



CAPTAR
ciência e ambiente para todos

volume X • número X • p XX-XX

Bioatividade antimicrobiana e antitumoral do veneno de serpentes

Os venenos de serpentes são secreções com uma diversa composição de toxinas com características estruturais e funcionais particularmente interessantes. Embora possam ser letais, os venenos exibem potentes constituintes cuja atividade e especificidade os tornam excelentes modelos para o desenvolvimento de novos fármacos. O estudo da bioatividade destas toxinas permite evidenciar a sua utilidade para o tratamento de diversas patologias que afetam a saúde humana. Desta forma, nesta revisão abordamos os principais constituintes dos venenos e os seus mecanismos no processo de envenenamento. Elucidamos relativamente às suas bioatividades antimicrobiana e antitumoral, focando, neste âmbito, o seu enorme potencial terapêutico.

Palavras-chave

bioatividade
potencial antimicrobiano
potencial antitumoral
veneno de serpentes
toxinas

André Teodoro^{1*}

Fernando J.M. Gonçalves^{1,2}

Helena Oliveira^{1,2}

Sérgio Marques^{1,2}

¹ Departamento de Biologia, Universidade de Aveiro, Aveiro, Portugal.

²CESAM- Centro de estudos do ambiente e do mar, Universidade de Aveiro, Aveiro, Portugal.

*ajorge.teodoro.silva@ua.pt

ISSN 1647-323X

INTRODUÇÃO

Os compostos naturais assumem um papel essencial na investigação farmacêutica, seja como uso direto das suas propriedades ou como modelos para o desenvolvimento de novos agentes terapêuticos. A sua importância encontra-se indubitavelmente ilustrada nos inúmeros fármacos que revolucionaram a medicina moderna, como o célebre desenvolvimento da penicilina (Atanasov et al., 2015; Gaynes, 2017). Embora as plantas, fungos e bactérias, figurem como os organismos mais explorados neste contexto, o crescente desenvolvimento das técnicas de análise têm atribuído especial relevância aos venenos animais (Zasloff, 2002).

O veneno apresenta uma mistura complexa de várias moléculas, incluindo diferentes proteínas e péptidos, que tem como função principal promover um conjunto de alterações bioquímicas e fisiológicas nos organismos alvos (Calvete et al., 2009; Fry, 2015). A elevada diversidade de animais produtores de veneno está relacionada com diferentes pressões seletivas exercidas em diferentes animais que conduziram a um desenvolvimento e evolução desta característica em múltiplas ocasiões. A complexa história evolutiva do veneno sugere uma evolução convergente (Fry et al., 2009). Estas mesmas pressões seletivas estão também de certo modo relacionadas com a complexidade da composição dos venenos, sugerindo que os venenos defensivos apresentam uma composição mais simples, cuja finalidade é promover dor intensa (King, 2011). Por outro lado, os venenos utilizados como mecanismo de caça tornaram-se mais complexos, fruto de uma evolução simultânea com as capacidades de resistência das presas (Mackessy, 2010).

Os venenos animais, devido à sua complexa composição e características únicas, surgem como secreções bastante promissoras para o desenvolvimento de novos fármacos (Calvete, Juárez, e Sanz, 2007). É de salientar que, a comercialização de drogas-baseadas em venenos encontra-se atualmente em vigor, destacando-se o Captopril isolado a partir do veneno de *Bothrops jararaca*, utilizado como antihipertensivo (Koh e Kini, 2012). Outras toxinas permanecem ainda em avaliação para aplicação terapêutica como o Prohanin, uma neurotoxina do veneno de *Ophiophagus hannah* com potencial aplicação na modelação da dor aguda (Estevão-Costa et al., 2018). Na literatura são reportadas diversas capacidades bioativas dos mais variados constituintes, incluindo capacidade antivírica (Brenes, Loría, e Lomonte, 2020), antibacteriana (Izidoro et al., 2006), antiparasítica (França et al., 2007), e antitumoral (Morjen et al., 2018), entre outras, reforçando o enorme potencial farmacológico do veneno. Deste modo, pretende-se nesta revisão explorar os venenos de serpentes, nomeadamente, no que diz respeito às suas toxinas e bioatividades reportadas.

VENENOS DE SERPENTE: PRINCIPAIS TOXINAS e ACTIVIDADES

A complexidade dos venenos encontra-se fortemente associada à sua composição proteica. O perfil de composição dos venenos compreende um conjunto principal de famílias de proteínas (Tabela I) identificadas nas várias espécies de serpentes, agrupando, contudo, uma elevada diversidade de proteínas e péptidos com características estruturais e funcionais únicas, fundamentais para o processo de envenenamento (Calvete et al., 2009). A variabilidade composicional dos venenos é verificada a diferentes níveis. Primeiramente, estas diferenças são observadas em maior escala entre espécies de serpentes de diferentes famílias como ocorre entre Viperidae e Elapidae. Nos venenos de *Daboia russelli* e de *Naja naja* a composição foi significativamente diferente, com a presença de famílias únicas entre estas duas espécies (Silva et al., 2017). Destaca-se a

presença das famílias L-amino ácido oxidase (LAAO), serina protease, Disintegrinas e Micotoxinas na espécie Viperidae, e de *Three-finger toxins* (3FTX) e acetilcolinesterase na espécie Elapidae. A variabilidade nos perfis dos venenos é igualmente observada em indivíduos com uma relação evolutiva mais próxima, nomeadamente variações interespecíficas entre indivíduos do mesmo género como verificado na comparação dos proteomas das serpentes marinhas *Hydrophis curtus* e *Hydrophis cyanocinctus*. Dada a proximidade evolutiva e filogenética, ambas as espécies partilham um perfil de proteínas semelhante, diferenciando-se na sua proporção (Wang et al., 2020). Variações intraespecíficas podem igualmente ocorrer como resultado de fatores como a distribuição geográfica, dieta e variações oncogénicas (Barlow et al., 2009; Zancolli et al., 2019). A variabilidade intraespecífica na composição do veneno encontra-se descrita para *H.curtus* (Figura 1). O proteoma de *H.curtus* da região australiana apresentou diferenças significativas em comparação com o proteoma para a mesma espécie na Malásia, nomeadamente na abundância e diversidade de neurotoxinas (Neale et al., 2017; Tan et al., 2019).

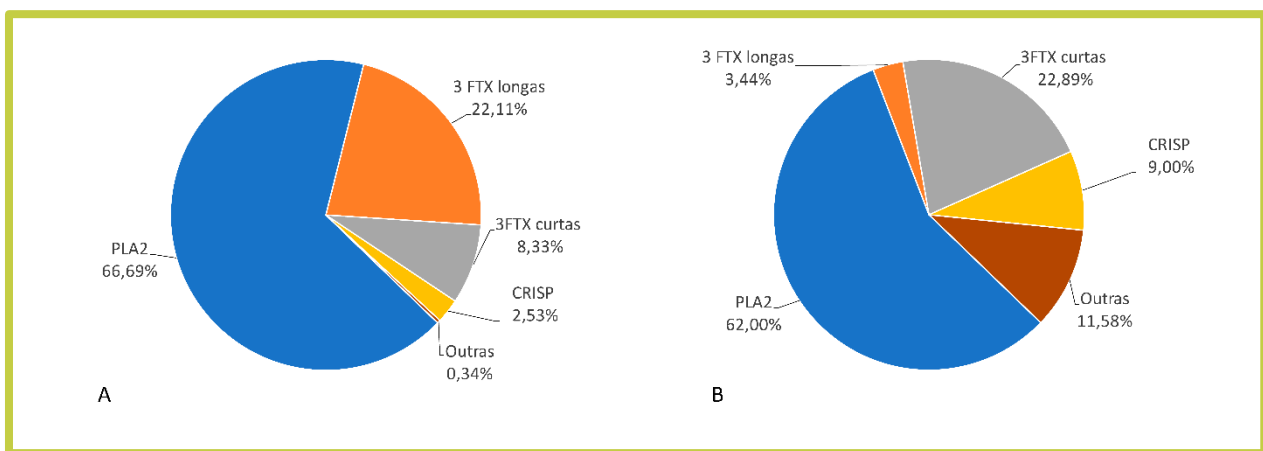


FIGURA 1: Variabilidade intraespecífica no proteoma de *Hydrophis curtus*. A – Indivíduos capturados na Austrália. B – Indivíduos capturados na Malásia. PLA2 – Fosfolipase A2; 3FTX – Three finger toxins; CRISP - Cysteine-rich secreted proteins.

Os venenos podem ser classificados em neurotóxicos, se atuarem sobretudo no sistema nervoso, encontrados por exemplo em espécies pertencentes à família Elapidae, ou hemotóxicos, caso promovam desregulações no sistema hemostático, como maioritariamente observado na família Viperidae (Calvete et al., 2009). Na Tabela I encontram-se sumariadas as principais famílias de proteínas identificadas em venenos de serpentes e respetivas atividades no processo de envenenamento. As toxinas podem atuar de forma a promover dano estrutural, catalisando a hidrólise de um substrato, como verificado em algumas Fosfolipases A₂ (PLA₂), que hidrolisam fosfolípidos na posição sn-2 promovendo atividade anticoagulante ou dano membranar que pode resultar em hemólise (Perumal Samy et al., 2010; Saikia e Mukherjee, 2017). Podem igualmente simular a ação de uma proteína endógena, simulando a sua sobre-expressão e ativando um conjunto de mecanismos no organismo recetor. A trombina é uma proteína do tipo das serina proteases representativa deste tipo de mecanismo, uma vez que atua como enzima na regulação da coagulação (Amorim et al., 2018). As desregulações endofisiológicas podem ainda ser promovidas por toxinas que simulando a atuação de proteínas endógenas, atuam como inibidores competitivos, como ocorre por exemplo com as α -neurotoxinas. Estas 3FTX ligam-se aos recetores pós-sinápticos de acetilcolina, impedindo a ligação do neurotransmissor (Nirthanan, 2020). A mimetização das proteínas endógenas torna-se mais vantajosa

quando estas evidenciam atividade pleiotrópica, contribuindo para uma maior eficiência destes mecanismos de ação (Fry, 2015).

TABELA I: Principais famílias de proteínas que constituem os venenos de serpente e principais atividades no processo de envenenamento.

Famílias de proteínas	Considerações gerais	Referências
Serina Proteases	Ativa proteínas da cascata de coagulação Fibrinólise Agregação plaquetária	Bhat et al., 2016; Patiño et al., 2013; Zelanis et al., 2015
Metaloproteases	Hemorragia Ativação de fatores de coagulação Inflamação Agregação plaquetária	Gutiérrez, Rucavado et al., 2005; Yee et al., 2018
L-amino ácido oxidases	Hemorragia Formação de edema Interferência na agregação plaquetária Hemólise	Estevão-Costa et al., 2018; Guo et al., 2012; Salama et al., 2018
Fosfolipases A2	Neurotoxicidade Anticoagulante Miotóxica Formação de edema Hemolítica	Sampaio et al., 2010; Xiao et al., 2017
Disintegrinas	Inibição da agregação plaquetária por inibição de recetores de integrinas	Calvete, 2013; Calvete et al., 2005
Lectinas do tipo C	Ativação/Inibição da agregação plaquetária por interferência com diversos recetores (ex: recetor von Willebrand factor-binding GPIb, entre outros) Hemorragia por interferência na ativação/inibição de fatores de coagulação	Arlinghaus e Eble, 2012; Fry, 2015; Samah et al., 2017
Three-finger toxins	Efeito neurotóxico resultando por exemplo em paralisia (Inibição de canais de Cálcio. Atuam em recetores nicotínicos de acetilcolina musculares e neuronais, bem como em recetores muscarínicos. Inibição de acetilcolinesterase interferindo com a transmissão neuromuscular) Efeito Citotóxico associado à apoptose, hemólise, destruição de tecidos, paragem cardíaca e contração muscular. Anticoagulante Inibição da agregação plaquetária	Kini e Doley, 2010; Nirthanan, 2020; Rey-Suárez et al., 2012; Utkin, 2013
Cysteine-rich secreted proteins (CRISPs)	Inibição da contração muscular por bloqueio de canais iónicos Bloqueio de canais <i>cyclic nucleotide gated</i> (CNG) Bloqueio de recetores iónicos em neurónios	Boldrini-França et al., 2017; Suzuki et al., 2008; J. Wang et al., 2005
Protease tipo-Kunitz	Ação não neurotóxica associada à inibição de serinas proteases como a plasmina Ação neurotóxica por bloqueio de canais de K ⁺ e Ca ⁺	Fry, 2015; Chun-teng Guo et al., 2013; Mukherjee et al., 2016
Fator de crescimento nervoso	Pode contribuir para a inibição da autólise do veneno	Kostiza et al., 1995; Kostiza e Meier, 1996; Wijeyewickrema et al., 2010

	Aumento da permeabilidade vascular Pode promover apoptose celular atuando como fator proapoptótico	
Fator de crescimento vascular endotelial	Aumento da permeabilidade vascular podendo resultar em hipotensão	Estevão-Costa et al., 2018; Fry, 2015; Yamazaki et al., 2003

BIOATIVIDADE DOS VENENOS DE SERPENTE

Os venenos de serpentes estão particularmente adaptados a desempenhar as suas ações em mamíferos, o que representa uma vantagem evolutiva que se pode traduzir numa mais valia no desenvolvimento de novos agentes terapêuticos (King, 2011). A especificidade das toxinas para determinados componentes e mecanismos característicos do sistema hemostático e nervoso tornam-nas excelentes objetos de estudo neste contexto, direcionando as suas capacidades funcionais para o tratamento de diversas patologias como doenças cardiovasculares, coagulopatia, hipertensão, entre outros (Graziano et al., 2016; Khusro et al., 2018). Para além disso, as suas características farmacológicas conferem-lhes propriedades especialmente interessantes, que não estão diretamente relacionadas com as suas funções durante o processo de envenenamento, nomeadamente, a capacidade antimicrobiana e antitumoral evidenciada por algumas toxinas (Khusro et al., 2018).

Atividade antivírica

Notavelmente, a literatura evidencia a capacidade antivírica de toxinas do veneno de serpentes, nomeadamente de PLA₂. De facto, esta classe de toxinas foi até ao momento a mais estudada neste âmbito. Alguns estudos reportam o potencial antivírico em diversos vírus e procuram compreender os mecanismos de ação associados. Mt-I, uma PLA₂ cataliticamente ativa presente no veneno de *Bothrops asper*, apresentou atividade antiviral contra o vírus do dengue e da febre amarela, prevenindo a infeção celular (Brenes et al., 2020). Lys49 e Asp49 PLA₂ do veneno de *Bothrops leucurus* evidenciaram atividade antivírica contra o vírus do dengue (Cecilio et al., 2013). A ação antiviral de PLA₂ presentes no veneno da cascavel *Crotalus durissus terrificus* encontra-se bem descrita, demonstrando a sua ação em vírus como Hepatite C, dengue, rocio, mayaro, oropouche e febre amarela (Muller et al., 2012; Muller et al., 2014; Shimizu et al., 2017). Os mecanismos de ação associados a estas atividades encontram-se sobretudo associados à atividade enzimática destas proteínas, interagindo com a partícula viral promovendo a disrupção do envelope viral impedindo a infeção celular. Outras toxinas com capacidade antivírica foram igualmente identificadas. TSV-LAO, uma LAAO isolada do veneno de *Trimeresurus stejnegeri* inibiu a infeção e replicação do HIV de forma dependente da dose. Foi sugerido que este efeito resultaria de uma ação combinada entre a produção de H₂O₂ pela enzima, e uma interação desta com a membrana celular (Zhang et al., 2003). Por fim, (Borkow e Ovadia, 1999) reportou um efeito citotóxico seletivo de citotoxinas do veneno de *Naja nigricollis* em células infetadas com sendai vírus.

Atividade antibacteriana

Vários estudos demonstraram o potencial antibacteriano dos venenos de serpente. A atividade antibacteriana de componentes do veneno de serpentes foi observada em toxinas como PLA₂, LAAO, Lectinas do tipo C e catelicidinas. Relativamente às PLA₂, diversos estudos salientam a atividade antibacteriana contra diferentes espécies de bactérias. VRV-PL-VIIIa, isolada do veneno de *Daboia russelii pulchella*, inibiu o crescimento de

Staphylococcus aureus, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae*, *Klebsiella pneumoniae* e *Salmonella paratyphi* (Sudharshan et al., 2015). WaPLA₂, uma PLA₂- grupo I do veneno de *Walterinnesia aegyptia*, exibiu atividade bactericida contra *Bacillus cereus*, *B. subtilis*, *E. faecalis*, *S. epidermis*, *S. aureus*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* e *Salmonella enteric* (Ben Bacha et al., 2018). A atividade antibacteriana das PLA₂ pode estar associada à sua atividade catalítica, através da degradação da membrana celular. A atividade de NN-XIb-PLA₂ isolada do veneno de *Naja naja* foi reduzida após a inibição da sua ação catalítica, sugerindo o envolvimento da atividade enzimática na inibição do crescimento de *S. aureus*, *B. subtilis*, *E. coli*, *V. cholerae*, *K. pneumoniae* e *S. paratyphi* (Sudarshan e Dhananjaya, 2016). Alterações na estrutura das membranas celulares foram igualmente observadas em bactérias após o tratamento com PLA₂ (Perumal Samy et al., 2008). Por outro lado, a atividade antibacteriana pode resultar de mecanismos independentes de atividade catalítica, como os observados pelos péptidos catiónicos. A observação de atividade antibacteriana em PLA₂ enzimaticamente inativas suporta estes mecanismos (Páramo et al., 1998; Perumal Samy et al., 2010).

No que diz respeito ao potencial antibacteriano das LAAO, vários autores sugerem o envolvimento de H₂O₂, resultante da atividade enzimática destas toxinas, neste processo. ML-LAAO, uma LAAO do veneno de *Micrurus lemniscatus*, inibiu o crescimento de *S. aureus*, apresentando uma redução desta atividade na presença de catalase, uma sequestradora de H₂O₂ (Soares et al., 2020). O stress oxidativo resultante da produção de H₂O₂ pode promover dano membranar nas bactérias e conseqüentemente a sua morte (Salama et al., 2018). Análises microscópicas demonstraram a total destruição da membrana celular de *S. aureus* e alterações morfológicas na membrana *E. coli* expostas a CR-LAAO (Costa et al., 2015). A atividade antibacteriana foi também observada para outras classes de toxinas. BIL, uma lectina presente no veneno de *Bothrops leucurus*, inibiu o crescimento de *S. aureus*, *E. faecalis* e *B. subtilis* (Nunes et al. 2011). A atividade antibacteriana de 3FTX de *Naja naja* contra *B. subtilis* foi igualmente reportada (Dubovskii e Utkin, 2014; Dubovskii et al., 2020). As catelicidinas são péptidos catiónicos, semelhantes aos péptidos antimicrobianos (AMPs), presentes no veneno de algumas serpentes (de Barros et al., 2019). As suas propriedades antibacterianas encontram-se descritas para bactérias Gram-positivas e negativas, incluindo a sua eficiência contra bactérias resistentes a antibióticos e biofilmes. NA-CATH, presente no veneno de *Naja atra*, exibiu atividade antibacteriana e antibiofilme contra *S. aureus* e *Burkholderia thailandensis* (Blower et al., 2015; Dean et al., 2011; Du et al., 2015). A inibição do crescimento da bactéria multi-resistente *Enterobacter cloacae* foi observada na presença de OH-CATH, assim como, das bactérias *E. coli*, *Enterobacter aerogenes*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* e *S. aureus* (Zhang et al., 2010; Zhao et al., 2008). Duas catelicidinas, crotalicidina e batroxidina presentes no veneno de *Crotalus durissus terrificus* e *Bothrops atrox* respetivamente, inibiram o crescimento das bactérias multi-resistentes *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* e *E. coli* (Oliveira-Júnior et al., 2018).

Atividade anti parasítica

A atividade antiparasítica dos venenos de serpente encontra-se descrita para algumas espécies, incluindo *Naja haje*, *Cerastes cerastes* e *B. jararaca*. O veneno total destas espécies exibiu resultados notáveis em parasitas como *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania donovani infantum* e *L. amazonensis* (Ciscotto et al., 2009; Fernandez-Gomez et al., 1994). (Gonçalves et al., 2002) reportou igualmente a atividade antiparasítica do veneno total de *B. jararaca* em *T. cruzi* e *L. major*. De facto, embora a atividade antiparasítica careça de uma maior exploração, esta capacidade está sobretudo associada às PLA₂ e LAAO. O potencial antiparasítico,

nomeadamente para diversas espécies *Leishmania* e para *T.cruzi*, é comum a diversas LAAO isoladas de venenos de diferentes espécies. ML-LAAO, isolada do veneno de *Micrurus lemniscatu* promoveu atividade antiparasítica de *L. amazonensis* e *L. chagasi* (Soares et al., 2020). Outros estudos demonstraram igualmente esta capacidade nas toxinas CR-LAAO, BpLAAO e BatroxLAAO (Costa et al., 2015; de Melo Alves Paiva et al., 2011; Rodrigues et al., 2009).

A atividade antiparasítica de PLA₂ em espécies *Leishmania* e *T.cruzi* foi também verificada, como observado em BmajPLA₂-II e Lys49PLA₂ presentes no veneno de *B. marajoensis*. De salientar ainda os resultados de 3 PLA₂ isoladas do veneno de *B. diporus*, que apresentaram atividade anti-malária nas formas intra-eritrocíticas de *Plasmodium falciparum* em concentrações não hemolíticas (Vitorino et al., 2020). Borges et al. (2016) verificou que BnSP-7, uma Lys49PLA₂ do veneno de *B. pauloensis* reduziu a adesão e proliferação celular de *Toxoplasma gondii*. As interações entre estas toxinas, quer enzimaticamente ou não enzimaticamente, e as membranas são sugeridas como mecanismos de ação essenciais para estas atividades (Borges et al., 2016).

Atividade antitumoral

No que diz respeito à capacidade antitumoral, diversos estudos já demonstraram esta mesma atividade para venenos de diferentes espécies. O veneno de *Montivipera bornmuelleri* apresentou uma atividade citotóxica seletiva para as linhas tumorais de queratinócitos, em comparação com a redução de viabilidade celular verificada para a linha de queratinócitos normal utilizada neste estudo (HaCaT) (Sawan et al., 2017). Resultados similares foram também observados na avaliação do potencial antitumoral do veneno de *Naja naja oxiana*. O veneno exibiu capacidade de promover a apoptose de diferentes linhas celulares tumorais – células tumorais humanas da mama MCF-7; Carcinoma humano hepatocelular HepG2 e carcinoma humano da próstata DU145- revelando um efeito menos acentuado na linha celular normal de rim de cão MDCK (Ebrahim et al., 2016). O veneno de *Vipera latastei* apresentou atividade citotóxica em células de melanoma humanas MNT-1, observando-se interferências no ciclo celular, bem como um aumento da formação de espécies reativas de oxigénio (ROS) intracelular. (Teodoro et al., 2019).

Os mecanismos associados a estas atividades estão sobretudo dependentes do perfil de composição do veneno e conseqüentemente dos diferentes tipos de proteínas. As LAAO podem promover uma ação citotóxica e antibacteriana através do aumento da produção de ROS relacionado com a atividade enzimática destas proteínas. A relação entre o aumento dos níveis de ROS e morte celular está bem subjacente no trabalho de Salama et al. (2018). Na presença de um sequestrador de ROS como a catalase a atividade citotóxica da LAAO foi diminuída. Similarmente, Cmp-LAAO, isolada do veneno de *Crotalus mitchellii pyrrhus*, diminuiu a viabilidade celular de células de adenocarcinoma da próstata LNCaP de forma dependente da dose e do tempo (Tan et al., 2017). Neste mesmo estudo foi verificado um aumento do stress oxidativo na presença da enzima, que, de certa forma, se encontra relacionado com a indução da apoptose e aumento da atividade das caspases. O aumento de ROS pode levar a danos membranares, mas está igualmente associado à ativação de vias de sinalização específicas que resultam na ativação da apoptose, como é o caso da via da JNK-cinase (Park et al., 2012; Redza-Dutordoir e Averill-Bates, 2016).

Embora seja reconhecida a importância da atividade enzimática das PLA₂, estudos sugerem que a ação antitumoral está sobretudo relacionada com mecanismos independentes da atividade enzimática. BnSP-6, uma Lys49 PLA₂ do veneno de *Bothrops pauloensis*, exibiu atividade citotóxica seletiva para linhas celulares tumorais da mama (Azevedo et al., 2016). A capacidade de induzir a autofagia e modular a apoptose por

mecanismos de regulação de genes pro e anti-apoptóticos e interferência nas dinâmicas do ciclo celular foram observados em algumas destas toxinas (Azevedo et al., 2016; Silva et al., 2018). As interações das PLA₂ com recetores membranares podem promover os efeitos acima descritos, contudo estes mecanismos de ação não se encontram totalmente esclarecidos. Curiosamente, foram descritas PLA₂ que apresentavam atividade anti-metastática, inibindo a adesão e migração de várias células tumorais por interferência com integrinas, recetores fundamentais a estes processos e que são igualmente associadas à modulação da apoptose (Bazaa et al., 2009; Ganguly et al., 2013; Jiménez–Charris et al., 2019). A interação com as integrinas e consequente inibição de processos da metástase como adesão, migração e proliferação ou a inibição da angiogénese é uma característica bem conhecida das disintegrinas presentes no veneno de diversas espécies. CC5 e CC8, duas disintegrinas isoladas do veneno de *C. cerastes*, apresentaram um interessante *ex vivo* efeito antiangiogénese (Ben-Mabrouk et al., 2016). A adesão e migração de células tumorais do pâncreas foram inibidas pelas disintegrinas mojestin 1 e viridistatin 2 por interferência com as integrinas $\alpha\beta3$ e $\alpha3\beta1$ (Lucena et al., 2015). A atividade antitumoral através da interação com integrinas é igualmente partilhada por outras toxinas como a PIVL, um Inibidor de serina protease tipo-Kunitz (Morjen et al., 2014, 2013), pelas Lectinas do tipo C e metaloproteases (Guimarães et al., 2017; Niland et al., 2018; Sarray et al., 2007). Relativamente às Lectinas do tipo C, observou-se ainda capacidade de modular a transição Epitelial-mesenquimal, bem como de regular vias sinalização fundamentais para a invasão. Estes resultados foram descritos por (Hammouda et al., 2018), registando a atividade anti-metastática e de indução de apoptose da macrovipectina, uma Lectinas do tipo C presente no veneno de *Macrovipera lebetina*.

Para além da interação com integrinas promovido pelo domínio tipo-disintegrina que constitui as metaloproteases PIII, a atividade enzimática destas toxinas pode também promover efeitos antitumorais através da degradação e interação com componentes da membrana celular e da matriz extracelular resultando na ativação de vias de apoptose (de Freitas Oliveira et al., 2009; Okamoto et al., 2014). Estes são alguns dos mecanismos sugeridos para apoptose das células Jurkat e K62 induzida pela exposição a nasulysin-1, uma metaloprotease do veneno de *Porthidium nasutum* (Bonilla-Porras et al., 2016).

As citotoxinas, abundantes nos venenos de espécies elapidae, apresentam uma potente atividade antitumoral. Nubein6.8, presente no veneno de *Naja nubiae* exibiu atividade citotóxica em melanoma (linha celular A375) e células tumorais do ovário (A2780) através da indução da apoptose (Abdel-Ghani et al., 2019). Ebrahim et al. (2015) observou uma notável atividade antitumoral promovida pelas citotoxinas CTX-I e CTX-II, registando um efeito reduzido em linhas celulares normais e um IC50 superior à cisplatina. A apoptose surge como um dos principais mecanismos de ação estudado nestas toxinas. Diversos estudos evidenciam a modulação de vias de sinalização, genes de apoptose e progressão do ciclo celular. Estes mecanismos são bem conhecidos na ação exercida pela Cardiotoxin-3. Esta toxina, isolada do veneno de *Naja naja atra*, levou à apoptose de células tumorais da próstata (PC-3), carcinoma oral (Ca9-22) e células tumorais da mama (MDA-MB-231), através do aumento da expressão de genes pro-apoptose como o Bax e diminuição da expressão de genes anti-apoptóticos como o Bcl2 (Chen et al., 2007; Chien et al., 2010; Lin et al., 2010). Foi igualmente observado a perda do potencial de membrana mitocondrial, libertação do citocromo c e ativação das caspases 9 e 3. A inativação de vias de sinalização como a JAK2, PI3K e Akt constituem mecanismos essenciais neste processo. De salientar ainda o estudo de (Yen et al., 2013), onde foi observado uma capacidade antiproliferativa e inibição da migração de células Ca9-22 após exposição a cardiotoxina-3.

A importância dos venenos de serpente no tratamento do cancro pode também ser considerado através da utilização dos seus componentes como coadjuvantes nas terapias atuais. A conjugação das toxinas nestas terapias pode aumentar a suscetibilidade das células tumorais à radio e quimioterapia, surgindo como uma forma viável de combater a resistência desenvolvida a estas terapias (Benati et al., 2018; Zhu et al., 2014). Por exemplo, as células SK-MEL-28 tornaram-se mais suscetíveis à cisplatina na presença de macrovipectina (Hammouda et al., 2018).

CONCLUSÃO

Embora os venenos de serpente possam resultar em condições patológicas perigosas ou letais para a saúde humana, apresentam na sua composição uma grande diversidade de proteínas e péptidos cujas características os tornam extremamente relevantes para o desenvolvimento de novos fármacos. A contínua evolução tecnológico-científica tem permitido caracterizar e estudar a bioatividade destas toxinas, evidenciando o seu potencial terapêutico antimicrobiano e antitumoral. No entanto, permanecem algumas dúvidas relativamente aos mecanismos de ação e seletividade destes compostos. O estudo dos venenos e das suas toxinas afigura-se como fundamental para o desenvolvimento de antivenenos, novas abordagens terapêuticas e para a conservação das mais variadas espécies de serpente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdel-Ghani LM, Rahmy TR, Tawfik MM, Kaziri I, Al-Obaidi A, Rowan EG, Abdel-Rahman MA (2019). Cytotoxicity of Nubein6.8 peptide isolated from the snake venom of *Naja nubiae* on melanoma and ovarian carcinoma cell lines. *Toxicon*, 168, 22–31. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2019.06.220>
- Amorim FG, Menaldo DL, Carone SEI, Silva TA, Sartim MA, Pauw ED, Sampaio SV (2018). New Insights on Moojase, a Thrombin-Like Serine Protease from *Bothrops moojeni* Snake Venom. *Toxins*, 10(12). <https://doi.org/10.3390/toxins10120500>
- Arlinghaus FT, & Eble JA (2012). C-type lectin-like proteins from snake venoms. *Toxicon*, 60(4), 512–519. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2012.03.001>
- Atanasov AG, Waltenberger B, Pferschy-Wenzig EM, Linder T, Wawrosch C, Uhrin P, Stuppner H (2015). Discovery and resupply of pharmacologically active plant-derived natural products: A review. *Biotechnology advances*, 33(8), 1582–1614. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.08.001>
- Azevedo FVPV, Lopes DS, Cirilo Gimenes SN, Achê DC, Vecchi L, Alves PT, Yoneyama KAG (2016). Human breast cancer cell death induced by BnSP-6, a Lys-49 PLA2 homologue from *Bothrops pauloensis* venom. *International Journal of Biological Macromolecules*, 82, 671–677. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.10.080>
- Barlow A, Pook CE, Harrison RA & Wster W (2009). Coevolution of diet and prey-specific venom activity supports the role of selection in snake venom evolution. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. (London). <https://doi.org/10.1098/rspb.2009.0048>
- Bazaa A, Luis J, Srairi-Abid N, Kallech-Ziri O, Kessentini-Zouari R, Defilles C, Marrakchi N (2009). MVL-PLA2, a phospholipase A2 from *Macrovipera lebetina transmediterranea* venom, inhibits tumor cells adhesion and migration. *Matrix Biology*, 28(4), 188–193. <https://doi.org/10.1016/j.matbio.2009.03.007>
- Ben Bacha A, Alonazi MA, Elshikh MS, & Karray A (2018). A novel bactericidal homodimeric PLA2 group-I from *Walterinnesia aegyptia* venom. *International Journal of Biological Macromolecules*, 117, 1140–1146. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.06.024>
- Benati RB, Costa TR, Cacemiro MC, Sampaio SV, Castro FA de, & Burin SM (2018). Cytotoxic and pro-apoptotic action of MjTX-I, a phospholipase A2 isolated from *Bothrops moojeni* snake venom, towards leukemic cells. *Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases*, 24. <https://doi.org/10.1186/s40409-018-0180-9>

- Ben-Mabrouk H, Zouari-Kessentini R, Montassar F, Koubaa ZA, Messaadi E, Guillonnet X, Marrakchi N (2016). CC5 and CC8, two homologous disintegrins from *Cerastes cerastes* venom, inhibit in vitro and ex vivo angiogenesis. *International Journal of Biological Macromolecules*, 86, 670–680. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.02.008>
- Bhat SK, Joshi MB, Ullah A, Masood R, Biligiri SG, Arni RK, & Satyamoorthy K (2016). Serine proteinases from *Bothrops* snake venom activates PI3K/Akt mediated angiogenesis. *Toxicon*, 124, 63–72. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2016.11.001>
- Blower RJ, Barksdale SM, & Hoek ML van. (2015). Snake Cathelicidin NA-CATH and Smaller Helical Antimicrobial Peptides Are Effective against *Burkholderia thailandensis*. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 9(7), e0003862. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003862>
- Boldrini-França J, Cologna CT, Pucca MB, Bordon K de CF, Amorim FG, Anjolette FAP, Arantes EC (2017). Minor snake venom proteins: Structure, function and potential applications. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 1861(4), 824–838. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2016.12.022>
- Bonilla-Porras AR, Vargas LJ, Jimenez-Del-Rio M, Nuñez V, & Velez-Pardo C (2016). Purification of nasulysin-1: A new toxin from *Porthidium nasutum* snake venom that specifically induces apoptosis in leukemia cell model through caspase-3 and apoptosis-inducing factor activation. *Toxicon*, 120, 166–174. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2016.08.006>
- Borges IP, Castanheira L E, Barbosa BF, de Souza DLN, da Silva RJ, Mineo JR, de Melo Rodrigues V (2016). Anti-parasitic effect on *Toxoplasma gondii* induced by BnSP-7, a Lys49-phospholipase A2 homologue from *Bothrops pauloensis* venom. *Toxicon*, 119, 84–91. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2016.05.010>
- Borkow G, & Ovadia M (1999). Selective Lysis of Virus-Infected Cells by Cobra Snake Cytotoxins: A Sendai Virus, Human Erythrocytes, and Cytotoxin Model. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 264(1), 63–68. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1999.1483>
- Brenes H, Loría GD & Lomonte B (2020). Potent virucidal activity against Flaviviridae of a group IIA phospholipase A2 isolated from the venom of *Bothrops asper*. *Biologicals*, 63, 48–52. <https://doi.org/10.1016/j.biologicals.2019.12.002>
- Calvete JJ (2013). The continuing saga of snake venom disintegrins. *Toxicon*, 62, 40–49. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2012.09.005>
- Calvete JJ, Juárez P & Sanz L (2007). Snake venomomics. Strategy and applications. *Journal of Mass Spectrometry: JMS*, 42(11), 1405–1414. <https://doi.org/10.1002/jms.1242>
- Calvete JJ, Marcinkiewicz C, Monleón D, Esteve V, Celda B, Juárez P & Sanz L (2005). Snake venom disintegrins: Evolution of structure and function. *Toxicon*, 45(8), 1063–1074. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2005.02.024>
- Calvete JJ, Sanz L, Angulo Y, Lomonte B, & Gutiérrez J M (2009). Venoms, venomomics, antivenomics. *FEBS Letters*, 583(11), 1736–1743. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2009.03.029>
- Cecilio AB, Caldas S, Oliveira RAD, Santos ASB, Richardson M, Naumann GB, Sanchez EF (2013). Molecular Characterization of Lys49 and Asp49 Phospholipases A2 from Snake Venom and Their Antiviral Activities against Dengue virus. *Toxins*, 5(10), 1780–1798. <https://doi.org/10.3390/toxins5101780>
- Chen KC, Kao PH, Lin SR & Chang LS (2007). The mechanism of cytotoxicity by *Naja naja atra* cardiotoxin 3 is physically distant from its membrane-damaging effect. *Toxicon*, 50(6), 816–824. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2007.06.011>
- Chien CM, Chang SY, Lin KL, Chiu CC, Chang LS & Lin SR (2010). Taiwan cobra cardiotoxin III inhibits Src kinase leading to apoptosis and cell cycle arrest of oral squamous cell carcinoma Ca9-22 cells. *Toxicon*, 56(4), 508–520. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2010.05.007>
- Ciscotto P, Machado de Avila RA, Coelho EAF, Oliveira J, Diniz CG, Farias LM, Chávez-Olórtegui C (2009). Antigenic, microbicidal and antiparasitic properties of an l-amino acid oxidase isolated from *Bothrops jararaca* snake venom. *Toxicon*, 53(3), 330–341. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2008.12.004>
- Costa TR, Menaldo DL, Prinholato da Silva C, Sorrechia R, Albuquerque S de, Pietro RCLR, Sampaio SV (2015a). Evaluating the microbicidal, antiparasitic and antitumor effects of CR-LAAO from *Calloselasma rhodostoma* venom. *International Journal of Biological Macromolecules*, 80, 489–497. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.07.004>
- de Barros E, Gonçalves RM, Cardoso MH, Santos NC, Franco OL, & Cândido ES (2019). Snake Venom Cathelicidins as Natural Antimicrobial Peptides. *Frontiers in Pharmacology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.01415>
- de Freitas Oliveira C, da Silva Lopes D, Mendes MM, Homs-Brandeburgo MI, Hamaguchi A, de Alcântara TM, de Melo Rodrigues V (2009). Insights of local tissue damage and regeneration induced by BnSP-7, a myotoxin isolated from *Bothrops (neuwiedii) pauloensis* snake venom. *Toxicon*, 53(5), 560–569. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2008.12.025>
- de Melo Alves Paiva R, de Freitas Figueiredo R, Antonucci GA, Paiva HH, de Lourdes Pires Bianchi M, Rodrigues KC, Sampaio SV (2011). Cell cycle arrest evidence, parasiticidal and bactericidal properties induced by l-amino acid oxidase from *Bothrops atrox* snake venom. *Biochimie*, 93(5), 941–947. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2011.01.009>
- Dean SN, Bishop BM, & van Hoek ML (2011). Natural and synthetic cathelicidin peptides with anti-microbial and anti-biofilm activity against *Staphylococcus aureus*. *BMC Microbiology*, 11(1), 114. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-11-114>

- Du H, Samuel RL, Massiah MA, & Gillmor SD (2015). The structure and behavior of the NA-CATH antimicrobial peptide with liposomes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, 1848(10, Part A), 2394–2405. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2015.07.006>
- Dubovskii PV, & Utkin YN (2014). Cobra Cytotoxins: Structural Organization and Antibacterial Activity. *Acta Naturae*, 6(3), 11–18.
- Dubovskii PV, Ignatova AA, Feofanov A, Utkin YN, & Efremov RG (2020). Antibacterial activity of cardiotoxin-like basic polypeptide from cobra venom. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 30(3), 126890. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2019.126890>
- Ebrahim K, Shirazi FH, Mirakabadi AZ, & Vatanpour H (2015). Cobra venom cytotoxins; apoptotic or necrotic agents? *Toxicon*, 108, 134–140. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2015.09.017>
- Ebrahim K, Vatanpour H, Zare A, Shirazi FH & Nakhjavani M (2016). Anticancer Activity a of Caspian Cobra (*Naja naja oxiana*) snake Venom in Human Cancer Cell Lines Via Induction of Apoptosis. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research: IJPR*, 15(Suppl), 101–112.
- Estevão-Costa MI, Sanz-Soler R, Johannngmeier B, & Eble JA (2018). Snake venom components in medicine: From the symbolic rod of Asclepius to tangible medical research and application. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 104, 94–113. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2018.09.011>
- Fernandez-Gomez R, Zerrouk H, Sebti F, Loyens M, Benslimane A, & Ouaisi MA (1994). Growth inhibition of *Trypanosoma cruzi* and *Leishmania donovani infantum* by different snake venoms: Preliminary identification of proteins from *Cerastes cerastes* venom which interact with the parasites. *Toxicon*, 32(8), 875–882. [https://doi.org/10.1016/0041-0101\(94\)90366-2](https://doi.org/10.1016/0041-0101(94)90366-2)
- França SC, Kashima S, Roberto PG, Marins M, Ticli FK, Pereira JO, Soares AM (2007). Molecular approaches for structural characterization of Bothrops-l- amino acid oxidases with antiprotozoal activity: CDNA cloning, comparative sequence analysis, and molecular modeling. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 355(2), 302–306. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2006.12.217>
- Fry BG (2015). *Venomous Reptiles and Their Toxins: Evolution, Pathophysiology, and Biodiscovery* (1.^a ed.). Oxford University Press.
- Fry BG, Roelants K, Champagne DE, Scheib H, Tyndall JDA, King GF, de la Vega RCR (2009). The Toxicogenomic Multiverse: Convergent Recruitment of Proteins Into Animal Venoms. *Annual Review of Genomics and Human Genetics*, 10(1), 483–511. <https://doi.org/10.1146/annurev.genom.9.081307.164356>
- Ganguly KK, Pal S, Moulik S, & Chatterjee A (2013). Integrins and metastasis. *Cell Adhesion & Migration*, 7(3), 251–261. <https://doi.org/10.4161/cam.23840>
- Gaynes R (2017). The Discovery of Penicillin—New Insights After More Than 75 Years of Clinical Use. *Emerging Infectious Diseases*, 23(5), 849–853. <https://doi.org/10.3201/eid2305.161556>
- Gonçalves AR, Soares MJ, de Souza W, DaMatta RA, & Alves EW (2002). Ultrastructural alterations and growth inhibition of *Trypanosoma cruzi* and *Leishmania major* induced by *Bothrops jararaca* venom. *Parasitology Research*, 88(7), 598–602. <https://doi.org/10.1007/s00436-002-0626-3>
- Graziano F, Maugeri R, Basile L, Meccio F, & Lacopino DG (2016). Aulogous fibrin sealant (Vivostat®) in the neurosurgical practice: Part II: Vertebro-spinal procedures. *Surgical Neurology International*, 7(Suppl 3), S77–S82. <https://doi.org/10.4103/2152-7806.174894>
- Guimarães DO, Lopes DS, Azevedo FVPV, Gimenes SNC, Silva MA, Achê DC, Rodrigues VM (2017). In vitro antitumor and antiangiogenic effects of Bothropoidin, a metalloproteinase from *Bothrops pauloensis* snake venom. *International Journal of Biological Macromolecules*, 97, 770–777. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.01.064>
- Guo Chunmei, Liu S, Yao Y, Zhang Q, & Sun MZ (2012). Past decade study of snake venom l-amino acid oxidase. *Toxicon*, 60(3), 302–311. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2012.05.001>
- Guo Chun-Teng, McClean S, Shaw C, Rao P, Ye M, & Bjourson AJ (2013). Trypsin and chymotrypsin inhibitor peptides from the venom of Chinese *Daboia russellii siamensis*. *Toxicon*, 63, 154–164. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2012.12.013>
- Gutiérrez JM, Rucavado A, Escalante T, & Díaz C (2005). Hemorrhage induced by snake venom metalloproteinases: Biochemical and biophysical mechanisms involved in microvessel damage. *Toxicon*, 45(8), 997–1011. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2005.02.029>
- Hammouda MB, Riahi-Chebbi I, Soud S, Othman H, Aloui Z, Srairi-Abid N, Essafi-Benkhadir K (2018). Macrovipecetin, a C-type lectin from *Macrovipera lebetina* venom, inhibits proliferation migration and invasion of SK-MEL-28 human melanoma cells and enhances their sensitivity to cisplatin. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 1862(3), 600–614. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2017.11.019>
- Izidoro LFM, Ribeiro MC, Souza GRL, Sant'Ana CD, Hamaguchi A, Homs-Brandeburgo MI, Rodrigues VM (2006). Biochemical and functional characterization of an L-amino acid oxidase isolated from *Bothrops pirajai* snake venom. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 14(20), 7034–7043. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2006.06.025>

- Jiménez-Charris E, Lopes DS, Gimenes SNC, Teixeira SC, Montealegre-Sánchez L, Solano-Redondo L, Rodrigues Ávila VM (2019). Antitumor potential of Pllans-II, an acidic Asp49-PLA2 from *Porthidium lansbergii lansbergii* snake venom on human cervical carcinoma HeLa cells. *International Journal of Biological Macromolecules*, 122, 1053–1061. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.09.053>
- Khusro A, Aarti C, Barbabosa-Pliego A, Rivas-Cáceres RR, & Cipriano-Salazar M (2018). Venom as therapeutic weapon to combat dreadful diseases of 21st century: A systematic review on cancer, TB, and HIV/AIDS. *Microbial Pathogenesis*, 125, 96–107. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.09.003>
- King GF (2011). Venoms as a platform for human drugs: Translating toxins into therapeutics. *Expert Opinion on Biological Therapy*, 11(11), 1469–1484. <https://doi.org/10.1517/14712598.2011.621940>
- Kini RM, & Doley R (2010). Structure, function and evolution of three-finger toxins: Mini proteins with multiple targets. *Toxicon*, 56(6), 855–867. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2010.07.010>
- Koh CY, & Kini RM (2012). From snake venom toxins to therapeutics – Cardiovascular examples. *Toxicon*, 59(4), 497–506. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2011.03.017>
- Kostiza T, Dahinden CA, Rihs S, Otten U, & Meier J (1995). Nerve growth factor from the venom of the chinese cobra *Naja naja atra*: Purification and description of non-neuronal activities. *Toxicon*, 33(10), 1249–1261. [https://doi.org/10.1016/0041-0101\(95\)00086-2](https://doi.org/10.1016/0041-0101(95)00086-2)
- Kostiza T, & Meier J (1996). Nerve growth factors from snake venoms: Chemical properties, mode of action and biological significance. *Toxicon*, 34(7), 787–806. [https://doi.org/10.1016/0041-0101\(96\)00023-2](https://doi.org/10.1016/0041-0101(96)00023-2)
- Lin KL, Su JC, Chien CM, Chuang PW, Chang LS, & Lin SR (2010). Down-regulation of the JAK2/PI3K-mediated signaling activation is involved in Taiwan cobra cardiotoxin III-induced apoptosis of human breast MDA-MB-231 cancer cells. *Toxicon*, 55(7), 1263–1273. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2010.01.017>
- Lucena S, Castro R, Lundin C, Hofstetter A, Alaniz A, Suntravat M, & Sánchez EE (2015). Inhibition of pancreatic tumoral cells by snake venom disintegrins. *Toxicon*, 93, 136–143. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2014.11.228>
- Mackessy SP (2010). Evolutionary trends in venom composition in the Western Rattlesnakes (*Crotalus viridis* sensu lato): Toxicity vs. tenderizers. *Toxicon*, 55(8), 1463–1474. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2010.02.028>
- Morjen M, Honoré S, Bazaa A, Abdelkafi-Koubaa Z, Ellafi A, Mabrouk K, Luis J (2014). PIVL, a snake venom Kunitz-type serine protease inhibitor, inhibits in vitro and in vivo angiogenesis. *Microvascular Research*, 95, 149–156. <https://doi.org/10.1016/j.mvr.2014.08.006>
- Morjen M, Kallech-Ziri O, Bazaa A, Othman H, Mabrouk K, Zouari-Kessentini R, Marrakchi N (2013). PIVL, a new serine protease inhibitor from *Macrovipera lebetina transmediterranea* venom, impairs motility of human glioblastoma cells. *Matrix Biology*, 32(1), 52–62. <https://doi.org/10.1016/j.matbio.2012.11.015>
- Morjen M, Othman H, Abdelkafi-Koubaa Z, Messadi E, Jebali J, El Ayeb M, Marrakchi N (2018). Targeting $\alpha 1$ inserted domain (I) of $\alpha 1\beta 1$ integrin by Lebetin 2 from *M. lebetina transmediterranea* venom decreased tumorigenesis and angiogenesis. *International Journal of Biological Macromolecules*, 117, 790–799. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.05.230>
- Mukherjee AK, Dutta S, Kalita B, Jha DK, Deb P, & Mackessy SP (2016). Structural and functional characterization of complex formation between two Kunitz-type serine protease inhibitors from Russell's Viper venom. *Biochimie*, 128–129, 138–147. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2016.08.005>
- Muller VDM, Russo RR, Oliveira Cintra AC, Sartim MA, De Melo Alves-Paiva R, Figueiredo LTM, Aquino VH (2012). Crotoxin and phospholipases A2 from *Crotalus durissus terrificus* showed antiviral activity against dengue and yellow fever viruses. *Toxicon*, 59(4), 507–515. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2011.05.021>
- Muller VD, Soares RO, dos Santos-Junior NN, Trabuco AC, Cintra AC, Figueiredo LT, Aquino VH (2014). Phospholipase A2 Isolated from the Venom of *Crotalus durissus terrificus* Inactivates Dengue virus and Other Enveloped Viruses by Disrupting the Viral Envelope. *PLoS ONE*, 9(11). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0112351>
- Neale V, Sotillo J, Seymour JE, & Wilson D (2017). The Venom of the Spine-Bellied Sea Snake (*Hydrophis curtus*): Proteome, Toxin Diversity and Intraspecific Variation. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(12), 2695. <https://doi.org/10.3390/ijms18122695>
- Niland S, Komljenovic D, Macas J, Bracht T, Bäuerle T, Liebner S, & Eble JA (2018). Rhodocetin- $\alpha\beta$ selectively breaks the endothelial barrier of the tumor vasculature in HT1080 fibrosarcoma and A431 epidermoid carcinoma tumor models. *Oncotarget*, 9(32), 22406. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.25032>
- Nirthanan S (2020). Snake three-finger α -neurotoxins and nicotinic acetylcholine receptors: Molecules, mechanisms and medicine. *Biochemical Pharmacology*, 181, 114168. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2020.114168>
- Nunes ES, de Souza MAA, Vaz AFM, Santana GMS, Gomes FS, Coelho LCBB, Correia MTS (2011). Purification of a lectin with antibacterial activity from *Bothrops leucurus* snake venom. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 159(1), 57–63. <https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2011.02.001>
- Okamoto DN, Kondo MY, Oliveira LCG, Honorato RV, Zanphorlin LM, Coronado MA, Gouvea IE (2014). P-I class metalloproteinase from *Bothrops moojeni* venom is a post-proline cleaving peptidase with kininogenase activity: Insights

- into substrate selectivity and kinetic behavior. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics*, 1844(3), 545–552. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2013.12.014>
- Oliveira-Júnior NG, Freire MS, Almeida JA, Rezende TMB, & Franco OL (2018). Antimicrobial and proinflammatory effects of two viperidins. *Cytokine*, 111, 309–316. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2018.09.011>
- Páramo L, Lomonte B, Pizarro-Cerdá J, Bengoechea JA, Gorvel JP, & Moreno E (1998). Bactericidal activity of Lys49 and Asp49 myotoxic phospholipases A2 from *Bothrops asper* snake venom. *European Journal of Biochemistry*, 253(2), 452–461. <https://doi.org/10.1046/j.1432-1327.1998.2530452.x>
- Park MH, Jo M, Won D, Song HS, Han SB, Song MJ, & Hong JT (2012). Snake venom toxin from *Vipera lebetina turanicainduces* apoptosis of colon cancer cells via upregulation of ROS- and JNK-mediated death receptor expression. *BMC Cancer*, 12(1), 228. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-12-228>
- Patiño AC, Pereañez JA, Gutiérrez JM, & Rucavado A (2013). Biochemical and biological characterization of two serine proteinases from Colombian *Crotalus durissus cumanensis* snake venom. *Toxicon*, 63, 32–43. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2012.11.010>
- Perumal Samy R, Gopalakrishnakone P, Ho B, & Chow VTK (2008). Purification, characterization and bactericidal activities of basic phospholipase A2 from the venom of *Agkistrodon halys* (Chinese pallas). *Biochimie*, 90(9), 1372–1388. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2008.04.007>
- Perumal Samy Ramar, Gopalakrishnakone P, Bow H, Puspharaj PN, & Chow VTK (2010). Identification and characterization of a phospholipase A2 from the venom of the Saw-scaled viper: Novel bactericidal and membrane damaging activities. *Biochimie*, 92(12), 1854–1866. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2010.07.012>
- Redza-Dutordoir M, & Averill-Bates DA (2016). Activation of apoptosis signalling pathways by reactive oxygen species. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, 1863(12), 2977–2992. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2016.09.012>
- Rey-Suárez P, Floriano RS, Rostelato-Ferreira S, Saldarriaga-Córdoba M, Núñez V, Rodrigues-Simioni L, & Lomonte B (2012). Mipartoxin-I, a novel three-finger toxin, is the major neurotoxic component in the venom of the redtail coral snake *Micrurus mipartitus* (Elapidae). *Toxicon*, 60(5), 851–863. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2012.05.023>
- Rodrigues RS, da Silva JF, Boldrini França J, Fonseca FPP, Otaviano AR, Henrique Silva F, Rodrigues VM (2009). Structural and functional properties of Bp-LAAO, a new l-amino acid oxidase isolated from *Bothrops pauloensis* snake venom. *Biochimie*, 91(4), 490–501. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2008.12.004>
- Saikia D & Mukherjee AK (2017). Anticoagulant and Membrane Damaging Properties of Snake Venom Phospholipase A2 Enzymes. Em H. Inagaki, C.-W. Vogel, A. K. Mukherjee, T. R. Rahmy, & P. Gopalakrishnakone (Eds.), *Snake Venoms* (pp. 87–104). Dordrecht: Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-007-6410-1_18
- Salama WH, Ibrahim NM, El Hakim AE, Bassuiny RI, Mohamed MM, Mousa FM, & Ali MM (2018). l-Amino acid oxidase from *Cerastes vipera* snake venom: Isolation, characterization and biological effects on bacteria and tumor cell lines. *Toxicon*, 150, 270–279. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2018.06.064>
- Samah S, Fatah C, Jean-Marc B, Safia KT, & Fatima LD (2017). Purification and characterization of Cc-Lec, C-type lactose-binding lectin: A platelet aggregation and blood-clotting inhibitor from *Cerastes cerastes* venom. *International Journal of Biological Macromolecules*, 102, 336–350. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.04.018>
- Sampaio SC, Hyslop S, Fontes MRM, Prado-Franceschi J, Zambelli VO, Magro AJ, Cury Y (2010). Crotoxin: Novel activities for a classic β -neurotoxin. *Toxicon*, 55(6), 1045–1060. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2010.01.011>
- Sarray S, Delamarre E, Marvaldi J, Ayeb ME, Marrakchi N, & Luis J (2007). Lebectin and lebecetin, two C-type lectins from snake venom, inhibit $\alpha 5\beta 1$ and αv -containing integrins. *Matrix Biology*, 26(4), 306–313. <https://doi.org/10.1016/j.matbio.2007.01.001>
- Sawan S, Yaacoub T, Hraoui-Bloquet S, Sadek R, Hleihel W, Fajloun Z, & Karam M (2017). *Montivipera bornmuelleri* venom selectively exhibits high cytotoxic effects on keratinocytes cancer cell lines. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 69(4), 173–178. <https://doi.org/10.1016/j.etp.2017.01.001>
- Shimizu JF, Pereira CM, Bittar C, Batista MN, Campos GRF, Silva S, Jardim ACG (2017). Multiple effects of toxins isolated from *Crotalus durissus terrificus* on the hepatitis C virus life cycle. *PLOS ONE*, 12(11), e0187857. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0187857>
- Silva MA, Lopes DS, Teixeira SC, Gimenes SNC, Azevedo FVPV, Polloni L, Rodrigues RS (2018). Genotoxic effects of BnSP-6, a Lys-49 phospholipase A2 (PLA2) homologue from *Bothrops pauloensis* snake venom, on MDA-MB-231 breast cancer cells. *International Journal of Biological Macromolecules*, 118, 311–319. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.06.082>
- Silva MM, Seneviratne SS, Weerakoon DK, & Goonasekara CL (2017). Characterization of *Daboia russelii* and *Naja naja* venom neutralizing ability of an undocumented indigenous medication in Sri Lanka. *Journal of Ayurveda and Integrative Medicine*, 8(1), 20–26. <https://doi.org/10.1016/j.jaim.2016.10.001>

- Soares TG, Santos JL dos, Alvarenga VG de, Santos JSC, Leclercq SY, Faria CD, Borges MH (2020). Biochemical and functional properties of a new l-amino acid oxidase (LAAO) from *Micrurus lemniscatus* snake venom. *International Journal of Biological Macromolecules*, 154, 1517–1527. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.11.033>
- Sudarshan S, & Dhananjaya BL (2016). Antibacterial activity of an acidic phospholipase A2 (NN-XIb-PLA2) from the venom of *Naja naja* (Indian cobra). *SpringerPlus*, 5(1), 112. <https://doi.org/10.1186/s40064-016-1690-y>
- Sudharshan S, Dhananjaya BL, Sudharshan S, & Dhananjaya BL (2015). Antibacterial potential of a basic phospholipase A2(VRV-PL-VIIIa) from *Daboia russelii pulchella* (Russell's viper) venom. *Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases*, 21, 1–8. <https://doi.org/10.1186/s40409-015-0014-y>
- Suzuki N, Yamazaki Y, Brown RL, Fujimoto Z, Morita T, & Mizuno H (2008). Structures of pseudetoxin and pseudecin, two snake-venom cysteine-rich secretory proteins that target cyclic nucleotide-gated ion channels: Implications for movement of the C-terminal cysteine-rich domain. *Acta Crystallographica Section D: Biological Crystallography*, 64(Pt 10), 1034–1042. <https://doi.org/10.1107/S0907444908023512>
- Tan CH, Tan KY, Ng TS, Sim SM, & Tan NH (2019). Venom Proteome of Spine-Bellied Sea Snake (*Hydrophis curtus*) from Penang, Malaysia: Toxicity Correlation, Immunoprofiling and Cross-Neutralization by Sea Snake Antivenom. *Toxins*, 11(1), 3. <https://doi.org/10.3390/toxins11010003>
- Tan KK, Ler SG, Gunaratne J, Bay BH, & Ponnampalam G (2017). In vitro cytotoxicity of L-amino acid oxidase from the venom of *Crotalus mitchellii pyrrhus*. *Toxicon*, 139, 20–30. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2017.09.012>
- Teodoro A, Oliveira H, Marques S, & Gonçalves FJ (2019). Avaliação do potencial antitumoral e antibacteriano do veneno de *Vipera latastei* (Tese Mestrado). Universidade de Aveiro.
- Utkin YN (2013). Three-finger toxins, a deadly weapon of elapid venom – Milestones of discovery. *Toxicon*, 62, 50–55. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2012.09.007>
- Vitorino KA, Alfonso JJ, Gómez AF, Santos APA, Antunes YR, Caldeira CAS, Calderon LA (2020). Antimalarial activity of basic phospholipases A2 isolated from Paraguayan *Bothrops diporus* venom against Plasmodium falciparum. *Toxicon: X*, 8, 100056. <https://doi.org/10.1016/j.toxcx.2020.100056>
- Wang B, Wang Q, Wang C, Wang B, Qiu L, Zou S, Zhang L (2020). A comparative analysis of the proteomes and biological activities of the venoms from two sea snakes, *Hydrophis curtus* and *Hydrophis cyanocinctus*, from Hainan, China. *Toxicon*, 187, 35–46. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2020.08.012>
- Wang J, Shen B, Guo M, Lou X, Duan Y, Cheng XP, Hao Q (2005). Blocking Effect and Crystal Structure of Natrin Toxin, a Cysteine-Rich Secretory Protein from *Naja atra* Venom that Targets the BKCa Channel. *Biochemistry*, 44(30), 10145–10152. <https://doi.org/10.1021/bi050614m>
- Wijeyewickrema LC, Gardiner EE, Gladigau EL, Berndt MC, & Andrews RK (2010). Nerve Growth Factor Inhibits Metalloproteinase-Disintegrins and Blocks Ectodomain Shedding of Platelet Glycoprotein VI. *Journal of Biological Chemistry*, 285(16), 11793–11799. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.100479>
- Xiao H, Pan H, Liao K, Yang M, & Huang C (2017). Snake Venom PLA2, a Promising Target for Broad-Spectrum Antivenom Drug Development. *BioMed Research International*, 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/6592820>
- Yamazaki Y, Takani K, Atoda H, & Morita T (2003). Snake Venom Vascular Endothelial Growth Factors (VEGFs) Exhibit Potent Activity through Their Specific Recognition of KDR (VEGF Receptor 2). *Journal of Biological Chemistry*, 278(52), 51985–51988. <https://doi.org/10.1074/jbc.C300454200>
- Yee KT, Tongsima S, Vasieva O, Ngamphiw C, Wilantho A, Wilkinson MC, Rojnuckarin P (2018). Analysis of snake venom metalloproteinases from Myanmar Russell's viper transcriptome. *Toxicon*, 146, 31–41. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2018.03.005>
- Yen CY, Liang SS, Han LY, Chou HL, Chou CK, Lin SR, & Chiu CC (2013). Cardiotoxin III Inhibits Proliferation and Migration of Oral Cancer Cells through MAPK and MMP Signaling. *The Scientific World Journal*, 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/650946>
- Zancolli G, Calvete JJ, Cardwell MD, Greene HW, Hayes WK, Hegarty MJ, Wüster W (2019). When one phenotype is not enough: Divergent evolutionary trajectories govern venom variation in a widespread rattlesnake species. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 286(1898), 20182735. <https://doi.org/10.1098/rspb.2018.2735>
- Zasloff M (2002). Antimicrobial peptides of multicellular organisms. *Nature*, 415(6870), 389–395. <https://doi.org/10.1038/415389a>
- Zelanis A, Huesgen PF, Oliveira AK, Tashima AK, Serrano SMT, & Overall CM (2015). Snake venom serine proteinases specificity mapping by proteomic identification of cleavage sites. *Journal of Proteomics*, 113, 260–267. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2014.10.002>
- Zhang Y, Zhao H, Yu GY, Liu XD, Shen JH, Lee WH, & Zhang Y (2010). Structure–function relationship of king cobra cathelicidin. *Peptides*, 31(8), 1488–1493. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2010.05.005>
- Zhang YJ, Wang JH, Lee WH, Wang Q, Liu H, Zheng YT, & Zhang Y (2003). Molecular characterization of *Trimeresurus stejnegeri* venom l-amino acid oxidase with potential anti-HIV activity. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 309(3), 598–604. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2003.08.044>

Zhao H, Gan TX, Liu XD, Jin Y, Lee WH, Shen JH, & Zhang Y (2008). Identification and characterization of novel reptile cathelicidins from elapid snakes. *Peptides*, 29(10), 1685–1691. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2008.06.008>

Zhu H, Yang X, Liu J, Ge Y, Qin Q, Lu J, Sun X (2014). Melittin radiosensitizes esophageal squamous cell carcinoma with induction of apoptosis in vitro and in vivo. *Tumor Biology*, 35(9), 8699–8705. <https://doi.org/10.1007/s13277-014-2146-z>