

Artigo de revisão

Alice Almeida Pereira Nunes¹
Márcio Monteiro Nascimento¹
Mário Sérgio Rocha Gomes¹

¹. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia

KEYWORDS

Snake Venom; Proteinases;
Pharmacological Application

PALAVRAS-CHAVE

Peçonha de Serpentes; Proteases;
Aplicação Farmacológica.

AUTOR CORRESPONDENTE:

Mário Sérgio Rocha Gomes
<mrochaesb@yahoo.com.br>;
Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia -
UESB/DCT - Rua José Moreira Sobrinho s/n -
45200-000 - Jequié - BA. Brasil.

Composição da peçonha de serpente: ação das metaloproteases, serinoproteases e sua aplicação farmacológica

Composition of the snake venom: action of metaloproteases, serinoproteases and their pharmacological application

ABSTRACT

Snake venoms are secretions rich in enzymatic toxins (metalloproteinases, serineproteinases, phospholipases A₂, L-amino acid oxidase, phosphodiesterases, cholinesterases, hyaluronidases, ATPases, NAD nucleosidases, catalases, aminotransferases and β -glucosaminidases) and non-enzymatic (cardiotoxins, cytotoxins, vascular and neural growth factors, C-type lectins, inhibitors and disintegrin peptides), synthesized and stored in specific areas of the body, called salivary glands, and present a specialized apparatus for inoculation of this substance aiding in biological activities. It is important to highlight that this composition may vary among snakes of the same species, since it has the influence of some factors such as age, gender, and geographic region. This article aims to review the composition of snake venom, the action of metallo and serine proteinases already isolated, and its possible pharmacological application. To this end, a qualitative review will be made, based on data from articles on the subject in question.

RESUMO

As peçonhas de serpentes são secreções ricas em toxinas enzimáticas (metaloproteases, serinoproteases, fosfolipases A₂, L-aminoácido oxidase, fosfodiesterases, colinesterases, hialuronidases, ATPases, NAD nucleosidases, catalases, aminotransferases e β -glucosaminidases) e não enzimáticas (cardiotoxinas, citotoxinas, fatores de crescimento vascular e neural, lectinas tipo-C, inibidores e peptídeos desintegrinas), sintetizadas e armazenadas em áreas específicas do corpo, chamadas de glândulas, e apresentam um aparelho especializado para a inoculação dessa substância auxiliando nas atividades biológicas. É importante ressaltar que essa composição pode variar entre as serpentes da mesma espécie, uma vez que, tem a influência de alguns fatores como: idade, sexo e região geográfica. O presente artigo tem por objetivo revisar sobre a composição da peçonha de serpentes, ação das metalo e serinoproteases já isoladas, e a sua possível aplicação farmacológica. Para tanto, será feita uma revisão, de natureza qualitativa, com base em dados de artigos sobre a temática em questão.

INTRODUÇÃO

As peçonhas das serpentes possuem relevância por serem os mais complexos de todos os venenos naturais, apresentando uma grande variedade de proteínas e peptídeos, sendo produzidas em glândulas especializadas capazes de sintetizar e secretar uma grande quantidade de substâncias biologicamente ativas, possibilitando a captação de presas, na defesa contra predadores ou agressores, a paralisar e matar suas vítimas, exercendo suas atividades biológicas e fisiopatológicas de forma sinérgicas. A toxicidade presente no veneno deve-se a presença de diversas proteases, neurotoxinas, citotoxinas, cardiotoxinas. Além disso, compostos orgânicos e inorgânicos, inibidores enzimáticos, peptídeos potencializador de bradicinina, fatores de crescimento nervoso, lectinas, desintegrinas (MATSUI et al., 2000; ULRICH et al., 2008; WAHEED et al., 2017).

Dentre os diversos componentes dos venenos de serpentes da família *Viperidae*, destacam-se as enzimas proteolíticas: serinoproteases (*Snake venom serineproteinases* -SVSP's) e as metaloproteases (*Snake Venom Metalloproteinases* - SVMP's). Essas proteases têm sido alvo de estudos e de interesses particulares, pois estão diretamente relacionadas, de forma isolada e/ou sinérgica, com um amplo aspecto do envenenamento ofídico que envolvem principalmente desordens relacionadas com o sistema hemostático, agregação plaquetária e adesão celular. Portanto, podemos inferir que estas substâncias enzimáticas estão relacionadas com diversos eventos da fisiopatologia do envenenamento ofídico, principalmente no que se refere a coagulação sanguínea (ESCALANTE et al., 2006; ESCALANTE et al., 2011; SAJEVIC, et al., 2011). As primeiras atuam em processos fisiológicos como: agregação plaquetária, coagulação sanguínea, fibrinólise, adesão celular, alteração da pressão sanguínea e sistema nervoso; e em processos patológicos. No caso das serpentes, são toxinas presentes no seu veneno, denominadas SVSP (*snake venom serineproteinases*). Essas enzimas são caracterizadas estruturalmente por apresentarem a tríade catalítica (formada pelos aminoácidos ASP-HIS-SER). Há diferenças na tríade em outras famílias, estando sempre o resíduo do aminoácido serina (Ser) conservado (SERRANO & MAROUN, 2005). A maioria das SVSP é um grupo de enzimas terapeuticamente importantes por apresentarem especificidade sobre o fibrinogênio plasmático similar a trombina e por referida atividade biológica, sendo denominadas enzimas “*thrombin-like*” sem, no entanto, ativar o fator XIII; com isso, induzem a formação do coágulo “frouxo” de fibrina que pode ser facilmente removido da circulação sanguínea, tanto pela ação da fibrinólise, quanto por via do sistema retículo endotelial. Portanto essas enzimas têm um foco de aplicação terapêutica para com desordens tromboticas (LARRÉCHÉ et al., 2008; SAJEVIC, et al., 2011)

As SVMP's (*snake venom metalloproteinases*) podem representar, em alguns casos, cerca de 40-50% das enzimas proteolíticas ativas em composição das peçonhas ofídicas, principalmente no que se refere às peçonhas das serpentes da família *Viperidae*. As SVMP são membros do *clan Metzincin*, portanto são zinco dependentes. Elas contêm um motivo conhecido como *Met-turn* que apresenta uma

metionina (*β -turn*) em sua estrutura terciária, que se liga ao sítio catalítico de zinco (HExxHxxGxxH.....M), juntamente com as proteínas reprodutivas de mamíferos as ADMA (*A Disintegrin and Metalloproteinases*), que são membros da subfamília *Reprolisinas*. As SVMP são sintetizadas como pró-enzimas (zimogênios) na glândula especializada e, quando processados, liberam um peptídeo cuja sequência conservada (PKMCGVT) encontra-se ligado ao íon zinco, inibindo a sua atividade catalítica, sendo o mecanismo conhecido como “*Cysteine switch*” (GRAMS et al., 1993; BJARNASON & FOX, 1995; JIA et al., 1996; MATSUI et al., 2000; FOX & SERRANO, 2005; WANG et al., 2005; RAMOS & SELISTRE-DE-ARAUJO, 2006; FONSECA, 2010; GOMES, 2013). Sua área de atuação pode ser a interação com receptores específicos, como integrinas da superfície de plaquetas, células endoteliais, degradação de fatores da cascata de coagulação, tais como fibrinogênio, Fator X, Fator V, entre outros, apresentando assim uma interferência direta na hemostasia; além de alta especificidade sobre componentes da membrana basal e fibroblastos. Podem, também, ser responsáveis por reações fisiopatológicas, por exemplo, inflamação, inibição da agregação plaquetária, apoptose e hemorragias. Faz-se importante salientar que nem todas as metaloproteases são hemorrágicas (FONSECA, 2010; GOMES, 2013; MAMEDE, 2015).

Ao longo do tempo, o estudo dos componentes presentes na peçonha de serpentes tem sido alvo de muitas pesquisas voltadas para a descoberta de substâncias farmacologicamente ativas. Em uma recente pesquisa realizada no site (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>), encontrou-se somente, na última década, mais de 4.000 publicações relacionadas com as toxinas provenientes das peçonhas de serpentes. Isso porque essas peçonhas possuem uma grande variabilidade de proteínas e peptídeos biologicamente ativos, que despertam interesse tanto no que diz respeito ao conhecimento da sua participação na fisiopatologia do envenenamento, bem como em uma possível aplicação terapêutica para alguns de seus componentes isolados, contribuindo no desenvolvimento de novos agentes terapêuticos (GOMES, 2013).

No que se refere à diversidade de proteínas e peptídeos em peçonha de serpentes, sendo alvo de uma série de estudos, destacando sobre as diversas pesquisas e publicações em revistas de Toxicologia e Farmacologia, este trabalho tem como objetivo uma revisão da sua composição, ação das metaloproteases e serinoproteases, bem como sua aplicação farmacológica.

DESENVOLVIMENTO

Composição das peçonhas das serpentes

A peçonha das serpentes é produzida em glândulas, que certamente sofreram mudanças morfológicas de outras glândulas salivares da família dos répteis. Essas glândulas são de fundamental importância, pois auxiliam no processo de lubrificação e digestão dos alimentos. Contudo, ao longo do processo evolutivo, passaram a ter função de defesa contra predadores. Sendo assim, a peçonha de serpentes possui um aparato biológico de grande interesse científico, devido à variabilidade de alto potencial farmacológico

(RAMOS & SELISTRE-DE-ARAÚJO, 2006; ESCALANTE et al., 2011; SAJEVIC, et al., 2011).

Aproximadamente, 90% do peso seco da maioria dos venenos consistem em material proteico (BIEBER, 1979). Representado por uma mistura de proteínas com atividade catalítica como acetilcolinesterases, fosfolipases A₂, catalases, hialuronidasas, aminotransferases, ADPases, ATPases, L-aminoácido oxidases, proteases: metaloproteases e serinoproteases, e sem atividade catalítica como inibidores enzimáticos, desintegrinas, ativador de Proteína C, fatores de crescimento, inibidores do complexo protrombina, precursores de peptídeos bioativos, lectinas. Além de peptídeos, os compostos orgânicos com baixo peso molecular também fazem parte da composição do veneno como aminoácidos, aminas biogênicas, carboidratos, citrato e nucleotídeos, os íons inorgânicos, tais como, cálcio, cobalto, magnésio, manganês, ferro, zinco, sódio, fósforo, assim como os inibidores enzimáticos (RAMOS & SELISTRE-DE-ARAÚJO, 2006).

A variabilidade da peçonha das serpentes ocorre a níveis interfamiliar, intergênero, interespecie e intraespecie; devendo ser consideradas também variações individuais, tendo como parâmetros a idade, sazonalidade, dieta, habitat, dimorfismo sexual, região geográfica e variabilidade genética (CHIPPAUX et al, 1991).

Dentre os diversos componentes da peçonha de serpente, as serinoproteases e metaloproteases são as principais enzimas proteolíticas, tendo como alvo preferencial o sistema hemostático humano e de muitos outros mamíferos.

As serinoproteases, em geral, possuem a capacidade de degradar fibrinogênio e fibrina (enzimas fibrina (ogen)olíticas), mas não são suscetíveis à hirudina ou heparina e, talvez, aos inibidores endógenos da serinoproteases, formando coágulos anormais de fibrina. Além disso, ativam especificamente o fator de coagulação V, proteína C, plasminogênio ou plaquetas e desempenham atividade semelhante à calicreína, liberando bradicinina hipotensora. Em contrapartida, são incapazes de ativar o Fator XIII e, portanto, forma um coágulo endógeno fraco e com facilidade de ser removido.

As metaloproteases, que também possuem atividades fibrina(ogen)olíticas, apresentam a capacidade de degradar a membrana basal, fazendo com que ocorra o extravasamento sanguíneo (no caso das hemorrágicas), sendo capazes de ativar o fator de coagulação X, receptores de membrana plaquetária ou fator de von Willebrand. Essas enzimas são formadas por estruturas quiméricas compostas por vários domínios, sendo um deles o domínio metaloprotease e, em adição, os domínios desintegrina, similar-desintegrina, rico em Cys e do tipo lectina; por tais diversidades de domínio essas enzimas são subdivididas em classes e subclasses. Elas interagem com integrinas do sistema celular, promovendo a ruptura da agregação celular, tornando, assim, alvo na utilização de tratamento neoplásicos (MATSUI *et al.*, 2000; ESCALANTE et al., 2006; RAMOS & SELISTRE-DE-ARAÚJO, 2006; FOX & SERRANO; 2008; BALDO et al., 2010; ESCALANTE et al., 2011; SAJEVIC, et al., 2011).

SERINOPROTEASES

As proteases da serina são indispensáveis em todas as células vivas por desempenharem diversas funções vitais, além de serem enzimas catalisadoras de degradação de proteínas por hidrólise de ligações peptídicas. Por outro lado, estão associadas a algumas doenças do organismo humano, podendo ser citadas as doenças cardiovasculares, Alzheimer, alguns cânceres, doenças autoimunes, inflamação e hipertensão (COUGHLIN, 2000; HEDSTROM, 2002a; NEURATH, 1984 apud LIMA, 2017).

A quimotripsina, tripsina, elastase e subtilisina são as proteases mais estudadas entre as proteases de serina, provenientes de mamíferos, as quais são cerca de um terço entre elas. Outra forma de classificação, inclusa entre a supracitada, é a divisão entre duas grandes famílias: a família em que se encontra inclusa a tripsina - quimotripsina e a família da subtilisina, memorando a existência de outras famílias. As características levadas em consideração para a classificação são as sequências homólogas de aminoácidos, bem como a similaridade em sua geometria tridimensional (LIMA, 2017).

Para uma melhor classificação, é possível observar que as proteases da serina possuem como característica a presença do resíduo serina em seu sítio ativo. A quimotripsina e a subtilisina, por exemplo, possuem uma tríade catalítica ASP-HIS-SER; já outras famílias, apresentam tríades e díades diferenciadas (visto as diferentes origens evolutivas), de forma que o resíduo serina (SER) sempre esteja presente.

Há mais de 30 anos, a análise estrutural e as ações das proteases da serina, bem como o modo em que elas ocorrem, vêm despertando interesse e sendo objeto de estudo. Dentre as diversas formas de estudos e experimentos que podem ser feitos em laboratórios, as mais utilizadas, nesses casos, são técnicas de difração de Raios-X, difração de nêutrons e RMN de proteínas, cuja aplicação permitiu observar detalhes estruturais dessa classe de proteínas (LIMA, 2017). A partir da estrutura tridimensional da quimotripsina, estudada através do método de difração de Raios-X realizado por David Blow, foi possível observar aspectos importantes sobre os resíduos anteriormente citados. O ácido aspártico liga-se com a histidina, através de ligações de hidrogênio, da mesma forma que a histidina se liga à serina. A quimotripsina, subtilisina e a carboxilase C apresentam, em comum, a serina, ácido aspártico e histidina, formando uma tríade catalítica, permitindo uma similaridade no mecanismo de reação proteolítica. Na tríade, há o nucleófilo, eletrófilo e a base, sendo eles a serina, o aspartato e a histidina, respectivamente. (YONAMINE, 2007).

METALOPROTEASES

As SVMP (*Snake Venom Metalloproteinases*) são enzimas que estão classificadas na superfamília a qual depende da presença de zinco, chamada: “*zinc-metalloproteases*”. O que define a divisão dela, por sua vez, é a estrutura primária de seus sítios catalíticos, sendo as principais divisões em: *zincinas*, *interzincinas*, *carboxipeptidases* e *DD carboxipeptidases*. Há ainda outra subdivisão no grupo das *zincinas*, entre eles está o subgrupo das *gluzincinas* e *metzincinas*. O primeiro

apresenta características cuja definição é possuir a terceira histidina ligante de zinco seguida por ácido glutâmico; enquanto, no segundo, o terceiro ligante de zinco é a histidina (COMINETTE, 2004; GOMES, 2013). O último grupo é dividido em astacinas, serralisinas, matrixinas e reprotinas, no qual as SVMP estão incluídas por possuírem um resíduo de ácido aspártico, após a terceira histidina ligante de zinco.

Ademais, são filogeneticamente relacionadas às proteínas ADAM (proteínas reprodutivas de mamíferos e ADAMTS), pertencendo à subfamília “*reprolysins*”. A razão pela qual são classificadas em famílias diferentes está relacionada à diferença nos seus domínios não catalíticos, uma vez que apresentam sítios catalíticos similares. As SVMPs e ADAMTS constituem o clã M12B de metaloendopeptidases. Essa família de enzimas possui regiões características de ligação do zinco, semelhante ao seu domínio catalítico, caracterizado pela sequência de HEBXHXBG BXH (RAMOS & SELISTRE-DE-ARAÚJO, 2006; TAKEDA et al. 2011; GOMES, 2013).

As SVMP que apresentam ação hemorrágica local, uma vez que degradam os componentes da membrana basal e as proteínas de adesão, levam ao extravasamento sanguíneo, devido ao enfraquecimento da parede capilar. Além disso, as células endoteliais estão sujeitas a força do fluxo sanguíneo, contribuindo ainda mais para a ruptura da parede capilar (GUTIERREZ et al., 2005; BALDO et al., 2010).

As SVMP são responsáveis pela atividade hemorrágica característica dos venenos de serpentes viperídeo, interferindo no sistema homeostático, facilitando a perda de sangue pela vasculatura da presa. Além de possuir atividades fibrinogenolíticas, fibrinolítica, apoptótica, ativadora de protrombina, de fator X e inibidor da agregação plaquetária (FOX & SERRANO 2005; GUTIERREZ et al., 2005; TAKEDA et al., 2011; WAHEED et al., 2017).

Aplicações farmacológicas das serinoproteases e metaloproteases da peçonha de serpente

O despertar científico pelas serpentes e suas peçonhas transcendem dos contos mitológicos e folclóricos populares para as bancadas científicas. Ao longo dos tempos, as pesquisas sofisticadas sobre a composição das peçonhas das serpentes, sua purificação, sequenciamento para análise da estrutura tridimensional e análise da ação fisiológica destas substâncias isoladas vem despertando interesse da farmacologia no intuito de elaboração de modelo molecular para novos fármacos. Um marco neste conceito e olhar científico para os componentes das peçonhas de serpente foi a descoberta, na década de 60, do fator potencializador de bradicinina proveniente da peçonha de *Bothrops jararaca* por Ferreira e Rocha, uma pró-droga que deu origem ao fármaco anti-hipertensivos *Captopril*®, o primeiro inibidor do sítio ativo da ECA e um dos fármacos mais utilizados no tratamento de hipertensão e insuficiência cardíaca (BENOWITZ, 2003; ULRICH et al., 2008).

A batroxobina (*Defibrase*®) é uma serinoprotease isolada da peçonha de serpentes de *Bothrops atrox moojeni* com ação típica, similar a trombina, tendo como efeito desfibrinogênico. Está associada com a redução dos níveis de fibrinogênio no plasma e o melhoramento da

anticoagulação e fibrinólise. A enzima tem sido usada no tratamento de várias doenças trombóticas, incluindo a trombose venosa profunda, infarto do miocárdio, embolia pulmonar, acidente vascular cerebral isquêmico e agudo (ZHANG et al., 2011; WAHEED et al., 2017). A batroxobina, quando injetada de forma intravenosa, no intervalo de três meses após o aparecimento dos sintomas, mostrou resultados positivos, uma vez que o nível de fibrinogênio no plasma diminuiu significativamente no controle de hiperfibrinogenemia em pacientes com acidente vascular cerebral. (XU et al., 2007).

A Ancrod (*Viprinex*®) é outra serinoprotease com atividade similar à trombina isolada da peçonha de *Calloselasma rhodostoma*, atua como agente desfibrinante, agindo na anticoagulação, redução da viscosidade do sangue e fibrinólise indireta, sendo indicada inicialmente para o tratamento de AVC isquêmico agudo, e a sua eficiência e segurança vem sendo avaliada nos últimos anos. Quando na fase estágio III de testes clínicos em pacientes com isquemia, a Ancrod foi reprovada, sendo assim, não é mais produzida para uso em humanos com distúrbios da coagulação sanguínea (LEVY et al., 2009).

A *giroxina* é uma serinoprotease trombina-similar isolada do veneno de *Crotalus durissus terrificus*, sendo hoje empregada como um selante de fibrina. Esta não proporciona nenhuma transmissão de doenças infecciosas e é utilizada em diferentes áreas de cirurgia, especialmente cardiovascular e torácica para parar ou controlar o sangramento ou fornecer ar e impermeabilidade aos fluidos em muitas situações cirúrgicas (RADOSEVICH et al., 1997). Além disso, o selante de fibrina diminui o tempo cirúrgico, melhora a recuperação pós-operatória e é altamente adesivo, podendo ser usado como um adjuvante em procedimentos de sutura convencionais e administração de medicamentos (BARROS et al., 2009).

Do mesmo modo, as metaloproteases presentes em peçonhas de diversas serpentes apresentam atividades farmacológicas de interesse médico-científico, pois possuem atividade fibrinogenolítica, que são aplicadas no tratamento de trombozes, no qual atua no processo conhecido como trombólise. São exemplos, as metaloproteases da classe P-I que apresentaram bons resultados preliminares na degradação do fibrinogênio plasmático e, portanto, podem ser foco de utilização como modelo molecular para novos fármacos; *BJ-P12* de *B. Jararaca*; *Batroxase* de *B. Atrox*; *BleuMP* de *B. leucurus*; dentre outras (GOMES, 2013; SANTOS et al., 2016)

Estas SVMP são chamadas de enzimas fibrinogenolíticas, porque provocam a diminuição do nível plasmático do fibrinogênio ou solubilizam os coágulos de fibrina, causando assim uma desfibrin(ogen)ação e, por consequência, tornando o sangue mais fluido e aumentando o tempo de coagulação. (ESCALANTE, et al; SANTOS et al., 2016).

As enzimas possuem a capacidade de clivar cadeias, entre elas, é possível clivar na extremidade C-terminal da cadeia α – produzindo fibrinogênio truncado, incapaz de formar coágulos de fibrina estável, o que inibe a intensa coagulação do sangue – podem clivar parcialmente e/ou integralmente a cadeia $B\beta$, mas são incapazes de atingir a cadeia γ , classificando-se, assim como preferencialmente α -fibrinogênases (CAVALCANTE et al., 2018).

Uma pesquisa realizada pela professora Thereza

Christina Barja-Fidalgo e colaboradores demonstrou que desintegrinas purificadas do veneno de serpentes como a *Bothrops jararaca*, a *Agkistrodon rhodostoma* e a *Trimeresurus flavoviridis* também apresentaram propriedades as quais podem ser utilizadas no âmbito farmacológico. Foi constatado que essas desintegrinas são capazes de impedir as células cancerosas de interagirem com as integrinas, não permitindo sua associação às proteínas de matriz extracelular e própria migração tumoral, consequentemente, reduzindo a capacidade de ativação, proliferação, migração e tempo de sobrevivência das células de um tipo de melanoma (câncer de pele com grande capacidade de formar metástases) (COELHO et al., 1999).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O desenvolvimento do presente artigo possibilitou a seleção de parte das obras bibliográficas as quais contribuem de grande forma para o entendimento sobre a peçonha de serpente, dando ênfase a sua composição e destacando as enzimas proteolíticas: serinoproteases e metaloproteases. Permitiu, também, uma breve revisão sobre as ações fisiológicas e aplicações farmacológicas das substâncias supracitadas, com o intuito de contribuir para o tratamento de pacientes com patologias, em sua maioria, sanguíneas. Ao mesmo tempo, torna-se necessário salientar que o desenvolvimento e modernização tecnológica das pesquisas científicas com as peçonhas, suas substâncias ativas e ação fisiopatológicas, vêm avançando com a aplicação de novas técnicas, de modo que essas substâncias possam servir de modelo molecular na elaboração de fármacos a serem utilizados em diversas patologias.

REFERÊNCIAS

BALDO, C., JAMORA, C., YAMANOUYE, N., ZORN, T.M., MOURA-da-SILVA, A.M., Mechanism of vascular damage by hemorrhagic snake venom metalloproteinases: Tissue distribution and in situ hydrolysis. *PLOS Neglected Tropical Diseases* 4, e727, 2010.

BARROS, L. C., et al. A new fibrin sealant from *Crotalus durissus terrificus* venom: Applications in Medicine, *Journal of Toxicologia e Saúde Ambiental, Parte B*, 12: 8, 553-571, 2009.

BENOWITZ, N. L. **Agentes Anti-hipertensivos.** In: **KATZUNG, B. G. Farmacologia Básica e Clínica.** 8ª ed, Rio de Janeiro: Guanabara koogan, p. 137 –158, 2003.

BIEBER, A. L. Metal and Nonprotein Constituents in Snake Venoms. In: LEE, C.-Y. (Eds.). **Snake Venoms.** Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 1979. p. 295-306. DOI: 10.1007 / 978-3-66913-2_9.

CAVALCANTE, J.S. et al. Interações de veneno ofídico com a cascata de coagulação: entendendo as toxinas procoagulantes e fibrinogenolítica. **ANAIS DO 1º CURSO DE INVERNO EM BIOCÊNCIAS – PPGCB/UFPE**, 8-239, 2018.

CHIPPAUX, J.P., WILLIAMS, V., WHITE, J. Snake venom variability: methods of study, results and interpretation. *Toxicon*, 29 (11), 1279-1303. 1991.

COELHO, A.L., FREITAS, M.S., OLIVEIRA-CARVALHO, A.L., MOURA-NETO, V., ZINGALI, R.B., BARJA-FIDALGO, C. Effects of jarastatin, a novel snake venom disintegrin, on neutrophil migration and actin cytoskeleton dynamics. *Exp Cell Res.* 251(2):379-387, 1999.

COMINETTI, M. R, **Estudo dos efeitos de metaloproteases/desintegrinas isoladas do veneno de serpente *Bothrops alternatus* sobre a adesão celular e a expressão gênica.** 2004. 199 f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP, 2004.

ESCALANTE, T. et al. Novel insights into capillary vessel basement membrane damage by snake venom hemorrhagic metalloproteinases: a biochemical and immunohistochemical study. *Arch Biochem Biophys.* 455, 144-153, 2006.

ESCALANTE, T. et al. Key events in microvascular damage induced by snake venom hemorrhagic metalloproteinases. *Journal of Proteomics* 74, 1781-1794, 2011.

FONSECA, K.C. **Purificação e caracterização bioquímica da moozicina, uma metaloprotease dependente de zinco presente na peçonha da serpente *Bothrops moojeni* (Caiaca).** 2010. 51f. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG, 2010.

FOX J.W., SERRANO S.M. Structural considerations of the snake venom metalloproteinases, key members of the M12 reprotolysin family of metalloproteinases. *Toxicon.* Jun 15, 45(8):969-85, 2005.

FOX, J.W., SERRANO, S.M.T. Insights into and speculations about snake venom metalloproteinase (SVMP) synthesis, folding and disulfide bond formation and their contribution to venom complexity. *FEBS J.* 275, 3016-3030, 2008.

GOMES, M.S.R. **Caracterização Estrutural e funcional de metaloproteases isoladas de peçonhas bothrópicas.** 2013 127f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG, 2013.

GRAMS, F., HUBER, R., KRESS, L.F., MORODER, L., BODE, W. Activation of snake venom metalloproteinases by a cysteine switch-like mechanism. *FEBS Lett.* 335, 76-80. 1993.

GUTIERREZ JM, RUCAVADO A, ESCALANTE T, DIAZ C. Hemorrhage induced by snake venom metalloproteinases: biochemical and biophysical mechanisms involved in microvessel damage. *Toxicon.* Jun 15, 45(8):997-1011, 2005.

LARRÉCHÉ, S., MION, G., GOY, M. Troubles de l'hémostase induits par les venins de serpentes. *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation* V. 27, Issue 4April p. 302-309. 2008.

- LEVY, D. E. et al. Ancrod in acute ischemic stroke: results of 500 subjects beginning treatment within 6 hours of stroke onset in the ancrod stroke program. **Stroke** v. 40, p.3796-3803, 2009.
- LIMA, M. C. P. Mecanismo de Ação da Enzima Protease de Serina NS2B-NS3 do Vírus da Dengue. 169 f. Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCEN. Recife, PE, 2017.
- LUSA, A.L.G. **Estudos bioquímicos e biofísicos de metaloproteínas/desintegrinas de venenos de serpentes**. 81f. Dissertação (mestrado) – Instituto de Física de São Carlos, São Carlos, SP, 2008.
- MAMEDE, C.C.N. **Estudo de efeitos inflamatórios locais induzidos por peçonhas Botrópicas**. 129 p. Tese de Doutorado – Instituto de Genética e Bioquímica, Uberlândia – MG, 2015.
- MATSUI, T. et al. Snake venom proteases affecting hemostasis and thrombosis. **Biochim. Biophys. Acta** . v. 1477, n.1 -2, p. 146 - 156, 2000.
- MOTTA, D. **Substância presente no veneno de serpentes pode ser arma contra a metástase**. FAPERJ. 2009. Disponível em: <<http://www.faperj.br/?id=1416.2.6>>. Acesso em: 16 de março de 2020.
- RADOSEVICH, M.; GOUBRAN, H. A.; BURNOUF, T. **Fibrin sealant: Scientific rationale, production methods, properties, and current clinical use**. *Vox Sanguinis* v. 72, p. 133-143, 1997. DOI: 10.1046/j.1423-0410.1997.7230133.x
- RAMOS, O. H. P.; SELISTRE-DE-ARAUJO, H. S. Snake venom metalloproteases — structure and function of catalytic and disintegrin domains. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 142, n. 3–4, p. 328-346, 2006.
- SANTOS, M.A. et al. Purificação e avaliação da interferência de BthMP (uma metaloproteases da peçonha de Bothrops moojeni) na coagulação sanguínea. **Jorn. Inter. Bioc.** v.1, n.2, 2016.
- SAJEVIC, T., LEONARDI, A., KRIZAJ, I. Haemostatically active proteins in snake venoms. **Toxicon** 57, 627-645, 2011.
- SERRANO SMT, MAROUN RC. Snake venom serine proteinases: sequence homology vs. substrate specificity, a paradox to be solved. **Toxicon**, 45:1115–1132, 2005.
- TAKEDA S, TAKEYA H, IWANAGA S. Snake venom metalloproteinases: Structure, function and relevance to the mammalian ADAM/ADAMTS family proteins. **Biochim Biophys Acta**. Jan; 1824(1):164-76, 2011.
- ULRICH, A.H., et al., **Bases Moleculares da Biotecnologia**. co-organizador Cleber A. Trujilo - São Paulo: Roca 1ª ed., p.15-33. 2008. ISBN: 978-85-7241-759-4.
- WAHEED, H, MOIN, S.F., CHOUDHARY, M.I. Snake Venom: From Deadly Toxins to Life-saving Therapeutics. **Curr Med Chem**. 24(17):1874-1891. 2017. doi: 10.2174/0929867324666170605091546.
- XU, G. et al. Feasibility of treating hyperfibrinogenemia with intermittently administered batroxobin in patients with ischemic stroke/transient ischemic attack for secondary prevention. **Blood Coagul Fibrin** V. 18, p. 193- 197, 2007.
- YONAMINE, C. M. **Clonagem de serino proteases do veneno de cascavel *Crotalus durissis terrificus* e expressão da giroxina em célula de mamífero**. Dissertação (mestrado) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, 2007.
- ZHANG, L. et al. Batroxobin Mobilizes Circulating Endothelial Progenitor Cells in Patients With Deep Vein Thrombosis. **Clin Appl Thromb-Hem** v. 17, p. 75-79, 2011.