH no cérebro diminuíram significativamente no grupo que recebeu rotenona, porém o tratamento com BVA reverteu estes efeitos. Esse efeito também foi descrito no estudo de Choi *et al.* (2009), em que o BVA protegeu os neurônios dopaminérgicos contra o dano oxidativo em camundongos intoxicados por MPTP. Esses achados sugerem a terapia com BVA pode ser uma nova abordagem no tratamento da doença de Parkinson ou uma terapia adjuvante com outros tratamentos. Badr *et al.* (2016), investigaram o impacto do veneno de abelha na cicatrização de feridas promovida pelo diabetes em camundongos. Este estudo mostrou que o tecido de camundongos diabéticos tratados com veneno de abelha apresentou níveis mais baixos de EROs, peróxido de hidrogênio e NO, o que pode sugerir uma possível atividade antioxidante desse veneno.

Sobral *et al.* (2016), também investigaram cinco amostras de veneno de abelha obtidas de *Apis mellifera iberiensis* do Nordeste de Portugal, caracterizadas quimicamente e avaliadas quanto às suas propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e citotóxicas. O veneno de abelha provou ter a maior atividade de eliminação de radicais livres, poder redutor, inibição da peroxidação lipídica e também a maior capacidade de inibir a produção de NO. Todas as amostras revelaram atividade antioxidante, mas sem relação direta com qualquer um dos componentes químicos individuais identificados.

Mohamed *et al.* (2019), examinaram o efeito do veneno de abelha na ulceração aguda induzida por ácido acetilsalicílico (AAS) em ratos. O grupo tratado por via oral com AAS apresentou elevações marcantes nos níveis de MDA e diminuições significativas na atividade gástrica de GSH e SOD. No entanto, o grupo tratado com AAS e veneno de abelha mostrou reduções marcantes nos níveis de MDA e restauração significativa da atividade de GSH e SOD. Esses achados indicam que o efeito gastroprotetor do veneno de abelha contra a ulceração induzida pelo AAS em ratos é mediado por suas propriedades antioxidantes. Kocyigit *et al.* (2019), avaliaram os efeitos anti-inflamatórios, antioxidantes, antígenotóxicos e

imunomoduladores do veneno de abelha melífera (HBV) na artrite induzida em ratos. Eles verificaram que o nível do estado oxidante total do plasma e o índice de estresse oxidativo foram significativamente maiores e os níveis do estado de antioxidante total do plasma foram menores em animais com artrite do que nos saudáveis. Tanto o status oxidante total quanto o índice de estresse oxidativo diminuíram significativamente após a terapia com baixa dose de HBV, enquanto os níveis plasmáticos de status antioxidante total aumentaram. No entanto, o nível do status oxidante total e o índice de estresse oxidativo começaram a aumentar com o aumento das doses de HBV. Eles concluíram que o tratamento com HBV tem efeitos antioxidantes em ratos com artrite reumatóide. Entretanto, a dose administrada de HBV é fundamental para obter os melhores resultados quando utilizada como agente terapêutico e mais trabalhos são necessários para otimizar a dose de tratamento do HBV e esclarecer seu mecanismo de ação.

Outras espécies

Algumas espécies de formigas podem produzir veneno com até 75 componentes diferentes (Hoffman 2010). O gênero *Pachycondyla* é encontrado principalmente em regiões tropicais e subtropicais e inclui a formiga Samsun (*P. sennaarensis*) (Klotz *et al.* 2005). Existem estudos sobre o potencial terapêutico do veneno *P. sennaarensis*, com significativo efeito antitumoral nas células do câncer de mama (Badr *et al.* 2012) e propriedades anti-inflamatórias, analgésicas e melhora da função dos sistemas imunológico e hepático (Kou *et al.* 2005). Ebaid *et al.* (2014), avaliaram se o veneno da formiga Samsun (SAV) poderia influenciar os efeitos da exposição ao tetracloreto de carbono no status oxidativo e na função renal. Os resultados encontrados indicaram melhora da atividade de SOD e CAT e do nível de GSH devido ao SAV, embora o efeito tenha sido significativo apenas em doses mais elevadas. Mais investigações são necessárias, portanto, para descobrir a dose mais eficiente de SAV em relação aos marcadores de estresse oxidativo.

A Vespa, *Velutina nigrithorax*, é uma espécie exótica da Ásia que foi acidentalmente introduzida na Europa (Monceau *et al.* 2014). Geralmente, o veneno da vespa compreende vários compostos bioativos potenciais: compostos de baixo peso molecular (bioaminas, como histamina, tiramina e catecolamina (Russell 1988) ou fermônios, tais como cetonas alifáticas e álcoois (Ya-Nan *et al.* 2017), peptídeos (ocupando até 70% do veneno seco, sendo os peptídeos mais populares o

mastoparan e as cininas de vespa) e proteínas (neurotoxinas, proteases, fosfolipases) (Russell 1988). A propriedade antioxidante e os compostos responsáveis por esta propriedade do veneno de *V. velutina* têm sido estudados em Le *et al.* (2020). A fim de confirmar o envolvimento dessas moléculas no mecanismo antioxidante, os compostos identificados foram testados em ensaios DPPH e EROs em células HaCaT expostas ao UVB. Eles demonstraram que esse veneno apresentou capacidade de inibição de EROs intracelulares em baixa concentração sem citotoxicidade. Também identificou a serotonina como o principal composto ativo responsável pela atividade de eliminação de radicais livres neste veneno.

Conclusões e perspectivas futuras

Os venenos têm sido uma fonte importante de ferramentas moleculares para o desenvolvimento de drogas que podem ser aplicadas em variadas condições. A literatura científica revisada aqui mostra vários exemplos de toxinas de venenos animais promissores que podem se tornar candidatas potenciais para o futuro tratamento de doenças com elevado estresse oxidativo. E, se os dados observados *in vitro* e em modelos experimentais se traduzirem bem para o ambiente clínico, pode realmente haver uma grande promessa na exploração dos benefícios das toxinas dos venenos de animais. Muitos venenos são capazes de alterar marcadores do estresse oxidativo, porém investigações futuras são necessárias para descobrir a dose mais eficiente em relação a estes marcadores, quais componentes são responsáveis por este efeito e o mecanismo de como essas toxinas atuam na regulação do balanço redox. Assim, estudos posteriores, em diversos modelos experimentais, são importantes para esclarecer a relação entre estresse oxidativo e toxinas de venenos animais.

Agradecimentos. Este estudo teve apoio de bolsas de iniciação científica VIC/UFJF.

Referências bibliográficas

Ahmadi S, Knerr JM, Argemi L, Bordon KCF, Pucca MB, Cerni FA, Arantes EC, Çalişkan F, Laustsen AH. 2020. Scorpion venom: detriments and benefits. *Biomedicine*. 8(5):118. <https://doi.org/10.3390/biomedicine8050118>

Alvarez-Fischer D, Noelker C, Vulinovic F, Grunewald A, Chevarin C, Klein C, Oertel WH, Hirsch EC, Michel PP, Hartmann A. 2013. Bee Venom and Its Component Apamin as Neuroprotective Agents

in a Parkinson Disease Mouse Model. (Research Article). PLoS ONE. 8(4):e61700.

Apak R, Güçlü K, Ozyürek M, Bektaşoğlu B, Bener M. 2010. Cupric ion reducing antioxidant capacity assay for antioxidants in human serum and for hydroxyl radical scavengers. *Methods Mol Biol.* 594:215-239.

Bachhawat AK, Yadav S. 2018. The glutathione cycle: Glutathione metabolism beyond the γ -glutamyl cycle. *Iubmb Life.* 70(7):585-592.

Badr G, Garraud O, Daghestani M, Al-Khalifa MS, Richard Y. 2012. Human breast carcinoma cells are induced to apoptosis by samsun and venom through an IGF- 1- dependant pathway, PI3K/ AKT and ERK signaling. *Cellular Immunology.* 273:6-10.

Badr G, Hozzein WN, Badr BM, Al Ghamdi A, Saad Eldien HM, Garraud O. 2016. Bee Venom Accelerates Wound Healing in Diabetic Mice by Suppressing Activating Transcription Factor- 3 (ATF- 3) and Inducible Nitric Oxide Synthase (iNOS)-Mediated Oxidative Stress and Recruiting Bone Marrow-Derived Endothelial Progenitor Cells. *Journal of Cellular Physiology.* 231:2159-2171.

Baldo ECF. 2016. Estudo das atividades antineoplásicas, citotóxicas genotóxicas de toxinas isoladas do veneno de *Rhinella schneideri*. Doctoral Thesis in Toxicologia. Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, University of São Paulo.

Bekheet SHM, Awadalla EA, Salman MM, Hassan MK. 2011. Bradykinin potentiating factor isolated from *Buthus occitanus* venom has a protective effect against cadmium- induced rat liver and kidney damage. *Tissue and Cell.* 43(6):337-343.

Bekheet SHM, Awadalla EA, Salman MM, Hassan MK. 2013. Prevention of hepatic and renal toxicity with bradykinin potentiating factor (BPF) isolated from Egyptian scorpion venom (*Buthus occitanus*) in gentamicin treated rats. *Tissue and Cell.* 45(2):89-94.

Benzie IFF, Strain JJ. 1996. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of "Antioxidant Power": The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry.* 239(1):70-76.

Boldrini-Franca J, Cologna CT, Pucca MB, Bordon KC, Amorim FG, Anjolette FA, Cordeiro FA, Wiesel GA, Cerni FA, Pinheiro-Junior EL, Shibao

PY, Ferreira IG, de Oliveira IS, Cardoso IA, Arantes EC. 2017. Minor snake venom proteins: Structure, function and potential applications. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects.* 1861(4):824-838.

Camargo ACM, Ianzer D, Guerreiro JR, Serrano SMT. 2012. Bradykinin- potentiating peptides: Beyond captopril. *Toxicon.* 59(4):516-523.

Cao Y, Wu J, Pan H, Wang L. 2019. Chemical profile and multicomponent quantitative analysis for the quality evaluation of toad venom from different origins. *Molecules.* 24(19):3595. DOI: 10.3390/molecules24193595.

Chassagnon IR, McCarthy CA, Chin YKY, Pineda SS, Keramidias A, Mobli M, Pham V, De Silva TM, Lynch JW, Widdop RE, Rash LD, King GF. 2017. Potent neuroprotection after stroke afforded by a double- knot spider- venom peptide that inhibits acid- sensing ion channel 1a. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 114(14):3750-3755.

Cho SY, Shim SR, Rhee HY, Park HJ, Jung WS, Moon, SK, Park JM, Ko CN, Cho KH, Park SU. 2012. Effectiveness of acupuncture and bee venom acupuncture in idiopathic Parkinson's disease. *Parkinsonism and Related Disorders.* 18(8):948-952.

Choi YG, Park JH, Lim S. 2009. Acupuncture inhibits ferric iron deposition and ferritin- heavy chain reduction in an MPTP- induced parkinsonism model. *Neuroscience Letters.* 450(2):92-96.

Chow L, Johnson M, Wells A, Dasgupta, A. 2003. Effect of the traditional chinese medicines Chan Su, Lu- Shen- Wan, Dan Shen, and Asian Ginseng on Serum Digoxin measurement by Tina- quant (Roche) and Synchron LX system (Beckman) digoxin immunoassays. *Journal of Clinical Laboratory Analysis.* 17(1):22-27.

Chu ST, Cheng HH, Huang CJ, Chang HC, Chi CC, Su HH, Hsu SS, Wang JL, Chen IS, Liu SI, Lu YC, Huang JK, Ho CM, Jan CR. 2007. Phospholipase A2- independent Ca^{2+} entry and subsequent apoptosis induced by melittin in human MG63 osteosarcoma cells. *Life Sciences.* 80(4):364-369.

Da Silva SL, Rowan EG, Albericio F, Stábeli RG, Calderon LA, Soares AM. 2014. Animal toxins and their advantages in biotechnology and pharmacology. *Biomed Res Int.* 2014: artículo ID951561.

- Kachel HS, Buckingham SD, Sattelle DB. 2018. Insect toxins - selective pharmacological tools and drug/chemical leads. *Curr Opin Insect Sci.* 30:93-98.
- Khalil WK, Assaf N, ElShebiney SA, Salem NA. 2015. Neuroprotective effects of bee venom acupuncture therapy against rotenone-induced oxidative stress and apoptosis. *Neurochem Int.* 80:79-86.
- Khusro A, Aarti C, Barbabosa-Pliego A, Rivas-Cáceres RR., Cipriano-Salazar M. 2018. Venom as therapeutic weapon to combat dreadful diseases of 21st century: A systematic review on cancer, TB, and HIV/ AIDS. *Microbial Pathogenesis.* 125:96-107.
- Klotz JH, Deshazo RD, Pinnas JL, Frishman AM, Schmidt JO, Suiter DR, Price GW, Klotz SA. 2005. Adverse reactions to ants other than imported fire ants. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology.* 95(5):418-25.
- Koburova KL, Michailova SG, Shkenderov SV. 1985. Further investigation on the antiinflammatory properties of adolapin bee venom polypeptide. *Acta Physiol Pharmacol Bulg.* 11(2):50-55.
- Kocyigit A, Guler E M, Kaleli S. 2019. Anti-inflammatory and antioxidative properties of honey bee venom on Freund's Complete Adjuvant-induced arthritis model in rats. *Toxicon.* 161:4-11.
- Kou J, Ni Y, Li N, Wang J, Liu L, Jiang ZH. 2005. Analgesic and Anti-inflammatory Activities of Total Extract and Individual Fractions of Chinese Medicinal Ants *Polyrhachis lamellidens*. *Biological & Pharmaceutical Bulletin.* 28(1):176-180.
- Kwon YB, Lee HJ, Han HJ, Mar WC, Kang SK, Yoon OB, Beitz AJ, Lee JH. 2002. The water-soluble fraction of bee venom produces antinociceptive and anti-inflammatory effects on rheumatoid arthritis in rats. *Life Sciences.* 71(2):191-204.
- Le TN, Da Silva D, Colas C, Darrouzet E, Baril P, Leseurre L, Maunit B. 2020. Asian hornet *Vespa velutina nigrithorax* venom: Evaluation and identification of the bioactive compound responsible for human keratinocyte protection against oxidative stress. *Toxicon.* 176:1-9.
- Li Z, Hu P, Wu, Wang Y. 2019. Peptides with therapeutic potential in the venom of the scorpion *Buthus martensii Karsch*. *Peptides.* 115:43-50.
- Lourenço WR. 2018. The evolution and distribution of noxious species of scorpions (Arachnida: Scorpiones). *Journal of venomous animals and toxins including tropical diseases.* 24:1. <https://doi.org/10.1186/s40409-017-0138-3>.
- Madio B, Undheim EAB, King GF. 2017. Revisiting venom of the sea anemone *Stichodactyla haddoni*: Omics techniques reveal the complete toxin arsenal of a well-studied sea anemone genus. *Journal of Proteomics.* 166:83-92.
- Marrocco I, Altieri F, Peluso I. 2017. Measurement and Clinical Significance of Biomarkers of Oxidative Stress in Humans. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity.* 6501046. doi: 10.1155/2017/6501046.
- Matsushima S, Tsutsui H, Sadoshima J. 2014. Physiological and pathological functions of NADPH oxidases during myocardial ischemia-reperfusion. *Trends in Cardiovascular Medicine.* 24(5):202-205.
- Melo MMA. 2016. (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal.
- Meng Q, Yau LF, Lu JG, Wu ZZ, Zhang BX, Wang JR, Jiang ZH. 2016. Chemical profiling and cytotoxicity assay of bufadienolides in toad venom and toad skin. *Journal of ethnopharmacology.* 187:74-82.
- Mensor LL, Menezes FS, Leitão GG, Reis AS, Santos TCD, Coube CS, Leitão SG. 2001. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. *Phytotherapy Research.* 5(2):127-130.
- Mohamed WA, Abd-Elhakim YM, Ismail SAA. 2019. Involvement of the anti-inflammatory, anti-apoptotic, and anti-secretory activity of bee venom in its therapeutic effects on acetylsalicylic acid-induced gastric ulceration in rats. *Toxicology.* 419:11-23.
- Monceau K, Bonnard O, Thiery D. 2014. *Vespa velutina*: a new invasive predator of honeybees in Europe. *Journal Of Pest Science.* 87:1-16.
- Munawar A; Ali SA; Akrem A.; Betzel Ch. 2018. Snake Venom Peptides: Tools of Biodiscovery. *Toxins.* 10(11):474. <https://doi.org/10.3390/toxins10110474>.

- Musatov A, Robinson NC. 2012. Susceptibility of mitochondrial electron- transport complexes to oxidative damage. Focus on cytochrome c oxidase. Free Radical Research. 46(11):1313-1326.
- Nadjia B, Fatima, LD. 2015. Beneficial effects of *Androctonus australis* hector venom and its non-toxic fraction in the restoration of early hepatocyte- carcinogenesis induced by FB1 mycotoxin: Involvement of oxidative biomarkers. Experimental and Molecular Pathology. 99(2):198-206.
- Negre-Salvayre A, Auge N, Ayala V, Basaga H, Boada J, Brenke R, Chapple S, Cohen G, Feher J, Grune T, Lengyel G, Mann GE, Pamplona R, Poli G, Portero-Otin M, Riahi Y, Salvayre R, Sasson S, Serrano J, Shamni O. 2010. Pathological aspects of lipid peroxidation. 44(10):1125-1171.
- Niki E, Yoshida Y, Saito Y, Noguchi N. 2005. Lipid peroxidation: Mechanisms, inhibition, and biological effects. Biochemical and Biophysical Research Communications. 338(1):668-676.
- Ortiz E, Gurrola GB, Schwartz EF, Possani LD. 2015. Scorpion venom components as potential candidates for drug development. Toxicon. 93:125-135.
- Peigneur S, Tytgat J. 2018. Toxins in Drug Discovery and Pharmacology. Toxins (Basel). 10(3):126. 10.3390/toxins10030126.
- Qiao W, Zhao L, Wu S, Liu C, Guo L, Xing Y, Zhao J. 2017. SPECT imaging and radionuclide therapy of glioma using ¹³¹I labeled *Buthus martensii* Karsch chlorotoxin. Journal of Neuro-Oncology. 133(2):287-295.
- Querobino SM, Costa MS, Alberto-Silva C. 2019. Protective effects of distinct proline-rich oligopeptides from *B. jararaca* snake venom against oxidative stress-induced neurotoxicity. Toxicon. 167:29-37.
- Querobino SM, Ribeiro CAJ, Alberto-Silva C. 2018. Bradykinin-potentiating PEPTIDE-10C, an argininosuccinate synthetase activator, protects against H₂O₂- induced oxidative stress in SH-SY5Y neuroblastoma cells. Peptides. 103:90-97.
- Roberts RA, Smith RA, Safe S, Szabo C, Tjalzens RB, Robertson FM. 2010. Toxicological and pathophysiological roles of reactive oxygen and nitrogen species. Toxicology. 276(2):85-94.
- Russell FE. 1988. Venoms of the hymenoptera: Biochemical, pharmacological and behavioral aspects. London: Academic Press (1986).
- Sakate M, Oliveira PCLD. 2000. Toad envenoming in dogs: effects and treatment. Journal of Venomous Animals and Toxins. 6(1):52. <https://doi.org/10.1590/S0104-79302000000100003>.
- Salman MMA, Kotb AM, Haridy MAM, Hammad S. 2016. Hepato- and nephroprotective effects of bradykinin potentiating factor from scorpion (*Buthus occitanus*) venom on mercuric chloride-treated rats. EXCLI J. 15:807-816.
- Sies Berndt C, Jones D. 2017. Oxidative stress. Annu Rev Biochem. 86:715-745.
- Signorini C, De Felice C, Durand T, Oger C, Galano JM, Leoncini S, Pecorelli A, Valacchi G, Ciccoli L, Hayek J. 2013. Isoprostanes and 4-Hydroxy-2-nonenal: Markers or Mediators of Disease? Focus on Rett Syndrome as a Model of Autism Spectrum Disorder. Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 2013:343824. DOI: 10.1155/2013/343824.
- Sobral F, Sampaio A, Falcão S, Queiroz MJ, Calheilha RC, Vilas-Boas M, Ferreira IC. 2016. Chemical characterization, antioxidant, anti-inflammatory and cytotoxic properties of bee venom collected in Northeast Portugal. Food Chem Toxicol. 94:172-177.
- Song Y, Liu Z, Zhang Q, Li C, Jin W, Liu L, Zhang J, Zhang J. 2017. Investigation of binding modes and functional surface of scorpion toxins ANEP to sodium channels 1.7. Toxins (Basel). 9(12):387. doi: 10.3390/toxins9120387.
- Sousa BC, Pitt AR., Spickett CM. 2017. Chemistry and analysis of HNE and other prominent carbonyl- containing lipid oxidation compounds. Free Radical Biology and Medicine. 111:294-308.
- Tarcha EJ, Olsen CM, Probst P, Peckham D, Munoz-Elias EJ, Kruger JG, Iadonato SP. 2017. Safety and pharmacodynamics of dalazatide, a Kv1.3 channel inhibitor, in the treatment of plaque psoriasis: A randomized phase 1b trial. (Research Article)(Report). PLoS ONE.2(7):e0180762.
- Uzair B, Bint-E-Irshad S, Khan BA, Azad B, Mahmood T, Rehman MU, Braga VA. 2018. Scorpion venom peptides as a potential source for human drug candidates. Protein Pept Lett. 25(7):702-708.

- Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, Telser J. 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*. 39(1):44-84.
- Vasconcelos SML, Silva MAM, Goulart MOF. 2006. Pró-antioxidantes e antioxidantes de baixo peso molecular oriundos da dieta: estrutura e função. *Nutrire: Rev. Soc. Bras. Alim. Nutr.* 31(3):95-118.
- Vives-Bauza C, Starkov A, Garcia-Arumi E. 2007. Measurements of the antioxidant enzyme activities of superoxide dismutase, catalase, and glutathione peroxidase. *Methods Cell Biol.* 80:379-93.
- Waheed H, Moin SF, Choudhary MI. 2017. Snake venom: from deadly toxins to life-saving therapeutics. *Curr Med Chem.* 24(17):1874-1891.
- Walker AA. 2020. The evolutionary dynamics of venom toxins made by insects and other animals. *Biochemical Society Transactions.* 48(4):1353-1365.
- Ya-Nan C, Wen P, Shi-Hao D., Tan K, Nieh J. 2017. Poison and alarm: the Asian hornet *Vespa velutina* uses sting venom volatiles as an alarm pheromone. *Journal of Experimental Biology.* 220(4):645-651.
- Yeh JY, Huang WJ, Kan SF, Wang PS. 2003. Effects of bufalin and cinobufagin on the proliferation of androgen dependent and independent prostate cancer cells. *Prostate.* 54(2):112-124.
- Yin SM, Zhao D, Yu DQ, Li SL, An D, Peng Y, Xu H, Sun YP, Wang DM, Zhao J, Zhang WQ. 2014. Neuroprotection by scorpion venom heat resistant peptide in 6-hydroxydopamine rat model of early-stage Parkinson's disease. *Sheng Li Xue Bao.* 66(6):658-666. DOI: 10.13294/j.aps.2014.0078.
- Zelko I, Mariani T, Folz R. 2002. Superoxide dismutase multigene family: A comparison of the CuZn- SOD (SOD1), Mn- SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. *Free Radical Biology And Medicine.* 33(3):337-349.
- Zeng XC, Wang S, Nie Y, Zhang L, Zeng XC, Wang S, Nie Y, Zhang L, Luo X. 2012. Characterization of BmKbpbp, a multifunctional peptide from the Chinese scorpion *MesoButhus martensii Karsch*: gaining insight into a new mechanism for the functional diversification of scorpion venom peptides. *Peptides.* 33(1):44-51.
- Zeng XC, Corzo G, Hahin R. 2005. Scorpion Venom Peptides without Disulfide Bridges. *IUBMB Life.* 57(1):13-21.
- Zhang JH, Hua ZC, Xu Z, Zheng WJ, Zhu DX. 2001. Expression of anti-neuroexcitation peptide (ANEP) of scorpion *Buthus martensii Karsch* in *Escherichia coli*. *Preparative Biochemistry & Biotechnology.* 31(1):49-57.
- Zhang XG, Wang X, Zhou TT, Wu XF, Peng Y, Zhang WQ, Li S, Zhao J. 2016. Scorpion Venom Heat-Resistant Peptide Protects Transgenic *Caenorhabditis elegans* from β -Amyloid Toxicity. *Front Pharmacol.* 7:227. DOI: 10.3389/fphar.2016.00227.
- Zhang YY, Wu LC, Wang ZP, Wang ZX, Jia Q, Jiang GS, Zhang WD. 2009. Anti-proliferation effect of polypeptide extracted from scorpion venom on human prostate cancer cells *in vitro*. *J Clin Med Res.* 1(1):24-31.