

CINTHYA KIMORI OKAMOTO

ANÁLISE DO PAPEL DO SISTEMA COMPLEMENTO NA
INJÚRIA A CÉLULAS RENAIIS CAUSADA PELO VENENO
DA ARANHA *Loxosceles*

Tese apresentada ao Programa de Pós-
Graduação Interunidades em Biotecnologia
USP/Instituto Butantan/IPT, para obtenção
do Título de Doutor em Biotecnologia.
Área de concentração: Biotecnologia

Orientador: Prof. Dra. Denise V. Tambourgi

Versão original

SÃO PAULO
2012

RESUMO

OKAMOTO, C. K. **Análise do papel do Sistema Complemento na injúria a células renais causada pelo veneno da aranha *Loxosceles***. 2012. 107f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

O envenenamento por aranhas *Loxosceles* pode resultar em dois tipos de manifestações clínicas: o loxoscelismo cutâneo e o sistêmico. Hemólise, agregação plaquetária, inflamação persistente, falência renal e morte podem ser observadas em pacientes com manifestações sistêmicas. Apesar da pouca incidência de vítimas com falência renal, esta é a principal causa de óbito, ocorrendo principalmente em crianças. O principal fator do veneno da aranha *Loxosceles*, responsável pelas manifestações locais e sistêmicas, é a esfingomielinase D (SMase D). O presente estudo teve como objetivo investigar a ação tóxica do veneno de *L. intermedia* e da SMase D sobre células renais humanas, bem como o possível envolvimento de metaloproteases endógenas e do Sistema Complemento nesse processo. Os resultados obtidos mostram que tanto o veneno como a SMase D, foram capazes de causar morte celular, possivelmente associada à ativação de metaloproteases de matriz extracelular, MMP-2 e MMP-9, e por ativação do Sistema Complemento após clivagem de MCP por metaloproteases da família das adamolisinas. A expressão de outros reguladores do Complemento, como DAF e CD59, não foi afetada pelo tratamento. A remoção de MCP permitiu a ativação do Complemento, como determinado pelo aumento da deposição de componentes envolvidos na ativação do sistema (C3, C4, properdina, CRP) e pelo aumento da morte celular. Também foi observado incremento na deposição do fator H, mas não de C4bp, após o tratamento das células com veneno/SMase D. Diminuição na expressão das moléculas de superfície como MHC-I, β 2 microglobulina, EPCR e EGFR, foi observada e relacionada à ativação de metaloproteases da família das adamolisinas. Em conjunto, tais resultados mostram que o veneno e a SMase D de aranhas *Loxosceles* induzem aumento na expressão/ativação de metaloproteases endógenas, operantes nos eventos de morte celular por apoptose e necrose, os quais podem ter um papel relevante para os danos renais presentes no loxoscelismo sistêmico humano.

Palavras-chave: *Loxosceles intermedia*. Loxoscelismo sistêmico. Células renais. Veneno. Esfingomielinase D. Sistema Complemento. Metaloproteases.

ABSTRACT

OKAMOTO, C. K. **Analysis of the Complement System in the injury of kidney cells caused by *Loxosceles* spider venom.** 2012. 107 p. PhD thesis (Biotechnology) – Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

Envenomation by *Loxosceles* spider can result in two forms of clinical manifestations: the cutaneous and the systemic loxoscelism. Haemolysis, platelet aggregation, persistent inflammation, renal failure and death can be observed in patients with systemic manifestations. Despite the low incidence of renal failure victims, this is the main cause of death, occurring mainly in children. The sphingomyelinase D (SMase D) is the main factor in *Loxosceles* spider venom responsible for local and systemic manifestations. This study aimed to investigate the toxicity of the *L. intermedia* venom and SMase D on human kidney cells and the possible involvement of endogenous metalloproteinases and Complement system in this process. Results showed that the venom and the SMase D were able to cause cell death, possibly associated with the activation of extracellular matrix metalloproteinases, MMP-2 and MMP-9, and the action of Complement system after MCP cleavage by metalloproteinases of the adamalysins family. The expression of other Complement regulators, such as DAF and CD59, was not affected by the treatment. The removal of MCP allowed activation of Complement, as determined by the increase of the deposition of components involved in the system activation (C3, C4, properdin and CRP) and cell death. It was also observed an increase in the deposition of factor H, but not of C4bp, after treatment of cells with venom/ SMase D. Decrease in the expression of surface molecules such as MHC-I, β 2 microglobulin, EPCR and EGFR was observed and related to the activation of metalloproteinases from the adamalysins family. Together, these results show that the venom and the SMase D induce increased expression/ activation of endogenous metalloproteinases, possibly operating in the cell death events by apoptosis and necrosis, which may have an important role for the kidney injury present in the human systemic loxoscelism.

Key words: *Loxosceles intermedia*. Systemic loxoscelism. Kidney cells. Venom. Sphingomyelinase D. Complement System. Metalloproteinases.

I INTRODUÇÃO

1.1 Biologia do gênero *Loxosceles*

As aranhas pertencem a uma das maiores ordens de aracnídeos (Araneae), sendo descritas mais de 42.000 espécies distribuídas em 110 famílias (PLATNICK, 2011). Esses animais variam desde pequenas espécies com menos de 0,5 mm de comprimento até as grandes caranguejeiras com comprimento corporal de 9 cm. O corpo das aranhas é dividido em dois tagmas, ou seja, prossoma e opistossoma, que estão conectados por um estreito pedicelo. O prossoma compreende a região anterior e consiste de seis segmentos enquanto a região posterior, o opistossoma, é composta por doze segmentos, facilmente visualizados durante a fase embrionária (DAMEN et al., 1998 e PECHMANN et al., 2010). Além disso, a ordem diferencia-se das outras por apresentar fiandeiras na região posterior do abdômen e pedipalpos utilizados durante a caça de presas ou manipulação dos alimentos; nos machos são também utilizados como órgãos copuladores, equipados com uma estrutura denominada bulbo, que é formado pelo ducto espermático, com função de transferir esperma para fêmea (BARNES; RUPPER, 1984).

A maioria das aranhas alimenta-se de pequenos artrópodes e possui quelíceras, providas de glândulas de venenos, cuja função principal é auxiliar na captura das presas. Grande parte das aranhas não possui veneno tóxico para humanos, porém, em algumas espécies, a picada pode ser nociva. No Brasil são encontrados três gêneros de grande relevância na saúde pública: *Phoneutria* sp (aranha-armadeira), encontrada em várias regiões do Brasil, principalmente, no sul e sudeste; *Loxosceles* sp (aranha-marrom) e *Latrodectus* sp (viúva-negra), sendo esta última encontrada principalmente no litoral nordestino.

O gênero *Loxosceles* (Família *Sicariidae* Keyserling, 1880) está perfeitamente adaptado aos mais variados ambientes e foram descritas, até o presente momento, 122 espécies distribuídas, principalmente, nas regiões temperadas e tropicais do mundo. *L. deserta* Gertsch, 1973 e *L. arizonica* Gertsch e Mulaik, 1940 são encontradas em Nevada, Arizona, Texas, Novo México e Sudeste da Califórnia; *L. reclusa* distribui-se pelo norte e sul da América, África, Europa e América do Norte (PLATNICK, 2011).

No Brasil as principais espécies causadoras de acidentes são: *L. intermedia* Mello-Leitão, 1934, predominante nas áreas urbanas do Paraná e Santa Catarina; *L. laeta* Nicolet, 1849 ocorrendo em focos isolados de várias regiões do país, principalmente no estado de

Santa Catarina, e *L. gaucho* Gertsch, 1967, predominante no estado de São Paulo (FISCHER, 1994; LUCAS, 1988; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2001; TAVARES et al., 2004).

Conhecidas popularmente como aranhas-marrons, estas apresentam um desenho característico no cefalotórax que se assemelha a um violino ou estrela. A grande maioria das espécies apresenta uma coloração uniforme, distinguindo-se o sexo destes animais principalmente pelo tamanho dos pedipalpos, maiores nos machos (Figura 1), e pelos receptáculos seminais nas fêmeas (LUCAS, 1988). Além disso, possuem seis olhos arranjados em pares, sendo que um par se localiza anteriormente às quelíceras e dois pares nas laterais formando um semicírculo (RUSSEL et al., 1969; VETTER e VISSCHER, 1998); são animais muito pequenos com comprimento do corpo variando entre 8 a 15 mm e suas pernas de 8 a 30 mm. São sedentárias e de hábitos noturnos, alojando-se em lugares secos, quentes e escuros, construindo teias irregulares com aparência de algodão, em cascas de árvores, folhas secas, telhas e tijolos empilhados; dentro dos domicílios podem ser encontradas atrás de quadros, cantos de parede, entre livros e roupas penduradas (BURCHERL, 1969; GONÇALVES-DE-ANDRADE et al., 1999; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2001; MALAQUE et al., 2002). Alimentam-se de pequenos animais e insetos, como formigas, pulgas, cupins e traças. Apesar das aranhas do gênero *Loxosceles* causarem muitos acidentes, elas não são agressivas e utilizam-se do veneno para paralisar presas ou apenas como um mecanismo de defesa.

Figura 1 - *Loxosceles intermedia*. [A] macho; [B] fêmea.



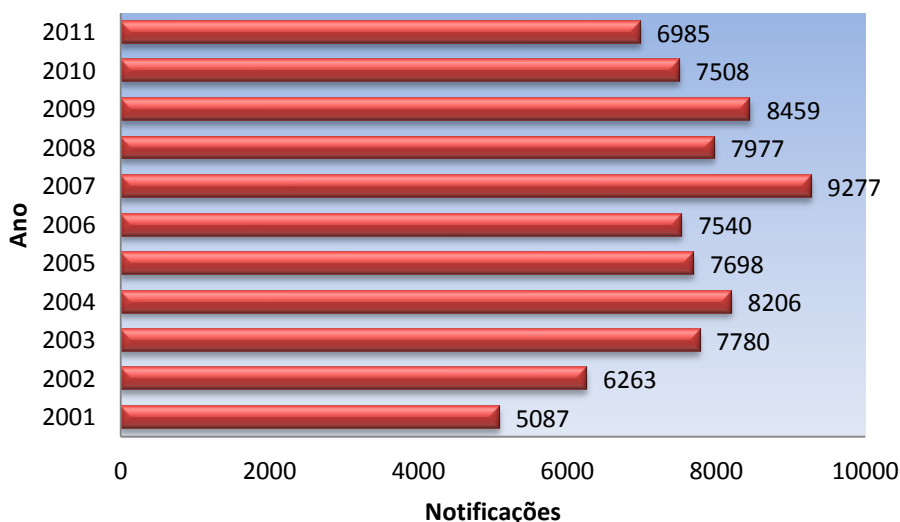
Fonte: Foto gentilmente cedida pela Dra. Rute Maria Gonçalves de Andrade, Laboratório de Imunoquímica, Instituto Butantan.

2.1 Veneno e loxoscelismo

O loxoscelismo é considerado um grave problema de saúde pública e, segundo o Sistema de Informação de Agravos de Notificação do Ministério da Saúde – SINAN correspondeu a cerca de 30 % dos casos de araneísmo notificados em 2011 no Brasil. Anualmente são registrados mais de 6000 casos de envenenamento por *Loxosceles* (Figura 2), ocorrendo principalmente na região Sul do país (MINISTÉRIO DA SAÚDE - SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE, 2007).

Malaque et al. (2002) analisando 359 casos de loxoscelismo, acompanhados no Hospital Vital Brazil, observaram que 73 % destes ocorreram em áreas urbanas nos períodos mais quentes do ano, entre setembro e fevereiro, e 41 % durante o ato de vestir. As aranhas marrons atacam, apenas, quando comprimidas contra o corpo e, por isso, cuidados com roupas pessoais e acessórios de cama podem prevenir os acidentes (FUTRELL, 1992; MALAQUE et al. 2002).

Figura 2 - Notificação Anual de Acidentes por *Loxosceles* no Brasil (2001-2011).



Fonte: Ministério da Saúde/SVS - Sistema de Informação de Agravos de Notificação – SINAN.

A picada da aranha é praticamente imperceptível e raramente se observa lesão imediata. Envenenamentos por *Loxosceles* resultam em lesões locais e reações sistêmicas; geralmente o indivíduo apresenta os primeiros sintomas após 2-8 horas da picada. A dor local se intensifica e os pacientes apresentam cefaléia, febre, equimose no local da picada com eritema e edema duro levando à isquemia (FUTRELL, 1992; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2001). Estas lesões, quando não tratadas, podem levar à necrose, o que ocorre por volta de 3 a 7 dias (SILVA et al., 2004). O veneno de *Loxosceles* é considerado muito potente, já que a aranha elimina, por meio da sua picada, apenas alguns microlitros de veneno, contendo não mais que 30 µg de proteína (TAMBOURGI et al., 2000).

Variações intraespecíficas, relacionadas à idade e sexo, ou interespecíficas podem interferir na toxicidade do veneno das aranhas *Loxosceles* (GONÇALVES-DE-ANDRADE et al., 1999; OLIVEIRA et al., 1999; 2005; PRETEL et al., 2005). Estudos realizados por Oliveira et al. (1999, 2005) demonstraram que as fêmeas produzem maior quantidade de veneno e podem causar reações dermonecróticas mais intensas do que os machos. Em ensaios *in vitro*, o veneno de fêmeas foi também capaz de induzir hemólise, dependente de Complemento, mais intensa.

Vários estudos têm identificado algumas enzimas como componentes do veneno de *Loxosceles*, incluindo lipases, hialuronidases, colagenases, esfingomielinases e fosfatases (FUTRELL, 1992).

A partir de estudos realizados por Rees et al. (1983) foi demonstrado que uma fração isolada do veneno de *L. reclusa*, com peso molecular de 32 kDa, era capaz de induzir hemólise. Tambourgi et al. (1995; 1998a) caracterizaram o veneno de *L. intermedia* e verificaram que este era também capaz de induzir hemólise dependente da ativação do sistema complemento. Por cromatografia de exclusão molecular, os componentes tóxicos do veneno foram isolados, sendo que a fração contendo proteínas com peso molecular de 35 kDa, denominada F35, induziu forte reação dermonecrótica, em coelhos, e tornou eritrócitos humanos sensíveis à lise mediada pelo Sistema Complemento; a F35 foi também letal para camundongos (TAMBOURGI et al., 1995; 1998a e b). Além disso, foi capaz de induzir, em modelo murino, um quadro semelhante ao do choque endotóxico, com a produção de altos níveis de TNF- α , IL-6 e óxido nítrico (TAMBOURGI et al., 1998a).

A F35 foi submetida à cromatografia de fase reversa e três isoformas, denominadas P1, P2 e P3, foram obtidas. As proteínas P1 e P2 possuem um alto grau de homologia nas suas sequências N-terminal de aminoácidos (89%), enquanto a homologia entre P1/P2 e P3 foi de 60 %. P1 e P2 foram capazes de clivar esfingomielina, enquanto P3 foi incapaz de promover

tal hidrólise. A atividade esfingomielinásica de P1 e P2 pode ser inibida por EDTA, sugerindo que a atividade catalítica era dependente de íons (TAMBOURGI et al., 1998a). Além de possuírem atividade esfingomielinásica, foram também capazes de induzir hemólise dependente de Complemento e dermonecrose, enquanto P3 foi inativo.

Em 2004, Tambourgi et al. clonaram e expressaram as esfingomielinases P1 e P2 de *L. intermedia*, a partir do mRNA extraído das glândulas de venenos das aranhas. Assim como as esfingomielinases purificadas do veneno bruto, as proteínas recombinantes foram capazes de clivar a esfingomielina e induzir hemólise dependente de complemento. Em ensaios biológicos de dermonecrose em coelhos, as proteínas recombinantes P1 e P2 foram capazes de causar lesões semelhantes às provocadas pelo veneno bruto de *L. intermedia* (TAMBOURGI et al., 2004).

A partir do mRNA extraído da glândula de veneno da *Loxosceles laeta*, Fernandes-Pedrosa (2008) descreveram o repertório de transcritos expressos, por meio da análise de ESTs (*expressed sequence tags*). Assim mostrou que 16,4 % do total dos transcritos correspondem a proteínas com sequências conhecidas, incluindo neurotoxinas e esfingomielinases D, predominantes nesta categoria. Outra categoria, denominada de “possíveis toxinas” correspondeu a 14,5 % do total dos ESTs e neste grupo foram incluídas metaloproteases, serinoproteases, cisteíno-peptidases, lipases, aspártico-proteases, inibidores enzimáticos, lectinas e hialuronidasas. 33,3 % do total dos transcritos corresponderam a proteínas envolvidas em várias funções celulares como expressão de genes e proteínas, possivelmente, contribuindo para a função deste tecido especializado em síntese protéica. Por fim, cerca de 25 % dos ESTs não apresentaram similaridade com sequências já conhecidas.

1.3 Loxoscelismo cutâneo

O loxoscelismo cutâneo ocorre na maioria das vítimas, cerca de 80 % dos casos. O envenenamento por *Loxosceles* inicialmente causa um pequeno desconforto, começando por uma expansão de eritema e edema, podendo provocar um extenso dano tecidual após 8 a 24 horas do acidente (ATKINS et al., 1958; WASSERMAN e ANDERSON, 1984; FUTRELL, 1992). Sintomas como dor, iniciando-se entre 2-8 horas após a picada, e isquemia tecidual também são característicos da reação cutânea.

Tambourgi et al. (2005) demonstraram que o Sistema Complemento (C) participa no desenvolvimento do loxoscelismo cutâneo por meio do recrutamento de neutrófilos, como

consequência da geração de C5a e do complexo de ataque à membrana (MAC). Ensaios nos quais a depleção de Complemento foi promovida mostraram uma importante redução no infiltrado de neutrófilos, embora tenham sido ainda observadas hemorragia e dissociação das fibras colágenas. A participação dos neutrófilos na dermonecrose foi também demonstrada experimentalmente em camundongos, nos quais a depleção de polimorfonucleares foi induzida, com conseqüente redução nos danos vasculares (SUNDERKÖTTER et al., 2001). No entanto, foi verificado que a expressão de metaloproteases de matriz extracelular, induzidas pelas esfingomielinases do veneno, é possivelmente um dos principais fatores envolvidos na gênese do loxoscelismo cutâneo (TAMBOURGI et al., 2005; PAIXÃO-CAVALCANTE et al., 2006, 2007).

Estudos *in vivo*, com coelhos e, *in vitro*, realizados com queratinócitos humanos da linhagem HaCat, mostraram que o veneno, assim como as esfingomielinases de *L. intermedia*, induziram aumento na expressão das metaloproteases de matriz extracelular, MMP-2 e MMP-9, diminuição da viabilidade celular por apoptose e aumento do infiltrado inflamatório no local da lesão (TAMBOURGI et al., 2005; PAIXÃO-CAVALCANTE et al., 2006). Para mostrar a participação dessas metaloproteases na morte celular e inflamação, foram realizados ensaios utilizando inibidores de metaloproteases de matriz extracelular como a tetraciclina, doxiciclina e monociclina. Desta forma, foi observada não só a inibição da expressão das gelatinases MMP-2 e MMP-9, como também da degradação de DNA e da morte celular, controlando, assim, o desenvolvimento da reação dermonecrótica (PAIXÃO-CAVALCANTE et al., 2006, 2007).

1.4 Loxoscelismo Sistêmico

O loxoscelismo sistêmico é menos comum do que o cutâneo, ocorrendo em aproximadamente 16 % das vítimas, com maior incidência em crianças (FUTRELL, 1992). Pode ocorrer febre, prurido, exantema e formação de trombo, hemólise intravascular, agregação plaquetária, inflamação persistente e, em casos mais severos, falência renal e morte (FUTRELL, 1992; SCHENONE et al., 1998). Ainda foram demonstradas, experimentalmente em modelo murino, alterações como hipotermia, hipotensão e dificuldade respiratória (TAMBOURGI et al., 1998b).

A ativação do Sistema Complemento pela via alternativa é um dos mecanismos responsável pela hemólise. Eritrócitos tratados com o veneno ou suas esfingomielinases apresentam ativação de metaloproteases endógenas, que clivam as glicoforinas A, B, C e D,

presentes na membrana da célula, causando a remoção do ácido siálico. Tal fato permite que ocorra a deposição de componentes do complemento na superfície das células, culminando na formação de complexo de ataque à membrana (MAC) e resultando em hemólise (TAMBOURGI et al., 1995, 1998a, 2000). O veneno e suas esfingomielinases podem, ainda, ativar a via clássica do Complemento por meio da alteração da assimetria de membrana com a exposição de fosfatidilserina, o que facilita a ligação de C1q à membrana dos eritrócitos (TAMBOURGI et al., 2002, 2007).

Ensaio *in vitro* com células endoteliais ECV 304, incubadas com as esfingomielinases ou com veneno de *L. intermedia*, mostraram a ativação de metaloproteases endógenas, fato associado à redução significativa da expressão do regulador do Sistema Complemento MCP e de moléculas de membrana como MHCI e $\beta 2$ microglobulina. A participação das metaloproteases, na remoção destes marcadores, pode ser confirmada com o uso de galardina, um inibidor de metaloproteases da família das adamolisinas. No entanto, a redução de MCP não causou uma maior susceptibilidade à lise, mas sim, uma maior resistência à lise mediada por Complemento (van den BERG et al., 2002). Os mecanismos para esta resistência não foram ainda esclarecidos.

A falência renal, que é responsável pela maioria dos óbitos em pacientes com loxoscelismo, parece ocorrer por mecanismos de toxicidade direta e indireta, ainda não totalmente esclarecidos. Tambourgi et al. (1998b) observaram, em camundongos injetados com veneno de *L. intermedia* ou suas esfingomielinases, alterações nos rins como necrose tubular aguda e deposição de material eosinofílico nos túbulos distais e proximais. Edema, presença de hemácias no espaço extracelular e degeneração vacuolar nos túbulos proximal e distal também foram descritas no envenenamento por *Loxosceles* por Luciano et al. (2004). A hemoglobinúria decorrente do envenenamento pode ser um componente importante na injúria renal, reduzindo o fluxo sanguíneo nos rins e resultando em necrose tubular (MALHOTRA et al., 1978; LUNG et al., 2000). Por outro lado, Chaim et al. (2006); Kusma et al. (2008), em ensaios *in vitro* com células renais MDCK, mostraram perda de viabilidade das células quando tratadas com a toxina dermonecrótica recombinante LiRecDT, isolada da glândula de veneno de *L. intermedia*, indicando toxicidade direta sobre as células renais. Por outro lado, ensaios realizados por Lucato et al. (2011), utilizando ratos inoculados com veneno de *L. gaucho*, demonstraram que a disfunção renal ocorre devido à vasoconstrição intra-renal e rhabdomiólise e não por citotoxicidade direta.

1.5 Rim

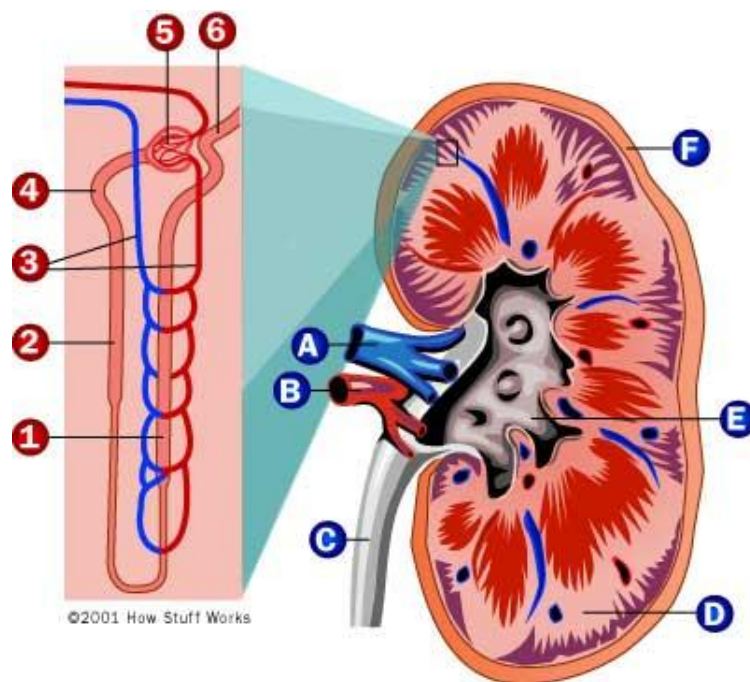
O rim tem como principal função eliminar substâncias tóxicas provindas do metabolismo, mantendo o equilíbrio osmótico e ácido-básico. O rim é organizado por unidades funcionais, os *néfrons*, constituídos pelo glomérulo e por um longo túbulo que desemboca nos tubos coletores de urina (Figura 3). Cada néfron é capaz de filtrar e formar urina independente dos demais. Localizado na região do córtex do rim, o túbulo proximal, cuja parede é formada por células adaptadas ao transporte ativo, é responsável pela reabsorção de cerca de 70 % da quantidade de água filtrada nos capilares glomerulares; possui um papel fundamental na reabsorção de substâncias essenciais ao organismo, como a glicose, aminoácidos, proteínas, moléculas de Na⁺ e Cl⁻, fosfato, bicarbonato e água (PRITCHARD, MILLER, 1996; WRIGHT, DANTZLER, 2004; PANCHAPAKESAN et al., 2009; BLODGETT, et al., 2011; BOKËNKAMP, LUDWING, 2011).

Além disso, ensaios *in vitro*, utilizando culturas de células do túbulo proximal da linhagem PTEC, mostraram que estas são capazes de produzir alguns mediadores pró-inflamatórios, como as citocinas TNF- α e IL-6, quimiocinas IL-8 e MCP-1 (*monocyte chemotactic protein-1*), fatores de crescimento (GM-CSF) e proteínas do Sistema Complemento C2, C3, C4, fator B e fator H (JEVNIKAR et al., 1991; ROVIN, PHAN, 1998; van KOOTEN et al, 1999).

Células do túbulo proximal expressam, em sua superfície, receptores como o endotelial para proteína C (EPCR) e para o fator de crescimento epidermal (EGFR), que parecem estar envolvidas nos eventos de proliferação e sobrevivência celular e que foram também associadas a algumas patologias renais (PANCHAPAKESAN et al., 2009; BAE et al., 2010). Injúrias no túbulo renal que levam à proteinúria, isquemia e exposição à nefrotoxinas são as causas mais comuns da disfunção renal aguda (BENNETT et al., 1991, ABBATE et al., 2006). A ativação do Sistema Complemento tem sido associada à muitas doenças renais, como inflamações e isquemias (MORGAN, HARRYIS, 2003). Proteínas presentes na urina podem causar ativação direta do Sistema Complemento, contribuindo para a injúria local. Moléculas do Complemento, como C3, estão presentes em maior quantidade na urina de pacientes com proteinúria, o que permite a ativação, principalmente, da via alternativa, contribuindo para o dano renal (BIANCONE et al, 1994; MORITA et al, 2000; SHEERIN et al., 2008). Por outro lado, deficiências de algumas proteínas do Complemento como C3, C5 e C6 podem contribuir para a proteção contra a isquemia renal (ZHOU et al, 2000; DE VRIES et al, 2003) e mutações de proteínas reguladoras do Complemento, como fator H, MCP e fator

I têm sido descritas em muitos pacientes com síndrome urêmica hemolítica (PICKERING et al, 2007; LEE et al, 2009).

Figura 3 - Ilustração representativa do Rim. [A] Veia Renal; [B] Artéria Renal; [C] Uréter; [D] Medula; [E] Pélvis; [F] Córtex. **Néfron:** [1] Ramo ascendente da alça de Henle; [2] Ramo descendente da alça de Henle; [3] Capilares peritubulares; [4] Túbulo Proximal; [5] Glomérulo; [6] Túbulo Distal.



Fonte: Zivkovic, B. - *Scientific American*, 2009.

1.6 Terapia

A soroterapia é o tratamento mais comumente utilizado nos acidentes por *Loxosceles* no Brasil. No entanto, outros procedimentos incluem o uso de corticosteróides, heparina e fentolamina (DILLAHA et al., 1964; REES et al., 1981; MALAQUE et al., 2002). A administração de dapsona e oxigênio hiperbárico são terapias utilizadas, principalmente, como moduladoras da resposta inflamatória (KING e REES, 1983; STRAIN et al., 1991; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2001; MALAQUE et al., 2002; HOGAN et al., 2004). Em casos mais graves podem ser, ainda, realizadas excisões cirúrgicas das lesões necróticas, transfusão de sangue e hemodiálise (RIBEIRO et al., 1993).

Os tratamentos empregados, até o momento, não são efetivos nos casos de maior gravidade e, por isso, a busca de uma melhor caracterização dos mecanismos moleculares de ação do veneno é relevante para o estabelecimento de propostas terapêuticas mais eficazes para o loxoscelismo. Paixão-Cavalcante et al. (2006, 2007) demonstraram que o uso da tetraciclina pode ser uma alternativa eficaz no tratamento das lesões dermonecroticas provocadas pelo envenenamento por *Loxosceles*, uma vez que esta induz uma diminuição na expressão de metaloproteases MMP-2 e MMP-9 e da morte celular por apoptose. Manzoni-de-Almeida et al. (2008) produziram um novo soro anti-loxoscélico a partir da imunização de cavalos com as SMases P1 e P2 recombinantes de *L. intermedia* e SMase I de *L. laeta* e mostraram que a neutralização é alta contra a atividade tóxica dos venenos de *L. intermedia* e *L. laeta* e similar à ação do soro anti-aracnídico na neutralização do veneno de *L. gaucho*.

1.7 Sistema Complemento

O Sistema Complemento consiste em um conjunto de proteínas, algumas delas com atividade enzimática, presente no soro e na superfície celular que interagem entre si e com outras moléculas do sistema imune de modo altamente regulado. É um dos principais mecanismos efetores da resposta imune humoral e da imunidade inata nos mamíferos, participando na formação de poros na superfície celular, principalmente em bactérias, na opsonização de patógenos, na resposta inflamatória auxiliando no combate à infecção, remoção de células apoptóticas e de imunocomplexos (BOTTO et al, 2009; WALPORT, 2001; KEMPER, ATKINSON, 2007). Em humanos existem mais de 30 proteínas do Complemento, incluindo os receptores de superfície celular e as proteínas regulatórias (REID,

PORTER, 1981; NANGAKU, 1998; KÖHL, 2006; UNSWORTH, 2008), sendo que parte delas participa nas vias de ativação, ou seja, as vias clássica, alternativa e das lectinas, que são ativadas por diferentes estímulos (Figura 4).

O Sistema Complemento é um mecanismo de defesa ancestral, presente já em invertebrados deuterostomos e em vertebrados mais primitivos, sendo a via alternativa a única presente nestes animais. A via clássica surge nos peixes cartilagosos, sendo preservada no processo evolutivo, e a das lectinas é encontrada nos protocordados com o aparecimento das moléculas MBL e MASP (JI et al., 1997, SUNYER, LAMBRIS, 1998; ZARKADIS et al., 2001).

A molécula de C1q do componente C1 (C1q – C1r₂ – C1s₂) pode iniciar a ativação da via clássica do Complemento, por interação com imunocomplexos, contendo IgG ou IgM, com CRP (Proteína C Reativa), SAP (Proteína Soro Amilóide), DNA, RNA ou por associação direta à fosfatidilserina presente na superfície de células em que a assimetria de membrana foi rompida (RUDDY, AUSTEN, 1975; BERGER e DAHA, 2007; SJÖBERG et al., 2009). A associação de C1q a estes fatores induz ativação de C1r que cliva e ativa C1s. C1s ativado cliva os componentes C4, gerando C4a e C4b, e C2, gerando C2a e C2b. C4b liga-se ao fragmento C2a, formando o complexo C4bC2a, e a C3 convertase da via clássica.

A via das lectinas inicia-se pela ligação das proteínas denominadas MBL (*mannose binding lectin*) ou ficolinas a carboidratos presentes na superfície de microorganismos, levando à ativação das MASPs (*mannose-binding protein-associated serine proteases*), principalmente MASP-2 que, assim como os componentes da via clássica, ativam e clivam o componente C4 e C2 para a formação da C3 convertase (STAHL e EZEKOWITZ, 1998, VORUP-JENSEN, 2000, THIEL et al., 2009).

A ativação da via alternativa inicia-se pela hidrólise espontânea do componente C3, gerando C3(H₂O) que se liga ao fator B, formando o complexo C3(H₂O)B; o fator B sofre clivagem pelo fator D, gerando uma C3 convertase que, na presença de íons Mg²⁺, age sobre o componente C3, clivando-o (BEXBORN et al., 2008; SJÖBERG et al., 2009). Os fragmentos C3b se ligam a novas moléculas do fator B que sofrem hidrólise pelo fator D, gerando a C3 convertase de amplificação, ou seja, o complexo C3bBb (FEARON e AUSTEN, 1975).

Após a formação das C3 convertases das vias clássica, das lectinas e alternativa, estas clivam o componente C3 em C3b e C3a. O fragmento C3b associa-se às C3 convertases para a formação da C5 convertase, que cliva o componente C5 em C5a e C5b. A cascata de ativação converge, então, para uma via terminal comum, iniciando a formação do complexo de ataque à membrana (MAC), composto pelos componentes C5b, C6, C7, C8 e C9, o que

resulta na formação de poros na superfície celular e lise osmótica da célula alvo (MORGAN, 1999).

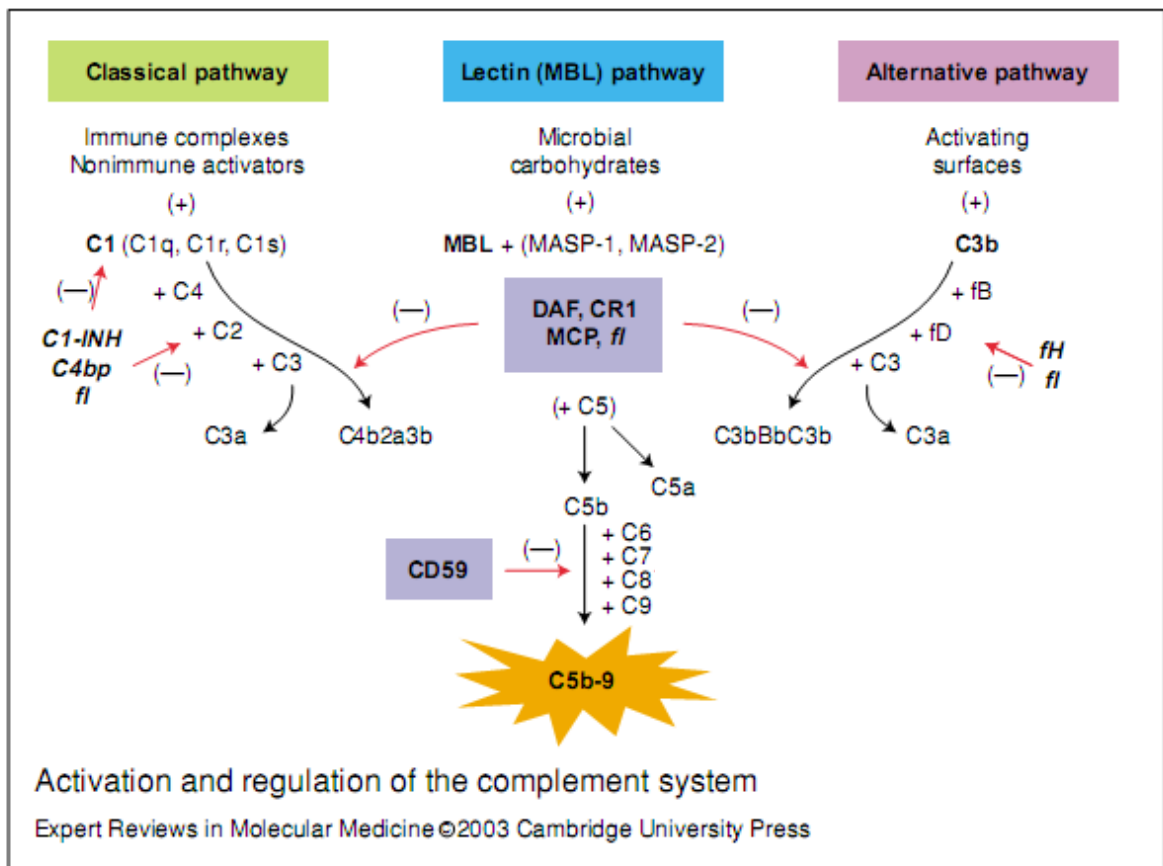
O Sistema Complemento é composto, além das proteínas que participam das vias de ativação, por proteínas regulatórias, presentes na membrana celular ou no plasma, que protegem o hospedeiro contra ativações descontroladas desse sistema (BERGER e DAHA, 2007). A maioria destas proteínas age na regulação das convertases, formadas durante a ativação da cascata do complemento, seja pela aceleração do decaimento das enzimas ou agindo como cofator, para a degradação enzimática de C3b e C4b, pelo fator I.

O regulador MCP (*Membrane cofactor protein*, CD46), expresso em vários tipos celulares, com exceção dos eritrócitos, regula a ativação da C3 convertase, atuando como cofator do fator I na clivagem de C3b e C4b (NANGAKU, 1998; KIM et al., 2006). CR1 (*Complement Receptor Type 1*, CD35) está presente em vários tipos celulares, incluindo os eritrócitos, e promove a dissociação das C3 e C5 convertases; além disso exerce atividade de cofator para o fator I, promovendo a clivagem e inativação de C3b e C4b (KRYCH-GOLDBERG et al., 1999). DAF (*decay-accelerating factor*, CD55), presente também na membrana de vários tipos celulares, não exerce atividade de cofator, mas atua na aceleração do decaimento das C3 e C5 convertases, liberando a proteína Bb da via alternativa e C2a da via clássica (HARRIS et al., 2007). O regulador solúvel C4bp liga-se ao fragmento C4b e atua como cofator para ação do fator I e, também, acelera o decaimento das C3 convertases das vias clássica e das lectinas (BLOM et al., 2004). O fator H, presente na forma solúvel, acelera o decaimento das C3 e C5 convertases da via alternativa, e atua também como cofator para ação do fator I, na clivagem do componente C3b (CÓRDOBA et al., 2004). O inibidor de C1 (C1INH), presente na forma solúvel, controla a ativação do complexo C1, bloqueando a atividade proteolítica de C1r e C1s (ROSEN, DAVIS III, 2005), assim como a das MASPs. O regulador de membrana CD59 bloqueia a formação do complexo de ataque à membrana (MAC), pela inibição da incorporação de C8 e C9 ao MAC (BARILLA-LaBARCA et al., 2002; SJÖBERG et al., 2009).

Alguns estudos têm demonstrado que, na patologia renal, o Sistema Complemento participa como um importante elemento imunomodulador. Assim, foi mostrado que a formação de imunocomplexos no tecido renal, pela resposta de anticorpos contra antígenos próprios, a regulação ineficiente da cascata do complemento, ou ainda, a ligação de fatores que levam à ativação do Complemento como a properdina, podem levar à injúria renal (EDELWEISS et al., 1997; NANGAKU, 1998; SHOJI et al., 2000, BERGER, DAHA, 2007, GAARKEUKEN et al., 2008, SIEZENGA et al., 2009, VAN DER POL et al., 2011).

A injúria intersticial, com decorrente proteinúria, pode ocorrer como consequência da formação de imunocomplexos e ativação da via clássica de Complemento, como também da via alternativa, levando a uma ativação descontrolada do Sistema (GAARKEUKEN et al., 2008). Ensaios *in vitro*, com células renais da região do tubo proximal, realizados por He et al. (2005), mostraram que o uso de inibidores como o do MAC, o CD59, e das convertases, o Crry, regulador semelhante ao MCP presente em camundongos, era capaz de promover redução na injúria renal. Outra doença que pode afetar o rim, a síndrome hemolítica-urêmica (SHU), pode ser desencadeada em indivíduos portando mutações nos genes que codificam para os fatores H, I ou MCP, levando a perda de função destes reguladores, com conseqüente ativação desregulada do componente C3 (ATKINSON, GOODSHIP, 2007; JÓZSI e ZIPFEL, 2008; BUELLI et al., 2009). Estudos recentes também mostraram que a MBL pode reconhecer ligantes endógenos presentes nas células renais isquêmicas, o que resulta na ativação da via das lectinas, levando à injúria renal (MOLLER-KRISTENSEN et al., 2005; JANG e RABB, 2009).

Figura 4 - Sistema Complemento. O Sistema Complemento pode ser ativado por meio de três Vias: Clássica, Lectinas ou Alternativa. A ativação do Complemento pode ser controlada por proteínas regulatórias, presentes na membrana celular ou no plasma, que protegem o hospedeiro contra ativações descontroladas.



Fonte: Modificado de Francis et al (2003).

VI CONCLUSÃO

Em conclusão, os dados apresentados, utilizando células renais humanas, sugerem que metaloproteases de matriz extracelular e da família das adamolisinas estão envolvidas na injúria renal induzida por SMases D do veneno de aranhas *Loxosceles*. MMP-2 e MMP-9 parecem contribuir para a morte celular sendo o processo ainda mais agravado pela ativação desregulada do sistema complemento, após clivagem de MCP por metaloproteases como ADAM 10 e ADAM 17. O uso de inibidores de metaloproteases, parece ter um efeito protetor sobre o dano causado pelo veneno de *Loxosceles* às células renais.

REFERÊNCIAS

- ABBATE, M.; ZOJA, C.; REMUZZI, G. How does proteinuria cause progressive renal damage? **J. Am. Nephrol.**, v. 17, n. 11, p. 2974-2984, 2006.
- ARRIBAS, J., ESSELENS, C. ADAM17 as a therapeutic target in multiple diseases. **Curr. Pharm. Des.**, v.5, n.20, p.2319-2335, 2009.
- ATKINS, J. A.; WINGO, C. W.; SODEMAN, W. A.; FLYNN, J. E. Necrotic arachnidism. **Am. J. Trop. Med. Hyng.**, v. 7, n.2, p. 165- 184, 1958.
- ATKINSON, J. P.; GOODSHIP, T. H. Complement factor H and the hemolytic uremic syndrome. **J. Exp. Med.**, v. 204, n. 6, p. 1245-1248, 2007.
- BAE, J. S.; KIM, I. S.; REZAIE, A. R. Thrombin down-regulates the TGF-beta-mediated synthesis of collagen and fibronectin by human proximal tubule epithelial cells through the EPCR-dependent activation of PAR-1. **J. Cell Physiol.**, v. 225, n. 1, p. 233-239, 2010.
- BARILLA-LaBARCA, M. L.; LISZEWSKI, M. K.; LAMBRIS, J. D.; HOURCADE, D.; ATKINSON, J. P. Role of membrane cofactor protein (CD46) in regulation of C4b and C3b deposited on cells. **J. Immunol.**, v. 168, n. 12, p. 6298-6304, 2002.
- BARNES, R.D., RUPPERT, E.E. Quelicerados *In:* _____ Zoologia dos Invertebrados. Ed Roca, 6ª ed. São Paulo: Rocca, 1984. p.606-635.
- BASILE, D. P.; FREDRICH, K.; WEIHRAUCH, D.; HATTAN, N.; CHILIAN, W. M. Angiostatin and matrix metalloprotease expression following ischemic acute renal failure. **Am. J. Physiol. Renal Physiol.**, v.286, n.5, p. F893-F902, 2004.
- BELL, H. L.; GÖÖZ, M. ADAM-17 is activated by the mitogenic protein kinase ERK in a model of kidney fibrosis. **Am. J. Med. Sci.**, v.339, n.2, p.105-7, 2010.
- BENNETT, W. M.; ELZINGA, L. W.; PORTER, G. A. Tubulo interstitial disease and toxic nephropaty. *In:* Brenner, B, Rector, F, editors. **The kidney**. New York: WB Saunders, 1991, 1941 p.
- BERGER S. P.; DAHA, M. R. Complement in glomerular injury. **Semin. Immunopathol.**, v. 29, p. 375-384, 2007.
- BEXBORN, F.; ANDERSSON, P. O.; CHEN, H.; NILSSON, B.; EKDAHL, K. N. The tick-over theory revisited: formation and regulation of the soluble alternative complement C3 convertase (C3(H₂O)Bb). **Mol. Immunol.**, v. 45, n. 8, p. 2370-2379, 2008.

BIANCONE, L.; DAVID, S.; DELLA PIETRA, V.; MONTRUCCHIO, G.; CAMBI, V.; CAMUSSI, G. Alternative pathway activation of complement by cultured human proximal tubular epithelial cells. **Kidney Int.**, v. 45, n. 2, p. 451-60, 1994.

BLACK, S.; KUSHNER, I.; SAMOLS, D. C-reactive protein. **J. Biol. Chem.**, v. 279, p. 48487-48490, 2004.

BLODGETT, A. B.; KOTHINTI, R. K.; KAMYSHKO, I.; PETERING, D. H.; KUMAR, S.; TABATABAI, N. M. A fluorescence method for measurement of glucose transport in kidney cells. **Diabetes Technol. Ther.**, v. 13, n. 7, p. 743-51, 2011.

BLOM, A. M.; VILLOUTREIX, B. O.; DAHLBACK, B. Complement inhibition C4b-binding protein - friend or foe in the innate immune system? **Mol. Immunol.**, v. 40, p. 1333-1356, 2004.

BÖKENKAMP, A.; LUDWIG, M. Disorders of the renal proximal tubule. **Nephron Physiol.**, v. 118, n. 1, p. 1-6, 2011.

BOTTO, M.; KIRSCHFINK, M.; MACOR, P.; PICKERING, M. C.; WÜRZNER, R.; TEDESCO, F. Complement in human diseases: Lessons from complement deficiencies. **Mol. Immunol.**, v.46, n.14, p.2774-2783, 2009.

BUCHERL, W. Biology and venoms of the most important South American spiders of the genera *Phoneutria*, *Loxosceles*, *Lycosa* and *Latrodectus*. **Am. Zool.**, v.9, 157-159, 1969.

BUELLI, S.; ABBATE, M.; MORIGI, M.; MOIOLI, D.; ZANCHI, C.; NORIS, M.; ZOJA, C.; PUSEY, C. D.; ZIPFEL, P. F.; REMUZZI, G. Protein load impairs factor H binding promoting complement-dependent dysfunction of proximal tubular cells. **Kidney Int.**, v. 75, n. 10, p. 1050-1059, 2009.

CAMUSSI, G.; ROTUNNO, M.; SEGOLONI, G.; BRENTJENS, J. R.; ANDRES, G. A. *In vitro* alternative pathway activation of complement by the brush border of proximal tubules of normal rat kidney. **J. Immunol.**, v.128, n.4, p. 1659-1663, 1982.

CAPRIOLI, J.; NORIS, M.; BRIOSCHI, S.; PIANETTI, G.; CASTELLETTI, F.; BETTINAGLIO, P.; MELE, C.; BRESIN, E.; CASSIS, L.; GAMBA, S.; PORRATI, F.; BUCCHIONI, S.; MONTEFERRANTE, G.; FANG, C. J.; LISZEWSKI, M. K.; KAVANAGH, D.; ATKINSON, J. P.; REMUZZI, G. Genetics of HUS: the impact of MCP, CFH, and IF mutations on clinical presentation, response to treatment, and outcome. **Blood.**, v. 108, p.1267-1279, 2006.

CHAIM, O.M.; SADE, Y.B.; DA SILVEIRA, R.B.; TOMA, L.; KALAPOTHAKIS, E.; CHAVEZ-OLÓTEGUI, C.; MANGILI, O. C.; GREMSKI, W.; VON DIETRICH, C. P.; NADER, H. B.; VEIGA, S. S. Brown spider dermonecrotic toxin directly induces nephrotoxicity. **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, v.211, n.1, p.64-77, 2006.

CÓRDOBA, S. R.; ESPARZA-GORDILLO, J.; JORGE, E. G.; LOPEZ-TRASCASA, M.; SÁNCHEZ-CORRAL, P. The human complement factor H: functional roles, genetic variations and disease associations. **Mol. Immunol.**, v. 41, p. 355-367, 2004.

COX, G.; JONES, J.; D'BYRNE, K. Matrix metalloproteinase-9 and the epidermal growth factor signal pathway in operable non-small cell lung cancer. **Clin. Cancer Res.**, v.6, p. 2349 – 2355, 2000.

DAMEN, W. G.; HAUSDORF, M.; SEYFARTH, E. A.; TAUTZ, D. A conserved mode of head segmentation in arthropods revealed by the expression pattern of Hox genes in a spider. **Proc. Natl. Acad. Sci USA.**, v.95, n.18, p.10665-10670, 1998.

DEBAN, L.; BOLTAZZI, B.; GARLANDA, C.; DE LA TORRE, Y.M.; MANTOVANI, A. Pentraxins: Multifunctional proteins at the interface of innate immunity and inflammation. **Biofactors.**, v. 36, n. 2, p. 138-145, 2009.

DE VRIES, B.; MATTHIJSEN, R. A.; WOLFS, T. G.; VAN BIJNEN, A. A.; HEERINGA, P.; BUURMAN, W. A. Inhibition of complement factor C5 protects against renal ischemia-reperfusion injury: inhibition of late apoptosis and inflammation. **Transplantation.**, v. 75, n. 3, p. 375-382, 2003.

DILLAHA, C. J.; JANSEN, G.T.; HONEYCUTT, W. M.; HAYDEN, C. R. North American loxoscelism. Necrotic bite of the Brown recluse spider. **JAMA.**, v.188, p. 33-36, 1964.

EDELWEISS, M. I. A.; MEINE, M. H. M; de M., SCROFERNEKER. Importância do sistema complemento em nefrologia. **J. Bras. Nefrol.**, v. 19, n. 1, p. 32-41, 1997.

EDWARDS, D. R.; HANDSLEY, M. M.; PENNINGTON, C. J. The ADAM metalloproteinases. **Mol. Aspects Med.**, v.29, n.5, p.258-89, 2008.

FEARON, D. T.; AUSTEN, K. F. Initiation of C3 cleavage in the alternative complement pathway. **J. Immunol.**, v. 115, n. 5, p. 1357-1361, 1975.

FERNANDES-PEDROSA, M. F.; JUNQUEIRA-DE-AZEVEDO, I. L.; GONÇALVES-DE-ANDRADE, R. M.; KOBASHI, L. S.; ALMEIDA, D. D.; HO, P. L.; TAMBOURGI, D. V. Transcriptome analysis of *Loxosceles laeta* (Araneae, Sicariidae) spider venomous gland using expressed sequence tags. **BMC Genomics.**, v. 9, p.279, 2008.

FIJEN, C. A.; VAN DEN BOGAARD, R.; SCHIPPER, M.; MANNENS, M.; SCHLESINGER, M.; NORDIN, F. G.; DANKERT, J.; DAHA, M. R.; SJÖHOLM, A. G.; TRUEDSSON, L.; KUIJPER, E. J. Properdin deficiency: molecular basis and disease association. **Mol. Immunol.**, v.36, n.13-14, p.863-7, 1999.

FISCHER, M. L. Levantamento das espécies do gênero *Loxosceles* Heineken & Lowe, 1832, no município de Curitiba, Paraná, Brasil. Estudos de Biologia, Publicação da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, v. 3, n. 38, p. 66-86, 1994.

FRANCIS, K.; VAN BEEK, J.; CANOVA, C.; NEAL, J. W.; GASQUE, P. Innate immunity and brain inflammation: the key role of Complement. **Exp. Rev. Mol. Med.**, v. 5, n. 15, p. 1-19, 2003.

FUTRELL, J. Loxoscelism. **Am. J. Med. Sci.**, v.304, n.4, p. 261-267, 1992.

GAARKEUKEN, H.; SIEZENGA, M. A.; ZUIDWIJK, K.; KOOTEN, C. VAN, RABELINK, T. J., DAHA, M. R., BERGER, S. P. Complement activation by tubular cells is mediated by properdin binding. **Am. J. Physiol. Renal Physiol.**, v. 295, p. F1397-F1403, 2008.

GOLUB, L. M.; RAMAMURTHY, N.; MCNAMARA, T. F.; GOMES, B.; WOLFF, M.; CASINO, A.; KAPOOR, A.; ZAMBON, J.; CIANCIO, S.; SCHNER, M. Tetracyclines inhibit tissue collagenase activity. A new mechanism in the treatment of periodontal disease. **J. Periodontal Res.**, v. 19, n.6, p. 651-655, 1984.

GONÇALVES-DE-ANDRADE, R. M.; OLIVEIRA, K. C.; GIUSTI, A. L.; DIAS DA SILVA, W.; TAMBOUGI, D. V. Ontogenetic development of *Loxosceles intermedia* spider venom. **Toxicon.**, v. 37, n. 4, p. 627-632, 1999.

GÖÖZ, M. ADAM-17: the enzyme that does it all. **Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.**, v.45, n.2, p.146-169, 2010.

GRIVICICH, I.; REGNER, A. DA ROCHA, A. B. Morte celular por apoptose. **Rev. Bras. Cancerologia**, v.53, n.3, p.335-343, 2007.

HARRIS, C.L., PETTIGREW, D.M., LEA, S.M., MORGAN, B.P. Decay-accelerating factor must bind both components of the complement alternative pathway C3 convertase to mediate efficient decay. **J. Immunol.**, v. 178, n. 1, p. 352-359, 2007.

HAKULINEN J.; KESKI-OJA J. ADAM10-mediated release of complement membrane cofactor protein during apoptosis of epithelial cells. **J. Biol. Chem.**, v.281, n.30, p.21369-21376, 2006.

HE, C.; IMAI, M.; SONG, H.; QUIGG, R. J.; TOMLINSON, S. Complement inhibitors targeted to the proximal tubule prevent injury in experimental nephritic syndrome and demonstrate a key role for C5b-9. **J. Immunol.**, v. 174, n. 9, p. 5750-5757, 2005.

HERBST, R. S. Review of epidermal growth factor receptor biology. **Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.**, v. 59, p. 21-26, 2004.

HOGAN, C. J., BÁRBARO, K. C., WINKEL, K. Loxoscelism: old obstacles, new directions. **Ann. Emerg. Med.**, v. 44, p. 608- 624, 2004.

JANG, H. R.; RABB, H. The innate response in ischemic acute kidney injury. **Clin. Immunol.**, v. 130, n. 1, p. 41-50, 2009.

JEVNIKAR, A. M.; WUTHRICH, R. P.; BRENNAN, D. C.; MASLINSKI, W.; GLIMCHER, L. H.; RUBIN-KELLEY, V. E. TNF-alpha is expressed on the surface of kidney proximal tubular cells. **Transplant Proc.**, v. 23, p. 231-232, 1991.

JI, X.; AUMI, K.; SASAKI, M.; NONAKA, M. Ancient origin of the complement lectin pathway revealed by molecular cloning of mannan binding protein-associated serine protease from a urochordate, the Japanese ascidian *Halocynthia roretzi*. **Proc. Natl. Acad. Sci USA.**, v. 94, n.12, p.6340-6345, 1997.

JÓZSI, M.; ZIPFEL, P. F. Factor H family proteins and human diseases. **Trends Immunol.**, v. 29, n. 8, p. 380-387, 2008.

KEMPER, C.; ATKINSON, J. P. T-cell regulation: with complement from innate immunity. **Nat. Rev. Immunol.**, v. 7, p. 9-18, 2007.

KILLAR, L.; WHITE, J.; BLACK, R.; PESCHON, J. Adamalysins. A family of metzincins including TNF-alpha converting enzyme (TACE). **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, v.30, n.878, p.442-452, 1999.

KIM, D. D.; SONG, W. C. Membrane complement regulatory proteins. **Clin. Immunol.**, v. 118, p. 127-136, 2006.

KING JR, L. E.; REES, R. S. Dapsone treatment of a brown recluse bite. **JAMA**, v.250, n.5, p.648, 1983.

KLEINER, D. E.; STETLER-STEVENSON, W. G. Quantitative zymography: detection of picogram quantities of gelatinases. **Anal. Biochem.**, v. 218, n. 2, p. 325-329, 1994.

KÖHL, J. The role of complement in danger sensing and transmission. **Immunol. Res.**, v. 34, n. 2, p. 157-176, 2006.

KOIDE, H.; NAKAMURA, T.; EBIHARA, I.; TOMINO, Y. Increase mRNA expression of metalloproteinase-9 in peripheral-blood monocytes from patients with immunoglobulin A nephropathy. **Am. J. Kidney Dis.**, v. 28, p. 32- 39, 1996.

KRYCH-GOLDBERG, M.; HAUBART, R. E.; SUBRAMANIAN, V. B.; YURCISIN II, B. M.; CRIMMINS, D. L.; HOURCADE, D. E.; ATKINSON, J. P. Decay accelerating activity of complement receptor type I (CD35). **J. Biol. Chem.**, v. 274, n. 44, p. 31160-31168, 1999.

KUSMA, J.; CHAIM, O. M.; WILLE, A. C.; FERRER, V. P.; SADE, Y. B.; DONATTI, L.; GREMSKI, W.; MANGILI, O. C.; VEIGA, S. S. Nephrotoxicity caused of brown spider venom phospholipase D (dermonecrotic toxin) depends on catalytic activity. **Biochimie.**, v. 90, n. 11-12, p. 1722-1736, 2008.

LAEMMLI, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature**, v. 227, p. 680-685, 1970.

LEE, B. H.; KWAK, S. H.; SHIN, J. I.; LEE, S. H.; CHOI, H. J.; KANG, H. G.; HA, I. S.; LEE, J. S.; DRAGON-DUREY, M. A.; CHOI, Y.; CHEONG, H. I. Atypical hemolytic uremic syndrome associated with complement factor H autoantibodies and CFHR1/CFHR3 deficiency. **Pediatr. Res.**, v. 66, n. 3, p. 336-340, 2009.

LEEHEY, D. J.; SONG, R. H.; ALAVI, N.; SINGH, A. K. Decreased degradative enzymes in mesangial cells cultured in high glucose media. **Diabetes**, v. 44, p. 929-935, 1995.

LESHER, A. M.; SONG, W. C. Review: Complement and its regulatory proteins in kidney diseases. *Nephrology (Carlton)*. v.15, n.7, p.663-675, 2010.

LIN, F.; SALANT, D. J.; MEYERSON, H.; EMANCIPATOR, S.; MORGAN, B. P.; MEDOF, M. E. Respective roles of decay-accelerating factor and CD59 in circumventing glomerular injury in acute nephrotoxic serum nephritis. **J. Immunol.**, v. 172, n.4, p. 2636-2642, 2004.

LIU, Q. A.; HENGARTNER, M. O. The molecular mechanism of programmed cell death in *C. elegans*. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, v.887, p.92-104, 1999.

LOWRY, O. H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A. L.; RANDALL, R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **J. Biol. Chem.**, v. 193, n. 1, p. 265–275, 1951.

LUCAS, S. Spiders in Brazil. **Toxicon**, v.26, n.9, p. 759- 775, 1988.

LUCATO JR, R. V.; ABDULKADER, R. C.; BARBARO, K. C.; MENDES, G. E.; CASTRO, I.; BAPTISTA, M. A.; CURY, P. M.; MALHEIROS, D. M.; SCHOR, N.; YU, L.; BURDMANN, E. A. *Loxosceles gaucho* venom-induced acute kidney injury - *in vivo* and *in vitro* studies. **PLoS Negl. Trop. Dis.**, v.5, n.5, p.1-5, 2011.

LUCIANO, M. N.; SILVA, P. H.; CHAIM, O. M.; DOS SANTOS, V. L. P.; FRANCO, C. R. C.; SOARES, M. F. S.; ZANATA, S. M.; MANGILI, O. C.; GREMSKI, W.; VEIGA, S. S. Experimental evidence for a direct cytotoxicity of *Loxosceles intermedia* (brown spider) venom in renal tissue. **J. Histochem. Cytochem.**, v.52, n.4, p. 455-467, 2004.

LUNG, J. M.; MALLORY, S. B. A child with spider bite and glomerulonephritis: a diagnostic challenge. **Int. J. Dermat.**, v. 39, p. 287-289, 2000.

MALAQUE, C. M. S; CASTRO-VALENCIA, J. E.; CARDOSO, J. L. C.; FRANÇA, F. O. S; BÁRBARO, K. C; FAN, H. W. Clinical and epidemiological features of definitive and presumed loxoscelism in São Paulo, Brazil. **Rev. Int. Med. Trop. S. Paulo.**, v. 44, n.3, p. 139-143, 2002.

MALHOTRA, K. K; CHADHA, J. S.; MIRDEHGAN, M., TANDON, H. D. Acute renal failure following scorpion sting. **Am.J. Trop. Med Hyg.**, v. 27, p. 623-626, 1978.

MANZONI-DE-ALMEIDA, D.; FERNANDES-PEDROSA, M. DE F.; GONÇALVES-DE-ANDRADE, R. M.; MARCELINO, J. R.; GONDO-HIGASHI, H.; DE AZEVEDO, I.; HO, P. L.; VAN DEN BERG, C. W.; TAMBOURGI, D. V. A new anti-loxoscelic serum produced against recombinant sphingomyelinase D: results of preclinical trials. **Am. J. Trop. Med Hyg.**, v. 79, n. 3, p. 463-470, 2008.

McMILLAN, J. I.; RIORDAN, J. W.; COUSER, W. G.; POLLOCK, A. S.; LOVETT, D. H. Characterization of a glomerular epithelial cell metalloproteinase as matrix metalloproteinase-9 with enhanced expression in a model of membranous nephropathy. **J. Clin. Invest.**, v. 97, n. 4, p. 1095 – 1101, 1996.

MEIER, P.; FINCH, A.; EVAN, G. Apoptosis in development. **Nature**, v. 407, p.796-801, 2000.

MELNHORST, W. B.; VISSER, L.; TIMMER, A.; VAN DEN HEUVEL, M. C.; STEGEMAN, C. A.; VAN GOOR, H. ADAM17 upregulation in human renal disease: a role in modulating TGF-alpha availability? **Am. J. Physiol. Renal Physiol.**, v. 297, n. 3, p. F781-F790, 2009.

MIHLAN, M.; HEBECKER, M.; DAHSE, H. M.; HÄLBICH, S.; HUBER-LANG, M.; DAHSED, R.; ZIPFEL, P. F.; JÓZSI, M. Human complement factor H-related protein 4 binds and recruits native pentameric C-reactive protein to necrotic cells. **Mol. Immunol.**, v. 46, p. 335-344, 2009.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Manual de diagnósticos e acidentes por animais peçonhentos**. Local: Brasília. Fundação Nacional da Saúde, 2001.29p.

MOLLER-KRISTENSEN, M.; WANG, W.; RUSEVA, M.; THIEL, S.; NIELSEN, S.; TAKAHASHI, K.; SHI, L.; EZEKOWITZ, A.; JENSENIUS, J. C.; GADJEVA, M. Mannan-binding lectin recognizes structures on ischaemic reperfused mouse kidneys and is implicated in tissue injury. **J. Immunol.**, v. 61, n. 5, p. 426-434, 2005.

MORGAN, B. P. Regulation of the complement membrane attack pathway. **Crit. Rev. Immunol.**, v. 19, n. 3, p. 173-198, 1999.

MORGAN, B. P.; HARRYS, C. L. Complement therapeutics; history and current progress. **Mol. Immunol.**, v.40, n.2-4, p.159-170, 2003.

MORITA, Y.; IKEGUCHI, H.; NAKAMURA, J.; HOTTA, N.; YUZAWA, Y.; MATSUO, S. Complement activation products in the urine from proteinuric patients. **J. Am. Soc. Nephrol.**, v. 11, n. 4, p. 700-707, 2000.

MORRISSEY, J. H. Silver stain for proteins in polyacrylamide gels: a modified procedure with enhanced uniform sensitivity. **Anal. Biochem.**, v.117, p.307-310, 1980.

MURPHY, G.; STANTON, H.; COWELL, S.; BUTLER, G.; KNÄUPER, V.; ATKINSON, S.; GAVRILOVIC, J. Mechanism for pro matrix metalloproteinase activation. **APMIS.**, v. 107, n. 1, p. 38-44, 1999.

NAÍNI, A. E.; HARANDI, A. A.; MOGHTADERI, J.; BASTANI, B.; AMIRAN, A. Doxycycline: a pilot study to reduce diabetic proteinuria. **Am. J. Nephrol.**, v. 27, p. 269 – 273, 2007.

NANGAKU, M. Complement regulatory proteins in glomerular diseases. **Kidney Int.**, v.54, n.6, p. 1934-1944, 1998.

NAGAKU, M.; PIPPIN, J.; COUSER, W. G. Complement membrane attack complex (C5b-9) mediates interstitial disease in experimental nephrotic syndrome. **J. Am. Soc. Nephrol.**, v.10, p. 2323-2331, 1999.

NAGAKU, M.; PIPPIN, J.; COUSER, W. G. C6 mediates chronic progression of tubulointerstitial damage in rats with remnant kidneys. **J. Am. Soc. Nephrol.**, v. 13, p. 928-936, 2002.

NG, P. M. P.; LeSAUX, A.; LI, C. M.; TAN, N. S.; LU, J.; THIEL, S.; HO, B.; DING, J. L. C-reactive protein collaborates with plasma lectins to boost immune response against bacteria. **EMBO J.**, v. 26, n. 14, p. 3431-3440, 2007.

OLIVEIRA, K. C.; GONÇALVES DE ANDRADE, R. M.; GIUSTI, A. L.; SILVA, W. D.; TAMBOURGI, D. V. Sex-linked variation of *Loxosceles intermedia* spider venoms. **Toxicon**, v. 37, p.217-221, 1999.

OLIVEIRA, K. C.; GONÇALVES-DE-ANDRADE, R. M.; PIAZZA, R. M.; FERREIRA JR, J. M.; VAN DEN BERG, C. W.; TAMBOURGI, D. V. Variations in *Loxosceles* spider venom composition and toxicity contribute to the severity of envenomation. **Toxicon**, v. 45, n. 4, p. 421-429, 2005.

PAIXÃO-CAVALCANTE, D.; VAN DEN BERG, C. W.; DE FREITAS FERNANDES-PEDROSA, M.; GONCALVES DE ANDRADE, R. M.; TAMBOURGI, D. V. Role of matrix metalloproteinases in HaCat keratinocytes apoptosis induced by *Loxosceles* venom sphingomyelinase D. **J. Invest. Dermatol.**, v.126, n.1, p. 61- 68, 2006.

PAIXÃO-CAVALCANTE, D.; VAN DEN BERG, C. W.; GONÇALVES-DE-ANDRADE, R. M.; FERNANDES-PEDROSA, M. F.; OKAMOTO, C. K.; TAMBOURGI, D. V. Tetracycline protects against dermonecrosis induced by *Loxosceles* spider venom. **J. Invest. Dermatol.**, v.127, n.6, p.1410-1418, 2007.

PANCHAPAKESAN, U.; POLLOCK, C.; SAAD, S. Review article: importance of the kidney proximal tubular cells in thiazolidinedione-mediated sodium and water uptake. **Nephrology**, v. 14, n. 3, p. 298-301, 2009.

PECHMANN, M.; KHADJED, S.; SPRENGER, F.; PRPIC, N. M. Patterning mechanisms and morphological diversity of spider appendages and their importance for spider evolution. **Arthropod Struct.**, v.39, n.6, p.453-467, 2010.

PEPYS, M. B.; HIRSCHFIELD, G. M. C-reactive protein: a critical update. **J. Clin. Invest.**, v. 111, n. 12, p. 1805-1812, 2003.

PICKERING, M. C.; DE JORGE, E. G.; MARTINEZ-BARRICARTE, R.; RECALDE, S.; GARCIA-LAYANA, A.; ROSE, K. L.; MOSS, J.; WALPORT, M. J.; COOK, H. T.; DE CÓRDOBA, S. R.; BOTTO, M. Spontaneous hemolytic uremic syndrome triggered by complement factor H lacking surface recognition domains. **J. Exp. Med.**, v. 204, n. 6, p. 1249-1256, 2007.

PLATNICK, N. I. The world spider catalog, version 8.0. American Museum of Natural History, 2011, online at <http://research.amnh.org/entomology/spiders/catalog/index.html>

PRETEL, F.; GONÇALVES DE ANDRADE, R. M.; MAGNOLI, F. C.; DILVA, M. E. R.; FERREIRA JR, J. M. F.; VAN DEN BERG, C. W.; TAMBOURGI, D. V. Analysis of the toxic potential of venom from *Loxosceles adelaida*, a Brazilian Brown spider from karstic areas. **Toxicon**, v. 45, p. 449-458, 2005.

PRITCHARD, J. B.; MILLER, D. S. Renal secretion of organic anions and cations. **Kidney Int.**, v. 49, n.6, p.1649-1654, 1996.

REES, R. S; SHACK, R. B.; WITHERS, E.; MADDEN, J.; FRANKLIN, J.; LYNCH, J. B. Management of the brown recluse spider bite. **Plast. Reconstr. Surg.**, v.68, n.5, p. 768-773, 1981.

REES, R. S.; O'LEARY, J. P.; KING JR, L. E. The pathogenesis of systemic loxoscelism following brown recluse spider bites. **J. Surg. Res.**, v.35, n.1, p. 1-10, 1983.

REID, K. B., PORTER, R. R. The proteolytic activation systems of complement. **Ann. Rev. Biochem.**, v.50, p.433-64, 1981.

RIBEIRO, L. A.; EICKSTEDT, V. R. D.; RÚBIO, G. B. G.; KONALSAISEN, J. F.; HANDAR, Z.; ENTRES, M.; CAMPOS, V. A. F. P.; JORGE, M. T. Epidemiologia do acidente por aranhas do gênero *Loxosceles Heineken* and *Lowe* no estado do Paraná (Brasil). **Mem. Int. Butantan**, v.55, n.1, p. 19- 26, 1993.

RIBEIRO, R. O; CHAIM, O. M.; DA SILVEIRA, R. B.; GREMSKI, L. H.; SADE, Y. B.; PALUDO, K. S.; SENFF RIBEIRO, A.; DE MOURA, J.; CHÁVEZ-OLÓRTEGUI, C.; GREMSKI, W.; NADER, H. B.; VEIGA, S. S. Biological e structural comparison of recombinant phospholipase D toxins from *Loxosceles intermedia* (brown spider) venom. **Toxicon**, v. 50, n.8, p. 1162-1174, 2007.

ROSEN, F. S.; DAVIS III, A. E. Deficiencies of C1 inhibitor. Best **Pract. Res. Clin. Gastroenterol.**, v. 19, n. 2, p. 251-261, 2005.

ROVIN, B. H.; PHAN, L. T. Chemotactic factors and renal inflammation. **Am. J. Kidney Dis.**, v. 31, n. 6, p.1065-84, 1998.

RUDDY, S.; AUSTEN, K. F. Activation of the complement and properdin systems in rheumatoid arthritis. **Ann. N.Y Acad. Sci.**, v.256, p.96-104, 1975.

RUSSEL, F. E.; WALDRON, W. G.; MADON, M. B. Bites by the brown spiders *Loxosceles unicolor* and *Loxosceles arizonica* in California and Arizona. **Toxicon**, v.7, p. 109-117, 1969.

RUNZA, V. L.; SCHWAEBLE, W.; MÄNNEL, D. N. Ficolins: novel pattern recognition molecules of the innate immune response. **Immunobiology**, v.213, n.3-4, p.297-306, 2008.

RYAN, M. J.; JOHNSON, G.; KIRK, J.; FUERSTENBERG, S. M.; ZAGER, R. A.; TOROK-STORB, B. HK-2: An immortalized proximal tubule epithelial cell line from normal adult human kidney. **Kidney Int.**, v.45, p. 48-57, 1994.

SEALS, D. S.; COURTNEIDGE, S. A. The ADAMs family of metalloproteases: multidomain proteins with multiple functions, **Genes Dev.**, v. 17, p. 7–30, 2003.

SCHEJBEL, L.; ROSENFELDT, V.; MARQUART, H.; VALERIUS, N. H.; GARRED, P. Properdin deficiency associated with recurrent otitis media and pneumonia, and identification of male carrier with Klinefelter syndrome. **Clin. Immunol.**, v.131, n.3, p.456-462, 2009.

SCHENONE, H. Cutaneous loxoscelism with edematous predominance. **Bol. Chil. Parasitol.**, v. 53, p.78-83, 1998.

SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. ACIDENTES POR ANIMAIS PEÇONHENTOS. 2007. In: Ministério da Saúde (BR). Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/saude>. Acesso em: 18/01/2012.

SHEERIN, N. S.; RISLEY, P.; ABE, K.; TANG, Z.; WONG, W.; LIN, T.; SACKS, S. H. Synthesis of complement protein C3 in the kidney is an important mediator of local tissue injury. **FASEB J.**, v. 22, n. 4, p. 1065-1072, 2008.

SHOJI, T.; NAKANISHI, I.; KUNITOU, K.; TSUBAKIHARA, Y.; HIROOKA, Y.; KISHI, Y.; HATANAKA, M.; MATSUMOTO, M.; TOYOSHIMA, K.; SEYA, T. Urine levels of CD46 (Membrane Cofactor Protein) are increased in patients with glomerular diseases. **Clin. Immunol.**, v. 95, n. 2, p. 163-169, 2000.

SIEZENGA, M. A., VAN DER GEEST, R. N.; MALLAT, M. J.; RABELINK, T. J.; DAHA, M. R.; BERGER, S. P. Urinary properdin excretion is associated with intrarenal complement activation and poor renal function. **Nephrol. Dial. Transplant.**, v.25, n.4, p.1157-1160, 2009.

SILVA, P. H.; SILVEIRA, R. B.; APPEL, M. H.; MANGILINI, O. C.; GREMSKI, W.; VEIGA, S. S. Brown spiders and loxoscelism. Review. **Toxicon**, v.44, p.693-709, 2004.

SISTEMA DE INFORMAÇÃO DE AGRAVOS DE NOTIFICAÇÃO (SINAN). In: Ministério da Saúde (BR). 2012. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/saude>. Acesso em: 18/01/2012.

SJÖBERG, A. P.; TROUW, L. A.; CLARK, S. J.; SJOLANDER, J.; HEINEGARD, D.; SIM, R. B.; DAY, A. J.; BLOM, A. M. The factor H variant associated with age-related macular degeneration (H384) and the non-disease associated form bind differentially to C-reactive protein, fibromodulin, DNA and necrotic cells. **J. Biol. Chem.**, v. 282, p. 10894–10900, 2007.

SJÖBERG, A. P.; TROUW, L. A.; BLOM, A. M. Complement activation and inhibition: a delicate balance. **Trends in Immunol.**, v. 30, n. 2, p. 83-90, 2009.

STAHL, P. D.; EZEKOWITZ, R. A. The mannose receptor is a pattern recognition receptor involved in host defense. **Curr. Opin. Immunol.**, v.10, n.1, p.50-55, 1998.

STAMENKOVIC, I. Extracellular matrix remodelling: the role of matrix metalloproteinases. **J. Pathol.**, v.200, p.448-464, 2003.

STOVER, C. M.; LUCKETT, J. C.; ECHTENACHER, B.; DUPONT, A.; FIGGITT, S. E; BROWN, J.; MÄNNEL, D. N.; SCHWAEBLE, W. J. Properdin plays a protective role in polymicrobial septic peritonitis. **J. Immunol.**, v.180, n.5, p.3313-3318, 2008.

STRAIN, G. M.; SNIDER, T. G.; TEDFORD, B. L.; COHN, G. H. hyperbaric oxygen effectes on brown recluse spider (*Loxosceles reclusa*) envenomation in rabbits. **Toxicon**, v. 29, n.8, p. 989- 996, 1991.

SUNDERKÖTTER, C.; SEELIGER, S.; SCHONLAU, F.; ROTH, J.; HALLMANN, R.; LUGER, T. A.; SORG, C.; KOLDE, G. Different pathways leading to cutaneous leukocytoclastic vasculitis in mice. **Exp. Dermatol.**, v.10, n.6, p.391-404, 2001.

SUNYER, J. O.; LAMBRIS, J. D. Evolution and diversity of the complement system of poikilothermic vertebrates. **Immunol. Rev.**, v.166, p.39-57, 1998.

TALLANT, C.; MARRERO, A.; GOMIS-RÜTH, F. X. Matrix metalloproteinases: fold and function of their catalytic domains. **Biochim. Biophys. Acta.**, v.1803, n.1, p.20-28, 2009.

TAMBOURGI, D. V.; MAGNOLI, F. C., VON EICKSTEDT, V. R. D.; BENEDETTI, Z. C.; PETRICEVICH, V. L.; DA SILVA, W. D. Incorporation of a 35 kDa purified protein from *Loxosceles intermedia* spider venom transforms human erythrocytes into activators of autologous complement alternative pathway. **J. Immunol.**, v.155, p.4459-4466, 1995.

TAMBOURGI, D. V.; PETRICEVICH, V. L.; MAGNOLI, F. C.; ASSAF, S. L. M. R.; JANCAR, S.; DIAS DA SILVA, W. Endotoxemic- like shock induced by *Loxosceles* spider venoms: pathological changes and putative cytokine mediators. **Toxicon**, v.36, n.2, p. 391-403, 1998a.

TAMBOURGI, D. V.; MAGNOLI, F. C.; VAN DEN BERG, C. W.; MORGAN, B. P.; DE ARAÚJO, P. S.; ALVES, E. W.; DA SILVA, W. D. Sphingomyelinases in the venom of the spider *Loxosceles intermedia* are responsible for both dermonecrosis and complement- dependent hemolysis. **Biochem. Biophys. Res. Commun.** n. 251, p. 366-373, 1998b.

TAMBOURGI, D. V.; MORGAN, B. P.; DE ANDRADE, R. M.; MAGNOLI, F. C.; VAN DEN BERG, C. W. *Loxosceles intermedia* spider envenomation induces activation of an endogenous metalloproteinase, resulting in cleavage of glycophorins from de erythrocyte surface facilitating complement-mediated lysis. **Blood**, v.95, n.2, p.683-691, 2000.

TAMBOURGI, D. V.; DE SOUSA DA SILVA, M.; BILLINGTON, S. J.; GONCALVES DE ANDRADE, R. M.; MAGNOLI, F. C.; SONGER, J. G.; VAN DEN BERG, C. W. Mechanism of induction of complement susceptibility of erythrocytes by spider and bacterial sphingolmyelinases. **Immunology**, v.107, n.1, p.93-101, 2002.

TAMBOURGI, D. V.; FERNANDES- PEDROSA, M. F.; VAN DEN BERG, C. W.; GONÇALVES-DE-ANDRADE, R. M.; FERRACINI, M.; PAIXÃO-CAVALCANTE, D.; MORGAN, B. P.; RUSHMERE, N. K. Molecular Cloning, expression, function and immunoreactivities of members of a gene family of sphingomyelinases from *Loxosceles* venom glands. **Mol. Immunol.**, v.41, p. 831- 840, 2004.

TAMBOURGI, D. V.; PAIXÃO- CAVALCANTE, D.; GONÇALVES DE ANDRADE, R. M.; FERNANDES PEDROSA, M. F.; MAGNOLI, F. C.; MORGAN, B. P.; VAN DEN BERG, C. W. *Loxosceles* sphingomyelinase induces Complement-dependent dermonecrosis, neutrophil infiltration and endogenous gelatinase expression. **J. Invest. Dermatol.**, v. 124, p. 725- 731, 2005.

TAMBOURGI, D. V.; FERNANDES-PEDROSA, M. F.; GONÇALVES-DE-ANDRADE, R. M.; BILLINGTON, S. J.; GRIFFITHS, M.; VAN DEN BERG, C. W. Sphingomyelinases D induce direct association of C1q to the erythrocyte membrane causing complement mediated autologous haemolysis. **Mol. Immunol.**, v. 44, n. 4, p. 576-582, 2007.

TAMBOURGI, D. V.; GONÇALVES-DE-ANDRADE, R. M.; VAN DEN BERG, C. W. Loxoscelism: From basic research to the proposal of new therapies. **Toxicon**, v. 56, n. 7, p. 1113-1119, 2010.

TAVARES, F. L.; SOUSA-E-SILVA, M. C. C.; SANTORO, M. L.; BARBARO, K. C.; REBECCHI, I. M. M.; SANO-MARTINS, I. S. Changes in hematological, hemostatic and biochemical parameters induced experimentally in rabbits by *Loxoxceles gaucho* venom. **Hum. Exp. Toxicol.**, v. 23, p.477-486, 2004.

THIEL, S.; GADJEVA, M. Humoral pattern recognition molecules: mannan-binding lectin and ficolins. **Adv. Exp. Med. Biol.** n .653, p. 58-73, 2009.

THURMAN, J. M.; LJUBANOVIĆ, D.; ROYER, P. A.; KRAUS, D. M.; MOLINA, H.; BARRY, N. P.; PROCTOR, G.; LEVI, M.; HOLERS, V. M. Altered renal tubular expression of the complement inhibitor Crry permits complement activation after ischemia/reperfusion. **J. Clin. Invest.**, v. 116, n. 2, p. 357-368, 2006.

TOKUMURA, A.; KANAYA, Y.; MIYAKE, M.; YAMANO, S.; IRAHARA, M.; FUKUZAWA, K. Increased production of bioactive lysophosphatidic acid by serum lysophospholipase D in human pregnancy. **Biol. Reprod.** v. 67, n.5, p. 1386-1392, 2002.

TOWBIN, H.; STAHELIN, T.; GORDON, J. Eletrophoretic transfer of proteins from acrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications. **Proc. Natl Acad. Sci. U.S.A.**, v.76, p.4350-4354, 1979.

TURNBERG, D.; BOTTO, M.; WARREN, J.; MORGAN, B. P.; WALPORT, M. J.; COOK, H. T. CD59 deficiency exacerbates accelerated nephrotoxic nephritis in mice. **J. Am. Soc. Nephrol.**, v. 14, p. 2271-2279, 2003.

UNSWORTH, D. J. Complement deficiency and disease. **J. Clin. Pathol.**, v. 61, p. 1013-1017, 2008.

VAN DEN BERG, C. W.; DE ANDRADE, R. M.; MAGNOLI, F. C.; MARCHBANK, K. J.; TAMBOURGI, D. V. *Loxosceles* spider venom induces metalloproteinase mediated cleavage of MCP/CD46 and MHCI and induces protection against C-mediated lysis. **Immunology**, v. 107, n. 1, p.102-110, 2002.

VAN DER POL, P.; ROOS, A.; BERGER, S. P.; DAHA, M. R.; VAN KOOTEN, C. Natural IgM antibodies are involved in the activation of complement by hypoxic human tubular cells. **Am. J. Physiol. Renal. Physiol.**, v.300, n.4, P. F932-F940, 2011.

VAN KOOTEN, C.; DAHA, M. R.; VAN ES, L. A. Tubular epithelial cells: A critical cell type in the regulation of renal inflammatory processes. **Exp. Nephrol.**, v. 7, n. 5-6, p. 429-437, 1999.

VETTER, R. S.; VISSCHER, P. K. Bites and stings of medically important venomous arthropods. **Int. J. Dermatol.**, v. 37, p. 481-496, 1998.

VOLANAKIS, J.E. Complement-induced solubilization of C-reactive protein-pneumococcal C-polysaccharide precipitates: evidence for covalent binding of complement proteins to C-reactive protein and to pneumococcal C-polysaccharide. **J. Immunol.**, v. 128, n. 6, p. 2745-2750, 1982.

VORUP-JENSEN, T.; PETERSEN, S. V.; HANSEN, A. G.; POULSEN, K.; SCHWAEBLE, W.; SIM, R. B.; REID, K. B.; DAVIS, S. J.; THIEL, S.; JENSENIUS, J. C. Distinct pathways of mannan-binding lectin (MBL)- and C1-complex autoactivation revealed by reconstitution of MBL with recombinant MBL-associated serine protease-2. **J. Immunol.**, v. 165, n. 4, p. 2093-2100, 2000.

XUE, M.; CAMPBELL, D.; JACKSON, C. J. Protein C is an autocrine growth factor for human skin keratinocytes. **J. Biol. Chem.**, v. 282, n. 18, p. 13610-13616, 2007.

YEE, J. Plasma matrix metalloproteinase-9 and diabetic microalbuminuria: tip of the iceberg? **Am. J. Kidney Dis.**, v.32, p.669-671, 1998.

WALPORT, M. J. Complement. First of two parts. **N. Engl. J. Med.**, v. 344, p. 1058-1066, 2001.

WASSERMAN, G. S.; ANDERSON, D. O. Loxoscelism and necrotic arachnidism. **J. Toxicol. Clin. Toxicol.**, v. 21, p. 451- 455, 1984.

WHITE, M. ADAMs: modulators of cell-cell and cell-matrix interactions. **Curr. Opin. Cell. Biol.**, v. 15, p. 598-606, 2003.

WRIGHT, S. H.; DANTZLER, W. H. Molecular and cellular physiology of renal organic cation and anion transport. **Physiol Rev.**, v. 84, n. 3, p. 987-1049, 2004.

ZAFERANI, A.; VIVÈS, R. R.; VAN DER POL, P.; HAKVOORT, J. J.; NAVIS, G. J.; VAN GOOR, H.; DAHA, M. R.; LORTAT-JACOB, H.; SEELEN, M. A.; VAN DER

BORN, J. Identification of tubular heparan sulfate as a docking platform for the alternative complement component properdin in proteinuric renal disease. **J. Biol. Chem.**, v.286, n.7, p.5359-5367, 2011.

ZARKADIS, I. K.; MASTELLOS, D.; LAMBRIS, J. D. Phylogenetic aspects of the complement system. **Dev. Comp. Immunol.**, v.25, n.8-9, p.745-762, 2001.

ZHANG, X. L.; ALI, M. A. Ficolins: structure, function and associated diseases. **Adv. Exp. Med. Biol.**, v.632, p.105-15, 2008.

ZHOU, W.; FARRAR, C. A.; ABE, K.; PRATT, J. R.; MARSH, J. E.; WANG, Y.; STAHL, G. L.; SACKS, S. H. Predominant role for C5b-9 in renal ischemia/reperfusion injury. **J. Clin. Invest.**, v. 105, n. 10, p. 1363-1371, 2000.

ZIPFEL, P. F.; HELLWAGE, J.; FRIESE, M. A.; HEGASY, G.; JOKIRANTA, S. T.; MERI, S. Factor H and disease: a complement regulator affects vital body functions. **Mol. Immunol.**, v. 36, n. 4-5, p. 241-248, 1999.

ZIVKOVIC, B. Physiology: coordinated response. **Scientific American**. 2011. Disponível em: <http://blogs.scientificamerican.com/a-blog-around-the-clock/2011/11/19/bio101-physiology-coordinated-response/>. Acesso em: 18/01/2012.