

Despre tarantule – posibile utilizări în medicină About tarantula - possible uses in medicine

Diana Cîmpian, Romeo Teodor Cristina
Facultatea de Medicină Veterinară Timișoara

Cuvinte cheie: biologie, tarantule, venin, structură, utilizări
Key words: biology, tarantulas, venom, structure, uses

Rezumat

În ultimii ani tarantulele au devenit tot mai populare în teraristică datorită faptului că sunt ușor de întreținut, nu necesită mult spațiu și datorită frumuseții lor. Veninul de la păianjeni, șerpi, pești, melci și scorpioni conțin o farmacopee evoluată a toxinelor naturale care vizează receptorii membranari și canalele de ioni pentru a produce șoc, paralizie, durere sau deces. Veninurile de tarantulă reprezintă una dintre cele mai mari colecții de combinații de compuși chimici din lume. Acestea au fost dezvoltate în mod selectiv pentru a genera în final niște structuri bioactive extrem de puternice, selective, care au fost supuse unui proces de optimizare naturală prin milioanele de ani de selecție naturală. Studiul diverselor tipuri de venin a devenit, în ultimii ani, o prioritate pentru științele medicale și biologie. În acest sens, medicii veterinari sunt chemați să cunoască tarantulele ca ființe, modul lor de viață, de hrănire, de înmulțire precum și modul de obținere, conservare, analiză și utilizare a veninurilor. Lucrarea aduce informații despre viața tarantulelor, modul de conținere și mai ales despre cum se recoltează și se stochează veninul de la această specie.

Abstract

In recent years, tarantulas have become increasingly popular in terrariums because they are easy to maintain, do not require much space and because of their beauty. Venom from spiders, snakes, fish, snails and scorpions contain an advanced pharmacopoeia of natural toxins that target membrane receptors and ion channels to produce shock, paralysis, pain or death. Tarantula venoms represent one of the largest collections of chemical compound combinations in the world. They have been developed selectively to ultimately generate some extremely powerful, selective bioactive structures that have undergone a natural optimization process through millions of years of natural selection. The study of various types of venom has become, in recent years, a priority for medical sciences and biology. In this sense, veterinarians are called to know the tarantula as beings, their way of life, feeding, breeding, as well as how to obtain, preserve, analyze and use. The work brings information about the life of tarantula, the way of contention and especially about how to harvest and store the venom from this species.

Introducere

Veninul de la păianjeni, șerpi, pești, melci și scorpioni conțin o farmacopee evoluată a toxinelor naturale care vizează receptorii membranari și canalele de ioni pentru a produce șoc, paralizie, durere sau deces [Kocsis și Cristina, 2018; Dumitrescu și Cristina, 2015].

Toxinele evoluează pentru a interacționa cu proteine importante din punct de vedere funcțional, incluzând situsuri de legare a agonistului, pori de permeație ionică și domenii

de detectare a tensiunii, făcându-le reactivi inalienabili cu care să sondeze mecanismele care stau la baza activării sau modulației receptorilor și a canalelor.

În acest sens, veninul de tarantule reprezintă o sursă valoroasă de substanțe biologice active care acționează selectiv asupra funcțiilor fiziologice vitale la insecte și mamifere. În același timp, veninul tarantulelor s-a dovedit a fi benefic în medicina veterinară, împotriva ectoparaziților sau în agricultura ecologică, în combaterea insectelor dăunătoare [Dumitrescu și Cristina, 2015].

Despre tarantule

Clasificare

Tarantulele sunt arahnide care aparțin familiei *Theraphosidae* și până în prezent au fost identificate aproximativ 900 de specii răspândite în habitate pe toate continentele în afară de Antarctica și Europa. În ultimii ani aceste arahnide au devenit tot mai populare în teraristică datorită faptului că sunt ușor de întreținut, nu necesită mult spațiu și datorită fascinației pe care o produc [Gallon, 2000].

În tabelul 1 este prezentată încadrarea taxonomică.

Tabelul 1.

Încadrarea taxonomică a tarantulelor [Gallon, 2000].

Regnul	<i>Animalia</i>
Subregnul	<i>Bilateria</i>
Supraincrengătura	<i>Ecdysozoa</i>
Increngătura	<i>Arthropoda</i>
Subincrengătura	<i>Chelicerata</i>
Clasa	<i>Arachnida</i>
Ordin	<i>Araneae</i>
Subordin	<i>Opisthothelae</i>
Infraordin	<i>Mygalomorphae</i>
Familia	<i>Theraphosidae</i>

Tarantulele mai pot fi clasificate ca:

- *New world tarantulas* - acestea prezintă pe abdomen perișori urticanți care sunt folosiți ca și mecanism de apărare împotriva prădătorilor și / sau
- *Old world tarantulas* – acestea nu au perișori urticanți, dar au veninul mult mai potent.

Acestea în funcție de mediul lor de viață, pot fi sub-clasificate în tarantule [Gallon, 2000]:

- *subterane*, își construiesc vizuina sub sol sau pot ocupa vizuine părăsite
- *terestre*, își construiesc vizuina pe sol
- *semi-arboricole sau*
- *arboricole*, care trăiesc în arbori.

Mod de hrănire, năpârlire și reproducere

Hrana principală a tarantulelor este constituită din insecte, însă, în funcție de talie, acestea pot captura și prăzi mai mari, cum ar fi

șopârle, șoareci și ocazional, păsări de talie mică (figura 1a).

Dimensiunile tarantulelor variază în funcție de specie. Cele mai mici tarantule fac parte din genul *Cyriocosmus*, care nu depășesc talia de 5 cm fiind adesea considerate păianjeni, cele mai mari (ex. *Theraphosa blondi*), putând ajunge la dimensiuni de până la 30 cm (figura 1b).

Pentru a putea crește, tarantulele trebuie să năpârlească. Un fapt interesant este că, dacă acestea se accidentează și de exemplu își pierd un membru, acesta se va regenera în totalitate după câteva năpârliri, în funcție de segmentul lipsă [Gallon, 2000]:

Un alt fapt interesant este că femelele care năpârlesc după ce s-au împerecheat nu mai sunt gestante, deoarece prin năpârlire își vor pierde sperma depozitată în spermatecă.

Pe de altă parte, masculii, în general mai mici comparativ cu femelele, după ce ajung la vârsta adultă nu mai năpârlesc toată viața lor.

Durata de viață a tarantulelor este mai lungă la femele, unele femele ajungând chiar și până la 30 de ani (*Grammostola rosea*), în timp ce masculii ajung la maximum 8 ani, funcție de specie / individ [Gallon, 2000].

Tarantulele sunt foarte active sexual (figura 1c).

În comportamentul lor reproductiv, masculii adulți țin covorașe de pânză pe care vor depune sperma, pe care mai apoi o vor încărca în bulbii de pe pedipalpi (figura 3a).

Aici sperma va fi păstrată în stare viabilă până când vor găsi femela. În momentul în care masculul simte prezența femelei, acesta se va apropia cu grijă de vizuina ei și va începe să bată cu membrele producând mici vibrații, la care femela receptivă îi va răspunde cu aceleași semnale. La unele specii, pe prima pereche de membre, masculii prezintă "*cârligi tibial*" care sunt folosiți la imobilizarea colților femelei în momentul împerecherii (figura 2).

După ce a imobilizat femela, masculul își va introduce bulbii pedipalpiilor în spermateca femelei, după care se va retrage rapid, șansele de-a fi ucis de către femelă fiind mari.

După câteva luni (de obicei trei) femela va produce un sac de pânză unde va depune ouăle fertile, (numărul acestora depinde de

specie, de exemplu specia *Lasiodora parahybana* poate depune până la 2000 de ouă fertile) (figura 3b). Acest sac va fi protejat și întors regulat de către femelă, până când *slingii* vor ieși din acest cocon și vor părăsi definitiv vizuina mamei devenind independenți.

Slingii (sau „*spiderling*“) sunt stadiile următoare, indivizii tineri care după prima năpârlire capătă caracteristicile fenotipice ale adulților, la marea majoritate a speciilor, corpul devenind complet pigmentat, motilitatea și hrănirea acestor mini-tarantule fiind identică cu cea a adulților (figura 3c) [Gallon, 2000].



Figura 1. a. *Psalmopoeus irminia* hrănindu-se cu un gândac *Blaptica dubia* b. Femelă de *Theraphosa blondi*, c. Pereche de *Brachypelma klaasi* la acuplare (Original Cîmpian)



Figura 2. a. Bulbii pedipapilor la *Eupalaestrus campestratus*, b. Carlig tibial la *Eupalaestrus campestratus* imagine mărită (Original Cîmpian)

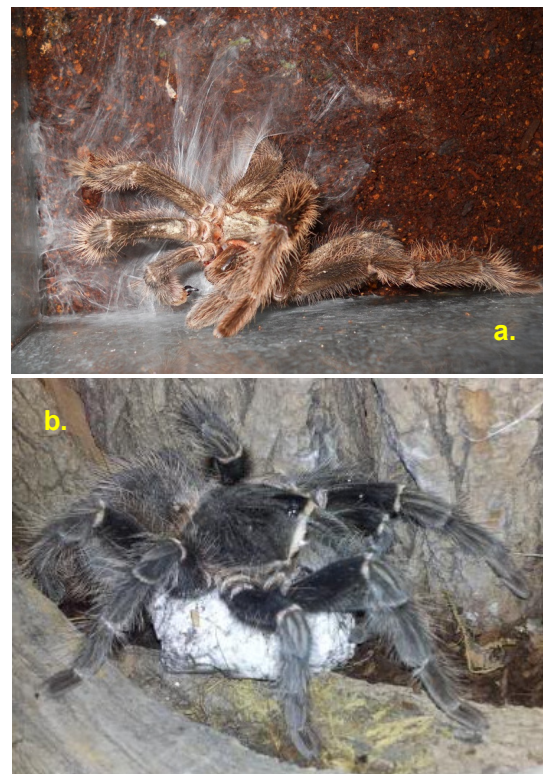




Figura 3. a. Mascul *Lasiodora parahybana* țesând plasă pentru spermă, **b.** femelă de *Lasiodora parahybana* cu sacul de ouă atașat abdominal, **c.** Slingi de *Lasiodora parahybana* (Original Cîmpian)

Despre veninul de tarantulă

Toate tarantulele sunt veninoase. Veninul folosit de tarantule este destinat în principal pentru a paraliza prada și pentru apărare. Acesta conține un amestec de toxine care afectează sistemul nervos central sau periferic. Aceste neurotoxine au fost identificate ca fiind peptide sau proteine care acționează asupra receptorilor membranari sau a canalelor ionice [Jackson și Parks, 1989; Dumitrescu și Cristina, 2015].

Ca și compoziție primară, veninul tarantulelor este un amestec divers de compuși, în special de natură proteică, cum ar fi:

- *acil-poliamine*,
- *peptide liniare*,
- *mini-proteine cu cisteină*,
- *proteine neurotoxice și*
- *enzime* [Estrada și col. 2007; Herzig și col. 2011].

Dintre acestea 16-20% din totalul compușilor, au o masă moleculară mică.

În general mușcăturile de tarantulă sunt rare și sunt cauzate accidental, de obicei, la hrănire sau la manipulare. Potența veninului depinde mult de specie, cele mai periculoase fiind speciile din genul *Poecilotheria*.

În general mușcăturile de tarantulă au efecte moderate cu excepția speciilor genului amintit, motivul toxicității specifice mari a veninului lor rămânând încă neclar. În general

se recomandă ca manipularea tarantulelor, în special a celor cu venin potent să fie efectuată strict de specialiști.

Efectele mușcăturilor acestui gen de tarantule (ex. *Poecilotheria*) poate să fie de două feluri:

- cu crampe musculare
- fără crampe musculare

Cele mai frecvente simptome clinice întâlnite în majoritatea cazurilor sunt:

- inflamația locală,
- eritemul,
- durerea moderată,
- greața,
- transpirația, iar în unele cazuri
- senzația de prurit și arsură [Gabbiness, 1979; Kuhn-Nentwig și col. 2011].

De exemplu, în Elveția a fost descris un caz în care un bărbat a fost mușcat de degetul arătător drept de o femelă de *Poecilotheria regalis* în timp ce o hrănea.

După scurt timp starea clinică s-a înrăutățit și, ca semne generale, omul a manifestat bufeuri intense și a început să transpire abundant la aproximativ două ore după mușcătură, dar aceste simptome s-au remis în scurt timp.

A doua zi când subiectul s-a prezentat la medic, nu s-au mai observat leziuni vizibile ale mușcăturii, ci doar un eritem și o ușoară inflamație a zonei dar, fără durere locală, urmând ca după 15 ore de la acest moment, subiectul să prezinte crampe musculare severe începând cu extremitățile membrelor, progresând apoi la brațe și picioare. După aceasta, la scurt timp crampele musculare s-au generalizat, iar pacientul s-a plâns de durere toracală pe care bărbatul a descris-o ca pe un junghi extrem de dureros.

Examenle paraclinice efectuate au relevat valori ale creatinkinazei care au fost ușor crescute de: 370 U/L față de valorile normale (0-200 U/L).

Pacientul a fost tratat cu Lorazepam administrat oral, asociat cu midazolam i.v., 2 mg, care au diminuat semnificativ simptomele, pacientul continuând să ia magneziu timp de trei săptămâni după acest episod [www.livescience.com].

Toxinele peptidice

Prototipul pentru această clasă de veninuri a fost inițial α -bungarotoxina, o peptidă care conține în general 64 de aminoacizi, provenită din veninul șerpilor din familia *Elapidae* [Kocsis și Cristina, 2018].

Principala caracteristică a acestei structuri este că se cuplează la agonistii receptorilor nicotiniici de acetilcolină, cu o potență picomolară și o rată esențială de disociere ireversibilă.

Ca atare, α -bungarotoxina a fost considerată un instrument esențial în purificarea, localizarea și analiza funcțională și farmacologică atât a canalelor native cât și a celor cu acetilcolină recombinantă [Craik și col. 2001; Hille, 2001].

În plus față de toxinele moleculare mici cunoscute și mortale, cum este tetrodotoxina de la peștele balon (*Diodon holocanthus*) sau saxitoxina dinoflagelatelor (*Dinoflagellata sp.*), în veninul tarantulelor există o diversitate enormă de toxine peptidice codificate genetic care s-au dovedit, a fi neprețuite pentru elucidarea structurii, funcției și proprietăților farmaco-fiziologice ale canalelor ionice membranare [Escoubas și Rash, 2004; Miller, 1995; Swartz, 2007; Terlau și Olivera, 2004; Tsetlin, 2009].

Toxinele peptidice codificate genetic prezintă o secvență substanțială și o diversitate funcțională impresionantă, multe dintre acestea având și elemente structurale comune, cum ar fi de exemplu, prezența legăturilor disulfidice intra-moleculare, cele care limitează flexibilitatea conformațională pentru a spori atât specificitatea, cât și aviditatea interacțiunilor dintre toxină și țintă. Printre aceste de peptide se numără un grup mai numeros al așa-numitelor toxine inhibitoare de nod cisteinic (*Inhibitor Cysteine Knot = ICK sau knottin*).

Acestea au o structură tridimensională, care în mod obișnuit prezintă în lanțul lor: 25-50 reziduuri proteice, o organizare a precursorilor și o structură genetică conservată. Aceste peptide de tip ICK au fost identificate cel mai adesea în veninurile melcilor *Conus marini*, a păianjenilor și a

scorpionilor, unde cercetătorii estimează că există 105-106 secvențe toxice unice și în special, cele exprimate pe fibrele nervoase senzoriale primare ale căilor dureroase [Goldstein, 1994; Zhu și col., 2003].

Până la această oră, dintre toxinele de tip ICK, *charybdotoxina* și *hanatoxina* (provenite din veninul de scorpion și de tarantulă) sunt cele mai bine caracterizate chimic [Swartz, 2007, 2008; Takahashi și col., 2000].

Ambele toxine inhibă canalele de potasiu voltaj dependente (Kv), dar studiile de mutagenză și de biofizică recente au relevat că fac acest lucru în două moduri distincte [Catterall, 2007]:

a. Charybdotoxina se leagă la așa-numitul domeniu de pori-bucă al canalului situat între domeniile trans-membranare cinci și a șase (S5 și S6), blocând astfel direct permeația ionică [Alabi și col., 2007; Catterall, 2007, Gross, 1994; Mackinnon, 1990; Yu și col., 2005].

b. În contrast, hanatoxina, interacționează în primul rând cu resturile din jumătatea C-terminală a celei de-a treia regiuni transmembranare (S3b), care împreună cu S4 și cu buclele extracelulare intermediare formează un domeniu flexibil de tip *helix-turn-helix* ale cărui mișcări contribuie la reținerea dependentă de tensiune [Gabbiness, 1979; Lee și col., 2003; Swartz și Mackinnon, 1997].

La cuplare, hanatoxina inhibă mișcarea acestei regiuni a senzorului de tensiune în timpul depolarizării membranei, favorizând astfel închiderea canalului [Catterall, 2007; Milesco și col., 2009; Phillips și col., 2005].

Analiza interacțiunilor canalelor charybdotoxină și hanatoxină-Kv a fost cheia pentru formularea și testarea modelelor de permeație a ionilor și de mișcare a senzorilor de tensiune, precum și în delimitarea interacțiunilor acestor domenii proteice importante din punct de vedere funcțional cu medicamente și lipide membranare [Catterall, 2007; Ramsey și col., 2006; Schmidt și Mackinnon, 2008; Swartz, 2008; Takahashi și col., 2000].

Familia canalelor receptorilor potențiali de tranziție (*Transient receptor potential channels = TRP*) la mamifere constă din peste 30 de

membri, dintre care despre majoritatea se cunoaște că formează *in vivo* sau când sunt exprimate heterolog, canale tetramerice cationice [Gabbiness, 1979; Hille, 2001; Julius și Basbaum, 2001; Venkatachalam și Montell, 2007].

Încă rolul fiziologic al mai multor canale TRP rămâne în studiu, dar se știe că, contribuie la formarea semnalului senzorial, incluzând aici:

- *termosensiunea*,
- *nocicepția* și
- *durerea*.

Până la această oră se cunoaște că, cel mai important dintre receptorii TRP este TRPV1.

Acest receptor este activat de:

- *capsaicina* (ingredient prezent în ardeii iute),
- *protonii extracelulari* și
- *agenții inflamatori*, (ca de exemplu căldura nocivă; cea peste 43 °C) [Brauchi și col., 2004].

În ciuda rolurilor lor fiziologice destul de distincte, canalele de ioni TRP și canalele de ioni voltaj dependente se aseamănă probabil unul cu celălalt în ceea ce privește topologia transmembranară globală și organizarea subunității tetramerice, fiind în concordanță cu faptul că canalele TRP prezintă un grad de sensibilitate de tensiune (considerat totuși modest) [Matta și Ahern, 2007; Siemens și col., 2006; Voets și col., 2004].

Bibliografie

Alabi, A.A., Bahamonde, M.I., Jung, H.J., Kim, J.I., Swartz, K.J. (2007). Portability of paddle motif function and pharmacology in voltage sensors. *Nature*, 15:450(7168):370–375.

Brauchi, S., Orio, P., Latorre, R. (2004). Clues to understanding cold sensation: thermodynamics and electrophysiological analysis of the cold receptor TRPM8. *Proc Natl Acad Sci*, 10(43):15494-15499.

Catterall, W.A., Cestele, S., Yarov-Yarovoy, V., Yu, F.H., Konoki, K., Scheuer, T. (2007).

Voltage-gated ion channels and gating modifier toxins. *Toxicon*, 49(2):124-141.

Craik, D.J., Daly, N.L., Waine, C. (2001). The cystine knot motif in toxins and implications for drug design. *Toxicon*, 39(1): 43–60.

Dumitrescu, E., Cristina, RT (2015). Elemente de terapie alternativă și complementară în medicina veterinară. Solness Timisoara, pp: 47-49.

Escoubas, P., Rash, L. (2004). Tarantulas: eight-legged pharmacists and combinatorial chemists. *Toxicon*, 43(5): 555–574.

Estrada, G., Villegas, E., Corzo, G. (2007). Spider venoms: a rich source of acylpolyamines and peptides as new leads for CNS drugs. *Nat. Prod. Rep.* 24(1):145-161.

Gabbiness, S.G.T. (1979). Comparison of venom components from four tarantula species. *Thesis*, Oklahoma State University, USA.

Gallon, R. (2000). The Natural History of Tarantula Spiders. The British Tarantula Society. Available at: <http://jrscience.wcp.muohio.edu/downloads/naturalhistorytarantulas.pdf> (consultat la 21.12.2017)

Goldstein S.A., Pheasant, D.J., Miller, C. (1994). The charybdotoxin receptor of a Shaker K⁺ channel: peptide and channel residues mediating molecular recognition. *Neuron*, 12(6):1377–1388.

Gross, A., Abramson, T., Mackinnon, R. (1994). Transfer of the scorpion toxin receptor to an insensitive potassium channel. *Neuron*, 13(4):961–966.

Herzig, V., Wood, D.L., Newell, F., Chaumeil, P.A., Kaas, Q., Binford, G.J., Nicholson, G.M., Gorse, D., King, G.F. (2011). ArachnoServer 2.0, an updated online resource for spider toxin sequences and structures. *Nucleic Acids Res.* 39:653–657. Disponibil la: www.arachnoserver.org (consultat la 12.12.2017).

Hille, B. (2001). Ion channels of excitable membranes, Third Edition, Oxford Univ. Press. U.K., ISBN: 9780878933211.

<https://www.livescience.com/41795-tarantula-bites-harmful.html>

- Jackson, H., Parks, T.N. (1989).** Spider toxins: recent applications in neurobiology. *Annu. Rev. Neurosci.* 12:405–414.
- Julius, D., Basbaum, A.I. (2001).** Molecular mechanisms of nociception. *Nature*, 413(6852):203-210.
- Kocsis, R., Cristina, RT.** Despre reptile – Un mic ghid pentru cei pasionați. Waldpress Timisoara, pp: 181.
- Kuhn-Nentwig, L., Reto Stöcklin, R., Nentwig, W. (2011).** Venom Composition and Strategies in Spiders: Is Everything Possible? In Jérôme Casas, editor: *Advances in Insect Physiology*, Vol. 60, Academic Press, Elsevier Ltd., pp. 1-86. ISBN: 978-0-12-387668-3.
- Lee, H.C., Wang, J.M., Swartz, K.J. (2003).** Interaction between extracellular Hanatoxin and the resting conformation of the voltage-sensor paddle in Kv channels. *Neuron*, 40(3): 527–536.
- Mackinnon, R., Heginbotham, L., Abramson, T. (1990).** Mapping the receptor site for charybdotoxin, a pore-blocking potassium channel inhibitor. *Neuron* 5(6):767–771.
- Matta, J.A., Ahern, G.P. (2007).** Voltage is a partial activator of rat thermosensitive TRP channels. *J Physiol*, 585:469-482.
- Milescu, M., Bosmans, F., Lee, S., Alabi, A.A., Kim, J.I., Swartz, K.J. (2009).** Interactions between lipids and voltage sensor paddles detected with tarantula toxins. *Nat Struct Mol Biol*, 16(10):1080-1085.
- Miller, C. (1995).** The charybdotoxin family of K⁺ channel-blocking peptides. *Neuron*, 15(1):5-10.
- Phillips, L.R., Milescu, M., Li-Smerin, Y., Mindell, J.A., Kim, J.I., Swartz, K.J. (2005).** Voltage-sensor activation with a tarantula toxin as cargo. *Nature*, 436:857–860.
- Ramsey, I.S., Delling, M., Clapham, D.E. (2006).** An introduction to TRP channels. *Ann Rev Physiol*, 68:619-647.
- Schmidt, D., Mackinnon, R. (2008).** Voltage-dependent K⁺ channel gating and voltage sensor toxin sensitivity depend on the mechanical state of the lipid membrane. *Proc Natl Acad Sci, USA* 105(49):19276–19281.
- Siemens, J., Zhou, S., Piskorowski, R., Nikai, T., Lumpkin, E.A., Basbaum, A.I., King, D., Julius, D. (2006).** Spider toxins activate the capsaicin receptor to produce inflammatory pain. *Nature*, 444(7116):208-212.
- Swartz, K.J. (2007).** Tarantula toxins interacting with voltage sensors in potassium channels. *Toxicon*, 49(2):213-230.
- Swartz, K.J. (2008).** Sensing voltage across lipid membranes. *Nature*, 456(7224):891–897.
- Swartz, K.J., Mackinnon, R. (1997).** Mapping the receptor site for hanatoxin, a gating modifier of voltage-dependent K⁺ channels. *Neuron*, 18(4):675-682.
- Takahashi, H., Kim, J.I., Min, H.J., Sato, K., Swartz, K.J., Shimada, I. (2000).** Solution structure of hanatoxin1, a gating modifier of voltage-dependent K(+) channels: common surface features of gating modifier toxins. *J Mol Biol*, 297(3):771-780.
- Terlau, H., Olivera, B.M. (2004).** Conus venoms: a rich source of novel ion channel-targeted peptides. *Physiol Rev*, 84(1):41–68.
- Tsetlin, V., Utkin, Y., Kasheverov, I. (2009).** Polypeptide and peptide toxins, magnifying lenses for binding sites in nicotinic acetylcholine receptors. *Biochem Pharmacol.* 78(7):720–731.
- Venkatachalam, K., Montell, C. (2007).** TRP channels. *Ann Rev Biochem*, 76:387-417.
- Voets, T., Droogmans, G., Wissenbach, U., Janssens, A., Flockerzi, V., Nilius, B. (2004).** The principle of temperature-dependent gating in cold- and heat-sensitive TRP channels. *Nature*, 430(7001):748–754.
- Yu, L., Sun, C., Song, D., Shen, J., Xu, N., Gunasekera, A., Hajduk, P.J., Olejniczak, E.T. (2005).** Nuclear magnetic resonance structural studies of a potassium channel-charybdotoxin complex. *Biochemistry* 44:15834–15841.
- Zhu, S., Darbon, H., Dyason, K., Verdonck, F., Tytgat, J. (2003).** Evolutionary origin of inhibitor cystine knot peptides. *FASEB J.* 17(12): 1765–1767.