



**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS
ESCOLA DE CIÊNCIAS MÉDICAS E DA VIDA
CURSO DE BIOMEDICINA**

**CARACTERIZAÇÃO COMPARATIVA DO VENENO DAS ESPÉCIES DE
SERPENTE *Bothrops alternatus* (DUMÉRIL, BIBRON & DUMÉRIL, 1854),
Bothrops pauloensis AMARAL, 1925 E *Bothrops moojeni* (HOGE, 1966) DO
ESTADO DE GOIÁS**

ANNA JÚLIA PEREIRA VASCONCELOS

**GOIÂNIA - GO
2025**

Anna Júlia Pereira Vasconcelos

**CARACTERIZAÇÃO COMPARATIVA DO VENENO DAS ESPÉCIES DE
SERPENTE *Bothrops alternatus* (DUMÉRIL, BIBRON & DUMÉRIL, 1854),
Bothrops pauloensis AMARAL, 1925 E *Bothrops moojeni* (HOGE, 1966) DO
ESTADO DE GOIÁS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao curso de Biomedicina da Pontifícia
Universidade Católica de Goiás.

Orientador: Prof. Dr. Nelson Jorge da Silva Jr.

**GOIÂNIA – GO
2025**

Anna Júlia Pereira Vasconcelos

**CARACTERIZAÇÃO COMPARATIVA DO VENENO DAS ESPÉCIES DE SERPENTE
Bothrops alternatus (DUMÉRIL, BIBRON & DUMÉRIL, 1854), *Bothrops pauloensis* AMARAL, 1925 E *Bothrops moojeni* (HOGE, 1966) DO ESTADO DE
GOIÁS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Biomedicina da Pontifícia Universidade Católica de Goiás.

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. Nelson Jorge da Silva Jr.
Pontifícia Universidade Católica de Goiás

Examinador: Dra. Marta Regina Magalhães
Pontifícia Universidade Católica de Goiás

Examinador: Dr. Paulo Roberto de Melo Reis
Pontifícia Universidade Católica de Goiás

Data da aprovação: 15/10/2025

**GOIÂNIA – GO
2025**

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, que em Seu infinito amor me sustentou, capacitou, abriu portas e ouviu minhas orações. Sem Ele eu nada seria. Consagro a Ti não apenas este trabalho, mas toda a minha vida e vocação.

À minha mãe, Rosilda, registro minha mais profunda gratidão pelo apoio incondicional, pelo colo e pelos conselhos. Nos momentos mais difíceis, estive sempre ao meu lado, sendo meu alicerce durante toda a vida e a graduação.

À minha avó, Ilda, agradeço por todo amor, carinho e presença constante em cada dia desses anos de formação, sendo sempre companhia e proteção.

Ao meu avô de coração, Carlos, que, pela vontade de Deus, não pôde estar fisicamente presente nesta conquista, mas de quem sinto a presença e a proteção, tenho a certeza de que, lá do alto, acompanha cada passo meu.

Sem vocês eu não teria chegado até aqui. Todo mérito que hoje conquisto é também fruto do esforço, da renúncia e da luta de vocês. Dedico esta vitória a vocês que não tiveram as mesmas oportunidades, mas que nunca deixaram de batalhar para que eu tivesse as melhores. Formo-me academicamente, mas reconheço que a maior e mais valiosa formação veio do exemplo de vida e de caráter que vocês me deram. É uma honra ser a primeira de nossa família a conquistar o ensino superior, e rogo a Deus que me conceda sabedoria para ser motivo de orgulho e, sobretudo, para retribuir tudo o que fizeram por mim. Amo profundamente cada um de vocês.

Ao meu orientador, Dr. Nelson, agradeço o aceite da orientação e auxílio fundamentais à realização deste trabalho, bem como sua paciência e empenho em compreender e realizar minha idealização de projeto.

À Dra. Marta, expresso minha imensa gratidão pela generosidade em compartilhar conhecimento, pela paciência e pelo apoio nas inúmeras tardes dedicadas à execução dos experimentos.

RESUMO

O gênero *Bothrops* representa o principal agente etiológico dos acidentes ofídicos no Brasil, sendo responsável pela maioria dos casos registrados anualmente. Este estudo teve como objetivo comparar as atividades bioquímicas e enzimáticas dos venenos de *Bothrops alternatus*, *B. pauloensis* e *B. moojeni*, espécies de relevância médica no Estado de Goiás. Foram realizadas análises de dosagem proteica, atividades de hialuronidase, caseinólise, fosfolipase e determinação da dose mínima coagulante, perfil eletroforético e perfil cromatográfico. Os resultados demonstraram maior complexidade e atividade enzimática nos venenos de *B. pauloensis* e *B. moojeni* em comparação a *B. alternatus*, com valores mais elevados para hialuronidase e caseinólise. A análise eletroforética revelou perfis proteicos distintos, com bandas correspondentes a serinoproteases, fosfolipases A₂ e L-aminoácido oxidases (LAAOs). As variações observadas refletem diferenças interespecíficas na composição dos venenos, possivelmente relacionadas à ecologia e distribuição geográfica das espécies. Os resultados reforçam a importância da caracterização bioquímica dos venenos botrópicos para aprimorar a compreensão dos mecanismos fisiopatológicos e subsidiar o desenvolvimento de antivenenos mais eficazes.

Palavras-chave: *Bothrops*; veneno botrópico; fosfolipase; hialuronidase;

ABSTRACT

The *Bothrops* genus represents the main etiological agent of snakebite envenomations in Brazil, accounting for most cases recorded annually. This study aimed to compare the biochemical and enzymatic activities of venoms from *Bothrops alternatus*, *B. pauloensis* and *B. moojeni*, species of medical relevance in the State of Goiás. Protein quantification, hyaluronidase, caseinolytic and phospholipase activities, as well as the minimum coagulant dose (MCD), were determined. Protein profiles were characterized by SDS-PAGE and high-performance liquid chromatography (HPLC). The results demonstrated higher enzymatic activity and protein complexity in *B. pauloensis* and *B. moojeni* venoms compared to *B. alternatus*, with higher hyaluronidase and caseinolytic activities. SDS-PAGE revealed distinct protein banding patterns corresponding to serine proteases, phospholipases A₂, and L-amino acid oxidases (LAAOs). These interspecific differences reflect ecological and geographical factors influencing venom composition. The findings reinforce the importance of biochemical characterization of *Bothrops* venoms to improve the understanding of their pathophysiological mechanisms and to support the development of more effective antivenoms.

Keywords: *Bothrops*; bothropic venom; phospholipase; hyaluronidase;

FIGURAS

Figura 1. Distribuição dos agentes causais de acidentes com serpentes no Brasil entre 2020 a 2024. Fonte: SINAN, 2025.....	2
Figura 2. Distribuição dos agentes causais de acidentes com serpentes filtrados por gênero no Brasil entre 2020 a 2024. Fonte: SINAN, 2025.....	3
Figura 3. Representação comparativa de componentes do veneno de espécies de jararacas do Brasil. Legenda: SVMP-I, SVMP-II e SVMP-III (metaloproteinase de veneno de cobra - classes P-I, P-II e P-III); PLA ₂ (fosfolipase A ₂); SVSP (serina proteinase de veneno de cobra); CLEC (C-tipolectina); CLECL (semelhante a lectina tipo C); LAAO (L-aminoácido oxidase); NGF (fator de crescimento nervoso); HYALU (hialuronidase); VEGF (fator de crescimento endotelial vascular); CRISP (proteína secretora rica em cisteína); PDIEST (fosfodiesterase 1); ECTONT (ecto-59-nucleotidase); PLB (fosfolipase B); GLUTCYC (glutaminil ciclase) e ACTIN (actina). Fonte: Sousa et al., 2013.....	11
Figura 4. Espécime de <i>Bothrops alternatus</i> e sua distribuição geográfica conhecida. Fonte: Silva Jr. et al., 2024.....	30
Figura 5. Espécime de <i>Bothrops moojeni</i> e sua distribuição geográfica conhecida. Fonte: Silva Jr. et al., 2024.....	31
Figura 6. Exemplos de espécies do grupo <i>Bothrops neuwiedi</i> e sua distribuição geográfica no Brasil. A. <i>Bothrops diporus</i> ; B. <i>Bothrops lutzi</i> ; C. <i>Bothrops marmoratus</i> ; D. <i>Bothrops mattogrossensis</i> ; E. <i>Bothrops neuwiedi</i> ; F. <i>Bothrops pauloensis</i> ; G. <i>Bothrops pubescens</i> . Fonte: Silva Jr. et al., 2024.....	31
Figura 7. Perfil eletroforético do veneno de <i>B. moojeni</i> , <i>B. alternatus</i> e <i>B. pauloensis</i>	34
Figura 8. Perfil cromatográfico do veneno de <i>B. alternatus</i>	35
Figura 9. Perfil cromatográfico do veneno de <i>B. pauloensis</i>	35
Figura 10. Perfil cromatográfico do veneno de <i>B. moojeni</i>	36

TABELAS

Tabela 1. Espécies de jararacas do Brasil.....	7
Tabela 2. Médias dos resultados obtidos nas determinações.....	33
Tabela A.1. Resultados das determinações em triplicata.....	42

LISTA DE ABREVIACÕES E SIGLAS

CTAB – Cetiltrimetilamônio brometo

DMC – Dose mínima coagulante

HAC – Ácido hialurônico

PBS – Phosphate Buffered Saline (Solução tampão fosfato)

SDS – Sodium Dodecyl Sulfate (Dodecil sulfato de sódio)

SDS-PAGE – Sodium Dodecyl Sulfate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis

TEMED – Tetrametiletilendiamina

TFA – Ácido trifluoroacético

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	7
2.1. Diversidade Taxônomica.....	7
2.2. Composição e Variabilidade dos Venenos.....	9
2.2.1. Metaloproteinases de veneno de serpentes (SVMPS)	12
2.2.2. Fosfolipases A ₂ (PLA ₂ S)	12
2.2.3. Serinoproteases de veneno (SVSPS).....	12
2.2.4. Lectinas Tipo C (CTLS)	13
2.3. Diversidade Molecular em Espécies de <i>Bothrops</i>	13
2.3.1. <i>Bothrops jararaca</i>	13
2.3.2. <i>Bothrops atrox</i>	14
2.3.3. <i>Bothrops asper</i>	14
2.3.4. <i>Bothrops jararacussu</i>	15
2.4. Interações Sinérgicas entre Toxinas.....	15
2.5. Relevância Biomédica.....	15
2.6. Fontes de Variabilidade do Veneno.....	16
2.6.1. Variabilidade ortogenética.....	15
2.6.1.1. <i>Bothrops jararaca</i> : o modelo clássico.....	16
2.6.1.2. <i>Bothrops atrox</i> : plasticidade amazônica.....	17
2.6.1.3. <i>Bothrops asper</i> : mudanças graduais.....	17
2.6.1.4. <i>Bothrops jararacussu</i> : um caso particular.....	17
2.6.2. Mecanismos moleculares da variabilidade.....	18
2.6.2.1. Implicações ecológicas.....	18
2.6.2.2. Consequências clínicas.....	18
2.6.3. Variabilidade intraespecífica dos venenos botrópicos.....	19
2.6.3.1. Variação geográfica.....	19
2.6.3.2. Influência do habitat.....	19
2.6.3.3. Dismorfismo sexual.....	20
2.6.3.4. Variação individual.....	20
2.6.3.5. Conservação versus plasticidade.....	20
2.6.3.6. Relevância ecológica.....	21
2.6.4. Variabilidade interespecífica dos venenos botrópicos.....	21
2.6.4.1. Padrões gerais entre espécies.....	22

2.6.4.2. Casos emblemáticos.....	22
2.6.4.2.1. <i>Bothrops insularis</i> : especialização insular.....	22
2.6.4.2.2. <i>Bothrops pubescens</i> : predomínio de mamíferos.....	22
2.6.4.2.3. <i>Bothrops neuwied</i> : plasticidade trófica.....	22
2.6.5. Relação entre dieta e composição do veneno.....	23
2.7. Considerações Gerais.....	24
3. OBJETIVOS.....	26
3.1 Objetivo Geral.....	26
3.2. Objetivos Específicos.....	26
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	27
4.1. Venenos.....	27
4.2. Dosagem de Proteínas.....	27
4.3. Atividade de Hialuronidase.....	27
4.4. Atividade Caseínolítica.....	28
4.5. Dose Mínima Coagulante (DMC)	28
4.6. Fosfolipase (hemólise indireta)	28
4.7. Eletroforese em Gel de Poliacrilamida (SDS-PAGE)	28
4.8. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)	29
5. RESULTADOS/DISCUSSÃO.....	30
5.1. Objeto do Estudo.....	30
5.2. Composição Básica e Comparativa dos Venenos.....	32
5.2.1. Dosagem de proteínas.....	32
5.2.2. Atividade de hialuronidase.....	32
5.2.3. Atividade Caseínolítica.....	32
5.2.4. Dose Mínima Coagulante (DMC)	32
5.2.5. Fosfolipase (hemólise indireta)	32
5.2.6. Eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE)	33
5.2.7. Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)	34
6. CONCLUSÕES.....	37
REFERÊNCIAS.....	38
APÊNCIDE A - TABELA DE RESULTADOS DAS DETERMINAÇÕES EM TRIPLICATA.....	42

1. INTRODUÇÃO

O Brasil abriga uma das maiores diversidades de serpentes do mundo, com aproximadamente 400 espécies descritas, das quais cerca de 70 são consideradas peçonhentas, distribuídas principalmente nas famílias Elapidae e Viperidae (BÉRNILS; COSTA, 2012). Os gêneros de maior relevância médica pertencem à família Viperidae — *Bothrops*, *Bothrocophias*, *Crotalus*, *Lachesis* — além das cobras-coraais (*Micrurus* e *Leptomicrurus*, Família Elapidae). Essas serpentes possuem aparato inoculador eficiente, com dentição do tipo solenóglifa e glândulas de veneno, cuja composição bioquímica confere-lhes importância tanto em acidentes ofídicos quanto em pesquisas biomédicas (GUTIÉRREZ et al., 2017; NOGUEIRA et al., 2019; SILVA JR. et al., 2024).

Do ponto de vista de saúde pública, o gênero *Bothrops* destaca-se amplamente. Conhecidas popularmente como jararacas, jararacuços, urutus e caíçacas, essas serpentes são responsáveis por cerca de 70–90% dos acidentes ofídicos registrados no Brasil, de acordo com dados do Ministério da Saúde (BRASIL, 2022). O gênero *Bothrocophias*, restrito a áreas andinas e amazônicas, ocorre marginalmente no território brasileiro e possui menor número de registros de acidentes, mas apresenta proximidade taxonômica e clínica com *Bothrops* (CARRASCO et al., 2012; FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ, 2021).

Dados do Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN, 2025), fonte oficial de dados epidemiológicos, em um recorte temporal de 5 anos (2020-2024), indicam 1.493.472 acidentes causados por animais peçonhentos no Brasil categorizados por agente causal como: Ignorado ou campo em branco (1.351.673 casos = 90,51%), *Bothrops* (111.547 casos = 7,47%), *Crotalus* (13.687 casos = 0,92%), Serpente não peçonhenta (12.975 casos = 0,87%), *Lachesis* (1.826 casos = 0,12%) e *Micrurus* (1.765 casos = 0,12%) (Figura 1).

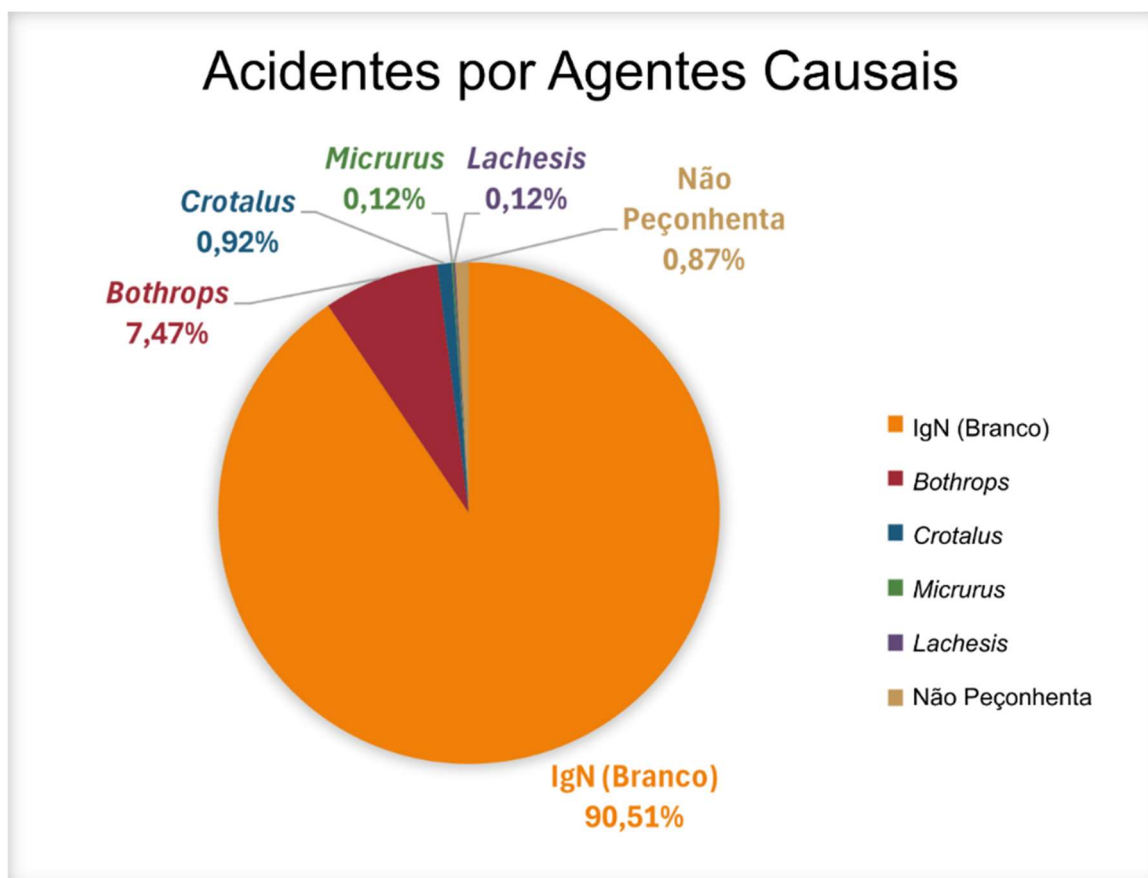


Figura 1. Distribuição dos agentes causais de acidentes com serpentes no Brasil entre 2020 e 2024. Fonte: SINAN, 2025.

Isolando os dados onde o agente causal foi notificado como “não peçonhenta” ou “ignorado/branco”, as notificações onde o gênero das serpentes foi identificado somam 128.825 casos, dos quais 86,59% foram causados por *Bothrops*, 10,62%, por *Crotalus*, 1,42% por *Lachesis*, e 1,37% por *Micrurus* (Figura 2).

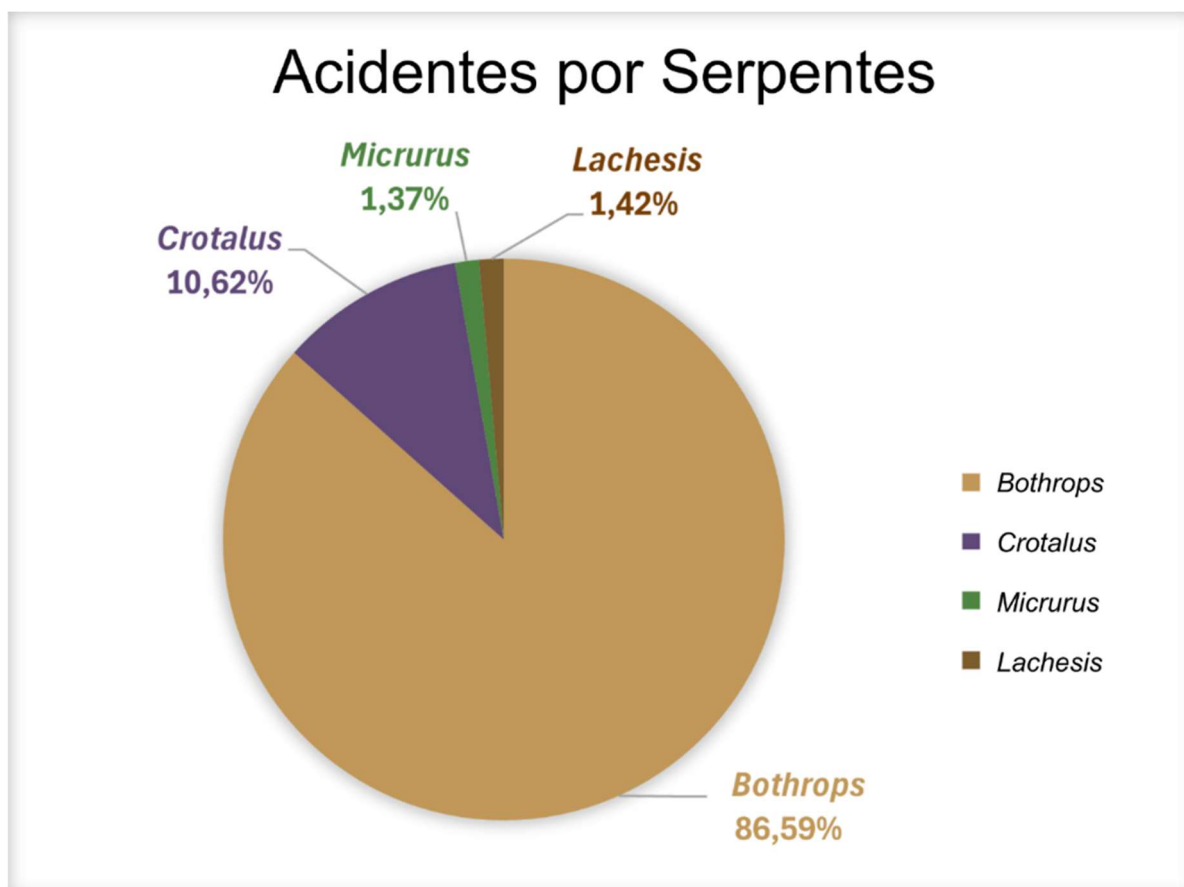


Figura 2. Distribuição dos agentes causais de acidentes com serpentes filtrados por gênero no Brasil entre 2020 e 2024. Fonte: SINAN, 2025.

Esses números conferem às jararacas uma importância epidemiológica singular, colocando o estudo de seus venenos no centro das preocupações da toxicologia e da saúde pública. Esses venenos não apenas apresentam elevada toxicidade, mas também uma composição bioquímica altamente dinâmica, refletindo pressões ecológicas e evolutivas (ANTUNES et al., 2010).

Biologicamente, os *Bothrops* ocupam ampla variedade de habitats — desde florestas tropicais até o Cerrado e a Caatinga — e apresentam dieta generalista, consumindo principalmente pequenos mamíferos, anfíbios, aves e lagartos (MARTINS; OLIVEIRA, 1998). Essa plasticidade ecológica contribui para sua abundância e para o elevado contato com populações humanas, sobretudo em áreas rurais, o que explica sua predominância nos registros de envenenamentos (CAMPOS et al., 2019). O veneno botrópico é caracterizado pela presença de metaloproteínases, serinoproteases, fosfolipases A₂ e fatores de coagulação, resultando em

manifestações clínicas locais (dor, edema, necrose) e sistêmicas (coagulopatias, insuficiência renal aguda) (GUTIÉRREZ et al., 2017).

Ambos os gêneros, *Bothrops* e *Bothrocophias*, têm papel central na interface entre biodiversidade e saúde pública no Brasil. Enquanto *Bothrops* se configura como o principal responsável pelos acidentes ofídicos, *Bothrocophias* representa um componente menos frequente, porém relevante do ponto de vista médico e taxonômico. A atenção às medidas preventivas, ao acesso ágil ao soro e à pesquisa contínua sobre a diversidade e composição de seus venenos é fundamental para reduzir a morbimortalidade associada e, ao mesmo tempo, explorar seu potencial biotecnológico.

No campo da saúde pública, os acidentes ofídicos representam um problema negligenciado, mas de grande impacto. Segundo a Organização Mundial da Saúde (WHO, 2021), o envenenamento por serpentes está incluído na lista de Doenças Tropicais Negligenciadas, dado seu impacto socioeconômico e a carência de acesso oportuno a soroterapia em regiões remotas. No Brasil, a produção de soros antiofídicos é centralizada pelo Instituto Butantan e pela Fundação Ezequiel Dias, sendo os soros antibotrópicos os mais demandados (BRASIL, 2022).

A composição dos venenos botrópicos é notoriamente complexa, integrando diferentes classes de toxinas que atuam de forma sinérgica para gerar um quadro clínico característico. Em termos gerais, o envenenamento por *Bothrops* resulta em manifestações locais marcantes, como dor, edema, necrose e hemorragia, além de efeitos sistêmicos potencialmente fatais, como distúrbios de coagulação e choque (ZELANIS et al., 2011). Tal quadro é consequência direta da diversidade molecular encontrada nesses venenos, pois são misturas proteicas dinâmicas, cuja variabilidade é determinada por fatores ontogenéticos, intraespecíficos e interespecíficos (CALVETE et al., 2011).

A variabilidade individual e populacional da composição dos venenos de serpentes é um fenômeno central para compreender sua ecologia, evolução e relevância biomédica. Diversas espécies exibem diferenças marcantes no perfil de toxinas entre populações geográficas, resultado de pressões seletivas locais, disponibilidade de presas e condições ambientais (CASEWELL et al., 2020; MASON et al., 2022). Essas diferenças também se manifestam no nível individual, com variações relacionadas à idade, sexo e estado fisiológico dos animais, refletindo plasticidade adaptativa (SENJI LAXME et al., 2024).

Do ponto de vista evolutivo, o estudo dessa variabilidade revela como processos de duplicação e neofuncionalização gênica produzem repertórios distintos de toxinas, moldando interações predador-presa e favorecendo adaptações tróficas específicas (ZANCOLLI; CASEWELL, 2020; ALMEIDA et al., 2021). Tal diversidade contribui para a manutenção de venenos altamente especializados, maximizando a eficiência predatória e ampliando o espectro de presas disponíveis.

Essa variabilidade representa um desafio significativo. Antivenenos clássicos, produzidos a partir de populações restritas, muitas vezes apresentam eficácia reduzida contra venenos de outras localidades ou indivíduos com perfis distintos (OLIVEIRA et al., 2022). Essa heterogeneidade reforça a necessidade de estratégias terapêuticas inovadoras, como soros de amplo espectro ou terapias baseadas em anticorpos monoclonais, desenvolvidas a partir do mapeamento preciso da diversidade intraespecífica e populacional (CASEWELL et al., 2020).

O conhecimento detalhado dessa variação tem implicações para a conservação. Populações isoladas com composições únicas podem constituir patrimônios genéticos singulares, com potenciais aplicações farmacológicas. A perda dessas populações implicaria não apenas em risco ecológico, mas também em perda de recursos biomédicos promissores. Assim, estudar a variabilidade do veneno é essencial tanto para a ciência básica quanto para aplicações práticas em saúde pública e conservação (OLIVEIRA et al., 2022; SENJI LAXME et al., 2024).

Além do aspecto clínico, a variabilidade da composição dos venenos desempenha um papel essencial na ecologia das serpentes. Alterações no perfil bioquímico refletem adaptações às presas disponíveis, influenciando dieta, estratégias de caça e eficiência predatória (ALAPE-GIRÓN et al., 2008). Portanto, compreender a composição e a variabilidade dos venenos botrópicos não é apenas uma questão biomédica, mas também uma chave para entender a biologia e a evolução dessas serpentes.

A relevância científica das jararacas transcende o âmbito clínico. Compostos isolados de seus venenos foram fundamentais para o desenvolvimento de fármacos inovadores. O exemplo clássico é o captopril, primeiro inibidor da enzima conversora de angiotensina, derivado de estudos com o peptídeo bradiginina-potenciante do veneno de *Bothrops jararaca* (FERREIRA, 1965). Essa trajetória reforça a importância da conservação dessas espécies não apenas para a manutenção dos ecossistemas, mas também como fonte de recursos para a biotecnologia e farmacologia.

O objetivo deste trabalho é oferecer um panorama preliminar sobre a composição básica e comparativa dos venenos de serpentes do gênero *Bothrops* de relevância no Estado de Goiás (*Bothrops alternatus*, *Bothrops moojeni* e *Bothrops pauloensis*).

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Diversidade Taxonômica

As serpentes peçonhentas constituem um dos grupos mais relevantes da herpetofauna neotropical, tanto por seu papel ecológico quanto por sua importância em saúde pública. Entre elas, destacam-se as jararacas, pertencentes aos gêneros *Bothrocophias* e *Bothrops*, amplamente distribuídas pela América do Sul e Central (CAMPBELL; LAMAR, 2004; CARRASCO et al., 2012; SILVA JR. et al., 2024).

O gênero *Bothrops* é um dos mais diversos dentro da família Viperidae, reunindo mais de 30 espécies reconhecidas, que se estendem desde o México até a Argentina (WÜSTER et al., 2002; FENWICK et al., 2009). Já *Bothrocophias* é menos diverso (duas espécies) e ocorre em áreas restritas das florestas andinas e amazônicas, sendo raro em território brasileiro (CARRASCO et al., 2012; FENWICK et al., 2009). Revisões taxonômicas recentes têm refinado o entendimento da variação dentro do complexo *Bothrops neuwiedi* e de grupos afins (ONOFRIO et al., 2010; COSTA; BÉRNILS, 2015) (Quadro 1).

Tabela 1. Espécies de jararacas do Brasil.

ESPÉCIE	REFERÊNCIA
<i>Bothrocophias hyoprora</i>	(Amaral, 1935)
<i>Bothrocophias microphthalmus</i>	(Cope, 1875)
<i>Bothrops alcatraz</i>	Marques, Martins & Sazima, 2002
<i>Bothrops alternatus</i>	(Duméril, Bibron & Duméril, 1854)
<i>Bothrops atrox</i>	(Linnaeus, 1758)
<i>Bothrops bilineatus</i>	(Wied-Neuwied, 1821)
<i>Bothrops brazili</i>	Hoge, 1954
<i>Bothrops cotiara</i>	(Gomes, 1913)
<i>Bothrops diporus</i>	Cope, 1862
<i>Bothrops erythromelas</i>	Amaral, 1923
<i>Bothrops fonsecai</i>	Hoge & Belluomini, 1959
<i>Bothrops germanoi</i>	Barbo, Booker, Duarte, Chaluppe, Portes-Júnior, Franco & Grazziotin, 2022
<i>Bothrops insularis</i>	(Amaral, 1922)
<i>Bothrops itapetiningae</i>	(Boulenger, 1907)
<i>Bothrops jabrensis</i>	Barbo, Grazziotin, Pereira-Filho, Freitas, Abrantes & Kokobum, 2022
<i>Bothrops jararaca</i>	(Wied-Neuwied, 1824)
<i>Bothrops jararacussu</i>	Lacerda, 1884
<i>Bothrops leucurus</i>	(Wagler in Spix, 1824)
<i>Bothrops lutzi</i>	(Miranda-Ribeiro, 1915)
<i>Bothrops marajoensis</i>	Hoge, 1966

<i>Bothrops marmoratus</i>	(Silva & Rodrigues, 2008)
<i>Bothrops mattogrossensis</i>	(Amaral, 1925)
<i>Bothrops moojeni</i>	(Hoge, 1966)
<i>Bothrops muriciensis</i>	Ferrarezzi & Freire, 2001
<i>Bothrops neuwiedi</i>	(Wagler in Spix, 1824)
<i>Bothrops oligobalius</i>	Dal Vechio, Prates, Grazziotin, Graboski & Rodrigues, 2021
<i>Bothrops otavioi</i>	Barbo, Grazziotin, Sazima, Martins & Sawaya, 2012
<i>Bothrops pauloensis</i>	Amaral, 1925
<i>Bothrops pirajai</i>	Amaral, 1923
<i>Bothrops pubescens</i>	(Cope, 1870)
<i>Bothrops sazimai</i>	Barbo, Gasparini, Almeida, Zaher, Grazziotin, Gusmão, Ferrarini & Sawaya, 2016
<i>Bothrops taeniatus</i>	(Wagler in Spix, 1824)

As jararacas apresentam ampla plasticidade ecológica, ocupando desde florestas tropicais até savanas e áreas antropizadas (MARTINS; OLIVEIRA, 1998; CAMPOS et al., 2019). Essa versatilidade, somada a hábitos alimentares generalistas, faz com que essas serpentes mantenham contato frequente com populações humanas (COSTA; BÉRNILS, 2015; BÉRNILS; COSTA, 2012). A abundância relativa de *Bothrops* explica seu destaque epidemiológico no Brasil e em outros países sul-americanos (BOCHNER; STRUCHINER, 2003).

Do ponto de vista clínico, os acidentes por *Bothrops* são os mais frequentes no Brasil, representando entre 70 e 90% das notificações de envenenamento (BRASIL, 2022; CAMPOS et al., 2019). O quadro clínico inclui dor, edema, necrose, distúrbios hemorrágicos e, em casos graves, insuficiência renal aguda (WARRELL, 2010; GUTIÉRREZ et al., 2017). O veneno botrópico contém metaloproteínases, serinoproteases e fosfolipases A₂, moléculas responsáveis pelos efeitos proteolíticos, inflamatórios e pró-trombóticos (SERRANO; MAROUN, 2005; CALVETE et al., 2009).

Embora *Bothrocophias* tenha menor relevância em saúde pública, acidentes registrados nos Andes e na Amazônia ocidental apresentam manifestações semelhantes às de *Bothrops* (CARRASCO et al., 2012; CAMPBELL; LAMAR, 2004).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) incluiu o envenenamento por serpentes na lista de Doenças Tropicais Negligenciadas, reconhecendo seu impacto socioeconômico (WHO, 2021). No Brasil, a produção de soro antibotrópico é prioritária em instituições como o Instituto Butantan e a Fundação Ezequiel Dias (BRASIL, 2022; GUTIÉRREZ et al., 2017). O elevado número de casos, principalmente em áreas rurais, exige políticas de prevenção, educação em saúde e garantia de acesso rápido à soroterapia (BOCHNER; STRUCHINER, 2003).

Além da importância clínica, os venenos de jararacas têm contribuído significativamente para a ciência. O exemplo mais conhecido é o desenvolvimento do captopril, primeiro inibidor da enzima conversora de angiotensina, derivado de peptídeos isolados do veneno de *Bothrops jararaca* (FERREIRA, 1965; ONOFRIO et al., 2010). Esse marco consolidou o papel dos venenos como fonte de compostos bioativos para a farmacologia (KINI; KOHLER, 2021). Estudos recentes continuam a identificar novas moléculas com potencial terapêutico (CALVETE et al., 2009; GUTIÉRREZ et al., 2017).

Os gêneros *Bothrops* e *Bothrocophias* são fundamentais para compreender a interface entre biodiversidade, saúde pública e inovação científica. Enquanto *Bothrops* é responsável pela maioria dos acidentes ofídicos na América do Sul, *Bothrocophias* contribui para a compreensão da evolução dos viperídeos. Dessa forma, compreender sua diversidade, ecologia e toxicologia é essencial para reduzir a morbimortalidade dos acidentes e explorar o potencial biotecnológico desses animais.

2.2. Composição e Variabilidade dos Venenos

Os venenos de serpentes são inovações adaptativas originadas sobretudo de duplicações gênicas, alterações regulatórias e neofuncionalização, com cooptação de genes ancestrais para a glândula de veneno (ZANCOLLI; CASEWELL, 2020; ALMEIDA et al., 2021). A diversificação subsequente envolve expansão de famílias de toxinas (SVMP, PLA₂, serinoproteases, 3FTx) e montagem de coquetéis funcionais que atuam em múltiplos alvos fisiológicos (OLIVEIRA et al., 2022). Essa base genética explica a variabilidade inter e intraespecífica: composições mudam entre espécies, populações e indivíduos ao longo da ontogenia, moduladas por dieta, pressões ecológicas e histórico demográfico (CASEWELL et al., 2020; SENJI LAXME et al., 2024). Nas serpentes, a diversidade resulta de mudanças na sequência e de variações de expressão, gerando perfis tóxicos ajustados ao espectro de presas — um caso de adaptação trófica (MASON et al., 2022). Genomas e transcritomas recentes indicam que muitas famílias evoluíram localmente a partir de *loci* ancestrais, seguidas de duplicações em tandem e subfuncionalização, consolidando módulos de venenos eficazes (ALMEIDA et al., 2021). Do ponto de vista biomédico, essa plasticidade evolutiva impacta a eficácia de soros e o desenho de antivenenos de próxima geração, demandando estratégias que reconheçam e neutralizem a

heterogeneidade funcional dos venenos (CASEWELL et al., 2020; OLIVEIRA et al., 2022).

A composição proteica dos venenos de *Bothrops* tem sido objeto de intensos estudos nas últimas décadas, especialmente com o avanço das técnicas de proteômica e transcriptômica. Embora haja diferenças entre espécies e populações, é possível identificar um conjunto de componentes comuns que caracterizam o perfil botrópico.

Esses venenos são misturas complexas, derivadas de glândulas especializadas e possuem componentes enzimáticos, não enzimáticos, não proteicos e inorgânicos. Os componentes enzimáticos incluem: fosfolipases A₂, metaloproteases, serinoproteases, fosfodiesterases, colinesterases, aminotransferases, L-aminoácido oxidases, catalases, ATPases, hialuronidases, NAD nucleosidases e β -glucosaminidases. Os componentes não enzimáticos incluem: a) neurotoxinas (de ação pré ou pós-sináptica); b) citotoxinas; c) cardiotoxinas; d) miotoxinas; e) peptídeos potenciadores da bradicinina; f) inibidores da ação enzimática; g) fator estimulante do crescimento de nervos (NGF). Os componentes não proteicos incluem lipídeos, carboidratos, riboflavina, nucleotídeos, nucleosídeos, aminoácidos e aminas biogênicas. Os componentes inorgânicos incluem: cálcio, cobre, ferro, potássio, magnésio, sódio, fósforo, cobalto e zinco (BJARNASON & FOX, 1994; TU, 1996; SILVA JR., 1997a; CALVETE et al., 2007; SOUSA et al., 2013) (Figura 3).

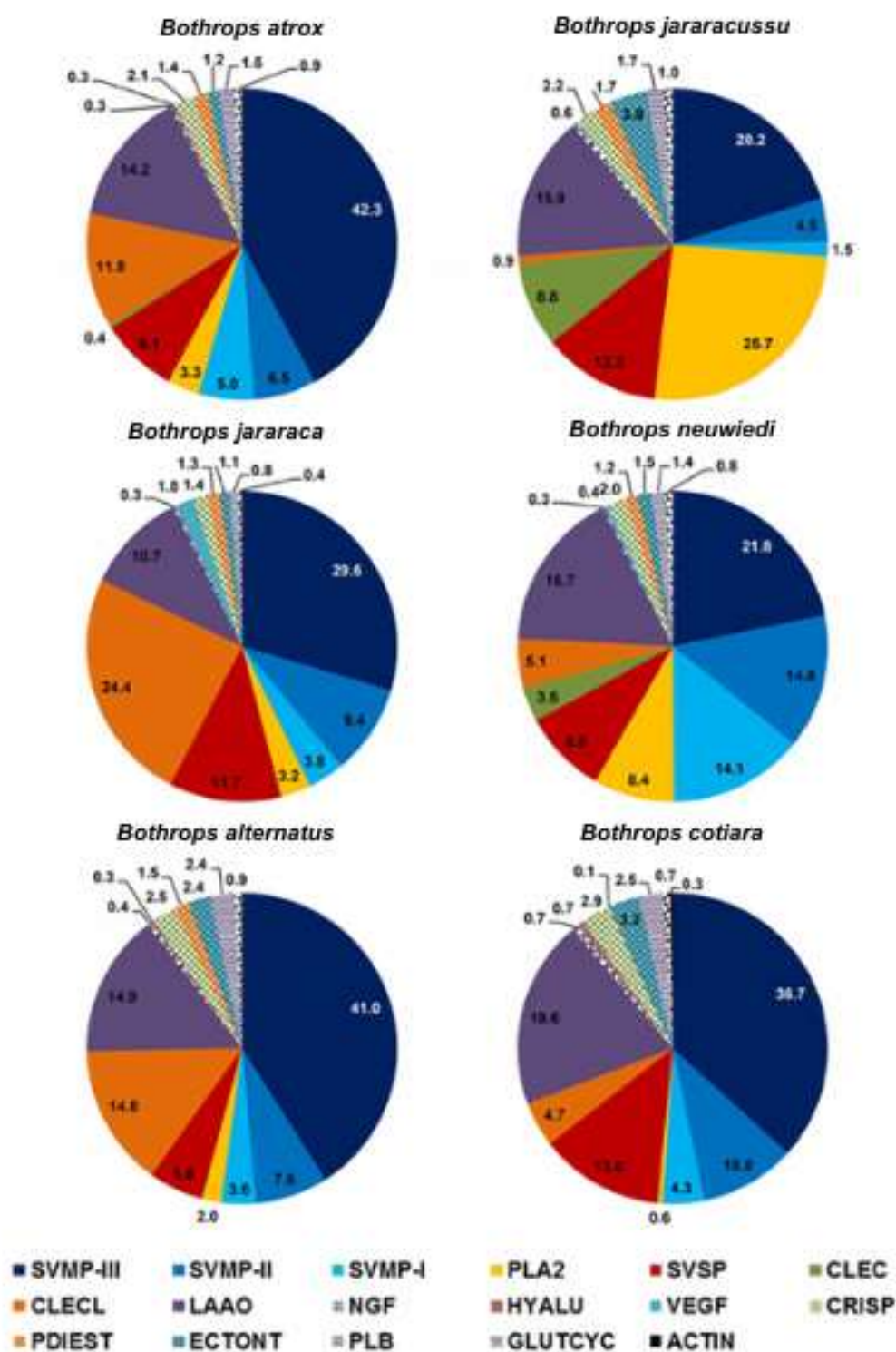


Figura 3. Representação comparativa de componentes do veneno de espécies de jararacas do Brasil. Legenda: SVMP-I, SVMP-II e SVMP-III (metaloproteínase de veneno de cobra - classes P-I, P-II e P-III); PLA₂ (fosfolipase A₂); SVSP (serina proteinase de veneno de cobra); CLEC (C-tipolectina); CLECL (semelhante a lectina tipo C); LAAO (L-aminoácido oxidase); NGF (fator de crescimento nervoso); HYALU (hialuronidase); VEGF (fator de crescimento endotelial vascular); CRISP (proteína secretora rica em cisteína); PDIEST (fosfodiesterase 1); ECTONT (ecto-59-nucleotidase); PLB (fosfolipase B); GLUTCYC (glutaminil ciclase) e ACTIN (actina). Fonte: Sousa et al., 2013.

Assim, os venenos de viperídeos, incluindo *Bothrops*, são dominados por enzimas proteolíticas que atuam sobre tecidos, plaquetas e fatores de coagulação, resultando em um amplo espectro de efeitos fisiológicos (GUTIÉRREZ et al, 2009), que incluem, de forma pronunciada as seguintes classes de toxinas:

2.2.1. Metaloproteinases de veneno de serpentes (SVMPs) - as SVMPs constituem uma das classes mais abundantes nos venenos botrópicos. Elas são responsáveis por grande parte dos efeitos hemorrágicos e necróticos associados aos acidentes. Essas enzimas clivam componentes da matriz extracelular, levando à desorganização tecidual e hemorragia local (FOX & SERRANO, 2008). Em *Bothrops jararaca*, estudos proteômicos demonstraram que as SVMPs podem representar até 30–40% do conteúdo proteico total do veneno (ZELANIS et al., 2011). Além de seu papel patológico, as SVMPs exercem funções adaptativas relacionadas à captura de presas. A degradação de proteínas plasmáticas e componentes vasculares facilita a imobilização da presa e a digestão extracorpórea precoce (CALVETE et al., 2011). Essa dupla função — clínica e ecológica — evidencia a importância dessa classe de toxinas.

2.2.2. Fosfolipases A₂ (PLA₂S) - as PLA₂s são outra classe proeminente, desempenhando papéis diversos que vão desde mionecrose até efeitos pró e anticoagulantes. As PLA₂s botrópicas exibem uma impressionante diversidade funcional, refletindo duplicações gênicas e diversificação adaptativa (GUTIÉRREZ; LOMONTE, 2013). Em *B. asper* e *B. atrox*, por exemplo, PLA₂s miotóxicas são responsáveis por severa necrose muscular no sítio da picada (ALAPE-GIRÓN et al., 2008). Curiosamente, as PLA₂s também apresentam propriedades não enzimáticas, atuando como ligantes em receptores celulares e modulando respostas inflamatórias. Essa multifuncionalidade as torna centrais na fisiopatologia do envenenamento botrópico.

2.2.3. Serinoproteases de veneno (SVSPs) - as SVSPs atuam principalmente sobre o sistema hemostático, modulando a coagulação e a fibrinólise. Essas enzimas podem mimetizar ou antagonizar proteases plasmáticas, resultando em um estado de coagulopatia de consumo (KINI, 2005). Nos venenos de *Bothrops*, sua presença contribui tanto para a rápida formação de coágulos quanto para sua subsequente

degradação, explicando a incoagulabilidade sanguínea observada em pacientes (ANTUNES et al., 2010).

2.2.4. Lectinas Tipo C (CTLs) - as CTLs são toxinas não enzimáticas que se ligam a carboidratos e desempenham papéis cruciais na modulação da agregação plaquetária. Em *B. jararaca*, por exemplo, foram identificadas CTLs que inibem a adesão de plaquetas, contribuindo para o quadro hemorrágico (ZELANIS et al., 2011). Essa classe evidencia como os venenos combinam enzimas proteolíticas com proteínas moduladoras para potencializar efeitos hemostáticos.

Além das classes principais, os venenos botrópicos contêm outras proteínas de relevância, como L-aminoácido oxidases (LAOs), fatores de crescimento e peptídeos despolarizantes. As LAOs apresentam atividade citotóxica e antimicrobiana, podendo atuar na digestão de presas e na inibição de infecções bacterianas no local da inoculação (TORII et al., 2000).

2.3. Diversidade Molecular em Espécies de *Bothrops*

Embora as principais classes de toxinas já tenham sido descritas, é importante destacar que a abundância relativa e as variantes moleculares desses componentes variam entre espécies e até mesmo entre populações. Isso confere ao gênero *Bothrops* uma plasticidade toxicológica notável, que se manifesta tanto em termos de efeitos clínicos quanto de estratégias ecológicas.

2.3.1. *Bothrops jararaca*

É a espécie mais estudada do gênero e serve como modelo para compreender a composição de venenos botrópicos. Estudos proteômicos indicam que o veneno de *B. jararaca* contém uma alta proporção de SVMPs, PLA₂s e SVSPs. Além disso, análises transcriptômicas revelaram que as diferenças entre venenos de neonatos e adultos residem principalmente em alterações quantitativas na expressão de SVMPs e serino - proteases (ZELANIS et al., 2011,2012). Do ponto de vista clínico, o veneno de *B. jararaca* é caracterizado por um forte efeito hemorrágico local, com extensa necrose e inflamação. Como afirmam Antunes et al. (2010, p. 1444), “a letalidade em camundongos é significativamente maior em venenos de adultos, enquanto a atividade procoagulante tende a ser mais acentuada nos neonatos”. Esse padrão reflete uma adaptação ontogenética: filhotes dependem mais da rápida imobilização

de presas pequenas, enquanto adultos empregam um veneno com maior potencial letal em presas maiores.

2.3.2. *Bothrops atrox*

Conhecida como jararaca-da-Amazônia, *B. atrox* é a principal responsável por acidentes na região amazônica. Seu veneno apresenta elevada variabilidade geográfica, mas em geral é dominado por SVMPs e PLA₂s miotóxicas (GUÉRCIO et al., 2006). O pedomorfismo observado em algumas populações de *B. atrox* resulta na manutenção de perfis proteômicos típicos de juvenis em indivíduos adultos (CALVETE et al., 2011). Esse fenômeno sugere pressões seletivas locais que favorecem venenos mais procoagulantes e adaptados a presas específicas. Clinicamente, o envenenamento por *B. atrox* tende a apresentar manifestações hemorrágicas intensas, frequentemente acompanhadas de coagulopatia severa. Além disso, a ação miotóxica de suas PLA₂s pode levar a rabdomiólise e insuficiência renal (SOUZA et al., 2012). Isso diferencia essa espécie de *B. jararaca*, cujo veneno tem menos efeito sistêmico e mais impacto local.

2.3.3. *Bothrops asper*

Distribuída na América Central e no norte da América do Sul, *B. asper* é uma das espécies mais perigosas do gênero. Seu veneno é caracterizado por alta abundância de SVMPs hemorrágicas e PLA₂s miotóxicas (ALAPE-GIRÓN et al., 2008). Como afirmam os autores, “o perfil proteômico de *B. asper* revela um arsenal de toxinas capazes de causar destruição maciça de tecidos e distúrbios hemostáticos profundos” (ALAPE-GIRÓN et al., 2008, p. 3372). Além disso, o veneno dessa espécie apresenta uma clara variação ontogenética: filhotes possuem maior atividade coagulante, enquanto adultos têm venenos mais hemorrágicos. Isso sugere uma estratégia trófica semelhante à observada em *B. jararaca*, mas com intensidades distintas. Os acidentes com *B. asper* são notoriamente graves, caracterizados por necrose extensa, hemorragia sistêmica e elevada taxa de complicações secundárias. O impacto clínico dessa espécie reforça a necessidade de soros específicos para a região, dada a dificuldade de neutralização cruzada observada em estudos antivenômicos (GUTIÉRREZ et al., 2009).

2.3.4. *Bothrops jararacussu*

Diferentemente das espécies anteriores, *B. jararacussu* apresenta veneno com características particulares. Estudos mostram que PLA₂s miotóxicas são predominantes, representando até 90% do conteúdo proteico. A composição altamente especializada do veneno de *B. jararacussu* resulta em um quadro clínico dominado por necrose muscular, com menor expressão de efeitos hemorrágicos típicos de outras espécies do gênero (RODRIGUES et al., 2021). Essa especialização tem implicações tanto ecológicas quanto clínicas. Do ponto de vista trófico, a alta miotoxicidade facilita a imobilização rápida de presas endotérmicas. Clinicamente, acidentes com essa espécie estão associados a casos graves de necrose e amputações, mesmo quando tratados com soro antibotrópico.

2.4. Interações Sinérgicas entre Toxinas

Um aspecto fundamental da composição dos venenos botrópicos é a ação sinérgica entre suas toxinas. Não se trata de uma soma linear de efeitos, mas de interações complexas que potencializam os danos. As SVMPs aumentam a permeabilidade vascular, facilitando a difusão de outras toxinas, enquanto PLA₂s intensificam a destruição celular, criando um cenário de lesão multifatorial” (FOX; SERRANO, 2008). Essa sinergia também é observada entre SVSPs e CTLs, que atuam conjuntamente para desestabilizar o sistema hemostático. O resultado é um estado de incoagulabilidade característico dos envenenamentos botrópicos (KINI, 2005). Assim, compreender a composição do veneno exige ir além da identificação de toxinas individuais, considerando os efeitos combinados de múltiplos componentes.

2.5. Relevância Biomédica

O estudo da composição dos venenos botrópicos não tem apenas importância acadêmica ou clínica imediata. Diversas toxinas isoladas de *Bothrops* têm sido investigadas como potenciais ferramentas farmacológicas. Por exemplo, a jararagina, uma SVMP isolada de *B. jararaca*, foi fundamental para elucidar mecanismos de degradação da matriz extracelular (SERRANO et al., 2005). Além disso, inibidores derivados de PLA₂s têm sido explorados como candidatos terapêuticos para distúrbios inflamatórios (LOMONTE; GUTIÉRREZ, 2021). Essa interface entre toxicologia e biotecnologia mostra que compreender a composição dos venenos botrópicos

transcende a toxicidade, podendo gerar benefícios em áreas como farmacologia e biomedicina.

2.6. Fontes de Variabilidade do Veneno

2.6.1. Variabilidade ontogenética

A composição dos venenos de serpentes não é estática, mas sim um fenômeno dinâmico que reflete a história natural da espécie. Uma das formas mais marcantes de variabilidade é a ontogenética, ou seja, as mudanças no perfil do veneno ao longo do desenvolvimento do animal, desde o nascimento até a fase adulta. Os venenos de neonatos e adultos de *Bothrops jararaca* apresentam diferenças proteômicas marcantes, indicando um rearranjo ontogenético profundo (ZELANIS et al., 2011).

Essas mudanças não são meramente quantitativas, mas refletem pressões seletivas relacionadas à dieta e ao tamanho da presa. Em termos práticos, filhotes enfrentam desafios distintos dos adultos: suas presas são menores, mais rápidas e frequentemente ectotérmicas (como anfíbios e lagartos), exigindo toxinas que atuem rapidamente na coagulação e imobilização. Já os adultos se alimentam majoritariamente de mamíferos e aves, que requerem venenos com maior potencial hemorrágico e citotóxico (ANTUNES et al., 2010).

2.6.1.1. *Bothrops jararaca*: o modelo clássico

A *jararaca* é o exemplo mais documentado de variabilidade ontogenética no gênero. Estudos proteômicos de larga escala mostraram que os venenos de neonatos apresentam maior proporção de metaloproteinasas do tipo P-III, enquanto os adultos possuem abundância relativa maior de serino-proteases e proteínas ligantes não enzimáticas (ZELANIS et al., 2011). Em estudo complementar, Antunes et al. (2010) observaram que o veneno de neonatos induz coagulação mais rápida em plasma humano, ao passo que o veneno de adultos é mais hemorrágico e letal em camundongos. Essa dualidade reflete uma adaptação funcional: enquanto a coagulação imediata é eficaz contra presas pequenas, a hemorragia sistêmica garante a imobilização de presas maiores e mais complexas. A transcriptômica reforça esse padrão. A principal diferença entre filhotes e adultos não está na presença de novos transcritos, mas em alterações na expressão relativa de genes já existentes”. Isso indica que a ontogenia do veneno é regida mais por regulação gênica do que por inovação molecular (ZELANIS et al., 2012).

2.6.1.2. *Bothrops atrox*: plasticidade amazônica

A jararaca-da-Amazônia também apresenta mudanças ontogenéticas, mas com nuances particulares. Em estudo pioneiro, Guércio et al. (2006) destacaram que os neonatos de *B. atrox* apresentam venenos ricos em SVMPs procoagulantes, enquanto os adultos possuem perfis mais equilibrados, com maior diversidade de PLA₂s miotóxicas. O aspecto mais interessante em *B. atrox* é a ocorrência de pedomorfismo em algumas populações. Calvete et al. (2011) observaram que indivíduos adultos mantêm perfis proteômicos semelhantes aos de neonatos, sugerindo forte influência de pressões ecológicas locais. Isso pode estar relacionado à dieta: em determinadas regiões amazônicas, mesmo adultos podem se alimentar de presas menores, o que favorece a manutenção de toxinas procoagulantes. Clinicamente, esse fenômeno explica parte da heterogeneidade dos acidentes por *B. atrox* na Amazônia. Enquanto alguns casos apresentam quadro clássico de necrose hemorrágica, outros evidenciam distúrbios sistêmicos de coagulação mais semelhantes aos observados em neonatos.

2.6.1.3. *Bothrops asper*: mudanças graduais

Em *B. asper*, espécie de grande importância médica na América Central, as mudanças ontogenéticas são igualmente marcantes. O veneno de filhotes é altamente coagulante, ao passo que o de adultos apresenta maior abundância de SVMPs hemorrágicas”. Esse padrão sugere que a ontogenia do veneno é um fenômeno convergente dentro do gênero, mas com diferentes intensidades. O efeito prático disso é que pacientes picados por filhotes podem apresentar sintomas predominantemente sistêmicos, como incoagulabilidade sanguínea, enquanto picadas de adultos resultam em necrose extensa e hemorragias locais (ALAPE-GIRÓN et al., 2008).

2.6.1.4. *Bothrops jararacussu*: um caso particular

O veneno de *B. jararacussu* apresenta predominância quase absoluta de PLA₂s miotóxicas, independentemente da idade. O veneno de neonatos tem atividade procoagulante mais intensa que o de adultos, o que sugere um resquício do padrão ontogenético típico do gênero (RODRIGUES et al., 2021). Esse achado indica que, mesmo em espécies altamente especializadas, como *B. jararacussu*, a ontogenia do veneno pode se manifestar de forma sutil. A consequência clínica é que acidentes com

filhotes podem apresentar maior risco de distúrbios hemostáticos do que os causados por adultos, nos quais a miotoxidade predomina.

2.6.2. Mecanismos moleculares da variabilidade

A variabilidade ontogenética dos venenos está diretamente relacionada à regulação da expressão gênica nas glândulas de veneno. Estudos transcriptômicos demonstram que diferenças entre estágios ontogenéticos decorrem principalmente de alterações na abundância relativa de transcritos para SVMPs, PLA₂s e SVSPs (ZELANIS et al., 2012, p. 7). Além disso, há evidências de que microRNAs desempenham papel importante na regulação pós-transcricional, modulando a tradução de determinados grupos de toxinas durante o desenvolvimento (GUERRERO-GARCÍA et al., 2020). Essa camada de regulação contribui para a plasticidade observada entre filhotes e adultos.

2.6.2.1. Implicações ecológicas

Ecologicamente, a ontogenia do veneno reflete a mudança de dieta ao longo da vida. Os filhotes de jararacas consomem principalmente anfíbios e lagartos, enquanto os adultos se alimentam predominantemente de roedores e aves (MARTINS: MARQUES: SAZIMA (2002). Essa transição trófica exige um arsenal bioquímico diferenciado, o que explica a reorganização proteômica. Assim, a ontogenia do veneno é um exemplo claro de como a ecologia alimentar molda a fisiologia e a toxicologia de serpentes. Esse processo, por sua vez, reforça a importância da integração entre herpetologia, ecologia e venômica.

2.6.2.2. Consequências clínicas

Do ponto de vista médico, a variabilidade ontogenética tem implicações diretas no tratamento dos acidentes. Estudos mostram que os soros antibotrópicos, desenvolvidos a partir de venenos de adultos, podem apresentar menor eficácia contra venenos de filhotes. O antiveneno neutraliza menos eficientemente os efeitos procoagulantes dos venenos neonatais (ANTUNES et al., 2010). Esse fato levanta a necessidade de considerar diferentes estágios ontogenéticos na formulação de misturas imunizantes. Caso contrário, pacientes envenenados por filhotes podem não receber neutralização adequada, resultando em maior gravidade clínica.

2.6.3. Variabilidade intraespecífica dos venenos botrópicos

A variabilidade intraespecífica nos venenos de *Bothrops* é um fenômeno amplamente documentado e de grande relevância biomédica. Mesmo dentro de uma mesma espécie, fatores como localização geográfica, tipo de habitat, dieta, sexo e idade podem influenciar significativamente a composição bioquímica e a atividade biológica do veneno. Os venenos não devem ser vistos como entidades fixas, mas como sistemas dinâmicos que variam entre populações e indivíduos em resposta a pressões ecológicas locais (Calvete et al., 2011). Essa plasticidade resulta em diferenças marcantes nos efeitos clínicos de acidentes em diferentes regiões, e ainda impacta a eficácia da soroterapia.

2.6.3.1. Variação geográfica

Um dos exemplos mais emblemáticos é o de *Bothrops atrox*, espécie amplamente distribuída na Amazônia. Estudos comparativos demonstraram diferenças profundas entre populações de distintas regiões. De acordo com Calvete et al. (2011), padrões proteômicos divergentes foram observados entre populações amazônicas, com algumas apresentando perfis juvenis (pedomórficos) mesmo em indivíduos adultos. Esse fenômeno tem implicações diretas na clínica. Souza et al. (2012) relataram que os pacientes picados por *B. atrox* no sudoeste da Amazônia frequentemente exibem manifestações hemorrágicas intensas, enquanto em outras regiões predominam distúrbios coagulopáticos. Ou seja, a origem geográfica da serpente pode determinar o desfecho clínico. Outro exemplo é *Bothrops erythromelas*, espécie típica da Caatinga. Os venenos de cinco populações diferentes apresentaram composição proteômica surpreendentemente conservada, sugerindo estabilidade evolutiva (JORGE et al., 2015). Esse achado contrasta com a plasticidade observada em *B. atrox*, evidenciando que nem todas as espécies exibem o mesmo grau de variabilidade intraespecífica.

2.6.3.2. Influência do habitat

O tipo de ambiente também desempenha papel crucial na composição do veneno. Garcia-da-Silva et al. (2024) analisaram populações de *B. atrox* em diferentes habitats amazônicos e concluíram que “a morfologia da cabeça, a glândula de veneno e a composição bioquímica variam significativamente entre ambientes de várzea e de terra firme”. Essa plasticidade sugere adaptação às presas predominantes em cada

ambiente. Essa influência ambiental pode explicar por que populações em florestas inundadas apresentam venenos mais procoagulantes — possivelmente relacionados ao consumo de anfíbios — enquanto populações de terra firme possuem venenos mais hemorrágicos, adaptados a mamíferos terrestres.

2.6.3.3. Dimorfismo sexual

Outro fator intraespecífico relevante é o sexo dos indivíduos. Estudos morfométricos em *B. jararaca* mostraram diferenças significativas na forma da cabeça entre machos e fêmeas, associadas a variações alimentares (SIQUEIRA et al., 2023). Como afirmam os autores, o dimorfismo sexual em *B. jararaca* está ligado a diferenças no consumo de presas, e possivelmente à modulação do veneno (SIQUEIRA et al., 2023). Embora menos estudado que a ontogenia ou a variação geográfica, o dimorfismo sexual pode contribuir para heterogeneidade clínica nos acidentes, uma vez que toxinas adaptadas a presas diferentes podem resultar em efeitos distintos no organismo humano.

2.6.3.4. Variação individual

A variabilidade intraespecífica não se restringe a grandes escalas. Estudos recentes revelaram diferenças marcantes entre indivíduos da mesma população. Sousa et al. (2021) observaram em *B. atrox* que a composição do veneno de indivíduos capturados em habitats semelhantes variou significativamente, tanto em abundância de proteínas quanto em bioatividade. Essa variação individual pode estar relacionada a fatores como estado nutricional, ciclo reprodutivo ou até mesmo estresse ambiental. Do ponto de vista clínico, isso ajuda a explicar por que acidentes dentro da mesma região podem apresentar apresentações sintomáticas diferentes.

2.6.3.5. Conservação versus plasticidade

É interessante notar que nem todas as espécies exibem o mesmo grau de variabilidade intraespecífica. Enquanto *B. atrox* é um exemplo de plasticidade extrema, *B. erythromelas* demonstra conservação notável. Essa diferença sugere que a variabilidade intraespecífica não é um traço universal, mas depende da história evolutiva e ecológica de cada espécie. Enquanto algumas espécies apresentam venenos altamente variáveis, refletindo adaptação ecológica local, outras mantêm

perfis conservados que provavelmente garantem eficiência predatória em ambientes mais homogêneos (JORGE et al., 2015).

As variações intraespecíficas têm implicações diretas no tratamento dos acidentes ofídicos. Antivenenos produzidos a partir de amostras de uma única população podem ter eficácia limitada contra venenos de populações divergentes. Esse problema é particularmente evidente na Amazônia. Segundo A variabilidade de *B. atrox* representa um desafio significativo para a cobertura do antiveneno, exigindo misturas imunizantes que incluam diferentes populações (CALVETE et al., 2011). Por outro lado, espécies com venenos mais conservados, como *B. erythromelas*, são mais facilmente neutralizadas por soros comerciais, independentemente da origem geográfica (JORGE et al., 2015).

2.6.3.6. Relevância ecológica

Do ponto de vista ecológico, a variabilidade intraespecífica reflete a diversidade de nichos ocupados pelas jararacas. Em espécies generalistas, como *B. atrox*, a plasticidade do veneno pode ser vista como uma ferramenta adaptativa que permite explorar diferentes presas em ambientes variados. Já em espécies mais especializadas, como *B. erythromelas*, a estabilidade do veneno garante eficiência em um contexto ecológico mais previsível. Esse contraste reforça a ideia de que os venenos de serpentes são produtos dinâmicos da interação entre genética, ecologia e evolução.

2.6.4. Variabilidade interespecífica dos venenos botrópicos

Além das mudanças ontogenéticas e intraespecíficas, a variabilidade interespecífica constitui um dos aspectos mais notáveis do gênero *Bothrops*. As mais de 30 espécies atualmente reconhecidas apresentam perfis bioquímicos e funcionais que refletem tanto sua história evolutiva quanto suas adaptações ecológicas. O gênero *Bothrops* exibe uma impressionante diversidade de composições de veneno, que pode ser explicada pela interação entre processos históricos e pressões ambientais locais (DE GODOY et al., 2024). Essa diversidade resulta em diferentes quadros clínicos de envenenamento humano, o que impõe desafios adicionais ao tratamento com antivenenos.

2.6.4.1. Padrões gerais entre espécies

Análises comparativas revelam que algumas espécies apresentam venenos fortemente hemorrágicos, enquanto outras se destacam pela miotoxicidade ou por efeitos procoagulantes. Em síntese, Calvete et al. (2009) apontam que a composição proteômica dos venenos de *Bothrops* é dominada por metaloproteinases, mas a abundância relativa de PLA₂s, serino-proteases e lectinas variam consideravelmente entre espécies. Por exemplo, *Bothrops jararaca* e *B. asper* são notórias por seus efeitos hemorrágicos, enquanto *B. jararacussu* apresenta perfil fortemente miotóxico. Já *B. atrox* combina atividades hemorrágicas e coagulantes, variando conforme a população estudada.

2.6.4.2. Casos emblemáticos

2.6.4.2.1 *Bothrops insularis*: especialização insular

A jararaca-ilhoa (*B. insularis*), restrita à Ilha da Queimada Grande (SP), é um caso de especialização trófica. Estudos mostraram que a morfologia e o comportamento dessa espécie refletem adaptação a uma dieta predominantemente aviária (WÜSTER; DUARTE; SALOMÃO, 2005, p. 3). O veneno, por sua vez, é altamente eficaz contra aves, apresentando toxinas que induzem rápida incoagulabilidade. Esse exemplo demonstra como a evolução insular pode direcionar tanto a morfologia quanto o perfil bioquímico do veneno, resultando em especializações únicas dentro do gênero.

2.6.4.2.2 *Bothrops pubescens*: predomínio de mamíferos

No sul do Brasil, *B. pubescens* apresenta dieta composta principalmente por roedores. A espécie utiliza majoritariamente ambientes abertos e sua dieta é fortemente dominada por pequenos mamíferos. O veneno acompanha essa estratégia, sendo eficaz na indução de distúrbios sistêmicos típicos em presas endotérmicas (HARTMANN; HARTMANN; MARTINS, 2005). Essa correlação entre dieta e veneno reforça o papel da ecologia trófica na evolução das toxinas.

2.6.4.2.3 *Bothrops neuwiedi*: plasticidade trófica

No Cerrado, *B. neuwiedi* demonstra um padrão de dieta mais generalista, onde a espécie se alimenta tanto de anfíbios e répteis quando jovem, quanto de mamíferos e aves na fase adulta (VALDUJO; NOGUEIRA; MARTINS, 2002). Essa flexibilidade

está associada a um veneno com composição intermediária, capaz de afetar tanto presas ectotérmicas quanto endotérmicas.

2.6.5. Relação entre dieta e composição do veneno

A relação entre dieta e veneno no gênero *Bothrops* é um tema recorrente, onde a ontogenia trófica e a diversidade alimentar entre espécies explicam grande parte da variabilidade interespecífica dos venenos (MARTINS; MARQUES; SAZIMA, 2002). Em espécies especialistas, como *B. insularis* e *B. jararacussu*, os venenos apresentam perfis estreitos, otimizados para presas específicas (aves e mamíferos, respectivamente). Em espécies generalistas, como *B. atrox* e *B. moojeni*, as composições são mais versáteis, refletindo a necessidade de atuar em diferentes tipos de presas.

As diferenças interespecíficas se refletem diretamente na gravidade e no tipo de manifestações clínicas. Enquanto acidentes por *B. asper* resultam em hemorragias maciças e necrose, picadas de *B. jararacussu* se caracterizam por intensa miotoxicidade e risco de amputação (GUTIÉRREZ et al., 2009). Esse quadro impõe desafios à produção de antivenenos. Soros antibotrópicos geralmente incluem venenos de espécies de ampla distribuição e relevância clínica (*B. jararaca*, *B. atrox*, *B. moojeni*), mas podem apresentar baixa eficácia contra espécies especializadas ou insulares (DE GODOY et al., 2024).

Do ponto de vista filogenético, a variabilidade interespecífica dos venenos reflete tanto divergências antigas quanto convergências funcionais. Estudos de venômica comparativa sugerem que espécies distantes podem apresentar perfis semelhantes, caso compartilhem pressões tróficas parecidas (DE GODOY et al., 2024). Esse padrão de evolução convergente é observado em *B. asper* e *B. jararaca*, ambas com venenos fortemente hemorrágicos, apesar de viverem em regiões distintas. Por outro lado, espécies próximas podem exibir divergência marcante, como *B. jararacussu* em comparação a outras jararacas atlânticas. Essa diversidade interespecífica dos venenos botrópicos é um reflexo da plasticidade evolutiva do gênero. Essa variabilidade garante sucesso ecológico em diferentes ambientes, mas ao mesmo tempo amplia a complexidade do manejo clínico dos acidentes.

A compreensão da variabilidade interespecífica é fundamental para o desenvolvimento de antivenenos mais eficazes e para o entendimento dos processos evolutivos que moldaram o gênero *Bothrops* (DE GODOY et al., 2024).

2.7. Considerações Gerais

O estudo dos venenos do gênero *Bothrops* revela um quadro de extraordinária complexidade biológica e biomédica. Ao longo deste trabalho, examinamos a composição básica desses venenos, destacando classes principais como metaloproteinases (SVMPs), fosfolipases A₂ (PLA₂s), serino proteases (SVSPs), lectinas tipo C (CTLs) e outras proteínas com funções citotóxicas, pró-inflamatórias e moduladoras. Como afirmam Gutiérrez e Lomonte (2013), “os venenos botrópicos representam verdadeiros arsenais bioquímicos moldados por milhões de anos de evolução e interação ecológica”.

A análise da variabilidade ontogenética demonstra que os venenos se transformam de acordo com a fase de vida da serpente. Em geral, os filhotes apresentam venenos mais procoagulantes e letais para presas pequenas, enquanto os adultos exibem perfis mais hemorrágicos ou miotóxicos, adaptados a presas maiores. A ontogenia do veneno em *Bothrops jararaca* é marcada por um rearranjo proteômico profundo, com implicações ecológicas e clínicas diretas (ZELANIS et al., 2011).

A variabilidade intraespecífica acrescenta outra camada de complexidade. Dentro de uma mesma espécie, fatores como geografia, habitat, sexo e indivíduo podem resultar em diferenças substanciais na composição e bioatividade do veneno. Enquanto *Bothrops atrox* mostra extrema plasticidade — inclusive com casos de pedomorfismo em populações adultas (CALVETE et al., 2011) —, espécies como *B. erythromelas* apresentam surpreendente estabilidade interpopulacional (JORGE et al., 2015). Esse contraste demonstra que a variabilidade intraespecífica não é uniforme, mas depende da ecologia e história evolutiva de cada espécie.

A variabilidade interespecífica amplia ainda mais esse panorama. O gênero *Bothrops* abrange espécies especialistas, como *B. insularis* (veneno adaptado a aves) e *B. jararacussu* (dominado por PLA₂s miotóxicas), e generalistas, como *B. atrox* e *B. moojeni*. Essa diversidade ecoa nos diferentes quadros clínicos de acidentes, que vão de necroses hemorrágicas graves (*B. asper*) até rabdomiólise intensa (*B. jararacussu*). A compreensão da variabilidade interespecífica é fundamental para orientar políticas de produção de antivenenos e para compreender os processos evolutivos que moldaram o gênero (DE GODOY et al., 2024)

Do ponto de vista clínico, essa variabilidade apresenta um grande desafio. Antivenenos produzidos a partir de um conjunto limitado de espécies ou populações

podem não neutralizar adequadamente toxinas divergentes. Antunes et al. (2010) já advertiam que “os venenos de neonatos de *B. jararaca* são menos neutralizados pelos soros produzidos com venenos de adultos”. O mesmo se aplica a diferenças geográficas de *B. atrox* ou a especializações de espécies como *B. insularis*.

No plano ecológico, a plasticidade dos venenos de *Bothrops* é um testemunho da íntima relação entre dieta, ambiente e fisiologia destacam que as variações no veneno são reflexos diretos da ecologia trófica, moldadas por pressões seletivas que diferenciam populações e espécies (MARTINS: MARQUES: SAZIMA, 2002). Essa perspectiva reforça a necessidade de integrar ecologia, evolução e venômica para compreender plenamente a biologia das jararacas.

É importante ressaltar que, além de sua relevância médica, os venenos botrópicos representam uma fonte promissora de biomoléculas com potencial farmacêutico. Inibidores de coagulação, indutores de apoptose e agentes antimicrobianos derivados dessas toxinas já são explorados em pesquisas biomédicas (SERRANO et al., 2005).

Portanto, compreender a composição e a variabilidade dos venenos de *Bothrops* não é apenas uma questão de saúde pública, mas também uma oportunidade de avanço científico e tecnológico. O desafio para as próximas décadas será integrar esses conhecimentos em programas de conservação, produção de antivenenos de amplo espectro e desenvolvimento de novas terapias.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

Comparar as atividades enzimáticas e bioquímicas dos venenos de *Bothrops alternatus*, *Bothrops pauloensis* e *Bothrops moojeni*.

3.2. Objetivos Específicos

- 3.2.1. Determinar a concentração de proteínas dos venenos.
- 3.2.2. Avaliar a capacidade dos venenos de degradar o ácido hialurônico (HAC).
- 3.2.3. Avaliar a atividade proteolítica dos venenos sobre a caseína.
- 3.2.4. Determinar a menor concentração dos venenos capaz de induzir coagulação no plasma humano.
- 3.2.5. Analisar a atividade hemolítica mediada por fosfolipases presentes nos venenos.
- 3.2.6. Identificar e comparar os perfis proteicos dos venenos.
- 3.2.7. Caracterizar e comparar o perfil cromatográfico das proteínas dos venenos.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

Todos os experimentos foram realizados em triplicata, e os resultados expressos como média $\pm$ desvio padrão.

4.1. Venenos

Os venenos de *Bothrops alternatus*, *B. pauloensis* e *B. moojeni* foram obtidos a partir do banco de venenos do Centro de Estudos e Pesquisas Biológicas (CEPB) da Pontifícia Universidade Católica de Goiás (PUC Goiás). A extração foi realizada manualmente e, posteriormente, os venenos foram armazenados a -20°C até sua utilização.

4.2. Dosagem de Proteínas

A quantificação das proteínas presentes nos venenos foi feita por meio da técnica colorimétrica descrita por Bradford (1976). Foram adicionados 100 μL das soluções de veneno, na concentração de 10 mg/mL, diluídas em tampão Phosphate Buffered Saline (PBS), pH 7,4, a 1,0 mL do reagente de Bradford. Após 5 minutos de incubação, a absorbância foi medida a 595 nm. A média e o desvio padrão dos resultados foram calculados e aplicados em uma curva padrão para a determinação da concentração proteica.

4.3. Atividade de Hialuronidase

Utilizando a metodologia de Ferrante (1955), uma solução contendo 400 μL de acetato de sódio 200 mM (Ph 6.0), 150 mM NaCl, 100 μL de ácido hialurônico (HAC) 0,5 mg/mL e 10 μL das soluções de veneno (10 mg/mL) foi incubada por 15 minutos a 37°C . Brancos foram preparados com controle de atividade enzimática de 0% (520 μL de acetato de sódio) e 100% (420 μL de acetato de sódio + 50 μL de HAC). Decorrido este tempo, a reação foi interrompida com 1,0 mL de cetiltrimetilamônio brometo (CTAB) 2,5% diluído em NaOH 2%, com tempo de pausa de 10 minutos. A absorbância foi lida em 400 nm. A atividade enzimática foi definida como a quantidade de enzima (unidade enzimática) capaz de reduzir em 50% a turbidez da amostra por miligrama de proteína.

4.4. Atividade Caseínolítica

Utilizando a técnica descrita por Wang and Huang (2002), uma mistura composta por 250 µL de caseína a 1%, 240 µL de PBS e 10 µL dos venenos (10mg/mL) foi incubada a 37 °C por 60 minutos. Após a incubação, a reação foi interrompida pela adição de 500 µL de ácido tricloroacético a 5%. Em seguida, após 15 minutos de repouso, os tubos foram centrifugados a 10.000 rpm por 15 minutos. A absorbância do sobrenadante (900 µL) foi medida a 280 nm. A atividade proteolítica foi definida como a quantidade de enzima (unidade enzimática) capaz de produzir um aumento de 0,001 na absorbância.

4.5. Dose Mínima Coagulante (DMC)

A dose mínima coagulante foi definida como a menor quantidade de veneno capaz de coagular uma solução de plasma humano citratado (proporção anticoagulante: sangue 1:10, v/v) em 60 segundos (Theakston and Reid, 1983). Para o ensaio, alíquotas dos venenos (10mg/mL) foram diluídas em tampão PBS a partir da solução inicial de 1 mg/mL (180 µL de PBS + 20 µL de veneno), obtendo-se as seguintes concentrações subsequentes: 0,5 mg/mL, 0,25 mg/mL, 0,125 mg/mL, 0,0625 mg/mL e 0,0312 mg/mL. O tempo de coagulação foi cronometrado e registrado para cada condição. Ao final os valores obtidos foram convertidos em DMC através de interpolação.

4.6. Fosfolipase (hemólise indireta)

Uma solução contendo 485 µL de PBS, 250 µL de emulsão de gema de ovo (1 g/100 mL), 200 µL de CaCl₂ 10 mM, e 15 µL dos venenos (10mg/mL) foi incubada a 37 °C por 60 minutos. Em seguida, foram adicionados 500 µL de hemácias a 2% (diluídas em PBS), e a mistura foi incubada novamente a 37 °C por 30 minutos. Após a incubação, os tubos foram centrifugados, e a absorbância do sobrenadante (900 µL) foi medida a 540 nm (Boman and Kaletta, 1957).

4.7. Eletroforese em Gel de Poliacrilamida (SDS-PAGE)

Para identificar o perfil eletroforético das amostras realizou-se análise em eletroforese em gel de poliacrilamida, utilizando um gel de 12% de acrilamida, em um sistema mini-gel, com tampão tris-glicina (tris-base 25 mM), glicina 2,6 M, dodecil sulfato de sódio (SDS) 1% v/v, pH 8,7). O gel separador (acrilamida 12%; bis-

acrilamida v/v, 0,4%; tris-base 400 mM v/v; SDS 0,1% v/v; pH 8.7), e o gel concentrador (acrilamida 4%; bis-acrilamida 0,1%; tris-base 120 mM; SDS 0,1%; pH 6,8), foram polimerizados com tetrametiletilendiamina (TEMED) 0,1% e persulfato de amônio 0,2%. As amostras foram diluídas em 10 µL de tampão de amostra (tris-base 60 mM, pH 6,8; β-mercaptoetanol 1%; SDS 4%; glicerol 5%, azul de bromofenol 0,0001%) e logo depois colocadas em banho-maria fervente durante 5 min e aplicadas no gel. A voltagem de corrida foi de 120 V constantes e amperagem de 30 mA, com um tempo de corrida de aproximadamente 90 min. Após a corrida todos os géis foram corados com Comassie Blue e descorados com solução de metanol/ácido acético, até a visualização das bandas protéicas.

4.8. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

Os venenos de *Bothrops moojeni*, *Bothrops pauloensis* e *Bothrops alternatus*, (5mg), foram diluídos em 1,0 mL de acetonitrila 10% contendo 0,1% de ácido trifluoroacético (TFA). A solução foi centrifugada a 12.000 rpm por 10 min, e 200 µL do sobrenadante aplicado em uma coluna analítica C18 (218TP54, 250mm X 4,6 mm), acoplada em um equipamento Shimadzu LC-20AT utilizando um detector SPD-20AV. A eluição dos picos foi conduzida em um gradiente linear de 10 a 80% de acetonitrila acidificada com TFA 0,1%, durante 100 min, em um fluxo de 1,0 mL/min e o perfil de eluição monitorado a 280 e 216 nm.

5. RESULTADOS/DISCUSSÃO

5.1. Objeto do Estudo

Dentro da diversidade conhecida de serpentes, o Estado de Goiás apresenta oito espécies de *Bothrops* distribuídas em seu território: *Bothrops alternatus* (Duméril, Bibron & Duméril, 1854), *Bothrops itapetiningae* (Boulenger, 1907), *Bothrops marmoratus* (Silva & Rodrigues, 2008), *Bothrops matogrossensis* Amaral, 1925, *Bothrops moojeni* (Hoge, 1966), *Bothrops neuwiedi* (Wagler in Spix, 1824) e *Bothrops pauloensis* Amaral, 1925.

A espécie *Bothrops moojeni* é frequentemente apontada como a de maior importância médica em Goiás, devido à abundância e proximidade com áreas rurais. *B. neuwiedi* apresenta grande variabilidade morfológica e genética, e suas populações no Cerrado ainda estão sob revisão taxonômica, se tratando de um grande complexo de sete espécies anteriormente reconhecidas como subespécies. Em regiões de transição ao sul e sudeste do estado há registros de *B. alternatus*, mas sua ocorrência em Goiás é considerada rara e associada a áreas da Mata Atlântica (NOGUEIRA et al., 2020; SILVA JR. et al., 2024) (Figuras 4 a 9).

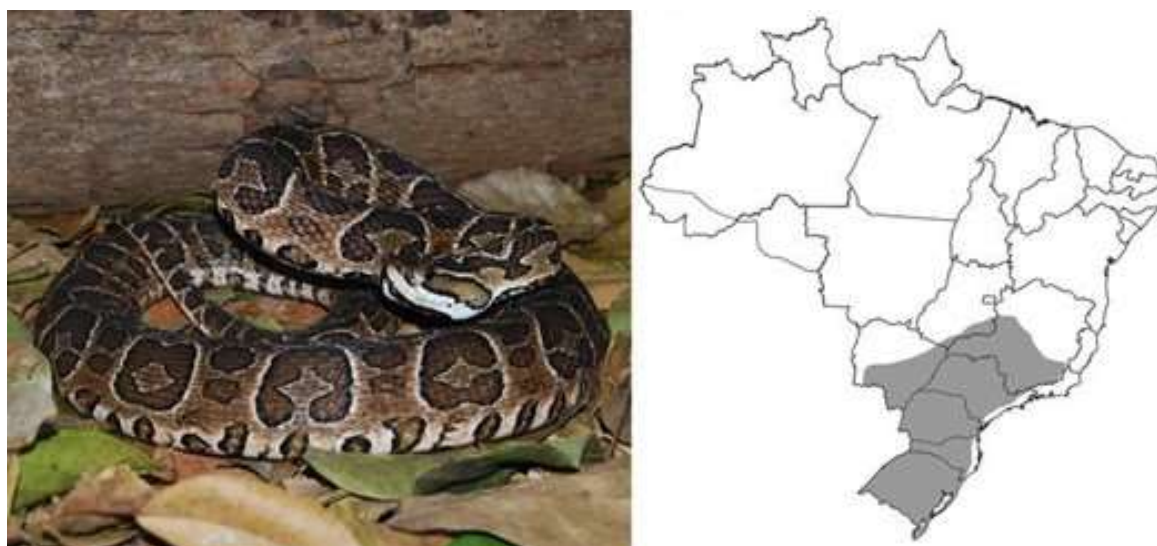


Figura 4. Espécime de *Bothrops alternatus* e sua distribuição geográfica conhecida. Fonte: Silva Jr. et al., 2024.

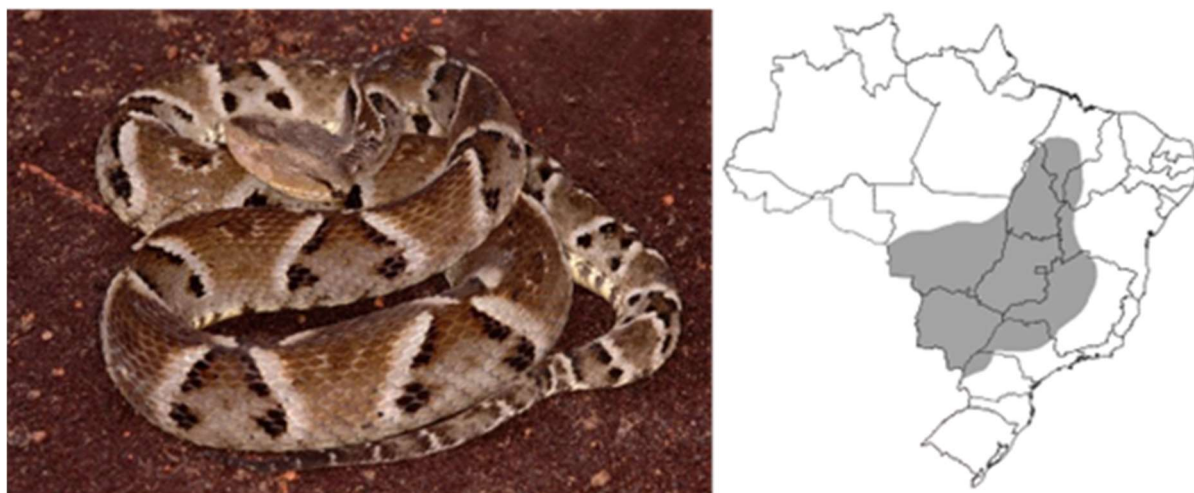


Figura 5. Espécime de *Bothrops moojeni* e sua distribuição geográfica conhecida. Fonte: Silva Jr. et al., 2024.

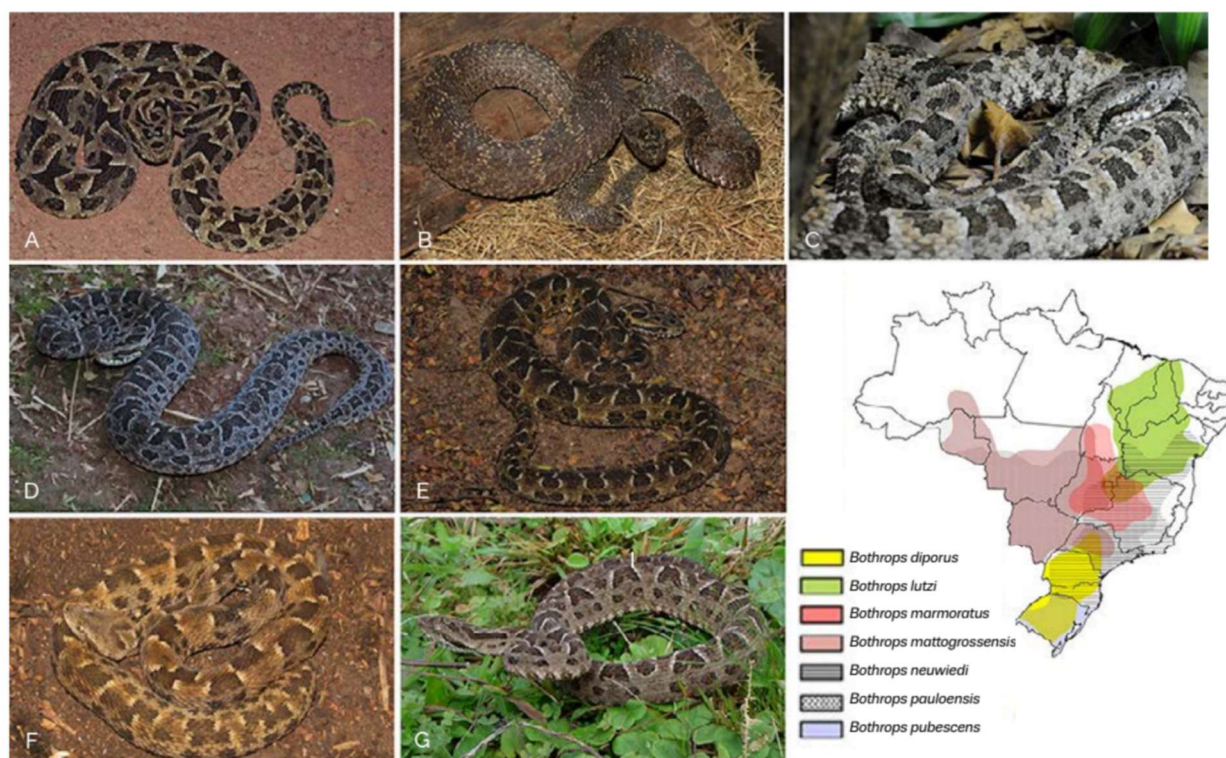


Figura 6. Exemplares de espécies do grupo *Bothrops neuwiedi* e sua distribuição geográfica no Brasil. A. *Bothrops diporus*; B. *Bothrops lutzi*; C. *Bothrops marmoratus*; D. *Bothrops matogrossensis*; E. *Bothrops neuwiedi*; F. *Bothrops pauloensis*; G. *Bothrops pubescens*. Fonte: Silva Jr. et al., 2024.

5.2. Composição Básica e Comparativa dos Venenos

Resultados completos estão disponíveis no Apêndice A.

5.2.1. Dosagem de proteínas

A concentração de proteínas nos venenos foi de $0,87 \pm 0,05$ mg/mL para *B. alternatus*, $0,94 \pm 0,08$ mg/mL para *B. pauloensis* e $1,04 \pm 0,05$ mg/mL para *B. moojeni*. Os resultados de *B. pauloensis* e *B. moojeni* apresentaram resultados superiores demonstrando maior complexidade proteica em relação a *B. alternatus* (Figura 6).

5.2.2. Atividade de hialuronidase

A atividade da hialuronidase foi de $79 \pm 5,3$ U/mg em *B. alternatus*, $105 \pm 1,5$ U/mg em *B. pauloensis* e $100 \pm 1,5$ U/mg em *B. moojeni*. A atividade superior de hialuronidase nas espécies *B. pauloensis* e *B. moojeni*, conhecida como o "fator de espalhamento" do veneno, sugere uma maior capacidade de difusão de outros componentes tóxicos no tecido da vítima em comparação a *B. alternatus* (Fox & Serrano, 2008) (Figura 6).

5.2.3. Atividade caseinolítica

A atividade caseinolítica dos venenos foi de $25,823 \pm 6,0$ U/mg (*B. alternatus*), $54,042 \pm 4,0$ U/mg (*B. pauloensis*) e $58,493 \pm 3,0$ U/mg (*B. moojeni*). A atividade caseinolítica, mediada por proteases, foi particularmente proeminente nas espécies *B. pauloensis* e *B. moojeni*, indica um potencial mais elevado para causar hemorragia local, mionecrose e coagulopatia, os efeitos mais marcantes do envenenamento botrópico (CALVETE *et al.*, 2009) (Figura 6).

5.2.4. Dose mínima coagulante (DMC)

A dose mínima coagulante foi de 0,119 mg/mL no veneno de *B. moojeni* e 0,125 mg/mL nos venenos de *B. alternatus* e *B. pauloensis*. A DMC de *B. moojeni* foi inferior aos demais, sendo assim o veneno com maior potencial coagulante (Figura 6).

5.2.5. Fosfolipase (hemólise indireta)

As concentrações de fosfolipase foram de $36,532 \pm 0,38$ U/mg (*B. alternatus*), $59,178 \pm 0,17$ U/mg (*B. pauloensis*) e $59,861 \pm 0,17$ U/mg (*B. moojeni*). *B. pauloensis*

e *B. moojeni* obtiveram maior atividade da fosfolipase, relacionada com o potencial miotóxico, citotóxico e inflamatório (Figura 6).

Tabela 2. Médias dos resultados obtidos nas determinações.

DETERMINAÇÕES	<i>B. alternatus</i>	<i>B. pauloensis</i>	<i>B. moojeni</i>
Dosagem de Proteínas	0,87 mg/mL	0,94 mg/mL	1,04 mg/mL
Atividade da Hialuronidase	79 U/mg	105 U/mg	100 U/mg
Atividade Caseínolítica	25.823 U/mg	54.042 U/mg	58.493 U/mg
Dose Mínima Coagulante (60 segundos)	0,125 mg/mL	0,125 mg/mL	0,119 mg/mL
Fosfolipase (hemólise indireta)	36.493 U/mg	59.178 U/mg	59.861 U/mg

5.2.6. Eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE)

As faixas na lateral do gel representam um marcador de massa molecular (MM), usado como referência para estimar o tamanho das proteínas da amostra em kilodaltons (kDa). As colunas subsequentes mostram o perfil de proteínas dos venenos de *B. moojeni*, *B. alternatus* e *B. pauloensis* (Figura 7).

O resultado da eletroforese em gel (SDS-PAGE) proveu uma representação visual da complexidade proteica dos venenos. Todos os três venenos demonstraram um perfil polipeptídico complexo, mas com padrões de bandas distintos, o que confirma a heterogeneidade da composição. Bandas de peso molecular intermediário, que variam entre aproximadamente 50 e 60 kDa, podem estar associados a serino - proteases, pois desempenham um papel nos distúrbios de coagulação e na fibrinogenólise. Bandas situadas na faixa de 30 a 15 kDa são compatíveis com fosfolipases A₂, que são proteínas com grande prevalência em venenos de *Bothrops*, ligadas a efeitos miotóxicos e inflamatórios. Bandas com pesos moleculares aproximados de 60–70 kDa podem indicar a presença de LAAOs, geralmente associados à coloração amarelada do veneno liofilizado, além de estarem ligados a atividades citotóxicas e antimicrobianas. As bandas mais intensas e abundantes observadas nos perfis de *B. pauloensis* e *B. moojeni* correlacionam-se diretamente com suas maiores concentrações de proteína total e atividades enzimáticas (Figura 7).

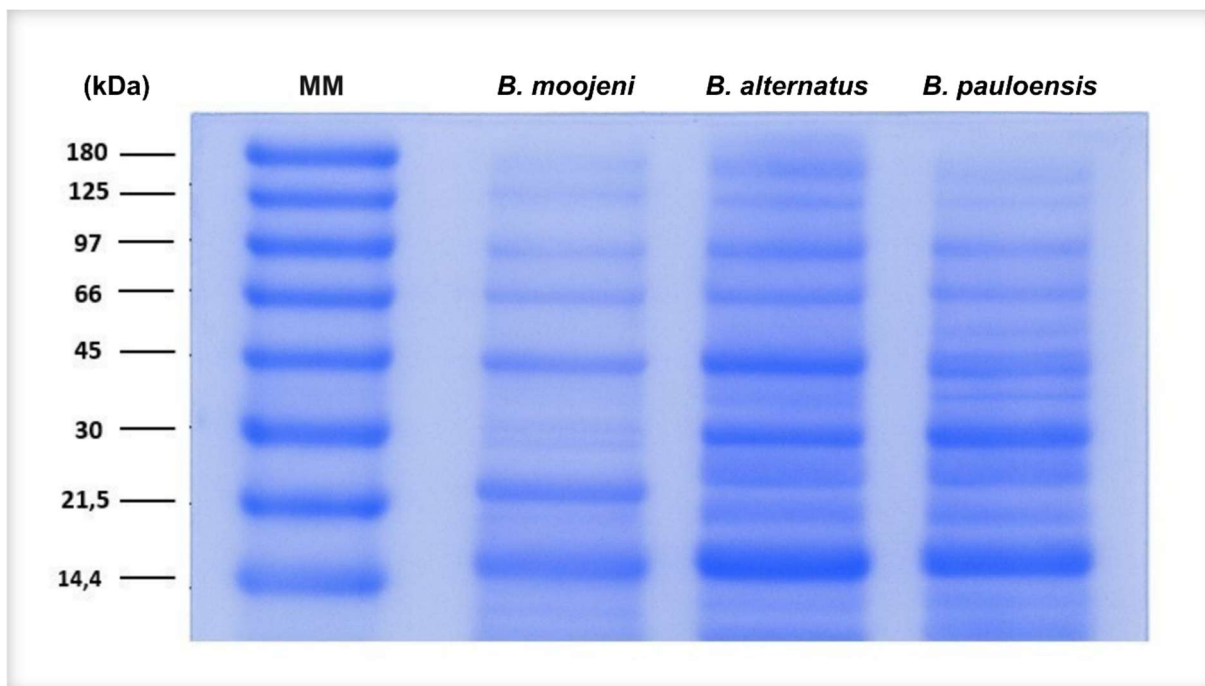


Figura 7. Perfil eletroforético do veneno de *B. moojeni*, *B. alternatus* e *B. pauloensis*.

5.2.7. Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) forneceu um perfil cromatográfico detalhado de cada veneno. Os perfis de eluição foram obtidos por CLAE de fase reversa, com a absorvância medida em 280 nm e 216 nm. O eixo X representa o tempo de retenção em minutos, enquanto o eixo Y indica a absorvância. As curvas de eluição demonstraram que, embora os venenos possuam múltiplos picos, os perfis de *B. moojeni* e *B. pauloensis* são marcadamente mais semelhantes entre si, compartilhando picos importantes em tempos de retenção similares. Em contraste, o perfil de *B. alternatus* é significativamente diferente (Figuras 8,9 e 10).

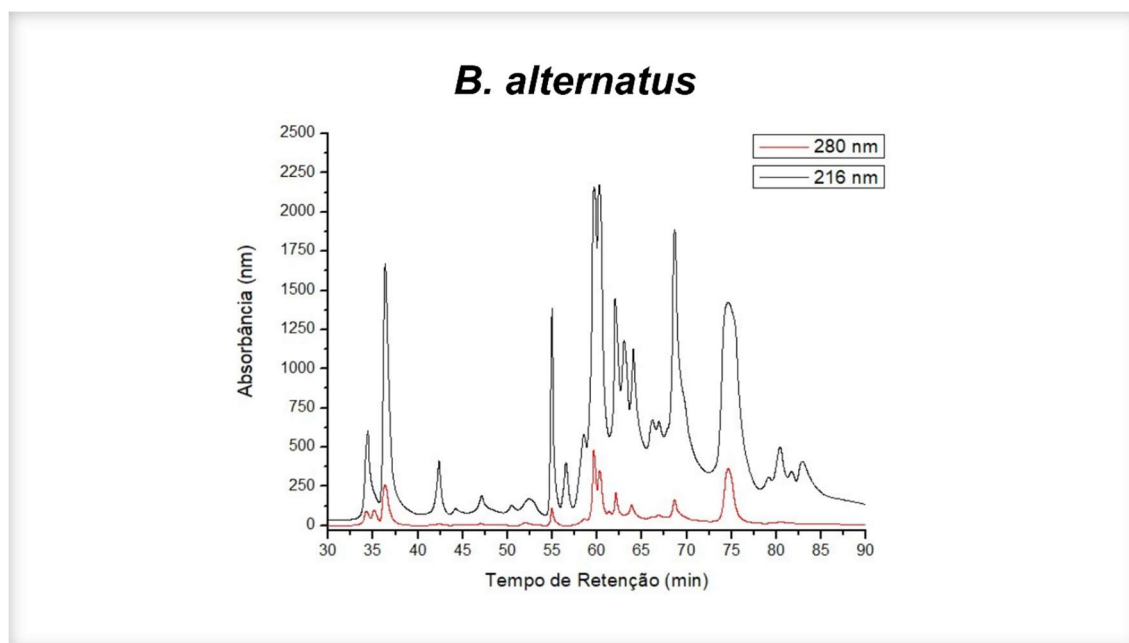


Figura 8. Perfil cromatográfico do veneno de *B. alternatus*.

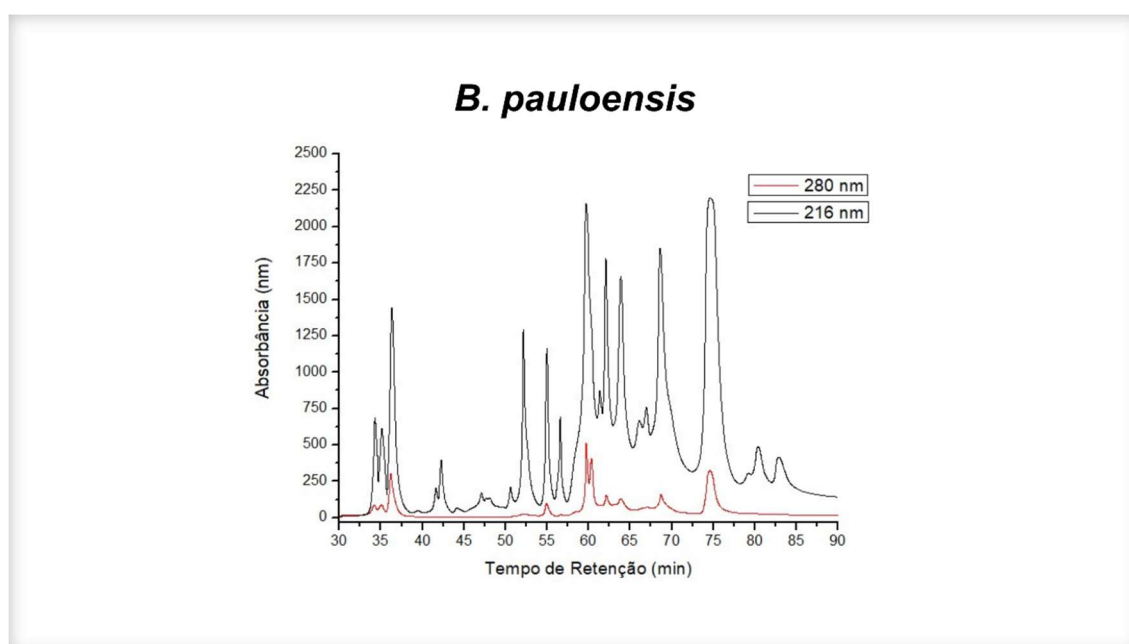


Figura 9. Perfil cromatográfico do veneno de *B. pauloensis*.

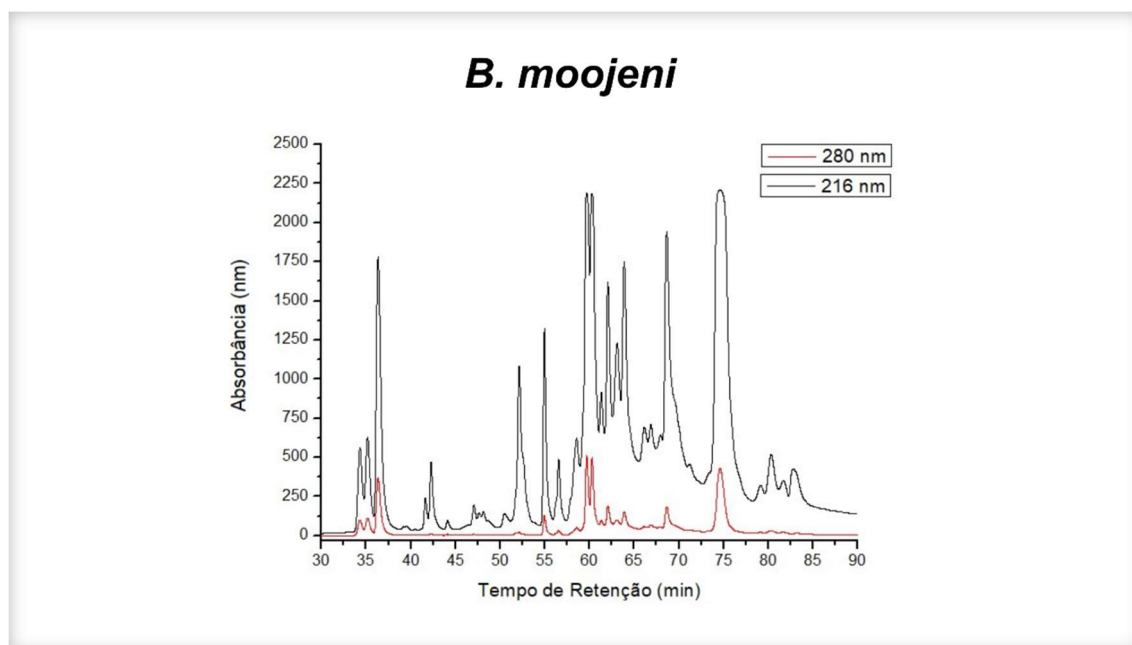


Figura 10. Perfil cromatográfico do veneno de *B. moojeni*.

6. CONCLUSÕES

O presente estudo obteve êxito em todos os objetivos propostos. A caracterização comparativa dos venenos destas espécies, ocorrentes do Estado de Goiás evidenciam a complexidade e variabilidade que pode ser encontrada dentro de gênero *Bothrops*. A análise integrada das determinações permite uma demonstração clara da relação da composição bioquímica e as atividades biológicas.

A análise dos dados obtidos evidenciou de forma conclusiva que os venenos de *B. pauloensis* e *B. moojeni* são intrinsecamente mais potentes e enzimaticamente ativos que o de *B. alternatus*, além de apresentarem resultados com pouca diferença em todas as determinações. A interpretação da SDS-PAGE e CLAE confirmam perfis proteômicos ricos e composições semelhantes entre as duas espécies (*B. moojeni* e *B. pauloensis*), trazendo grande significância, uma vez que estas espécies são as de maior abundância e proximidade com áreas rurais, e com maior variabilidade genética e morfológica, respectivamente. Por outro lado, o veneno de *B. alternatus* apresentou resultados inferiores, sendo a espécie de ocorrência considerada rara no Estado.

Estudos como este têm relevância clínica por expor a potência dos componentes nocivos, causadores de milhares de acidentes graves todos os anos no Brasil, com complicações locais e sistêmicas. A compreensão dessas diferenças proporciona avanços no desenvolvimento de soros antiofídicos, além de difundir o conhecimento acerca deste que é considerado um grande problema de saúde pública.

O gênero *Bothrops* têm sido alvo de pesquisa e possui grande potencial inexplorado dentro da biotecnologia aliada à saúde humana. Suas caracterizações detalhadas são o primeiro passo para a bioprospecção de moléculas bioativas com potencial farmacológico. Um estudo mais avançado sugere submeter os venenos a uma análise proteômica avançada, para identificação precisa das proteínas responsáveis por cada pico de atividade visto na CLAE, permitindo relacioná-las com as manifestações clínicas dos acidentes botrópicos.

REFERÊNCIAS

- ALAPE-GIRÓN, A. et al. Ontogenetic changes in the venom proteome of *Bothrops asper*. *Journal of Proteome Research*, v. 7, n. 8, p. 3370–3385, 2008.
- ALMEIDA, D. D. et al. Tracking the recruitment and evolution of snake toxins using the evolutionary context provided by the *Bothrops jararaca* genome. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, v. 118, n. 20, e2014634118, 2021.
- ANTUNES, T. C. et al. Comparative analysis of newborn and adult *Bothrops jararaca* snake venoms. *Toxicon*, v. 56, n. 8, p. 1443–1458, 2010.
- BAILEY, G.S. Enzymes from Snake Venoms. Alaken, Inc., Fort Collins, Colorado. 1998.
- BÉRNILS, R. S.; COSTA, H. C. (orgs.). Répteis brasileiros: lista de espécies. Sociedade Brasileira de Herpetologia, 2012. Disponível em: <http://www.sbherpetologia.org.br>. Acesso em: 6 set. 2025.
- BJARNASON, J. B.; FOX, J. W. Snake venom metalloendopeptidases: reprotlysins. *Methods in Enzymology*, v. 248, 1995.
- BOCHNER, R.; STRUCHINER, C. J. Epidemiologia dos acidentes ofídicos nos últimos 100 anos no Brasil: uma revisão. *Cadernos de Saúde Pública*, v. 19, n. 1, p. 7–16, 2003.
- BOMAN, H. G.; KALETTA, U. Chromatography of rattlesnake venoms. A separation of three phosphodiesterases. *Biochimica et Biophysica Acta*, v. 24, p. 619-631, 1957.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, v. 72, p. 248-254, 1976.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Acidentes de animais peçonhentos: situação epidemiológica. Brasília: Ministério da Saúde, 2022.
- CALVETE, J. J. et al. Snake population venomomics and antivenomics of *Bothrops atrox*: paedomorphism along its transamazonian dispersal and implications of geographic venom variability on snakebite management. *Journal of Proteomics*, v. 74, n. 4, p. 510–527, 2011.
- CALVETE, J. J. et al. Snake venomomics of *Bothrops* species: interspecific variability of the proteome and toxin composition. *Journal of Proteomics*, v. 72, n. 2, p. 263–280, 2009.
- CAMPBELL, J. A.; LAMAR, W. W. *The Venomous Reptiles of the Western Hemisphere*. Ithaca: Cornell University Press, 2004.
- CAMPOS, L. F. A. et al. Epidemiologia dos acidentes ofídicos no Brasil: revisão de literatura. *Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção*, v. 9, n. 3, p. 223–230, 2019.
- CARRASCO, P. A. et al. Molecular phylogeny of the pitvipers of the genus *Bothrocophias* (Serpentes: Viperidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, v. 62, n. 1, p. 187–195, 2012.

- CASEWELL, N. R.; JACKSON, T. N. W.; LAUSTSEN, A. H.; SUNAGAR, K. Causes and consequences of snake venom variation. *Trends in Pharmacological Sciences*, v. 41, n. 8, p. 570–581, 2020.
- COSTA, H. C.; BÉRNILS, R. S. Répteis brasileiros: lista de espécies 2015. *Herpetologia Brasileira*, v. 4, n. 3, p. 75–93, 2015.
- DE GODOY, R. M. C. et al. Analysis of the genus *Bothrops* snake venom: an inter- and intra-specific study. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*, v. 30, e20230078, 2024.
- DI FERRANTE, N. Turbidimetric measurement of acid mucopolysaccharides and hyaluronidase activity. *The Journal of Biological Chemistry*, v. 217, n. 1, p. 303–310, 1955.
- FENWICK, A. M. et al. Morphological and molecular evidence for phylogeny and classification of South American pitvipers, genera *Bothrops*, *Bothrocophias* and *Rhinocerophis*. *Zootaxa*, v. 172, p. 1–23, 2009.
- FERREIRA, S. H. A bradykinin-potentiating factor (BPF) present in the venom of *Bothrops jararaca*. *British Journal of Pharmacology and Chemotherapy*, v. 24, p. 163–169, 1965.
- 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 Journal*, v. 275, n. 12, p. 3016–3030, 2008.
- FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ. Ofidismo: acidentes com serpentes. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2021. Disponível em: <https://portal.fiocruz.br/acidentes-ofidicos>. Acesso em: 4 set. 2025.
- GARCIA-DA-SILVA, A. S. et al. Head and venom gland morphology of *Bothrops atrox* vary intraspecifically and between habitats in western Amazonia. *Zoologischer Anzeiger*, v. 308, p. 48–56, 2024.
- GUERRERO-GARCÍA, C. et al. MicroRNAs regulate venom gene expression during ontogenetic changes in *Bothrops* snakes. *BMC Genomics*, v. 21, n. 1, p. 812, 2020.
- GUÉRCIO, R. A. P. et al. Ontogenetic variations in the venom proteome of *Bothrops atrox*. *Journal of Proteome Research*, v. 5, n. 10, p. 2552–2561, 2006.
- GUTIÉRREZ, J. M. et al. Snake venom metalloproteinases: biological roles and participation in the pathophysiology of envenoming. *Toxicon*, v. 54, n. 7, p. 913–922, 2009.
- GUTIÉRREZ, J. M. et al. Snakebite envenoming. *Nature Reviews Disease Primers*, v. 3, p. 17063, 2017.
- GUTIÉRREZ, J. M.; LOMONTE, B. Phospholipases A₂: unveiling the secrets of a functionally versatile group of snake venom toxins. *Toxicon*, v. 62, p. 27–39, 2013.
- HARTMANN, M. T.; HARTMANN, P. A.; MARTINS, M. Feeding habits and habitat use in *Bothrops pubescens*. *Journal of Herpetology*, v. 39, n. 4, p. 664–667, 2005.
- JORGE, R. J. B. et al. Venomics and antivenomics of *Bothrops erythromelas* from five geographic populations within the Caatinga. *Journal of Proteomics*, v. 114, p. 93–114, 2015.

- KINI, R. M. Serine proteases affecting blood coagulation and fibrinolysis from snake venoms. *Pathophysiology of Haemostasis and Thrombosis*, v. 34, n. 4–5, p. 200–204, 2005.
- KINI, R. M.; KOHLER, T. Biochemistry of snake venom toxins: progress and future. *Toxins*, v. 13, n. 5, p. 323, 2021.
- LAEMMLI, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, v. 227, p. 680–685, 1970.
- LOMONTE, B.; GUTIÉRREZ, J. M. Phospholipases A₂: from enzymatic to non-enzymatic mechanisms of toxicity. *Toxicon*, v. 199, p. 59–68, 2021.
- MARTINS, M.; MARQUES, O. A. V.; SAZIMA, I. Ecological and phylogenetic correlates of feeding habits in neotropical pitvipers of the genus *Bothrops*. In: SCHUETT, G. W.; HÖGGREN, M.; DOUGLAS, M. E. (orgs.). *Biology of the Vipers*. Eagle Mountain: Eagle Mountain Publishing, 2002. p. 307–328.
- MARTINS, M.; OLIVEIRA, M. E. Natural history of snakes in forests of the Manaus region, Central Amazonia, Brazil. *Herpetological Natural History*, v. 6, p. 78–150, 1998.
- MASON, A. J. et al. Venom gene sequence diversity and expression jointly shape diet adaptation in pitvipers. *Molecular Biology and Evolution*, v. 39, n. 4, msac082, 2022.
- MINISTÉRIO da Saúde. DATASUS TABNET. Acidente por animais peçonhentos - Notificações registradas no Sistema de Informação de Agravos de Notificação - Brasil, 2025. Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sinanet/cnv/animaisbr.def>. Acesso em: 23 ago. 2025.
- NOGUEIRA, C. C. et al. Atlas of Brazilian snakes: verified point-locality maps to mitigate the Wallacean Shortfall in a megadiverse snake fauna. *South American Journal of Herpetology*, v. 14, n. 1, p. 1–274, 2019.
- OLIVEIRA, A. L. et al. The chemistry of snake venom and its medicinal potential. *Nature Reviews Chemistry*, v. 6, p. 451–469, 2022.
- ONOFRIO, V. C. et al. Revisão taxonômica do complexo *Bothrops neuwiedi* (Serpentes, Viperidae). *Zootaxa*, v. 2232, p. 1–55, 2010.
- RODRIGUES, C. F. B. et al. Clinical implications of ontogenetic differences in the venom of *Bothrops jararacussu*. *Vascular Pharmacology*, v. 137, 106826, 2021.
- SENJI LAXME, R. R. et al. From birth to bite: the evolutionary ecology of India's medically most important snake venoms. *BMC Biology*, v. 22, art. 161, 2024.
- SERRANO, S. M. T. et al. The cysteine-rich domain of the snake venom metalloproteinase jararhagin: role in inhibition of platelet aggregation. *Toxicon*, v. 45, n. 8, p. 1093–1102, 2005.
- SILVA JR., N. J. *Fundamentos de Ofiologia*. Goiânia: Editora UCG, 1997.
- SILVA JR., N. J. et al. Serpentes de Importância em Saúde. In: BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde e Ambiente. Departamento de Doenças Transmissíveis. *Guia de animais peçonhentos do Brasil* [recurso eletrônico]. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2024. 164 p. ISBN 978-65-5993-598-7. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_animais_peconhentos_brasil.pdf. Acesso em: 9 jun. 2025.

- SIQUEIRA, L. H. C. et al. Sexual dimorphism and ontogenetic variation in the head shape of *Bothrops jararaca*. *Biological Journal of the Linnean Society*, v. 140, 2023.
- SOUSA, L. F. et al. Comparison of phylogeny, venom composition and neutralization by antivenom in diverse species of *Bothrops*. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, v. 7, n. 9, e2442, 2013.
- SOUSA, L. F. et al. Individual variability in *Bothrops atrox* snakes collected from different habitats. *Toxins*, v. 13, n. 11, p. 793, 2021.
- SOUZA, A. S. et al. *Bothrops atrox* envenoming in the Brazilian Amazon: clinical characteristics and laboratory diagnosis. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 45, n. 6, p. 713–717, 2012.
- THEAKSTON, R. D.; REID, H. A. Development of simple standard assay procedures for the characterization of snake venom. *Bulletin of the World Health Organization*, v. 61, n. 6, p. 949-956, 1983.
- TORII, S. et al. Cytotoxicity of L-amino acid oxidase purified from *Bothrops jararaca* snake venom to human umbilical vein endothelial cells. *Biochimica et Biophysica Acta*, v. 1474, n. 1, p. 81–90, 2000.
- VALDUJO, P. H.; NOGUEIRA, C.; MARTINS, M. Ecology of *Bothrops neuwiedi pauloensis* in the Brazilian Cerrado. *Journal of Herpetology*, v. 36, n. 2, p. 169–176, 2002.
- WANG, W.-J.; HUANG, T.-F. Purification and characterization of a novel metalloproteinase, Acurhagin, from *Agkistrodon acutus* venom. *Toxins*, v. 10, p. 641-650, 2002.
- WARRELL, D. A. *Guidelines for the management of snake-bites*. Geneva: WHO, 2010.
- WHO – World Health Organization. *Snakebite envenoming: a strategy for prevention and control*. Geneva: WHO, 2021.
- WÜSTER, W.; DUARTE, M. R.; SALOMÃO, M. G. Morphological correlates of incipient arboreality and ornithophagy in island pitvipers, and the phylogenetic position of *Bothrops insularis*. *Journal of Zoology*, v. 266, n. 1, p. 1–10, 2005.
- ZANCOLLI, G.; CASEWELL, N. Venom systems as models for studying the origin and regulation of evolutionary novelties. *Molecular Biology and Evolution*, v. 37, n. 10, p. 2777–2790, 2020.
- ZELANIS, A. et al. *Bothrops jararaca* venom proteome rearrangement upon neonate to adult transition. *Proteomics*, v. 11, n. 21, p. 4218–4228, 2011.
- ZELANIS, A. et al. A transcriptomic view of the proteome variability of newborn and adult *Bothrops jararaca* snake venoms. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, v. 6, n. 3, e1554, 2012.

APÊNDICE A – TABELA DE RESULTADOS DAS DETERMINAÇÕES EM TRIPLICATA

Resultados de *B. alternatus*

DETERMINAÇÕES	A1	A2	A3
Dosagem de Proteínas	0,91 mg/mL	0,81 mg/mL	0,89 mg/mL
Atividade da Hialuronidase	77 U/mg	75 U/mg	85 U/mg
Atividade Caseínolítica	32.529 U/mg	23.908 U/mg	21.034 U/mg
Dose Mínima Coagulante (60 segundos)	0,125 mg/mL		
Fosfolipase (hemólise indireta)	36.493 U/mg	36.931 U/mg	36.174 U/mg

Resultados de *B. pauloensis*

DETERMINAÇÕES	P1	P2	P3
Dosagem de Proteínas	1,03 mg/mL	0,88 mg/mL	0,90 mg/mL
Atividade da Hialuronidase	105 U/mg	104 U/mg	107 U/mg
Atividade Caseínolítica	58.617 U/mg	52.234 U/mg	51.277 U/mg
Dose Mínima Coagulante (60 segundos)	0,125 mg/mL		
Fosfolipase (hemólise indireta)	59.362 U/mg	59.024 U/mg	59.149 U/mg

Resultados de *B. moojeni*

DETERMINAÇÕES	M1	M2	M3
Dosagem de Proteínas	1,09 mg/mL	0,98 mg/mL	1,04 mg/mL
Atividade da Hialuronidase	102 U/mg	100 U/mg	99 U/mg
Atividade Caseínolítica	61.154 U/mg	59.135 U/mg	55.192 U/mg
Dose Mínima Coagulante (60 segundos)	0,119 mg/mL		
Fosfolipase (hemólise indireta)	60.054 U/mg	59.721 U/mg	59.808 U/mg