



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS I
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE- CCBS
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

JESSIKA ISMYRNA GAMA NUNES

**VENENOS BOTRÓPICOS E HEMOSTASIA: INTERAÇÕES ENTRE TOXINAS
E OS ELEMENTOS DO SISTEMA DE COAGULAÇÃO SANGUÍNEA**

**CAMPINA GRANDE
2019**

JESSIKA ISMYRNA GAMA NUNES

**VENENOS BOTRÓPICOS E HEMOSTASIA: INTERAÇÕES ENTRE TOXINAS
E OS ELEMENTOS DO SISTEMA DE COAGULAÇÃO SANGUÍNEA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito à obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Área de concentração: Toxinologia

Orientador: Prof. Me. José Cavalcante da Silva

**CAMPINA GRANDE
2019**

É expressamente proibido a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

N972v Nunes, Jessika Ismyrna Gama.
Venenos botrópicos e hemostasia [manuscrito] : interações entre toxinas e os elementos do sistema de coagulação sanguínea / Jessika Ismyrna Gama Nunes. - 2019.
31 p. : il. colorido.
Digitado.
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde , 2019.
"Orientação : Prof. Me. José Cavalcante da Silva ,
Coordenação de Curso de Biologia - CCBS."
1. Envenenamento. 2. Serpente. 3. Bothrops. 4.
Hemostasia. I. Título
21. ed. CDD 571.95

JESSIKA ISMYRNA GAMA NUNES


**VENENOS BOTRÓPICOS E HEMOSTASIA: INTERAÇÕES ENTRE TOXINAS
E OS ELEMENTOS DO SISTEMA DE COAGULAÇÃO SANGUÍNEA**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Centro de Ciências
Biológicas e da Saúde da Universidade
Estadual da Paraíba, como requisito à
obtenção do título de Bacharel em
Ciências Biológicas.

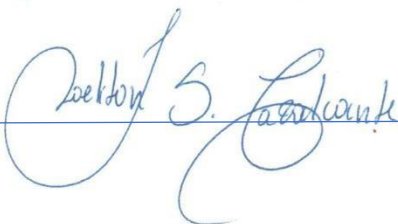
Área de concentração: Toxinologia

Aprovada em: 23/08/2019.

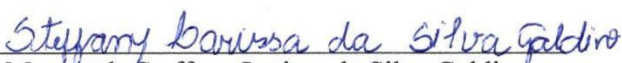
BANCA EXAMINADORA



Prof. Me. José Cavalcante (Orientador)
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Mestrando Joeliton dos Santos Cavalcante
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP)



Mestranda Steffany Larissa da Silva Galdino
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

A minha Família e a Deus,
Dedico.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais agradeço Ivanildo e Socorro, por todo apoio e cuidado durante todo o percurso da minha graduação, por não medirem esforços na busca da concretização desse sonho, pelo incentivo e com todas as dificuldades me ajudaram nessa conquista e agradeço todos àqueles que de forma direta e indireta me ajudaram. E o maior agradecimento de todos, a Deus, que mesmo em meio a tantas dificuldades, me deu forças pra chegar aonde cheguei e me ensinou com amor, que tudo é no tempo dele, que com lágrimas em várias madrugadas acordada, me fortaleceu a vencer todos os dias.

Ao meu grupinho inseparável de graduação, que viveram comigo os melhores e piores momentos, e mesmo cada um tomando rumos diferentes, permanecem no meu coração. O meu desejo que todos sejam abençoados e que o sucesso e a felicidade os alcance.

Agradeço a instituição a Universidade Estadual da Paraíba, por me proporcionar todo ensinamento e conhecimento, por todos os professores que passaram pela minha vida acadêmica e tanto me ensinaram. Agradeço com o coração cheio de alegria a UEPB por ter me presenteado com um dos melhores presentes da vida, de me tornar uma Bióloga. Hoje sei o quanto essa profissão é valiosa, e espero que todos os meus conhecimentos adquiridos possam ser úteis a todos, e confirmo meu juramento em Honrar a biologia por onde eu passar.

À banca examinadora meu agradecimento. Ao professor José Cavalcante por ter me acolhido com bastante entusiasmo e determinação, a Steffany Larissa porque ter me dado forças e me auxiliado de todas as formas quando precisei e por ter aceitado o convite com tanto carinho, a Joeliton Cavalcante que mesmo na distância e com todos os seus compromissos, esteve à disposição para participar da banca e pelos seus conhecimentos que me enriqueceram como Bióloga.

E por fim quero agradecer de forma geral, principalmente a Deus, por ter me permitido colher os frutos que um dia eu plantei com tanto amor, e por ter me feito entender que pra Deus nada é impossível. A minha família, meus amigos, amo vocês e oro a Deus para que a vida de vocês seja repleta de bênçãos, que o amor, a felicidade, a saúde sejam abundantes, que os sorrisos nunca cheguem a faltar e

quando as lagrimas por algum motivo venha a tomar seu coração, lembrem-se que o choro pode durar uma noite, mas alegria vem pela manhã.

-Que os vossos esforços desafiem as impossibilidades, lembrai-vos de que as grandes coisas do homem foram conquistadas do que parecia impossível.
(Charles Chaplin).¶

RESUMO

Os venenos de serpentes são misturas compostas majoritariamente por íons e complexas misturas de proteínas, carboidratos, lipídeos e peptídeos conferindo efeitos a níveis fisiológicos. Entre os efeitos possíveis, os distúrbios na coagulação sanguínea é um dos efeitos mais proeminentes em envenenamento com serpentes do gênero Bothrops, devido a presença de toxinas que causam: hemorragias, deficiência na coagulação e ainda inflamações. Dessa forma, os venenos podem ser classificados em: coagulantes e anticoagulantes quando estes atuam no sistema de coagulação sanguínea, de fatores hemorrágicos quando causam lesão vascular, e ainda agregantes e antiagregantes plaquetários quando agem sobre plaquetas. O presente estudo consiste em um estado da arte visando a explanação das principais toxinas que atuam no sistema hemostático durante o envenenamento, através dos aspectos estruturais e mecanismos de ação destas. Destacam-se, as seriproteases são um grupo de enzimas que catalisam uma ampla gama de reações envolvendo a cascata de coagulação. As metaloproteases, enzimas que dependem de íons metálicos para exercerem suas funções. São responsáveis por induzirem edema, mionecrose, bolhas, dermonecrose, uma reação inflamatória proeminente e hemorragia. As fosfolipases A2 são enzimas também presentes nos venenos de serpentes, estas catalisam a hidrólise de glicerofosfolipídeos de membranas celulares - eritrócitos (hemólise) e células do músculo esquelético (rabdomiólise) - contribuindo largamente para o estresse oxidativo. Dessa forma, percebe-se que dentre a composição dos venenos de serpentes, cada toxina é responsável por seu determinado efeito fisiopatológico durante o envenenamento.

Palavras-Chave: Envenenamento. Serpente. Veneno.

ABSTRACT

Snake venoms are mixtures composed mostly of ions and complex mixtures of proteins, carbohydrates, lipids and peptides conferring effects at physiological levels. Among the possible effects, blood coagulation disorders is one of the most prominent effects in Bothrops snake venom poisoning, due to the presence of toxins that cause bleeding, coagulation deficiency and inflammation. Thus, poisons can be classified into: coagulants and anticoagulants when they act on the blood coagulation system, hemorrhagic factors when causing vascular injury, and platelet aggregating and antiaggregating agents when acting on platelets. The present study consists of a state of the art aiming at the explanation of the main toxins that act in the hemostatic system during the poisoning, through their structural aspects and mechanisms of action. Noteworthy, seriproteases are a group of enzymes that catalyze a wide range of reactions involving the coagulation cascade. Metalloproteases, enzymes that rely on metal ions to perform their functions. They are responsible for inducing edema, myonecrosis, blisters, dermonecrosis, a prominent inflammatory reaction and hemorrhage. Phospholipases A2 are enzymes also present in snake venoms, they catalyze the hydrolysis of cell membrane glycerophospholipids - erythrocytes (hemolysis) and skeletal muscle cells (rhabdomyolysis) - largely contributing to oxidative stress. Thus, it is clear that among the composition of snake venoms, each toxin is responsible for its determined pathophysiological effect during poisoning.

Keywords: Snakebite. Snake. Venom.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	12
2 METODOLOGIA.....	17
3 REVISÃO.....	18
3.1. As serinoproteases	19
3.2. As lectinas.....	20
3.3. As metaloproteases	21
3.4 As desintegrinas.....	21
3.5 L-aminoácido oxidases	22
3.6 As Fosfolipases.....	22
3.7 Miotoxinas	23
3.8 Fatores de Crescimento	24
3.9 Peptídeos potencializadores da bradicinina.....	24
3.10 Toxinas que atuam a nível sistêmico	25
4. CONCLUSÃO.....	28
5. REFERÊNCIAS	29

1 INTRODUÇÃO

As serpentes são derivadas dos lagartos Scleroglossa. A remodelação da massa corporal de um vertebrado em uma forma serpentina foi acompanhada por especializações dos mecanismos de locomoção (serpentina, retilínea, em concertina e por alças laterais), de captura de presas (constricção e uso de veneno) e de deglutição (um crânio altamente cinético) (POUGH, 2008). Distribuem-se por quase todos os nichos ecológicos, com exceção das calotas polares. Existem serpentes aquáticas, onde estas são habitantes tanto de águas dulcícolas, quanto de águas marinhas. No ambiente terrestre, as serpentes distribuem-se por matas, savanas e até desertos, adotando hábitos fossoriais (FRANCO, 2014).

No Brasil, as serpentes peçonhentas estão agrupadas em duas famílias, Elapidae e Viperidae. As serpentes pertencentes à família Viperidae são caracterizadas principalmente pelo tipo de dentição apresentada, a solenóglifa, na qual o maxilar é reduzido e móvel, com presas muito desenvolvidas na região anterior (Figura 1). Essas presas são canaliculadas e ligadas por meio de ductos a glândulas de peçonha. Viperídeos de pequeno porte e juvenis de espécies grandes se alimentam de lagartos e anfíbios, enquanto que as espécies maiores se alimentam de mamíferos, no entanto, as dietas algumas vezes podem ser extremamente variadas apresentando uma grande diversidade alimentícia (MELGAREJO, 2014).

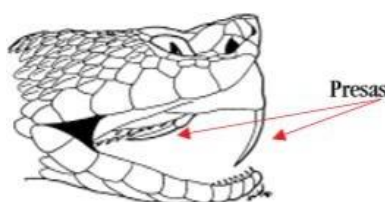


Figura 1. Representação esquemática de dentição do tipo solenóglifa. FONTE: FUNASA, 2001.

Os representantes dessa família apresentam ampla distribuição ocorrendo nas Américas, África (exceto Madagascar), Europa, Ásia, Indonésia, Filipinas e estão distribuídas nas subfamílias Azemiopinae, Viperinae, Crotalinae (FRANCO, 2014). A subfamília Crotalinae compreende aproximadamente 18 gêneros e 156 espécies

Quadro 1 - Serpentes responsáveis por acidentes botrópicos no Brasil com seus respectivos nomes científicos anteriormente usados na literatura e atualizados, e alguns de seus nomes populares.

Nome científico	Nome anterior	Nome popular
<i>Bothriopsis bilineata</i> (Wied, 1825)	<i>Bothrops bilineatus</i>	Bico-de-papagaio, papagaia, jararaca-verde
<i>Bothriopsis taeniata</i> (Wagler, 1824)	<i>Bothrops taeniatus</i> , <i>Bothrops castelnaudi</i>	Jararaca-estrela, jararaca-cinza
<i>Bothrocophias hyoprora</i> (Amaral, 1935)	<i>Bothrops hyoprurus</i> , <i>Porthidium hyoprora</i>	Jararaca-bicuda
<i>Bothropoides alcatraz</i> (Marques, Martins & Sazima, 2002)	<i>Bothrops alcatraz</i>	Jararaca-de-Alcatraz
<i>Bothropoides diporus</i> (Cope, 1862)	<i>Bothrops diporus</i> , <i>B. neuwiedi diporus</i>	Jararaca-pintada
<i>Bothropoides erythromelas</i> (Amaral, 1923)	<i>Bothrops erythromelas</i>	Jararaca-da-seca
<i>Bothropoides insularis</i> (Amaral, 1921)	<i>Bothrops insularis</i>	Jararaca-ilhõa
<i>Bothropoides jararaca</i> (Wied, 1824)	<i>Bothrops jararaca</i>	Jararaca
<i>Bothropoides lutzi</i> (Miranda-Ribeiro, 1915)	<i>Bothrops neuwiedi neuwiedi</i> , <i>B. n. pihauyensis</i>	Jararaca-pintada
<i>Bothropoides marmoratus</i> (Silva & Rodrigues, 2008)	<i>Bothrops marmoratus</i>	Jararaca-pintada
<i>Bothropoides mattogrossensis</i> (Amaral, 1925)	<i>Bothrops mattogrossensis</i>	Jararaca-pintada
<i>Bothropoides neuwiedi</i> (Wagler, 1824)	<i>Bothrops neuwiedi</i>	Jararaca-pintada
<i>Bothropoides pauloensis</i> (Amaral, 1925)	<i>Bothrops pauloensis</i>	Jararaca-pintada
<i>Bothropoides pubescens</i> (Cope, 1870)	<i>Bothrops pubescens</i>	Jararaca-pintada
<i>Bothrops atrox</i> (Linnaeus, 1758)		Jararaca, surucucu, combóia
<i>Bothrops brazili</i> (Hoge, 1954)		Jararaca
<i>Bothrops jararacussu</i> (Lacerda, 1884)		Jararacuçu
<i>Bothrops leucurus</i> (Wagler, 1824)		Jararaca
<i>Bothrops marajoensis</i> (Hoge, 1966)		Jararaca
<i>Bothrops moojeni</i> (Hoge, 1966)		Jararaca. Caissaca
<i>Bothrops muriciensis</i> (Ferrarezzi & Freire, 2001)		Jararaca
<i>Bothrops pirajai</i> (Amaral,		Jararaca

1923)		
<i>Rhinocerothis alternatus</i> (Duméril, Bibron & Duméril, 1854)	<i>Bothrops alternatus</i>	Urutu-cruzeiro, cruzeira
<i>Rhinocerothis cotiara</i> (Gomes, 1913)	<i>Bothrops cotiara</i>	Cotiara
<i>Rhinocerothis fonsecai</i> (Hoge & Belluomini, 1959)	<i>Bothrops fonsecai</i>	
<i>Rhinocerothis itapetiningae</i> (Boulenger, 1907)	<i>Bothrops itapetiningae</i>	

FONTE: BERNARDE, 2011.

Os acidentes botrópicos de forma geral, são caracterizados pela presença de manifestações clínicas sistêmicas e locais, que auxiliam quanto a classificação do acidente (Quadro 2). Dentre as manifestações locais estão: surgimento de lesões hemorrágicas, mionecrose e edema intenso, exsudato purulento e dor forte no local da mordida, em casos mais graves, pode haver dano tecidual podendo resultar em perda funcional ou permanente do tecido ou do membro afetado (OTERO et al., 2002).

Quadro 2: Classificação do acidente ofídico botrópico quanto à gravidade.

Manifestações e Tratamento	Classificação do acidente		
	Leve	Moderado	Grave
Locais Dor, edema e equimose	Ausentes ou discretas	Evidentes	Intensas
Sistêmicos Hemorragia grave, choque e anúria	Ausentes	Ausentes	Presentes
Tempo de Coagulação	Normal ou alterado	Normal ou alterado	Normal ou alterado

FONTE: FUNASA, 2001.

Uma das principais características do acidente botrópico é dor intensa e imediata, sendo uma ocorrência relatada em acidentes envolvendo vítimas humanas, uma consequência das alterações na transdução nos nociceptores modulada por mediadores inflamatórios, onde a hiperalgesia causada pela ação do veneno botrópico é induzida e mediada por prostaglandinas, leucotrienos e fatores de agregação plaquetária, além de metaloproteases (KING, 2007).

O edema local é um dos principais sintomas clínicos apresentados pelas vítimas, de ocorrência multifatorial devida às ações dos diversos componentes da toxina. O veneno botrópico age sobre a vasculatura, aumentando a permeabilidade dos vasos e conseqüentemente acarretando o extravasamento do sangue. As fosfolipases determinam a liberação de histamina por mastócitos, causam lesões em diversos tipos celulares, com liberação de ácido araquidônico pelos fosfolipídios de membrana. (FRANÇA; MÁLAQUE, 2014).

Outra característica da inoculação de veneno botrópico é a formação de bolhas, devida a alterações em várias camadas da pele, normalmente com separação da junção derme-epiderme. As bolhas decorrem da influência do veneno sobre a matriz extracelular e componentes de adesão celular (RUCAVADO et al., 1998). A necrose do membro lesionado pelas diversas ações do veneno botrópico é a mais dramática das sequelas, sendo responsável por perdas definitivas de tecido e conseqüente perda de função e amputações (FRANÇA; MÁLAQUE, 2014).

Com relação ao quadro sistêmico, as atividades coagulantes, hemorrágicas e proteolíticas apresentam-se bem estudadas. Os coeficientes de letalidade, decorrentes de acidentes ofídicos, têm decrescido ao longo do tempo. Esse fato deve-se à eficácia do soro antibotrópico em neutralizar os efeitos sistêmicos (CARDOSO et al., 2014).

As complicações presentes em acidentes botrópicos, presentes entre os casos que levam ao óbito das vítimas no Brasil, é a insuficiência renal aguda. Processo que ocorre devido a soroterapia tardia ou ainda, pode ocorrer mesmo após o tratamento soroterápico devido à ocorrência de hemólise intravascular e deposição de fibrina nos capilares glomerulares (SENISE; YAMASHITA; SANTORO, 2015).

Apesar das propriedades tóxicas pró-coagulantes do veneno, devido à fibrinogénólise, as toxinas desencadeiam um quadro de coagulopatias de consumo, tornando o sangue parcialmente ou totalmente incoagulável (MCCLEARY; KINI, 2013). Esse quadro de incoagulabilidade sanguínea, deve-se ao fato do homem não ser o principal alvo das serpentes, e sim suas presas, caracterizados principalmente como animais de pequeno porte onde, quando ocorre a inoculação do veneno na corrente sanguínea do animal, ocorre uma coagulação sanguínea massiva em segundos, resultando conseqüentemente na obstrução circulatória, seguida de morte rápida. Em seres humanos, devido ao maior volume sanguíneo, a quantidade de veneno inoculada em um acidente ofídico não é suficiente para desencadear os mesmos efeitos que são de

esperar, por exemplo, num rato, a não ser que a serpente inocule na vítima uma grande quantidade de veneno (ROJNUCKARIN, 2010; VALENTA, 2010).

Dessa forma, o presente estudo teve por objetivo explorar a composição do veneno botrópico e suas interações com os elementos do sistema de coagulação sanguínea.

2 METODOLOGIA

A revisão de literatura foi realizada durante o período de 22 de março a 22 de abril de 2019, em plataformas online de busca de trabalhos científicos, a saber: NCBI, SCIENCE DIRECT, MDPI. As combinações de palavras-chave utilizadas foram: -veneno de serpentes, -toxinas, -serinoproteases, -metaloproteases, -fosfolipases A2 e -hemostasia e -veneno botrópico. Foram utilizados ainda manuais do ministério da saúde, livros e documentos onlines.

3 REVISÃO

Os venenos de serpentes do gênero *Bothrops* caracterizam-se principalmente por desencadearem inflamação aguda, necrose e alterações na hemostasia da vítima. Os venenos dessas serpentes contêm diversas proteínas de interesse, incluindo enzimas procoagulantes, coagulantes, anticoagulantes, fibrinolíticas, agonistas e antagonistas plaquetários e hemorrágicas (MORITA, 2004), além da ação proteolítica, resultado possivelmente da ação de proteases, hialuronidases e fosfolipases (BOECHAT et al., 2001).

A atividade sobre a coagulação sanguínea é resultado da ação de toxinas do veneno capazes de ativar fibrinogênio, protrombina e fatores de coagulação, ocasionando um consumo de fibrinogênio e formação de fibrina intravascular. A atividade hemorrágica é resultado da ação de hemorraginas que lesionam o endotélio vascular (degradando componentes da matriz extracelular) atuando como desintegrinas (FUNASA, 2001). O Quadro 2 apresenta os principais componentes proteicos, peptídicos e não-proteicos do veneno botrópico.

Quadro 2: Principais compostos bioquímicos do veneno botrópico.

Principais componentes do veneno botrópico											
Enzimáticos		Não enzimáticos		Desintegrinas		Orgânicos		Inorgânicos			
Fosfolipases		Lectinas		Neurotóxico		Aminas Biogênicas		Cálcio			
Fosfoesterases		Ativadores de proteína C		Citotóxico		Carboidratos		Cobre			
L-aminoácido oxidase		Féptídicos		Potenciadores de Bradicinina		Aminoácidos		Ferro			
Acetilcolinesterase				Cardiotóxicos		Citratos		Potássio			
Serinoproteases				Não-Protéicos		Nucleotídeos		Magnésio			
Metaloproteases								Sódio			
Hialuronidasas								Fósforo			
Catalases								Zinco			
Aminotransferases											
Cininogenases											
Ativadores de fator X											

FONTE: Reproduzido de NETTO, 2007.

3.1. As serinoproteases

As serinoproteases apresentam uma grande diversidade de funções biológicas, entre elas o processo da digestão da presa, ativação do sistema complemento, diferenciação celular e atividades sobre a homeostasia, contribuindo para o efeito tóxico quando associadas com outras proteínas do veneno, e afetam muitos passos na cascata de coagulação, muitas vezes não especificamente através da degradação proteolítica, mas através da ativação ou inativação de alguns fatores envolvidos na agregação plaquetária, coagulação e fibrinólise (BRAUD et al., 2000). Através de um mecanismo catalítico comum, atuam apresentando os resíduos de aminoácido serina, histidina e ácido aspártico reativo (SERRANO, 2013).

3.2. As lectinas

As lectinas tipo C e as lectinas tipo C like são encontradas em venenos de serpentes pertencentes às famílias Viperidae, Elapidae e Crotalidae. Algumas atividades biológicas das lectinas de serpentes já terem sido descritas, tais como, capacidade de aglutinar eritrócitos *in vitro*, atividade mitogênica sobre linfócitos e agregação plaquetária (DJALDETTI et al., 1980; GARTNER et al., 1980). São desprovidas de atividade ligante a carboidratos, sendo encontradas apenas em venenos de serpentes. Estão presentes na forma de homodímeros $\alpha\beta$ ligados por pontes dissulfeto com dois polímeros homólogos (Figura 4), apresentando capacidade de aglutinação de eritrócitos e ligação a carboidratos (LU et al., 2005; MORITA, 2005; OGAWA et al., 2005).

Entretanto, parte dessas moléculas parecem ter perdido a propriedade ligante a carboidratos sendo denominadas lectin-like. As lectinas são dependentes de cálcio e divididas em dois grupos. O grupo I, domínio completo e grupo II, domínio incompleto de reconhecimento de carboidratos, com aproximadamente 130 aa por subunidades e massa de 30 kDa. (ZINGALI et al., 1993; CASTRO et al., 1998).

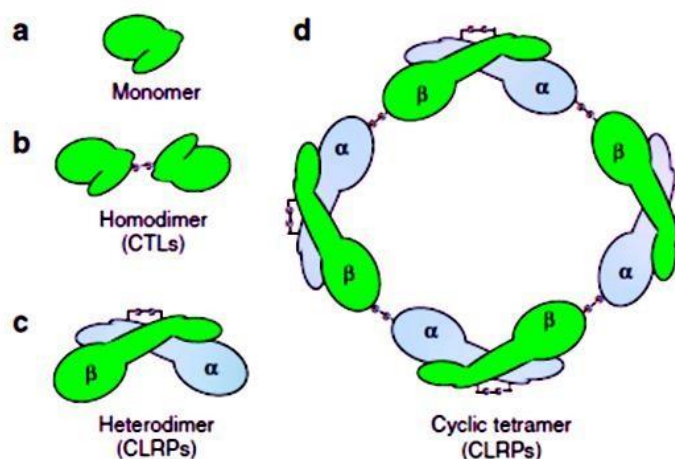


Figura 4. Representação esquemática de lectinas tipo-C e proteínas relacionadas as lectinas tipo-C (CLRPs). FONTE: DOYLE; KINI, 2009.

3.3. As metaloproteases

As snake venoms metaloproteases (SVMPs) compreendem uma subfamília de enzimas dependentes do zinco. Apresentam uma massa molecular variável, sendo elas responsáveis pela mionecrose no local da picada, hemorragias e reações inflamatórias (KINI; KOH, 2016). As SVMPs exercem função catalítica de hidrólise da ligação peptídica entre resíduos de aminoácidos (aa) de uma proteína. São enzimas que dependem de íons metálicos para exercerem suas funções, e compõem uma importante classe de toxinas presentes no veneno das serpentes, representando aproximadamente 32% da composição da peçonha de Viperídeos. Estão envolvidas no processo de modulação do processo de hemostasia, indução da resposta inflamatória, efeitos cardiovasculares, miotóxicos e hemorrágicos (FOX; SERRANO, 2008).

Através da proteômica e do transcriptoma de glândula de peçonha de viperídeos, tem sido comprovado que as SVMPs são um dos constituintes mais numerosos e abundantes presentes no veneno destas serpentes (CALVETE et al., 2007; NUNEZ et al., 2009; TERRA et al., 2009). Variam de 11 a 65 % do total de proteínas que constituem os venenos desta família de serpentes. Essa subfamília de enzimas, clivam seletivamente um pequeno número de proteínas chave na cascata de coagulação sanguínea e em agregação plaquetária. Esta proteólise limitada conduz à ativação ou inativação de proteínas que estão envolvidas nestes processos, resultando assim em distúrbios na coagulação sanguínea e na agregação plaquetária (KINI; KOH, 2016). Adicionalmente, elas estão envolvidas na patogênese da hemorragia induzida por veneno envolve dano direto de vasos sanguíneos

3.4 As desintegrinas

As desintegrinas são peptídeos que apresentam um baixo peso molecular, que compreende de 5 a 9 KDa, ricas em pontes dissulfeto, derivados de venenos de serpentes, que contém uma sequência formada por arginina, glicina e ácido aspártico caracterizando seu sítio ativo, que interage com integrinas nas superfícies da célula. Atuam se ligando às integrinas, proteínas de superfície celular responsáveis pelas interações entre as células, dessa forma interferem na ligação intercelular, bloqueando a

ligação de fibrinogênio e complexos do VWF (GPII/IIIa), mediador da agregação plaquetária (MATSUI; HAMAKO; TITANI, 2010). As desintegrinas-like ou desintegrinas-símile, constituem uma classe de toxinas de peptídeos de baixo peso molecular. São encontradas no veneno de forma livre e associadas a metaloproteases, compondo assim o domínio desintegrina (CALVETE, 2013).

3.5 L-aminoácido oxidases

As L-aminoácido oxidases (LAAOs) são flavoenzimas que catalisam a desaminação estereoespecífica de substratos L-aminoácidos, com a produção de peróxido de hidrogênio e amônia. Esse grupo de enzimas apresentam diversas atividades biológicas, entre elas a agregação de plaquetas, hemorragia, edema e citotoxicidade (DU; CLEMETSON, 2002; ZHANG et al., 2003).

3.6 As Fosfolipases

As fosfolipases A2 (PLA2) encontradas no veneno de serpentes, são uma superfamília de enzimas que catalisam especificamente a hidrólise da ligação 2-acil éster de glicerofosfolípídios de membranas celulares, originando produtos metabólicos, como o ácido araquidônico, que atuam como precursores de mediadores inflamatórios, importantes em vias de sinalização intracelular, como transmissão neuronal, mitogênese, contração da musculatura lisa e ativação de plaquetas (LOMONTE; GUTIERREZ, 2011; MURAKAMI et al., 2011).

A atividade anticoagulante de certas enzimas de fosfolipases A2 é desencadeada através de sua interação com proteínas de coagulação sanguínea (KINI, 2006). Apresentam atividade sobre uma variedade de células, especialmente nos eritrócitos (hemólise) e nas células do músculo esquelético (rabdomiólise), contribuindo largamente para o estresse oxidativo (BARONE et al., 2011; BARONE et al., 2014).

Tendo acesso ao sistema circulatório, as PLA2s causam hemólise, visando a quebra dos lipídeos de membrana de eritrócitos resultando na liberação de hemoglobina (Hb) livre. A Hb livre de células sofre oxidação espontânea, e também reage com o óxido nítrico (NO), um vasodilatador produzido por células de vasos endoteliais para

gerar metemoglobina (MtHb). MtHb é altamente pró-oxidante na natureza, ele pode prontamente liberar heme férrico, que pode atravessar facilmente a membrana celular e aumentar a atividade oxidante de células próximas (GLADWIN, 2006). Ao longo das linhas de Hb, a mioglobina sofre oxidação e liberta ferro livre, que pode catalisar a formação de radicais livres (Figura 6). Assim, a ação da PLA 2 desempenha um pivot no cenário de estresse oxidativo sistêmico e inflamação (SUNITHA et al., 2015).

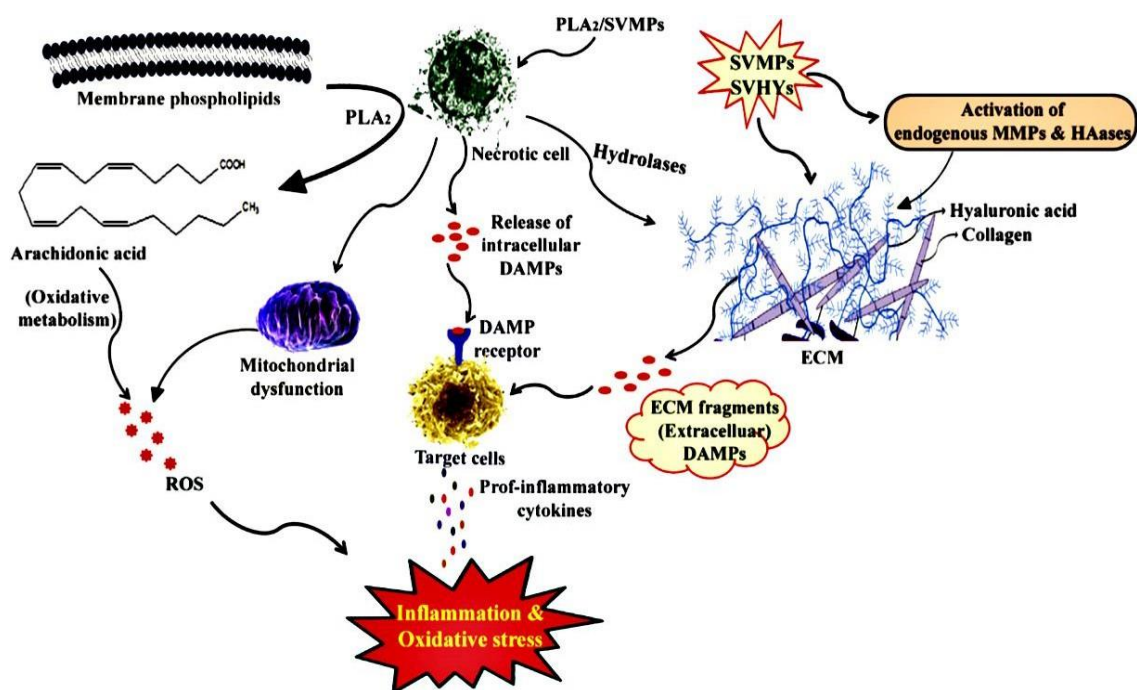


Figura 6. Representação esquemática da ação de fosfolipases A₂ e metaloproteases (secundária a isquemia) nas células alvo provoca a formação de massa, seguindo-se a liberação de DAMPs extracelulares. FONTE: SUNITHA et al., 2015.

3.7 Miotoxinas

As miotoxinas também conhecidas por toxinas mionecróticas, são encontradas em venenos de serpentes, sendo uma das mais conhecidas a miotoxina-a. Esta, possui ação ligante especificamente ao retículo sarcoplasmático dos músculos, acarretando alterações na permeabilidade iônica do retículo sarcoplasmático. Como consequência

dessas alterações são desencadeados processos de formação de edema e desintegração de ambos os retículos e fibras musculares (KOH et al., 2006).

3.8 Fatores de Crescimento

Os fatores de crescimento de venenos de serpentes mais observados são os fatores de crescimento de nervos (NGF - Nerve Growth Factor) e fatores de crescimento de vasos endoteliais (VEGFs - Vascular Endothelial Growth Factor), apresentando variações quanto a quantidade presente no veneno, sendo os VEGFs presentes em maior quantidade (JUNQUEIRA-de-AZEVEDO et al., 2001).

Os VEGFs são proteínas diméricas ligantes a receptores do tipo tirosina-quinase, intimamente envolvidos em processos de neovascularização como vasculogênese e angiogênese (TAKAHASHI et al., 2004; YAMAZAKI; MORITA, 2006). Quando isolado da serpente *B. insularis*, indentificou-se uma forma ativa de svVEGF capaz de promover um aumento da permeabilidade vascular (JUNQUEIRA-de-AZEVEDO et al., 2001).

Os svVEGFs funcionam como dímeros, cada cadeia é composta por aproximadamente 110 a 122 resíduos de aa. O motivo de cisteína, a característica da família de proteínas VEGF, é completamente conservada em svVEGFs e a identidade da sequência com VEGF165 humano é de próximo de 50%. SvVEGFs contribuem para o aumento da toxicidade no envenenamento, e apresentam características biológicas individuais refletindo divergências na classificação da serpente hospedeira (GASMI et al., 2002; TAKAHASHI et al., 2004; TAKAHASHI; SHIBUYA, 2005).

3.9 Peptídeos potencializadores da bradicinina

Os peptídeos de venenos de serpentes são fontes biológicas ricas, porém pouco explorados. Se ligam a alvos vitais que influenciam os processos fisiológicos, como a homeostasia do sangue e homeostasia nos sistemas cardiovascular e nervoso (GEORGIEVA et al., 2008).

Considerando a especificidade pelo alvo elevada, tamanho pequeno, a estabilidade de sua estrutura e a facilidade de síntese química, os peptídeos tornam-se alternativas promissoras para os medicamentos contemporâneos. Alguns componentes

presentes no veneno podem ser usados diretamente ou como protótipos de drogas para o tratamento de doenças que não respondem a drogas disponíveis atualmente (GEORGIEVA et al., 2008; CALVETE et al., 2009).

Os BPP atuam inibindo a enzima conversora de angiotensinogênio e, conseqüentemente, não há a formação de Angiotensina II e assim, atua como substância vasodilatadora (NEIVA et al., 2012).

Alguns destes componentes já se encontram em aplicação pré ou clínica para o tratamento de hipertensão, doenças cardiovasculares, esclerose múltipla, diabetes e dor (LEWIS; GARCIA 2003). O maior exemplo e mais conhecido, é o uso do peptídeo potencializador de bradicinina (BPP) que foi isolado a partir do veneno de *B. jararaca*, onde o mesmo serviu de protótipo para o primeiro inibidor, via oral ativo da enzima de conversão da angiotensina (ECA), o BPP com o nome de captopril (CUSHMAN; ONDETTI 1999).

3.10 Toxinas que atuam a nível sistêmico

Uma grande variedade de toxinas ofídicas é capaz de atuar sobre a hemostasia. Sabe-se que os venenos de serpentes são compostos por uma complexa mistura de componentes que induzem uma série de manifestações clínicas nos envenenamentos humanos, onde venenos das serpentes do gênero *Bothrops* são caracterizados por deflagrarem principalmente três atividades fisiopatológicas: inflamatória aguda, sobre coagulação e plaquetas, e hemorrágica (FRANÇA; MÁLAQUE, 2009).

Segundo as atividades sobre o sistema hemostático, os componentes dos venenos são classificados em: coagulantes e anticoagulantes quando atuam na coagulação, agregantes e antiagregantes plaquetários que agem sobre as plaquetas e fatores hemorrágicos, quando causam lesão vascular (SANO-MARTINS; SANTORO, 2009).

A associação da atividade coagulante do veneno com sua atividade sobre as plaquetas e vasos sanguíneos torna o quadro clínico das vítimas de acidente ofídico preocupante, uma vez que pode levar a complicações. Em geral, os venenos de serpentes do gênero *Bothrops* clivam fibrinogênio, ativam protrombina, fator X, e plaquetas (SANO-MARTINS; SANTORO, 2009).

As enzimas do tipo trombina presentes na composição do veneno de serpentes são SVSPs que, assim como a trombina são capazes de coagular fibrinogênio, embora

apresentem apenas 33% da identidade de sequência com trombina. Estas enzimas realizam diretamente a conversão do fibrinogênio em monômero de fibrina, que ativam os fatores II e X, levando à formação de trombina endógena (CASTRO; DUTRA; OLIVEIRA-CARVALHO; ZINGALI, 2004).

Dentre a composição venômica, os ativadores de protrombina são proteases de metalo ou de serina. Com base no mecanismo de ação e seus requisitos de cofator, são categorizadas em quatro grupos, A, B, C e D. Os ativadores dos grupos A e B são metaloproteases, o grupo C e os ativadores de protrombina D serinoproteases (SILVA et al., 2003; KINI, 2005).

Além da ação coagulante, esse gênero possui toxinas com ação anticoagulante. Os inibidores de trombina já foram isolados de venenos de serpentes em *B. alternatus* e *B. jararaca*. A Botrojaracina é um exemplo de inibidor de trombina, com massa molecular de 27 kDa, com semelhanças à lectina do tipo C. Esta toxina se liga a sítios secundários I e II da trombina, resultando na formação de um complexo não-covalente. Uma vez estabelecida, esta interação da botrojaracina com a trombina compromete a ligação desta com seus substratos, daí suas propriedades anticoagulantes (MONTEIRO et al., 2001).

Enzimas com atividade de fosfolipase A2, apresentam atividades anticoagulantes nos fosfolípidos de plaquetas, e tem sido descrita em todos os grupos de serpentes. Previamente foi sugerido que a atividade anticoagulante das fosfolipases A2 seria devida à sua atividade hidrolítica sobre fosfolípidos, que são procoagulantes. Porém, a alta afinidade por fosfolípidos aniônicos presentes em algumas fosfolipases A2 sugere que as propriedades anticoagulantes destas enzimas podem ser devidas também à competição com os fatores da coagulação pela ligação com os fosfolípidos (CLEMETSON et al., 2005).

As serinoproteases apresentam uma grande diversidade de funções biológicas, entre elas umas das características de maior relevância são as atividades sobre a hemostasia, contribuindo para o efeito tóxico quando associadas com outras proteínas do veneno, comprometendo muitos passos na cascata de coagulação, muitas vezes não especificamente através da degradação proteolítica, mas através da ativação ou inativação de alguns fatores envolvidos na agregação plaquetária, coagulação e fibrinólise (BRAUD et al., 2000).

Estudos sobre as espécies *B. jararaca*, *B. jararacussu*, *B. neuwiedi*, *B. alternatus*, e a *B. moojeni*, são as toxinas mais estudadas. A literatura registra poucos

trabalhos sobre a ação de toxinas do veneno de *B. erythromelas*, para que se possa entender e elucidar as variações intraespecíficas e os mecanismos de ação do veneno dessa serpente sobre o sistema hemostático.

Assim, como as outras espécies a *B. erythromelas* apresenta uma PLA2, denominada BE-I-PLA2 (Asp49), que apresenta massa molecular estimada em 13.6 kDa. Essa PLA2-Asp49 apresenta um potencial efeito inibitório na agregação plaquetária induzida pelo ácido araquidônico e colágeno, mas não pelo ADP. Por outro lado, essa fosfolipase não modifica a agregação em plaquetas lavadas (ALBUQUERQUE-MODESTO et al., 2006).

Uma outra fração, presente na venômica dessa serpente, é a Berythactivase. A Berythactivase é uma metaloprotease ativadora de protrombina desprovida de atividade hemorrágica que possui baixa atividade fibrinogenolítica. É uma proteína de cadeia única com uma massa molecular de 78 kDa, e a purificação global já realizada (31 vezes) indica que a Berythactivase compreende cerca de 5% do veneno bruto de *B. erythromelas* (SILVA et al., 2003).

O veneno dessa serpente contém também uma série de serina endopeptidases, outras SVMP, proteínas essas semelhantes as lectinas tipo C e as desintegrinas que interagem com os componentes do sistema hemostático levando a desordens na cascata da coagulação e agregação plaquetária (JORGE et al., 2015).

4. CONCLUSÃO

Os venenos de serpentes apresentam em sua composição proteínas que são responsáveis pelas manifestações no envenenamento. Entre elas destacam-se as fosfolipases, responsáveis por deflagarem principalmente o efeito inflamatório, uma vez que estas agem na membrana plasmática das células, rompendo-as. As metaloproteinases são proteínas dependentes do zinco para exercerem seu papel diversificado no envenenamento. Entre os efeitos estão a clivagem de fatores de coagulação, o que resulta em incoagulabilidade sanguínea, além da hemorragia, modulada através do dano direto nos vasos sanguíneos. Por fim, o terceiro componente mais abundante são as serinoproteases, toxinas responsáveis por ativação ou inativação de alguns fatores envolvidos na agregação plaquetária, coagulação e fibrinólise.

5. REFERÊNCIAS

- BARONE, J. M., ALPONTI, R. F., FREZZATTI, R., ZAMBOTTI-VILLELA, L., SILVEIRA, P. F. Differential efficiency of simvastatin and lipoic acid treatments on Bothrops jararaca envenomation-induced acute kidney injury in mice. *Toxicon*, v. 57, n. 1, p. 148-156, 2011.
- BARONE, J. M., FREZZATTI, R., SILVEIRA, P. F. Effects of N-acetyl-L-cysteine on redox status and markers of renal function in mice inoculated with Bothrops jararaca and Crotalus durissus terrificus venoms. *Toxicon*, v. 79, p. 1-10, 2014.
- BERNARDE, P. S. Mudanças na classificação de serpentes peçonhentas brasileiras. *Gazeta Médica da Bahia*, v.81, n.1, p.55-63, 2011.
- BOECHAT, A. L. R., PAIVA, C. S., FRANCA, F. O., & DOS-SANTOS, M. C. BOECHAT, Antonio Luiz R. . Heparin-antivenom association: differential neutralization effectiveness in *Bothrops atrox* and *Bothrops erythromelas* envenoming. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, v. 43, n. 1, p. 07-14, 2001.
- BRASIL. Manual de diagnóstico e tratamento de acidentes por animais peçonhentos. Brasília, Funasa. **Ministério da Saúde**. P. 9-35; 2001.
- BRAUD, S.; BON, C.; WISNER, A. Snake venom acting on hemostasis. *Biochimie*. v. 82, p. 851-859, 2000.
- CALVETE, J.J. The continuing saga of snake venom desintegrinas. *Toxicon*, v.62, p. 40-49, 2013.
- CALVETE, J.J. Venomics: Digging into the evolution of venomous systems and learning to twist nature to fight pathology, *Journal of Proteomics*, v. 72, p. 121–126. 2009.
- CALVETE, J.J.; JUAREZ, P.; SANZ, L. Snake venomics. Strategy and applications. *J Mass Spectrom*, v. 42, n. 11, p. 1405-1414, 2007.
- CARDOSO, J. L. C.; FRANÇA, F. O. S.; WE, F. H.; MALAQUE, C. M. S.; HADDAD JR, V. Animais peçonhentos no Brasil. Biologia, clínica e terapêutica. **Sarvier**, ed 2. São Paulo, 2009.
- CASTRO, H.C.; DUTRA, D.L.; OLIVEIRA-CARVALHO, A.L.; ZINGALI, R.B. Bothroaltein, a thrombin inhibitor from the venom of *Bothrops alternatus*. *Toxicon*, v. 36, p. 1903-12, 1998.
- CASTRO, H.C.; DUTRA, D.L.; OLIVEIRA-CARVALHO, A.L.; ZINGALI, R.B. Bothroaltein, a thrombin inhibitor from the venom of *Bothrops alternatus*. *Toxicon*, v. 36, p. 1903-12, 1998.

- COSTA, J. O.; FONSECA, K. C.; GARROTE-FILHO, M. S.; CUNHA, C. C.; FREITAS, M. V.; SILVA, H. S.; ARAÚJO, R. B.; PENHA-SILVA, N.; OLIVEIRA, F. Structural and functional comparison of proteolytic enzymes from plant latex and snake venoms. **Biochemie**, v. 92, p. 1760-1765, 2010.
- CUSHMAN, D.W., ONDETTI, M.A. History of the design of captopril and related inhibitors of angiotensin converting enzyme. *Hypertension*, v. 17, p. 589–592. 1991.
- DJALDETTI, M.; FISHMAN, P.; BESSLER, H. Lectin-like effect of *Echis coloratus* Venom on human and mouse lymphocytes. **Experimental hematology**, v. 8, n. 2, p. 200-208, 1980.
- DU, X.Y.; CLEMETSON, K.J. Snake venom L-amino acid oxidases. *Toxicon*, v. 40, p. 659-665, 2002.
- FOX, J.W.; SERRANO, S.M. Insights into and speculations about snake venom metalloproteinase (SMVP) synthesis, folding and disulfide bond formation and their contribution to venom complexity. **FEBS J**, v.275, n 12, p. 3016-30, 2008.
- FRANÇA, F. O. S.; MALAQUE, C. M. S. Acidentes botrópicos. In: CARDOSO, J. L. C.; FRANÇA, F. O. S.; WE, F. H.; MALAQUE, C. M. S.; HADDAD JR, V. Animais peçonhentos no Brasil. Biologia, clínica e terapêutica. **Sarvier**, ed 2. São Paulo, 2009.
- FRANCO, L. F. Origem e diversidade das serpentes. In: CARDOSO, J.L.C. et al. (Orgs.) Animais peçonhentos no Brasil: biologia, clínica e terapêutica dos acidentes. **Sarvier**: São Paulo, p.22-41, 2009.
- GARTNER, T.K.; STOCKER, K.; WILLIAMS, D.C. Thrombolectin: a lectin isolated from *Bothrops atrox* venom. **FEBS Lett**, v.117, p. 13–16, 1980.
- GASMI, A.; BOURCIER, C.; ALOUI, Z.; SRAIRI, N.; MARCHETTI, S.; GIMOND, C.; WEDGE, S.R.; HENNEQUIN, L.; POUYSSÉGUR, J. Complete structure of an increasing capillary permeability protein (ICPP) purified from *Vipera lebetina* venom. ICPP is angiogenic via vascular endothelial growth factor receptor signalling. *J. Biol. Chem.*, v. 277, p. 29992–29998, 2002.
- GEORGIEVA, D.; ARNI, R.K; BETZEL, Ch. Proteome analysis of snake venom toxins: pharmacological insights. *Expert Rev. Proteomics*, v. 5, p. 787–797, 2008.
- GLADWIN, M. T. Role of the red blood cell in nitric oxide homeostasis and hypoxic vasodilation. In: *Hypoxia and Exercise*. Springer US, p. 189-205. 2006.
- HUTTON, R. A.; WARRELL, D. A. Action of snake venoms components on the haemostatic system. **Blood reviews**, v. 7, p. 176-189, 1993.
- JORGE, R. J.; MONTEIRO, H. S.; GONCALVES-MACHADO, L.; GUARNIERI, M. C.; XIMENES, R. M.; BORGES-NOJOSA, D. M. Venomics and antivenomics of *Bothrops erythromelas* from five geographic populations within the Caatinga ecoregion of northeastern Brazil. *Journal of Proteomics*, v. 114, p. 93-114, 2015.
- JUNQUEIRA-de-AZEVEDO, I.L.M.; FARSKY, S.H.; OLIVEIRA, M.L.; HO, P.L. Molecular cloning and expression of a functional snake venom vascular endothelium

- growth factor (VEGF) from the *Bothrops insularis* pit viper. A new member of the VEGF family of proteins. *J Biol Chem.*, v. 276, p. 39836-42, 2001
- KINI, R. M; KOH, C. Y. Metalloproteases Affecting Blood Coagulation, Fibrinolysis and Platelet Aggregation from Snake Venoms: Definition and Nomenclature of Interaction Sites. **Toxins**, v. 8, n. 10, p. 284, 2016.
- KOH, D.C.; ARMUGAM, A.; JEYASEELAN, K. Snake venom components and their applications in biomedicine. *Cell. Mol. Life Sci.*, v. 63, p. 3030-3041, 2006.
- LEWIS, R.J.; GARCIA, M.L. Therapeutic potential of venom peptides, *Nat. Rev.*, v. 2, p. 790–802, 2003.
- LOMONTE B.; GUTIÉRREZ J. M. Phospholipases A2 From Viperidae Snake Venoms: How do They Induce Skeletal Muscle Damage? *Acta Chim. Slov.*, V. 58, p. 647–659, 2011.
- LU, Q.; NAVEDAIEV, A.; CLEMETSON, J., M.; CLEMETSON, K., J. Snake venom C—type lectins interacting with platelet receptors. Structure-function relationships and effects on haemostasis. **Toxicon**, v. 45, p. 1089- 1098, 2005.
- MATSUI, T.; HAMAKO, J.; TITANI, K. Structure and function of snake venom proteins affecting platelet plug formation. *Toxins*, v. 2, p. 10-23, 2010.
- MCCLEARY, R. J.; KINI, R. M. Snake bites and hemostasis/thrombosis. **Thrombosis research**, v.132, n.6, p.642-646, 2013.
- MELGAREJO, A. R. Serpentes peçonhentas do Brasil. In: CARDOSO, J. L.; FRANÇA, F. O. S.; WEN, F. H.; MÁLAQUE, C. M. S.; JR, V. H. Animais peçonhentos no Brasil: biologia, clínica e terapêutica. 2 ed. São Paulo: SARVIER, 2009.
- MORITA, T. Structures and functions of snake venom CLPs (C-type lectin-like proteins) with anticoagulant, procoagulant and platelet-modulating activities. **Toxicon**, v. 45, p. 1099-1144. 2005.
- MORITA, T. Use of snake venom inhibitors in studies of the function and tertiary structure of coagulation factors. **Int. J. Hematol.** v. 79(2), p. 123-129, 2004.
- MURAKAMI M.; TAKETOMI Y.; SATO H.; YAMAMOTO K. Secreted phospholipase A2 revisited. *J. Biochem*, v. 150, p. 233–255, 2011.
- NEIVA, M.; ARRAES, F., B.; DE SOUZA, J., V.; RADIS-BAPTISTA, G.; PRIETO DA SILVA, A., R.; WALTER, M., E.; BRIGIDO, M., D., E., M.; YAMANE, T.; LOPEZ-LOZANO, J., L.; ASTOLFI-FILHO, S. Transcriptome analysis of the Amazonian viper *Bothrops atrox* venom gland using expressed sequence tags (ESTs). *Toxicon*, v. 53, n. 2, p. 427-36, 2012.
- NUNEZ, V.; C., I., D., P.; SANZ, L.; DE LA TORRE, P.; ANGULO, Y.; LOMONTE, B.; GUTIÉRREZ, J., M.; CALVETE, J., J. Snake venomomics and antivenomics of *Bothrops atrox* venoms from Colombia and the Amazon regions of Brazil, Peru and

Ecuador suggest the occurrence of geographic variation of venom phenotype by a trend towards paedomorphism. **J Proteomics**, v. 73, n. 1, p. 57-78, 2009.

OGAWA, T.; CHIJIWA, T.; ODA-UEDA, N.; OHNO, M. Molecular diversity and accelerated evolution of a C-type lectin-like proteins from snake venom. **Toxicon**, v. 45, p.1-14, 2005.

OTERO, R.; GUTIERREZ, J. M.; BEATRIZ MESA, M.; DUQUE, E.; RODRÍGUEZ, O.; LUIZ ARANGO, J.; GÓMES, F.; TORO, A.; CANO, F.; RODRIGUES, J. M.; CARO, E. Complications of *Bothrops*, *Porthidium* and *Bothriechis* snakebites in Colombia: A clinical and epidemiologic study of 39 cases attended in a university hospital. **Toxicon**, v. 40, n.2, p.1107-1114, 2002.

POUGH, F.H.; ANDREWS, R.M.; CADLE, J.E.; CRUMP, M.L.; SAVITZKY, A.H.; WELLS, K.D. **Herpetology**, 3^a ed., Pearson Prentice Hall, Upper Saddle, New Jersey, 2008.

ROJNUCKARIN, P. Snakebite Induced Coagulopathy and Bleeding Disorders. In R. M. KINI, K. J. CLEMETSON, F. S. Markland, M. A. MCLANE; T. MORITA (Eds.), *Toxins and Hemostasis: From Bench to Bedside* (pp. 699-710). **Springer Science & Business Media**. 2010.

RUCAVADO, A.; NUÑEZ, J, GUTIÉRREZ, J.M. Blister formation and skin damage induced by BaP1, a haemorrhagic metalloproteinase from the venom of the snake *Bothrops asper*. **Int. J. Exp. Path.**, v.79, p.245-254, 1998.

SANO-MARTINS, I.S.; SANTORO, M.L. In: CARDOSO, João Luiz Costa et al. *Animais peçonhentos no Brasil: biologia, clínica e terapêutica dos acidentes*. **Sarvier**, 2003.

SENISE, L. V.; YAMASHITA, K. M.; SANTORO, M. L. *Bothrops jararaca* envenomation: Pathogenesis of hemostatic disturbances and intravascular hemolysis. **Exp Biol Med (Maywood)**. 2015.

SERRANO, S. M. The long road of research on snake venom serine proteinases. **Toxicon**, v. 62, p. 19-26, 2013.

SUNITHA, K.; HEMSHEKHAR, M.; THUSHARA, R., M.; SANTHOSH, M., S.; SUNDARAM, M. S., KEMPARAJU, K., & GIRISH, K. S. Inflammation and oxidative stress in viper bite: an insight within and beyond. **Toxicon**, 98, 89-97. 2015.

TAKAHASHI, H.; HATTORI, S.; IWAMATSU, A.; TAKIZAWA, H.; SHIBUYA, M. A novel snake venom vascular endothelial growth factor (VEGF) predominantly induces vascular permeability through preferential signaling via VEGF receptor-1. **J. Biol. Chem.**, v. 279, p. 46304–46314, 2004.

TAKAHASHI, H.; SHIBUYA, M. The vascular endothelial growth factor (VEGF)/VEGF receptor system and its role under physiological and pathological conditions. **Clinical Science**, v. 109, p. 227– 241, 2005

TERRA, R. M.; PINTO, A. F.; GUIMARAES, J. A.; FOX, J. W. Proteomic profiling of snake venom metalloproteinases (SVMPs): insights into venom induced pathology. **Toxicon**, v. 54, n. 6, p. 836-844, 2009.

VALENTA, J. Snakebite: Therapy and Prevention. In J. VALENTA (Ed.), *Venomous Snakes: Envenoming, Therapy* (2 ed., pp. 59-84). New York: **Nova Science Publishers**. 2010.

YAMAZAKI, Y.; MORITA, T. Molecular and functional diversity of vascular endothelium growth factors. **Mol. Div.**, v. 10, p. 515-527, 2006.

ZHANG, Y.I.; WANG, J.H.; LEE, W.H.; WANG, Q.; LIV, H.; ZHENG, Y.; ZHANG, Y. Molecular Characterization of *Trimeresurus stejnegeri* venom L-amino acid oxidase with potential anti-HIV activity. *Biochem Biophys Res Commun*, v. 309, p. 598-604, 2003.

ZINGALI, R.B; JANDROT-PERRUS, M.; GUILLIN, M.C.; BON, C. Bothrojaracin, a new thrombin inhibitor isolated from *Bothrops jararaca* venom: Characterization and mechanism of thrombininhibition. **Biochemistry**, v. 32, p.