



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Fábio Rafael Fernandes dos Santos

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Toxinas de cobra: toxicidade vs potencial terapêutico” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação, do Dr. André Paiva, da Dra. Diva Silva e da Professora Doutora Isabel Rita Barbosa, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Setembro de 2020



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Fábio Rafael Fernandes dos Santos

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Toxinas de cobra: toxicidade vs potencial terapêutico” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação, do Dr. André Paiva, da Dra. Diva Silva e da Professora Doutora Isabel Rita Barbosa, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Setembro de 2020

Eu, Fábio Rafael Fernandes dos Santos, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2015236098, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Toxinas de cobra: toxicidade vs potencial terapêutico” apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

Mais declaro que este Documento é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 17 de setembro de 2020.

Fábio Rafael Fernandes dos Santos

(Fábio Rafael Fernandes dos Santos)

Agradecimentos

Aos meus pais, irmão, avós, madrinha e restantes familiares, por todo o apoio, não só nesta etapa académica em Coimbra, mas ao longo de toda a minha vida, pela confiança infinita nas minhas capacidades e no alcance do melhor futuro profissional e pessoal, pelo suporte que me permitiu chegar ao final desta caminhada.

Aos meus amigos, em especial aos que comigo partilharam esta marcante e única etapa das nossas vidas, por todos os momentos vividos.

À Farmácia Estádio e toda a sua equipa, pela aprendizagem, pela fácil e rápida integração propiciada, pela ajuda constante, pela melhor experiência em Farmácia Comunitária possível.

À Bluepharma, nomeadamente ao departamento de Garantia de Qualidade, pelo exemplo e referência de competência e profissionalismo, pelos ensinamentos, pela oportunidade de estágio e cumprimento do objetivo de experienciar o contexto de Indústria Farmacêutica.

À Professora Doutora Isabel Rita Barbosa, pela disponibilidade e orientação no longo caminho de construção da monografia.

A todos os colegas, à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra e todos os seus docentes e não docentes.

À Associação Académica de Coimbra, pela incrível influência no meu percurso.

A Coimbra.

Índice

Parte I – Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária – Farmácia Estádio

Lista de Abreviaturas	7
1. Introdução	8
2. Análise SWOT	10
2.1. Pontos Fortes	10
2.1.1. Localização	10
2.1.2. Equipa.....	10
2.1.3. Plano de estágio	11
2.1.4. Sifarma 2000®	12
2.1.5. Sistema de Gestão da Qualidade	12
2.1.6. Serviços diferenciados	12
2.1.7. Formações.....	14
2.2. Pontos Fracos	15
2.2.1. COVID-19.....	15
2.3. Oportunidades	16
2.3.1. Heterogeneidade de utentes	16
2.3.2. Serviços diferenciados	16
2.3.3. Aplicação de conhecimentos teóricos.....	16
2.3.4. Diferenciação dos estagiários	17
2.3.5. Duração do estágio e sazonalidade	17
2.3.6. COVID-19.....	18
2.4. Ameaças	18
2.4.1. Funcionamento atual do ensino - reduzida componente prática	18
2.4.2. Diferenciação dos estagiários	19
3. Considerações Finais	20
4. Referências Bibliográficas	21
5. Anexos	22

Parte II – Relatório de Estágio em Indústria Farmacêutica – Bluepharma

Lista de Abreviaturas	24
1. Introdução	25
2. Análise SWOT	27
2.1. Pontos Fortes	27
2.1.1. Qualidade	27
2.1.2. Filosofia <i>Kaizen</i>	27
2.1.3. Equipa e local de trabalho	28
2.1.4. Teletrabalho.....	28
2.1.5. Formação.....	29
2.2. Pontos Fracos	30
2.2.1. Falta do ambiente de trabalho.....	30
2.3. Oportunidades	30
2.3.1. Visão global da empresa e do percurso do medicamento	30
2.3.2. Multiplicidade de tarefas realizadas	30
2.3.3. Desenvolvimento de <i>soft skills</i>	31
2.4. Ameaças	32

2.4.1. Plano curricular do curso	32
3. Considerações Finais	33
4. Referências Bibliográficas.....	34
 Parte III – Monografia: "Toxinas de cobra: toxicidade vs potencial terapêutico"	
Resumo	36
Abstract.....	37
Lista de Abreviaturas.....	38
1. Introdução	39
2. Filogenia e distribuição das cobras venenosas	40
3. Epidemiologia.....	41
4. Composição dos venenos	44
4.1. Proteínas e compostos peptídicos com propriedades enzimáticas.....	46
4.1.1. Enzimas proteolíticas	46
4.1.2. Fosfolipases	47
4.1.3. L-aminoácido oxidases (LAAO).....	47
4.1.4. Outras.....	48
4.2. Proteínas e compostos peptídicos sem propriedades enzimáticas	49
4.2.1. Desintegrinas.....	49
4.2.2. Lectinas tipo Cerinas	50
4.2.3. Toxinas <i>three-finger</i> (3FTx).....	50
4.3. Constituintes não proteicos.....	51
5. Toxicidade	51
5.1. Hemotoxicidade.....	52
5.1.1. Atividade pró-coagulante vs anticoagulante.....	53
5.2. Miotoxicidade e cardiotoxicidade.....	53
5.3. Neurotoxicidade.....	54
5.3.1. Neurotoxinas pré sinápticas (β -neurotoxinas).....	55
5.3.2. Neurotoxinas pós sinápticas (α -neurotoxinas)	55
5.4. Sinergismo entre toxinas.....	55
6. Envenenamento	56
6.1. Manifestações clínicas	56
6.2. Tratamento	58
7. Potencial terapêutico	59
7.1. Propriedades antimicrobianas	59
7.2. Propriedades anticancerígenas e imunoterapêuticas	60
7.3. Propriedades analgésicas	61
7.4. Propriedades cosméticas e de diagnóstico	62
7.5. Aplicações dos fatores de crescimento - NGF e VEGF.....	62
7.6. Outros exemplos.....	63
8. Descoberta de novos fármacos e formulações	63
8.1. Fármacos aprovados e comercializados	63
8.2. Fármacos e formulações em desenvolvimento	65
9. Considerações Finais	66
10. Referências Bibliográficas	67
11. Anexo.....	79

Parte I

Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Farmácia Estádio

Lista de Abreviaturas

BPF – Boas Práticas de Farmácia Comunitária

COVID-19 – *Coronavirus disease 2019*

DCI – Denominação Comum Internacional

FFUC – Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

MICF – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

MNSRM – Medicamentos não sujeitos a receita médica

PIM – Preparação individualizada de medicação

PVF – Preço de venda à farmácia

PVP – Preço de venda ao público

RAM – Reação adversa ao medicamento

SGQ – Sistema de Gestão da Qualidade

SWOT – *Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*

I. Introdução

Tal como previsto no plano de estudos do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) na Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC), realizei o estágio curricular em Farmácia Comunitária. De facto, este constitui uma exigência inerente ao nosso percurso académico [1,2], o culminar e complemento de quatro anos e meio de formação teórica que o antecedem, o espaço e oportunidade para aplicação e consolidação dos conhecimentos até aí adquiridos.

Enquanto futuro profissional formado, a principal premissa imediatamente assimilada e continuamente mantida desde a entrada neste curso é a consciência e expectativa de me tornar efetivamente um profissional competente na área, objetivo esse que implica natural e obrigatoriamente a realização desta parcela formativa prática e enquadrada no mundo real. Nesse sentido, atingido o momento de decidir os locais de estágio, é desde logo necessário iniciar por Farmácia Comunitária, vertente obrigatória desta etapa final, e que melhor exemplifica o papel interventivo do farmacêutico na comunidade.

As Farmácias são um espaço de saúde pública no qual a população confia e conta diariamente para responder às suas necessidades. Assim, o farmacêutico comunitário deve desempenhar constantemente esse papel ativo no acompanhamento e auxílio aos respetivos utentes, promovendo o uso racional do medicamento e atenção a possíveis RAM e/ou interações, aconselhando e educando para o correto uso das incontáveis terapêuticas existentes.

Para a realização do estágio curricular na área anteriormente abordada, optei pela Farmácia Estádio, uma escolha ponderada que se deveu sobretudo às boas referências tidas acerca da mesma, realizando este, numa primeira fase, de 6 de janeiro a 20 de março, tendo regressado, após suspensão devido à situação pandémica que assolou o país e o mundo, de 17 de agosto a 11 de setembro de 2020.

A Farmácia Estádio encontra-se na periferia do Estádio Cidade de Coimbra, na Rua D. João III, nº 11, sendo esta a sua localização desde 2006. É propriedade da Dra. Ana Isabel Costa Neves Rebelo, que é paralelamente a Diretora Técnica da mesma, liderando, por consequência, os farmacêuticos e demais profissionais que compõem a equipa.

A Farmácia apresenta um horário interrupto e consideravelmente alargado – das 8h30 às 21h durante a semana e das 9h às 19h ao sábado – que permite responder de forma

completa e eficaz às diversificadas necessidades da população e sua conveniência, conferindo aos seus utentes flexibilidade no momento de deslocação à mesma.

Ao longo do período de estágio desempenhei um conjunto vasto de atividades, funções e responsabilidades características do normal papel do farmacêutico comunitário, próprias do quotidiano de um estagiário na área, nomeadamente: receção e gestão de encomendas; aprovisionamento; conferência de *stocks* e validades; regularização e gestão de reservas; gestão de devoluções; preparação de medicamentos manipulados; preparação individualizada de medicação; medição de parâmetros bioquímicos e fisiológicos; conferência de entradas e saídas de psicotrópicos; presença em formações; atendimento e dispensa de medicamentos; entre outras ações implícitas e/ou associadas ao anteriormente enumerado.

A elaboração do presente relatório pressupõe uma apresentação sob a forma de uma análise SWOT, onde, tendo em conta o funcionamento deste modelo, deixarei descritos os Pontos Fortes (*Strengths*), Pontos Fracos (*Weaknesses*), Oportunidades (*Opportunities*) e Ameaças (*Threats*) a destacar após o término do estágio.

2. Análise SWOT

2.1. Pontos Fortes

2.1.1. Localização

A Farmácia Estádio encontra-se, como já referenciado, no centro da cidade de Coimbra, podendo assim considerar-se bem situada devido a várias especificidades inerentes à sua localização: envolvimento comercial; proximidade a diversos espaços de trabalho e ensino; boa visibilidade e fácil identificação; entre outros. Este conjunto de fatores, para além da forte componente residencial nos arredores da zona, da qual grande parte são já utentes habituais e fidelizados, propicia um movimento diário considerável. A afluência daí resultante, nomeadamente nos momentos mais evidentes, constituiu um fator preponderante para a habituação a situações de maior pressão, criando a obrigação em mim de lidar com as mesmas e, mantendo a competência, profissionalismo e preocupação com o utente, executar um atendimento mais célere e eficaz.

Por outro lado, a Farmácia encontra-se próxima de outros espaços de saúde, nomeadamente clínicas, com reflexo por exemplo na procura por produtos e medicamentos homeopáticos e consequente necessidade de consolidar a oferta relativamente aos mesmos. Da mesma forma, ao longo do estágio, lidei frequentemente com este tipo de necessidades por parte dos utentes, obtendo, naturalmente, um maior conhecimento sobre os produtos em questão.

2.1.2. Equipa

Em qualquer local de trabalho a equipa é, sem dúvida, uma condição basilar para o sucesso. Tal premissa é evidenciada na Farmácia Estádio, a qual dispõe de um conjunto de pessoas dotadas de uma inabalável competência e um conjunto de qualificações e virtudes que facilitam o bom desempenho coletivo. Mais concretamente, destaco o paralelismo entre o dinamismo e proatividade característicos de uma equipa jovem, contrabalançados pela experiência e maturidade de elementos que fazem parte da casa há mais tempo, resultando numa partilha constante de conhecimentos e ideias entre todos. A dinâmica criada estende-se aos estagiários, permitindo-me afirmar que se tornou um aspeto fundamental na minha integração e entrada nas rotinas internas, tendo sempre recebido constante disponibilidade e total abertura para quaisquer esclarecimentos que necessitei.

Por outro lado, a existência de responsabilidades diferenciadas e bem definidas para cada elemento revelou-se ser um aspeto altamente profícuo e benéfico para o bom funcionamento da farmácia, constituindo igualmente uma vantagem no que concerne ao encaminhamento de determinada problemática com que me deparasse ao longo do tempo.

2.1.3. Plano de estágio

O plano de estágio pensado e apresentando nos primeiros dias, e posteriormente posto em prática ao longo do tempo, pressupôs um faseamento das responsabilidades e funções a desempenhar, permitindo, de forma coerente e pertinente, a minha integração nos processos de funcionamento interno da farmácia bem como uma aquisição gradual e lógica de competências. Assim, comecei por, numa primeira instância, desempenhar as funções associadas à receção de encomendas e posterior aprovisionamento dos respetivos produtos, o que ocasionou desde logo alguns benefícios diretos: domínio das variáveis e aspetos a ter em conta na receção de encomendas, nomeadamente o PVF e o PVP, tal como um reforço da atenção aos prazos de validade, condicionante fulcral no processo logístico; uma maior e mais rápida familiarização com esses mesmos produtos e respetivas embalagens, nomes e outras características; o conhecimento da localização dos mesmos, essencial para interiorizar os ideais logísticos e, posteriormente, desempenhar as funções de atendimento; uma perceção mais completa e aprofundada do próprio percurso do medicamento dentro da Farmácia.

Ao mesmo tempo, iniciei outras tarefas associadas ao quotidiano da farmácia, tais como a medição de parâmetros bioquímicos e fisiológicos no gabinete de utente (próprio para o efeito); preparação individualizada de medicação para instituições às quais providenciamos periodicamente esse mesmo serviço; conferência de *stocks* e validades, conferência de entradas e saídas de psicotrópicos, entre outras funções de *backoffice* e/ou carácter organizacional e administrativo. Paralelamente, passado algum tempo, comecei a aproximar-me do balcão, podendo presenciar e acompanhar atendimentos prestados pelos meus colegas, etapa fundamental para a compreensão dos pressupostos característicos dessa vertente, adquirindo pelo exemplo dos outros o conhecimento básico e essencial para, depois, desempenhar essas mesmas funções autonomamente. Neste seguimento, seguiu-se uma fase de execução, inicialmente acompanhada e auxiliada, culminando então numa execução independente, tornando-se essa uma das minhas principais e mais frequentes funções na farmácia, mantendo sempre a execução das restantes tarefas supramencionadas. O atendimento constitui a mais reconhecida função do farmacêutico comunitário, no qual pude contactar com diversos tipos

de receita e variados planos de comparticipação, sujeitos a cuidados específicos no respetivo processo, tal como a validação imediata das receitas manuais quando recebidas.

2.1.4. Sifarma 2000®

A nível informático, o Sifarma 2000®, desenvolvido pela *Glintt*, constitui a ferramenta utilizada, estando inseridos em todos os computadores à disposição dos elementos da equipa. Considero este um sistema extremamente intuitivo, facilitando o trabalho diário, inclusivamente o meu desempenho ao longo do estágio, nas mais variadas vertentes do mesmo, tornando-se inclusive uma ferramenta de auxílio com aplicabilidade prática, por exemplo, no próprio atendimento, tendo em conta as suas funcionalidades e mais-valias, tais como a informação científica disponibilizada acerca de cada medicamento ou a possibilidade de acesso ao histórico do utente, caso o mesmo possua ficha na farmácia. No entanto, a sua utilização não se restringe a essa componente, subdividindo-se em diferenciadas funções, direcionadas para as diferentes tarefas diárias, do atendimento à receção e gestão de produtos e encomendas.

2.1.5. Sistema de Gestão da Qualidade

A Farmácia Estádio encontra-se certificada no âmbito da Qualidade, possuindo um SGQ em cumprimento da norma NP EN ISO 9001:2015. Esta certificação, que implica a aplicação constante e efetiva de um conjunto de pressupostos documentados, confere credibilidade externa, aumentando a confiança depositada pela população, embora parte da mesma, previsivelmente, desconheça esta realidade.

Por outro lado, a existência deste Sistema de Gestão de Qualidade e seu necessário cumprimento, implica ainda maior exigência e rigor nas práticas diárias de todos os elementos da equipa, estagiários incluídos, com base nas BPF, servindo, positivamente, como referência profissional futura.

2.1.6. Serviços diferenciados

2.1.6.1. Determinação de parâmetros bioquímicos e fisiológicos

No que concerne à determinação de parâmetros bioquímicos e medição da pressão arterial, serviços mais comumente requeridos e praticados, é um facto inegável que os mesmos

possuem um impacto real e efetivo no quotidiano de muitos utentes, permitindo aos mesmos ter controlo perante possíveis patologias daí afetivas. Por outro lado, tendo a responsabilidade de desempenhar essas práticas, cria-se, enquanto espaço oportuno para um maior conhecimento de cada utente e suas necessidades, um momento adicional para o aconselhamento, normalmente através de medidas não farmacológicas, absolutamente essenciais para a promoção da saúde individual e coletiva. Enquanto estagiário, esta tarefa serviu inclusive como meio de ganhar confiança e experiência na abordagem ao utente.

Apesar do background nesta prática já acumulado por razões académicas, a prossecução destas tarefas pressupôs um momento formativo inicial, providenciado por um elemento da equipa, de forma a consolidar as várias informações e conceitos essenciais ao processo, o que propiciou um melhor desempenho.

2.1.6.2. Preparação individualizada de medicação (PIM)

A Farmácia Estádio dispõe de um serviço de preparação individualizada de medicação, disponível para os utentes que assim o solicitem, encontrando-se essa informação exposta. Esse serviço é, efetivamente, uma realidade, tendo, ao longo do estágio, tido oportunidade de contribuir para a referida preparação, percebendo os seus benefícios e importância, enquanto exemplo prático da possível intervenção farmacêutica na comunidade. Esta preparação traduz-se, por norma, na divisão da medicação do utente ao longo dos diferentes momentos do dia, semanalmente, tendo em conta o plano terapêutico em questão (exemplo no Anexo I).

2.1.6.3. Instituições

A Farmácia Estádio é responsável pelo fornecimento, a nível de medicação e demais produtos, de um considerável conjunto de instituições sociais da zona de Coimbra. Tal serviço exige uma preocupação diária em satisfazer as necessidades desses mesmos locais, respondendo de forma célere e competente aos seus pedidos e requisitos. Concomitantemente, a Farmácia prepara a medicação para uma considerável parte dos utentes das referidas instituições, tarefa que requer o contributo semanal direto de vários elementos da equipa, e que, ao longo do estágio, se tornou igualmente uma frequente e constante função enquanto estagiário.

Para além dessa influência direta no dia-a-dia e sua ocupação, a realização frequente desta tarefa permitiu-me vivenciar minimamente a realidade vivida pelas instituições em

questão, tanto literalmente, com idas presenciais para o efeito, como a nível de funcionamento e processos. Por outro lado, propiciou o contato com as mais variadas terapêuticas e respetivos medicamentos, direcionadas para utentes com diferentes necessidades, embora muitas delas comuns, uma vez que a maioria das doenças crónicas se estendem e repetem na população, sobretudo idosos. Para além disso, exponenciou ainda o conhecimento das embalagens, nomes comerciais e até dos próprios comprimidos e restantes formas farmacêuticas, o que, em certos momentos, se tornava útil ao balcão.

Enquanto que na primeira fase de estágio toda esta preparação era feita totalmente de forma manual, no regresso à farmácia em agosto confrontei-me com uma máquina especificamente direcionada para a preparação de medicação (Anexo 2), adquirida há alguns meses, com o objetivo de rentabilizar o processo, diminuindo a necessidade de recursos humanos e, sobretudo, o tempo necessário para a execução da tarefa.

2.1.6.4. Preparação de medicamentos manipulados

Como já referido anteriormente, a Farmácia dispõe de um equipado laboratório, destinado essencialmente à preparação de medicamentos manipulados, como também de preparações extemporâneas requeridas no momento.

De facto, a Farmácia Estádio constitui uma referência na preparação de manipulados, sendo os seus serviços frequentemente solicitados por outras farmácias não dotadas dos equipamentos e materiais necessários, para além dos habituais e igualmente constantes pedidos dos utentes, que em determinadas situações se deslocam à farmácia apenas para esse efeito.

A nível pessoal, a oportunidade de colaborar pontualmente neste tipo de tarefa constituiu uma mais-valia, tanto a nível da execução em si como da perceção do planeamento necessário a nível de matérias-primas, método de cálculo para a definição do preço final, entre outras questões indissociáveis deste tópico.

2.1.7. Formações

Tal como consta no próprio Código Deontológico, “a excelência do exercício profissional farmacêutico está associada ao acompanhamento permanente dos desenvolvimentos na prática e ciência farmacêutica, da legislação e normativos profissionais, e dos avanços tecnológicos relacionados com o uso do medicamento” [3]. Nesse sentido, todos

os farmacêuticos comunitários devem procurar manter uma atualização constante dos seus conhecimentos, objetivo alcançável através das frequentes e diversas formações ao seu dispor, seja exteriormente ou na própria farmácia. Especificamente relativamente à segunda opção, comprovei essa mesma realidade, sobretudo na área da cosmética, tendo tido igualmente a oportunidade de estar presente nesses momentos formativos. Por outro lado, compareci também em formações proporcionadas exteriormente, desde a intervenção farmacêutica perante problemas relacionados com o sono até ao lançamento de uma nova marca veterinária.

Concluo assim que esta predisposição e abertura para a presença em formações fora da Farmácia bem como a referida regularidade na ida de Delegados à própria Farmácia foram, pelo carácter pedagógico inerente, momentos extremamente positivos e benéficos para adquirir novos conhecimentos, certamente úteis para o futuro profissional, para além de, como mencionado, serem igualmente fundamentais para qualquer elemento da equipa.

2.2. Pontos Fracos

2.2.1. COVID-19

O decorrer do estágio no período em questão implicou o confronto com um contexto de carácter absolutamente excecional na realidade de toda a sociedade e, portanto, das farmácias – a infelizmente conhecida pandemia do novo coronavírus, a COVID-19. É inegável o seu impacto absolutamente negativo, sobretudo na comunidade e saúde pública, mas também no quotidiano profissional dos profissionais de saúde das mais variadas vertentes, no funcionamento de qualquer espaço de saúde. Tal levou igualmente à suspensão do estágio, impedindo temporariamente a minha progressão no mesmo, diminuindo a manobra de aprendizagem.

Para além dessa consequência direta na duração deste, a pandemia em questão interferiu completamente na própria mentalidade das pessoas, criando repetidas situações de caos e confusão, que se refletiu na deslocação ininterrupta e incomparável da comunidade à farmácia, frequente ausência de civismo por parte das pessoas e conseqüente menor tolerância para connosco enquanto profissionais de saúde (conseqüentemente, maior pressão para estagiários dada a menor compreensão no atendimento), entre outras implicações visíveis e experienciadas, especialmente durante os últimos tempos de estágio em março. Ainda nessa reta final, tal como, embora menos visível, no recomeço do estágio em agosto, tornou-se

também evidente a menor preocupação em procurar aconselhamento aquando da deslocação à farmácia, reduzindo a experiência para com essa componente do atendimento.

2.3. Oportunidades

2.3.1. Heterogeneidade de utentes

Para além de, como já referido no ponto 2.1.1., elevada, a afluência à Farmácia é também diversificada, traduzindo-se numa heterogeneidade de utentes benéfica para a aprendizagem e evolução de um estagiário, na medida em que cria a necessidade de adaptação ao utente, cada qual possui necessidades e características específicas e diferenciadas, através de um atendimento personalizado e individualizado que garanta uma comunicação adequada a esse mesmo utente. Assim, ao longo do período de estágio pude confrontar as mais variadas situações, atendendo pessoas de todas as idades, de diferente estatuto socioeconómico, com necessidades completamente díspares, obrigando-me a manter constantemente a primeira obrigação de conhecer a pessoa à minha frente, uma premissa base do conceito de saúde e terapêutica.

2.3.2. Serviços diferenciados

A existência de uma diferenciada e considerável gama de serviços, para além das vantagens e benefícios que confere diretamente à farmácia e, sobretudo, aos seus utentes, constituiu também uma vantagem para mim, uma forma de aumentar o conhecimento e contato relativamente às variadas e possíveis vertentes de intervenção farmacêutica na comunidade, auxiliando na construção de um *background* alargado enquanto futuro farmacêutico.

2.3.3. Aplicação de conhecimentos teóricos

Apenas a componente prática, característica de qualquer estágio, permite a um estudante, capacitado curricularmente apenas no plano teórico, aplicar os conhecimentos adquiridos. Esta aplicação de conhecimentos refletiu-se, mesmo que minimamente em algumas variáveis e determinados momentos do estágio, como por exemplo a nível da organização da própria farmácia, sua gestão, aspetos relacionados com marketing e até mesmo a cada vez mais comum realidade dos grupos de farmácias (portanto, tudo isto conteúdos lecionados nas unidades curriculares de Organização e Gestão Farmacêutica, Comunicação e Marketing

Farmacêutico); a nível da intervenção farmacêutica tal como é exemplo a preparação individualizada de medicação (temática abordada em Farmácia Clínica); parâmetros a ter em conta ao validar receitas manuais e posterior conferência de receituário (conhecimentos de Farmacologia Geral); produtos naturais derivados de plantas (Plantas Medicinais e Fitoterapia); os próprios atendimentos perante as necessidades do utente (Indicação Farmacêutica); entre outros pequenos exemplos da aplicabilidade de conteúdos inseridos no plano curricular do curso.

2.3.4. Diferenciação dos estagiários

Na Farmácia Estádio, os estagiários vestem bata verde, diferenciando-se assim dos restantes elementos da equipa, que utilizam a tradicional bata branca. Esta distinção, tal como nos foi introduzido no início do estágio, pretende identificar os estágios e conferir a estes, uma vez menos experientes e numa fase ainda de aprendizagem, proteção adicional no que diz respeito ao confronto real com o utente, que, em determinada ocasião, pode ser menos tolerante e requerer a máxima rapidez no atendimento e/ou considerar necessário a presença de um elemento mais experiente e/ou já seu conhecido. Assim, existindo essa diferenciação à priori, salvo exceções normalmente justificadas pelas razões anteriormente indicadas, o utente fica contextualizado, tem conhecimento da natureza profissional de quem está à sua frente, tendendo a ser mais tolerante e compreender por exemplo a possível necessidade pontual de auxílio de outro elemento da equipa. Desta forma, há ligeiramente menor pressão no estagiário e, sobretudo, maior margem de tempo e foco para desempenhar o melhor atendimento possível, evoluir enquanto profissional.

2.3.5. Duração do estágio e sazonalidade

Cada época do ano se caracteriza por necessidades próprias por parte dos utentes, desde logo pelo clima e respetivas características. Neste seguimento, o facto do estágio ter decorrido em duas fases distintas permitiu-me ser confrontado com as diferentes situações-tipo que advêm da sazonalidade – situações comuns ao Inverno (durante janeiro/fevereiro), como gripes e constipações, tosse, dores de garganta; necessidades associadas à Primavera (durante março/abril), sobretudo alergias e, conseqüentemente, a procura por anti-histamínicos; situações próprias do Verão (agosto/setembro), com destaque para produtos de proteção solar.

2.3.6. COVID-19

Apesar de ser um assunto de índole negativa (e já abordado por mim no ponto 2.2.1.), a inserção do mesmo nesta secção do relatório prende-se com as consequências trazidas para o funcionamento quotidiano geral de todas as farmácias, incluindo, inevitavelmente, a Farmácia Estádio. Na realidade, embora tenha sido causa de interrupção deste mesmo estágio, propiciou-se ainda durante algum tempo a oportunidade de vivenciar dias de trabalho absolutamente condicionados pelo referido vírus e seu impacto na comunidade, culminando naquela que foi, certamente, a semana mais cansativa e complicada de todo o período de estágio, na qual as horas realizadas e respetivas tarefas a cumprir foram, exponencialmente, intensificadas.

Como já reforcei, em nada considero positivo o surgimento desta situação, contudo, é um facto que a mesma, mais do que qualquer outra, me conferiu a experiência e realidade de lidar, bem como capacidade de adaptação, enquanto profissional de saúde e elemento de um espaço de saúde, com um cenário tão caótico e exigente, servindo de exemplo e base para possíveis intervenções futuras semelhantes.

2.4. Ameaças

2.4.1. Funcionamento atual do ensino - reduzida componente prática

Apesar do descrito no ponto 2.3.3. relativamente ao estágio enquanto componente prática e real, a realidade é que o plano de estudos de MICF se torna excessivamente teórico, resultando numa total falta de prática aquando da chegada a esta reta final do curso, única em que, efetivamente, temos contato com o mundo profissional. Apesar da possibilidade, por exemplo, da realização de estágios de verão, estes são opcionais, não inibindo a conclusão, já reiterada, de que a nível curricular poderia haver mudanças nesse sentido.

Outra consequência direta da reduzida experiência em contexto real é a inevitável falta de confiança no atendimento, uma vez que, mesmo possuindo um conhecimento minimamente vasto no momento de início do estágio, o plano teórico é sempre uma realidade distinta do plano prático, e, nesse sentido, apenas a experiência, atendimento após atendimento, permite, proporcional e gradualmente, uma maior autoconfiança e segurança no confronto com os utentes.

Ainda seguindo o raciocínio dos subpontos anteriores, a realização do estágio enquanto oportunidade de vivenciar a realidade da profissão, a qual o curso não consegue capacitar,

propicia o contato com os nomes comerciais dos medicamentos, com os quais, ao longo do percurso académico, lidamos muito pouco frequentemente. De facto, as variadas unidades curriculares que envolvem medicamentos propriamente ditos centram-se nas denominações dos princípios ativos e suas características, fazendo com que, na farmácia, tenhamos dificuldade em reconhecer imediatamente os produtos com que lidamos, o que se reflete também na interpretação de prescrições, grande parte das vezes feitas por DCI, influenciando, por vezes, o próprio processo de atendimento.

2.4.2. Diferenciação dos estagiários

Embora tenha incluído este tópico nas *Oportunidades* (ponto 2.3.4.), como acabei por indicar, a distinção da bata dos estagiários, uma vez que propicia visivelmente a sua identificação e conseqüente diferenciação, facilita o concretizar de situações em que o utente não pretenda ser atendido por estes, preterindo-os por alguém mais experiente e/ou já seu conhecido.

3. Considerações Finais

A prossecução do estágio curricular representa a oportunidade de, enquanto estudante de MICF restringido até então à componente teórica e letiva do curso, me enquadrar no funcionamento e realidade do mercado de trabalho afetivo ao setor farmacêutico, com o qual me irei deparar a curto prazo.

Como já explanado, considero esta área especificamente aquela que mais e melhor representa a ligação do farmacêutico à comunidade, exigindo deste, enquanto promotor da saúde pública, uma intervenção constante e competente perante a população. Este deve ser, contudo, um fluxo bidirecional, na medida em que as pessoas devem valorizar o papel dos farmacêuticos e o impacto do seu trabalho na qualidade de vida de todos, um reconhecimento justo perante os desafios que, tal como percecionei, enfrentam diariamente. Assim, independentemente do futuro profissional que terei, levo um conjunto de experiências e conhecimentos essenciais na construção de um perfil profissional mais completo e diversificado.

Considero ainda que ter optado pela Farmácia Estádio tornou estas premissas ainda mais vincadas e reforçadas, uma vez que, finda esta etapa, é, para mim, inequivocamente, a partir de agora um exemplo, certamente uma referência para outras farmácias, pelas várias razões por mim abordadas, as quais me permitem hoje, ser alguém mais capaz, tanto pela responsabilidade, maturidade e experiência adquiridas e/ou desenvolvidas, como pela componente técnico-científica consideravelmente aprimorada.

Espero ter também contribuído para a contínua construção do bom caminho por parte da farmácia, finalizando com a consciência de que o conhecimento e experiência são infinitos, e que, tanto enquanto profissional como cidadão, tenciono manter-me em constante desenvolvimento, considerando, aliás, que esse deve ser um pressuposto em qualquer área e na própria sociedade.

4. Referências Bibliográficas

[1] Diretiva 2013/55/EU, do Parlamento Europeu e do Conselho de 20 de novembro de 2013, artigo 44º, nº2. [Acedido a 12 de abril de 2020] Disponível na internet: lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2013:354:0132:0170:PT:PDF

[2] **Plano de estudos de MICE – Estágio Curricular.** [Acedido a 12 de abril de 2020] Disponível na internet: https://apps.uc.pt/courses/PT/unit/86966/20001/2020-2021?common_core=true&type=ram&id=1172

[3] **Código Deontológico dos Farmacêuticos.** [Acedido a 20 de abril de 2020] Disponível na internet: https://www.ordemfarmaceuticos.pt/fotos/documentos/codigo_deontologico_da_of_4436676175988472c14020.pdf

5. Anexos

Anexo I: Caixa-tipo utilizada no serviço de PIM



Anexo 2: Máquina de preparação de medicação



Parte II

Relatório de Estágio em Indústria Farmacêutica

Bluepharma

Lista de Abreviaturas

AS – *Active Substance*

BPF – *Boas Práticas de Fabrico*

EMA – *European Medicines Agency*

FDA – *Food and Drug Administration*

FFUC – *Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra*

GQ – *Garantia de Qualidade*

ICH – *International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use*

I&D – *Investigação e Desenvolvimento*

IPEC – *International Pharmaceutical Excipient Council*

MICF – *Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas*

PQR – *Product Quality Review*

QA – *Quality Assurance*

SOP – *Standard Operating Procedure*

I. Introdução

A Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC) propicia aos estudantes do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) a possibilidade de realizar um estágio adicional a Farmácia Comunitária, seguindo a premissa da variabilidade de saídas profissionais que caracteriza o curso. Deste modo, decidi aproveitar a oportunidade, optando pela Indústria Farmacêutica. Esta escolha deveu-se, desde logo, ao particular e crescente interesse pessoal pela área, aliado à ausência de qualquer experiência anterior na mesma.

A Indústria Farmacêutica encontra-se em crescimento contínuo, potenciando a descoberta de novos medicamentos e renovadas formulações, cujo desenvolvimento envolve um leque diversificado de profissionais, com destaque para o farmacêutico, o qual assegura o conhecimento técnico-científico e o cumprimento das boas práticas de fabrico (BPF) [1]. Mais concretamente, a sua atuação pode incidir em múltiplos e diferenciados departamentos – unidades de I&D, controlo de qualidade, assuntos regulamentares, desenvolvimento do negócio, gestão e garantia de qualidade, entre outros.

Neste seguimento, após processo de seleção através de candidatura e entrevista, realizei estágio curricular na Bluepharma Indústria S.A., de 18 de maio a 31 de julho. Esta escolha teve por base as boas referências recolhidas previamente, nomeadamente através de sessões extracurriculares ao longo do curso, tal como outros fatores como o lugar de destaque ocupado pela empresa na região Centro e restante panorama nacional (e, cada vez mais, internacional) e a própria proximidade geográfica à minha zona de residência.

A Bluepharma, sediada em São Martinho do Bispo (Coimbra), encontra-se em atividade desde 2001, concentrando os seus esforços no fabrico, investigação, desenvolvimento e comercialização de medicamentos. [2] O grupo Bluepharma, atualmente, compreende 18 empresas e emprega mais de 700 colaboradores, possuindo delegações noutros continentes e exportando já para mais de 40 países. [3]

A prossecução do estágio pressupôs a escolha e colocação num departamento específico – Garantia de Qualidade (GQ). Assim, fui integrado na equipa responsável pela implementação, aplicação e cumprimento dos pressupostos estabelecidos pelo sistema integrado de gestão de qualidade, sustentado nas BPF, de acordo com as exigências e diretrizes nacionais (INFARMED), europeias (EMA) e americanas (FDA).

O departamento de GQ, a nível de recursos humanos e respetivas competências, divide-se internamente em vários subgrupos de trabalho. Assim, na primeira metade do estágio

fui incluído no grupo do Produto e Processo, desempenhando, como tarefa principal, a elaboração de PQRs. Estes documentos são revisões de qualidade periódicas de todos os produtos libertados onde devem ser verificadas tendências e identificadas melhorias de produto / processo. São elaborados PQRs para o produto semiacabado (por produto, referente a todos os lotes fabricados/analísados na Bluepharma num determinado período de tempo); e acabado (por produto e cliente, embalados na Bluepharma num determinado período).

No decorrer do estágio, apesar de contatar com ambos, apenas estive responsável pela elaboração de PQRs de produto acabado.

Na segunda metade do estágio, realizei tarefas no grupo de Gestão de Fornecedores. Na maior parte desta fase, o meu trabalho incidiu na identificação da Cadeia de Abastecimento (*Supply Chain*) dos materiais (AS, excipientes e materiais de embalagem) desde o seu local de fabrico até chegar às instalações da Bluepharma. Tal tarefa implicou a constante comunicação com fornecedores, com o intuito de, através do preenchimento de um questionário interno, previamente enviado, recolher as informações pretendidas no âmbito da referida cadeia de fornecimento (morada do *site* de fabrico, possíveis armazéns utilizados no percurso, condições de transporte, etc.). Ainda na Gestão de Fornecedores, desempenhei também outra função, associada à avaliação de risco de excipientes. Esta avaliação, tal como o nome indica, tem como objetivo avaliar o risco associado a cada excipiente e, conseqüentemente, concluir acerca da sua utilização nos produtos farmacêuticos produzidos na Bluepharma. Para tal, considerando os requisitos do IPEC e da *guideline* “*Guidelines of 19 March 2015 on the formalised risk assessment for ascertaining the appropriate good manufacturing practice for excipients of medicinal products for human use*” [4,5], e com base nos princípios da ICH Q9 [6], é efetuada uma avaliação ao perfil de risco do respetivo fabricante e outra ao perfil de risco do excipiente em si, sendo a conjugação dos resultados obtidos em ambas o suporte da avaliação final.

A elaboração do presente relatório pressupõe uma apresentação sob a forma de uma análise SWOT, onde, tendo em conta o funcionamento deste modelo, deixarei descritos os Pontos Fortes (*Strengths*), Pontos Fracos (*Weaknesses*), Oportunidades (*Opportunities*) e Ameaças (*Threats*) a destacar após o término do estágio na Bluepharma.

2. Análise SWOT

2.1. Pontos Fortes

2.1.1. Qualidade

Como já introduzido, o departamento de GQ está diretamente ligado à política de Qualidade, conceito basilar na atividade e quotidiano da Bluepharma, a qual prima sistematicamente pelo compromisso individual e coletivo de garantir a aplicação e cumprimento das normas e boas práticas estabelecidas e previstas pelo Sistema Integrado de Qualidade implementado. Esta cultura estende-se a todos os níveis, estando incutida nos diferentes departamentos e respetivos colaboradores, traduzindo-se em rigor e exigência diária, bem como na procura constante de reavaliar os objetivos assentes nessas mesmas políticas.

Em prol da concretização destes pressupostos, é fulcral a existência de procedimentos operativos normalizados (SOP) que constituem indicações para a execução de cada processo e tarefa, associados a uma gestão documental eficaz, para além do delineamento concreto de responsabilidades e conseqüente monitorização de falhas, um conjunto de princípios que me foi transmitido nos primeiros dias e continuamente até ao término do estágio.

Esta realidade permite à Bluepharma assumir-se como exemplo externamente, a nível de Segurança, Higiene, Ambiente, culminando num referencial de Qualidade, que influencia também internamente cada um dos seus colaboradores, incluindo estagiários, como eu, criando a obrigação de seguir estes princípios ininterruptamente.

2.1.2. Filosofia Kaizen

A filosofia *Kaizen* (“Kai” – mudança; “Zen” – para melhor), metodologia originária e desenvolvida no Japão, visa, tal como a palavra indica, a melhoria contínua, envolvendo todos, com aplicação em todas as áreas, de forma continuada e rotineira. Desta forma, através da mudança e adaptação constantes face à evolução dos processos e melhor gestão de recursos, procura-se uma maior eficiência e resultados. [7] Neste sentido, esta filosofia, adotada e implementada na Bluepharma, é visível em todos os setores, desde a produção em fábrica até às unidades de gestão em gabinetes.

Tal como na globalidade das áreas e departamentos, no departamento de GQ estes pressupostos são cumpridos, traduzindo-se, essencialmente, em reuniões diárias entre os

elementos do departamento. As mesmas são normalmente efetuadas presencialmente, contudo, dadas as circunstâncias criadas pela situação pandémica e consequentes normas e rotinas, passaram a ser realizadas por chamada de grupo. Independentemente da forma de realização das reuniões, estas têm duração limitada (cerca de 15 minutos, exceto à 2ª e 6ª feira, enquanto início e final de semana, respetivamente, onde há uma divisão em grupos de trabalho, podendo haver uma extensão da duração da reunião, que se torna mais aprofundada, tendo em vista o planeamento e o balanço semanal do trabalho, respetivamente. Nestas reuniões cada colaborador, consoante o seu grupo de trabalho, intervém, explanando os principais pontos associados às suas funções, nomeadamente as tarefas previstas e informações pertinentes de comunicar à restante equipa, com o objetivo de existir um acompanhamento coletivo atualizado da situação diária e semanal do departamento. Desta forma, cada colaborador está situado face às tarefas dos seus colegas, facilitando a resolução de possíveis problemas e/ou a discussão de temáticas prioritárias em equipa.

Enquanto estagiário, evidenciam-se estas premissas apresentadas, pelo que a realização destas reuniões permitiu uma melhor e mais rápida integração na equipa e rotinas de departamento, tal como o conhecimento e contato com outras funções desempenhadas pelos restantes colaboradores.

2.1.3. Equipa e local de trabalho

Independentemente do *feedback* a retirar das tarefas desenvolvidas, considero que a Bluepharma, pelo menos no que concerne ao departamento que integrei e respetivas rotinas e espaços de trabalho, permite um bom ambiente no local de trabalho, no qual me senti sempre integrado, o que, em grande parte, se deveu aos elementos da equipa que compõe o departamento de GQ, os quais, além do profissionalismo e competências diretamente relacionadas com as funções desempenhadas, auxiliaram à minha inclusão nas rotinas, e, especificamente aqueles com que colaborei mais proximamente nas funções a mim atribuídas, contribuíram para toda a aprendizagem obtida ao longo do estágio, mostrando-se sempre disponíveis para ajudar.

2.1.4. Teletrabalho

A infeliz e duradoura pandemia COVID-19, que afetou (e continua a afetar) o país e o mundo, obrigou a mudanças e adaptações por parte dos vários setores profissionais, inclusive os que, dada a sua relevância e impacto na sociedade, obrigatoriamente mantiveram o seu

funcionamento, como é exemplo a indústria farmacêutica. O início do estágio coincidiu com uma fase já avançada da situação pandêmica, deparando-me com regras e rotinas internas já estabelecidas e assimiladas, com influência na realização do supramencionado estágio, mais concretamente, o teletrabalho. De facto, para além de normas relacionadas com restrições na ocupação das salas e gabinetes, bem como da utilização de espaços comuns e cumprimento da etiqueta respiratória pelo uso obrigatório de máscara, uma considerável porção da Bluepharma, seus departamentos e colaboradores, passou a funcionar parcial ou totalmente em regime de teletrabalho.

Todas estas medidas e seu correto funcionamento demonstraram a capacidade de adaptação da empresa à situação vivida, não afetando a produtividade do trabalho desenvolvido, garantindo a segurança individual e coletiva, visando a saúde pública sem detrimento das obrigações enquanto elemento do setor farmacêutico.

A nível do estágio propriamente dito, apesar da novidade característica deste método de trabalho e da influência direta na duração do estágio (menos 2 semanas do que o inicialmente previsto), considero que o aproveitamento e produtividade não foram afetados, tal como existiu um apoio constante por parte dos colegas responsáveis pela orientação das diferentes tarefas e funções tidas, através dos equipamentos e meios informáticos à disposição para garantir a comunicação imediata em caso de necessidade.

2.1.5. Formação

Em qualquer área profissional, a formação é uma condição fulcral para o desempenho das respetivas funções, seja diretamente no desenvolvimento do *know-how* inerente à realização das mesmas ou na complementaridade de conhecimento a nível do enquadramento nos princípios e normas da entidade profissional em questão. Assim, por um lado, enquanto colaborador da Bluepharma, assisti a diversas formações implícitas à integração inicial – sistema documental; Qualidade; metodologia *Kaizen*; Farmacovigilância; Saúde, Ambiente e Segurança, entre outras. Por outro, para a realização das tarefas propostas perante as diferentes etapas do estágio, recebi igualmente formação por parte de colegas do departamento, permitindo-me experienciar e obter conhecimento suficiente para constituir uma mais-valia no auxílio das funções em questão, bem como para ganhar autonomia suficiente para funcionar em regime de teletrabalho.

2.2. Pontos Fracos

2.2.1. Falta do ambiente de trabalho

Como referido e explanado no ponto 3.1.4., o regime de teletrabalho tornou-se uma realidade inevitável para o estágio, o qual se foi dividindo entre essa componente (maioritariamente) e o trabalho presencial, consoante as necessidades das tarefas desenvolvidas.

Apesar de, evidentemente, compreender e concordar com a necessidade de evitar ao máximo a presença física e conseqüente contato com os outros, para além das vantagens do trabalho à distância a nível prático e de comodidade, pessoalmente considero que o mesmo afetou o natural e indispensável enquadramento no ambiente real de trabalho, de integração nas rotinas físicas diárias, convivência com os colegas, pressupostos minimizados com as reduzidas idas à Bluepharma.

2.3. Oportunidades

2.3.1. Visão global da empresa e do percurso do medicamento

As próprias especificidades advindas do departamento que integrei, permitiram-me perceber de forma mais clara e abrangente a complexidade estrutural e funcional da Bluepharma e, por inerência, da indústria farmacêutica, conferindo-me uma visão mais consciente das áreas e departamentos existentes, tal como até das possibilidades profissionais normalmente alocadas a farmacêuticos.

Por outro lado, ao longo do estágio, proporcionaram-se oportunidades para visitar todas as instalações principais da empresa, conhecer os profissionais distribuídos pelas mesmas e, sobretudo, aprofundar o conhecimento relacionado com parte do percurso do medicamento, desde a chegada das matérias-primas ao armazém, as etapas do processo de fabrico, as linhas de embalagem, passando pelos laboratórios.

2.3.2. Multiplicidade de tarefas realizadas

Para o cumprimento das premissas base de qualquer estágio, é preponderante que se atinja um equilíbrio entre a consolidação das tarefas realizadas, o que implica uma duração minimamente considerável para que esse objetivo se concretize, e a variabilidade nessas mesmas tarefas, permitindo o contato e experimentação de diferentes funções, aumentando

o *background* daí resultante. Neste sentido, considero que este equilíbrio foi eficazmente atingido no planeamento do meu estágio, no qual desempenhei tarefas, embora complementares, completamente diferentes entre si, sendo essa multiplicidade de funções uma vantagem. Ao mesmo tempo, efetuei essas mesmas tarefas tempo suficiente para me tornar independente na execução, consolidando as competências diretamente ligadas às mesmas.

Mais concretamente, ao longo do estágio contextualizou-se a oportunidade de, por múltiplas ocasiões, contatar com fabricantes e fornecedores, interpretar relatórios e extrair dados para a construção de outros, avaliar risco de fabricantes e excipientes, entre muitas outras funções e tarefas resultantes dos grupos de trabalho que integrei, tal como já mencionado e desenvolvido neste relatório.

2.3.3. Desenvolvimento de *soft skills*

A execução das tarefas que me foram inculcadas pressupôs, em diferentes momentos, a necessidade de aplicar e/ou desenvolver competências complementares ao conhecimento técnico-científico derivado da área e funções, tais como o trabalho com o Excel (uma ferramenta informática globalmente conhecida e utilizada, que, neste estágio, assumiu uma preponderância extrema, devido às suas ferramentas e conseqüente utilidade na gestão de dados estatísticos, organização de informação, entre muitas outras vantagens); a capacidade crítica (para interpretação de resultados, identificação de oportunidades de melhoria, uma constante no quotidiano profissional do departamento de GQ, e que utilizei por exemplo numa tarefa solicitada de atualização e melhoria do questionário interno da *supply chain*, com o objetivo de o tornar mais intuitivo, não afetando a informação a constar no mesmo); a percepção da relevância de uma eficaz e eficiente gestão de recursos humanos (na primeira fase do estágio, para além da elaboração propriamente dita de PQRs, aloquei, pontualmente, esforços e tempo na tentativa de construção de gráficos e/ou tabelas com o objetivo de monitorizar a elaboração de PQRs por parte dos elementos envolvidos nesta função, de forma a, ao longo do tempo, perceber de forma visível e conclusiva o ritmo de trabalho, concluindo acerca da priorização de recursos perante as necessidades, tendo terminado um esboço para este mesmo fim).

2.4. Ameaças

2.4.1. Plano curricular do curso

O plano curricular do MICF engloba unidades curriculares diretamente relacionadas com a indústria farmacêutica, inclusive direcionadas para a gestão e garantia de qualidade, para além do facto, já vincado, de permitir a realização de estágio curricular na área, argumentos que diferenciam a FFUC dentro do panorama nacional. Contudo, considero que há margem para suplementar a referida oferta, reforçando esta componente do curso, que, pelo reduzido peso curricular, não é suficientemente conhecida pela comunidade estudantil. Por outro lado, penso que a abordagem conferida pelos docentes responsáveis pelas referidas unidades, nomeadamente a nível de gestão e garantia de qualidade, desmotiva os alunos para um possível interesse profissional ligado à área, conferindo uma visão consideravelmente discrepante da realidade prática, vivenciada neste estágio.

3. Considerações Finais

A experiência de estágio na Bluepharma constituiu, inquestionavelmente, uma etapa extremamente proveitosa e enriquecedora, nomeadamente enquanto parte final do percurso académico, representando, por um lado, o culminar de uma etapa, imediatamente anterior à entrada no mercado de trabalho, tal como, por outro, a concretização de um objetivo – a oportunidade de vivenciar e conhecer, na prática, o setor da indústria farmacêutica antes do término do curso.

Mais concretamente, e enquanto consequência de ter integrado o departamento de GQ, a transversalidade deste e a multiplicidade de tarefas por mim desempenhadas exponenciaram o *background* e a própria visão atual da área e suas especificidades, conferindo-me um extenso conjunto de competências profissionais e pessoais, que certamente se mostrarão essenciais futuramente, permitindo-me evoluir enquanto profissional mas também enquanto pessoa.

A concretização do estágio, no seguimento dos pontos fortes destacados ao longo deste relatório bem como nas ideias deixadas anteriormente, confirma a inevitabilidade da existência desta componente prática no plano curricular do curso, na qual se torna absolutamente benéfico para os estudantes a possibilidade de se enquadrarem num setor adicional a Farmácia Comunitária, até pela essência multidisciplinar do percurso académico e possibilidades profissionais destinadas ao farmacêutico.

Reforço, por último, a importância da escolha da Bluepharma para local de estágio, uma decisão que concluo ter sido extremamente acertada para a superação das expectativas trazidas para esta etapa, esperando ter retribuído com um contributo positivo e auxiliado no permanente e contínuo caminho evolutivo da empresa.

4. Referências Bibliográficas

- [1] **Ordem dos Farmacêuticos – Indústria Farmacêutica.** [Acedido a 5 de agosto de 2020] Disponível na internet: <https://www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/areas-profissionais/industria-farmaceutica/>
- [2] **Bluepharma – Quem Somos.** [Acedido a 5 de agosto de 2020] Disponível na internet: <https://www.bluepharma.pt/about-us.php>
- [3] **Bluepharma – Grupo Bluepharma.** [Acedido a 5 de agosto de 2020] Disponível na internet: <https://www.bluepharma.pt/about-bluepharmagroup.php>
- [4] **Guidelines of 19 March 2015 on the formalised risk assessment for ascertaining the appropriate good manufacturing practice for excipients of medicinal products for human use.** [Acedido a 6 de agosto de 2020] Disponível na internet: [https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:52015XC0321\(02\)&from=EN](https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:52015XC0321(02)&from=EN)
- [5] IPEC ‘How-to’ Document - **Guidelines of 19 March 2015 on the formalised risk assessment for ascertaining the appropriate good manufacturing practice for excipients of medicinal products for human use.** [Acedido a 6 de agosto de 2020] Disponível na internet: <file:///C:/Users/F%C3%A1bio/Downloads/2016-ie-how-to-do-risk-assessment-guidelines-1536242262.PDF>
- [6] EMA - Committee for Human Medicinal Products: **ICH guideline Q9 on quality risk management.** [Acedido a 6 de agosto de 2020] Disponível na internet: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/international-conference-harmonisation-technical-requirements-registration-pharmaceuticals-human-use_en-3.pdf
- [7] **Kaizen - Kaizen Methodology – Quality One.** [Acedido a 12 de agosto de 2020] Disponível na internet: <https://quality-one.com/kaizen/>

Parte III

Monografia

“Toxinas do veneno de cobra: toxicidade vs potencial terapêutico”

Resumo

As cobras assumem uma posição preponderante entre os animais venenosos, produzindo venenos que constituem complexas e potentes misturas, nos quais proteínas e enzimas se destacam pelas suas propriedades fármaco - toxicológicas. Os envenenamentos causados por estes são um inegável problema de saúde pública para o Homem, nomeadamente em países em desenvolvimento, levando a graves consequências que podem culminar em morte. A toxicidade resultante das variadas toxinas aí presentes pode afetar vários sistemas e órgãos do corpo humano, sendo os antivenenos a terapêutica de primeira linha para a maior parte das situações. Contudo, estas mesmas propriedades dos constituintes responsáveis pelos efeitos negativos mencionados, apresentam-se como uma potencial base para a conceção de agentes terapêuticos, aplicáveis em diversas áreas medicinais, o que se traduz em fármacos já aprovados e comercializados, resultado da mimetização das estruturas desses compostos, bem como na atual existência de outros fármacos e formulações em desenvolvimento.

Palavras-chave: Cobras, Toxinas, Toxicidade, Veneno, Envenenamento, Proteínas, Enzimas, Potencial terapêutico.

Abstract

Snakes take a predominant position among venomous animal species, producing venoms that are complex and powerful mixtures in which proteins and enzymes stand out for their pharmacological and toxicological properties. Poisonings caused by them are an undeniable public health problem for humans, especially in developing countries, leading to serious consequences that can culminate in death. The toxicity resulting from the various toxins present there can affect various systems and organs of the human body, as antivenom is the first-line therapy for most situations. However, these constituents properties, responsible for the negative effects mentioned, present themselves as a potential basis for the conception of therapeutic agents, applicable in several medicinal fields, which translates into already approved and commercialized drugs, as a result of the mimetization of the structures of these compounds, as well as in the current existence of other drugs and formulations in development.

Keywords: Snakes, Toxins, Toxicity, Venom, Envenoming, Proteins, Enzymes, Therapeutic Potential.

Lista de Abreviaturas

3FTx – Toxinas *three-finger*

ACh – Acetilcolina

AChE – Acetilcolinesterase

ASIC – *Acid-sensing ion channels*

ATP – Adenosina trifosfato

CIAV – Centro de Informação Antivenenos

CRD – Domínio de reconhecimento de hidratos de carbono

CRISP – Secreções proteicas ricas em cisteína

DNA – Ácido desoxirribonucleico

FDA – *Food and Drug Administration*

iECA – Inibidor da enzima de conversão da angiotensina

INEM – Instituto Nacional de Emergência Médica

LAAO – L-aminoácido oxidase(s)

nAChR – *Nicotinic acetylcholine receptors*

NGF – Fator de crescimento neuronal

OMS – Organização Mundial de Saúde

PLA2 – Fosfolipase(s) A2

RNA – Ácido ribonucleico

SDS-PAGE – Eletroforese em gel de poliacrilamida com dodecil-sulfato de sódio

SVMP – Metaloproteinase(s) de veneno de cobra

SVSP – Serinoprotease(s) de veneno de cobra

TRPA1 – *Transient receptor potential ankyrin 1*

TRPV1 – *Transient receptor potential cation channel subfamily V member 1*

VEGF – Fator de crescimento endotelial vascular

I. Introdução

Os animais venenosos distribuem-se por todo o mundo, com maior foco nas regiões tropicais e subtropicais. Pertencem aos mais variados filos, entre répteis, anfíbios, peixes, artrópodes, moluscos, etc., tendo como característica comum a produção e utilização de veneno, através de diferentes aparelhos anatómicos, [1] associado a diversas funções vitais, desde a captura e digestão de presas ou enquanto mecanismo de defesa contra potenciais predadores e/ou inimigos. [2]

De facto, os venenos animais são geralmente um meio de neutralizar outros organismos, uma característica diretamente relacionada com a toxicidade inerente aos mesmos, enquanto misturas complexas de toxinas. O mesmo contexto se aplica especificamente às cobras, motivo de fascínio e admiração ao longo da História da Humanidade, mas também de medo, em parte derivado do perigo associado aos seus venenos, cuja composição evidencia uma grande diversidade de peptídeos e proteínas, com ou sem propriedades enzimáticas, que induzem toxicidade e podem levar a efeitos nefastos se não houver tratamento, podendo resultar em morte ou morbidade grave nos seres humanos. Constitui, definitivamente, um problema e preocupação para a saúde pública, causa de milhões de casos de envenenamento por todo o mundo ano após ano. [3,4]

Contudo, as mesmas propriedades farmacológicas e toxicológicas das muitas toxinas que constituem esses venenos possuem potencialidades terapêuticas que a investigação científica vem estudando cada vez mais ao longo dos últimos anos, o que se reflete por exemplo na existência de fármacos já comercializados derivados deste tipo de compostos, que se revelam uma prometedora fonte de novos agentes terapêuticos.

2. Filogenia e distribuição das cobras venenosas

As cobras venenosas podem ser encontradas em mais de 150 países em todo o mundo. [5] Todas as cobras pertencem à subordem *Serpentes*, ou *Ophidia*, da ordem reptiliana *Squamata*, cujo nome está associado à sua pele escamosa. [6] As duas principais infraordens, *Scolecophidia* e *Alethinophidia*, incluem cerca de 3600 espécies, distribuídas por aproximadamente 27 famílias. É nesta última que se encontra a superfamília *Colubroidea* (Figura 1), conhecida pelas “cobras avançadas”, a qual inclui a maioria das espécies de cobras (mais de 2500 espécies), nomeadamente as mais relevantes do ponto de vista epidemiológico e de saúde pública. [3]

Nesse grupo destacam-se as *Viperidae* que, com cerca de 331 espécies, constituem a família mais prevalente de cobras venenosas, com distribuição em toda a Europa, África, Ásia e América; subdivide-se em *Viperinae* (“víboras verdadeiras”) e *Crotalinae*. As *Elapidae*, por sua vez, incluem kraits e mambas, e estão agrupadas em mais de 350 espécies, distribuindo-se também por todo o mundo, com representantes em África, América, Ásia e Oceânia. As *Colubridae* – cerca de 847 espécies de colubrídeos – são também amplamente distribuídas pelo mundo. As *Lamprophiidae* incluem aproximadamente 309 espécies de cobras, como as víboras-toupeira; são encontradas em África, Ásia, Europa e América. No entanto, apesar da ampla distribuição a nível global, todas as famílias supramencionadas, tal como os animais venenosos na generalidade, são mais abundantes nas regiões tropicais e subtropicais. [1,7]

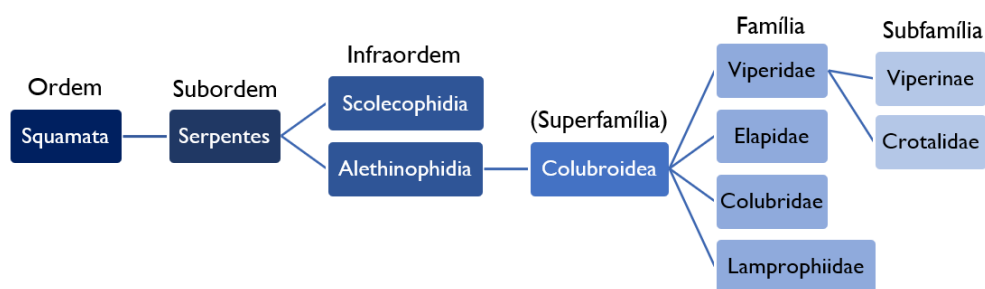


Figura 1: Filogenia das principais cobras venenosas. Adaptado de [3]

As cobras venenosas com importância médica, mais perigosas, são predominantemente *front-fanged* (com presas tubulares na frente do maxilar superior, um sistema que assegura que o veneno pode ser injetado, sob pressão, debaixo da pele, em cada mordida). Em todas elas o veneno é produzido numa glândula especializada e normalmente chega ao organismo alvo através das referidas presas. [8] De facto, o próprio sistema anatómico que permite a injeção do veneno difere entre espécies, variando dentre a existência de um conjunto de presas

localizadas na parte frontal do maxilar (exemplo das *Viperidae*) ou de presas com localização posterior em algumas cobras *Colubridae*. [7]

A nível de produção de veneno, em média, os espécimes adultos produzem cerca de 4,5 vezes mais veneno do que os jovens. [9]

3. Epidemiologia

A Organização Mundial de Saúde (OMS) reconhece a mordida de cobra como doença potencialmente fatal, estando aproximadamente 250 cobras listadas como sendo de importância médica devido aos danos que os seus venenos podem causar. Anualmente, cerca de 5,4 milhões de pessoas em todo o mundo são mordidas por cobras, levando a mais de 2,5 milhões de envenenamentos e 125 000 mortes, [10] para além de milhares amputações e outras deficiências permanentes. [5] Mais concretamente na Europa (incluindo Turquia e Rússia - partes europeias, Montes Urais e Cáucaso), são aproximadamente 8000 casos anuais, dos quais 1000 constituem situações graves de envenenamento, culminando, em média, em cerca de 4 mortes. Não estão claramente identificadas populações de risco, embora seja um facto que crianças e homens sofrem o maior número de incidentes. [10]

As mordeduras de cobra constituem um grande problema de saúde pública em países em desenvolvimento (Figura 2), uma preocupação diária para as comunidades rurais e periurbanas de muitos países tropicais e subtropicais situados em África, no Médio Oriente, Ásia, Oceânia e América Latina, nos quais centenas de milhões de pessoas dependem da agricultura e da caça, sendo por isso uma causa importante de morbilidade e mortalidade destas áreas mais pobres. [9] Na Índia, por exemplo, existem cerca de 330 espécies de cobras, das quais 70 são venenosas, sendo que se estimam 35000 a 50000 ocorrências fatais por ano. [11]

Por outro lado, em países desenvolvidos, nomeadamente a nível europeu, os incidentes derivam sobretudo de atividades turísticas e/ou de índole recreativa/desportiva, maioritariamente em zonas rurais, com especial frequência na primavera e verão. [10]

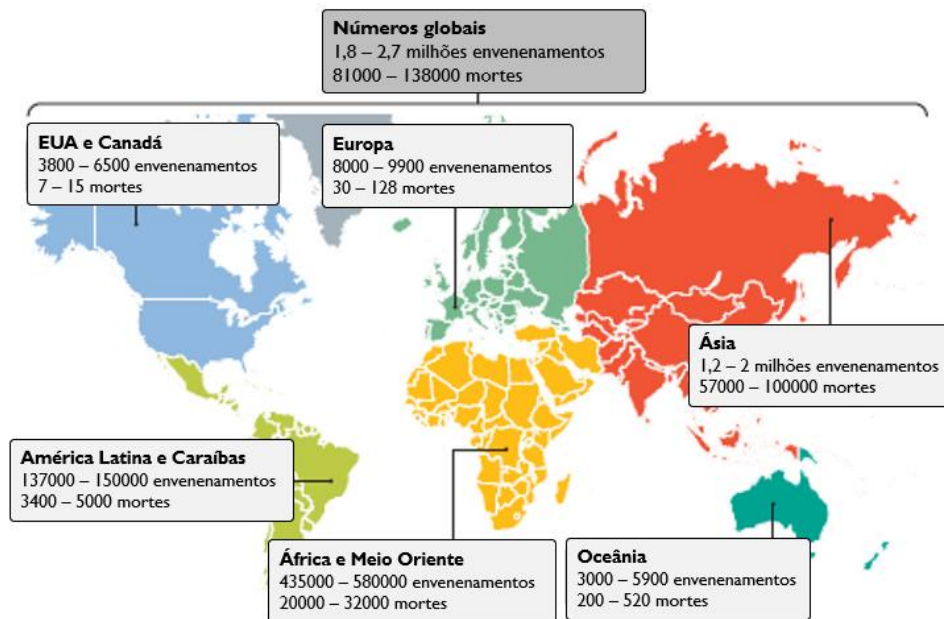








Figura 2: Distribuição geográfica do número estimado de envenenamentos e mortes por mordida de cobra. Adaptado de [7]

Em Portugal existem muito poucos casos de morte relacionados com a picada ou mordedura de cobras. Os dados do Centro de Informação Antivenenos (CIAV) do Instituto Nacional de Emergência Médica (INEM) não revelam a existência de casos mortais, mas nem todos os casos chegam ao conhecimento deste Centro. [12]

Na lista de espécies de répteis autóctones em Portugal constam quatro espécies venenosas de cobras - cobra-rateira (*Malpolon monspessulanus*), [13] a víbora-cornuda (*Vipera latastei*), a víbora de seoanei (*Vipera seoanei*), e a cobra de capuz (*Macroprotodon brevis ibericus*). [14-17] A distribuição no território português e as características mais evidentes destas espécies venenosas de cobras encontram-se descritas na Tabela I.

Tabela I: Distribuição e características das três espécies de cobras venenosas em Portugal.

Adaptação de [16].

Espécie	Distribuição geográfica		Altitude	Características morfológicas
<p><i>Vipera seoanei</i></p> 	 <p><i>V. seoanei</i></p> <p>A norte do rio Douro, no Minho e em Trás-os-Montes, em regiões montanhosas sob a forma de populações isoladas e restritas. Habitat: matos, bosques limítrofes de prados, pastos e lameiros, com muros de pedras e na proximidade de cursos de água.</p>		<p>Geralmente não agressiva. Diurna e crepuscular.</p>	<p>Comprimento: 55 cm Cabeça: plana Corpo: única víbora com apenas uma fila de escamas entre as escamas supralabiais e o olho. Pupila: vertical com íris dourada na metade superior.</p>
<p><i>Vipera latastei</i></p> 	 <p><i>V. latastei</i></p> <p>Encontram-se em todo o território português. Sob a forma de populações dispersas e fragmentadas nas zonas montanhosas.</p>		<p>Agressiva quando encurralada. Trepadora, diurna, crepuscular e noturna.</p>	<p>Comprimento: 45 a 60 cm Cabeça: elevada com uma proeminência anterior em forma de corno. Pupila: vertical com íris dourada e pigmentada de cinzento ou negro.</p>
<p><i>Malpolon monspessulanus</i></p> 	 <p><i>M. monspessulanus</i></p> <p>Encontram-se em todo o território português. Praticamente ausente nas zonas de menor altitude da faixa costeira entre Leiria e Porto.</p>		<p>Agressiva se incomodada. Rápida, ágil, trepadora. Capaz de se erguer, perseguir os agressores. Diurna.</p>	<p>Comprimento: até 250 cm Cabeça: estreita e pontiaguda. Corpo: escama frontal estreita e fundidas com umas proeminências; escamas supraoculares; grande escama pré-ocular e duas pós-oculares.</p>

4. Composição dos venenos

As toxinas presentes nos venenos de cobras são das mais complexas e desenvolvidas pela Natureza. [18] Na sua constituição evidenciam-se as proteínas e outros compostos peptídicos, compostos bioativos normalmente associados à toxicidade. Na Figura 3 estão representados os principais constituintes desta mistura complexa que inclui: enzimas (serina-proteases (SVSPs), zinco-metaloproteases (SVMPs), fosfolipase A2 (PLA2), L-aminoácido oxidases (LAAOs)) e proteínas sem atividade enzimática (toxinas *three-finger* (3FTx), péptidos natriuréticos, desintegrinas, inibidores de protease, cisteína, lectina tipo C, fatores de crescimento neuronal (NGF), vascular e endotelial (VEGF) e secreções proteicas ricas em cisteína (CRISP)). [19-22] As características macroscópicas dos venenos são semelhantes, contudo diferem na composição proteica. [23]

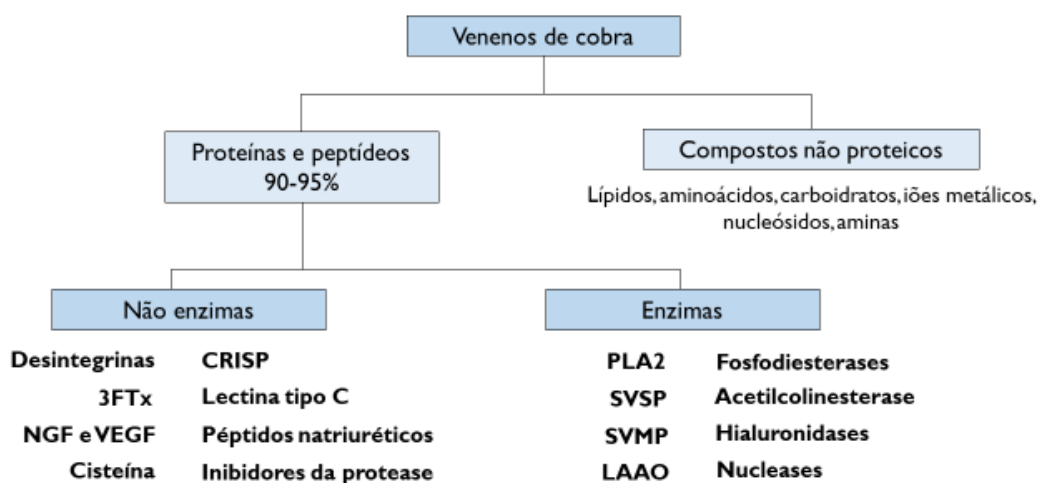


Figura 3: Composição geral do veneno de cobras. Adaptado de [23]

Os diferentes métodos de análise a proteínas, como a cromatografia em fase reversa, eletroforese (Figura 4), transcriptoma ou proteoma, permitiram ao longo dos anos determinar e especificar as diferentes famílias. [24-26] Estas proteínas apresentam múltiplas isoformas e contribuem para a complexidade dos venenos e para a diversidade dos seus efeitos. [18]

A variação na composição e características dos venenos, entre as diferentes espécies, subespécies ou até mesmo dentro de uma espécie, tem implicações médicas importantes, tendo em conta o antiveneno a utilizar no tratamento das vítimas humanas de mordidas de cobra. Resulta igualmente em significativas diferenças na patologia induzida pelo veneno e na letalidade. Esta variação é largamente atribuída a diferenças nos genes codificadores de toxinas presentes no genoma ou na glândula que produz o veneno. Na verdade, os mecanismos que afetam a transcrição, tradução, e modificação pós-tradicional de toxinas também contribuem

significativamente para a diversidade da composição de proteínas do veneno. A variação de veneno observada entre cobras é, portanto, o resultado de uma complexa interação entre uma variedade de fatores genéticos e pós-genómicos que atuam sobre genes da toxina. [27] Por outro lado, fatores externos como a distribuição geográfica e a própria dieta podem ser condicionantes. [28]

Mais concretamente, nos venenos de *Elapidae* predominam toxinas mais pequenas, particularmente 3FTx e PLA2s, enquanto que nos venenos de *Viperidae* (Figura 4) prevalecem toxinas enzimáticas de peso molecular mais elevado, nomeadamente SVMPs e SVSPs, [29] e as 3FTx são praticamente ausentes. [8]

De facto, a proeminência de componentes macromoleculares nos venenos viperídeos traduz-se na elevada proporção de enzimas hidrolíticas, bem como de SVSPs, de massa molecular média, estas últimas tipicamente ausentes nos venenos elipídeos e colubrídeos. Contudo, os venenos de *Viperidae* são também frequentemente ricos em fosfolipases, nomeadamente a PLA2. [28]

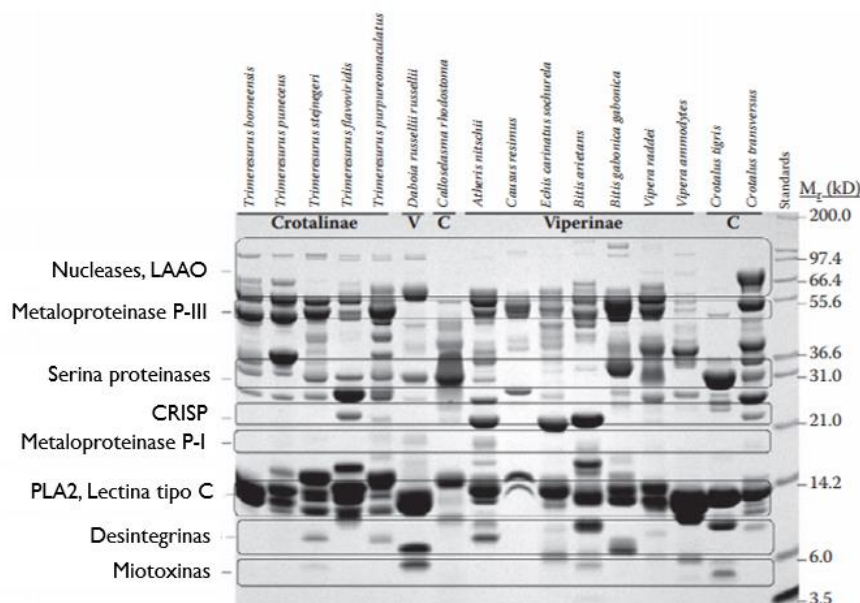


Figura 4: Resultados de SDS-PAGE (efetuada em venenos de *Viperidae*. S. Adaptado de [28])

Por último, nos venenos das *Colubridae* há uma maior variação intrafamiliar, existindo espécies cujos venenos são ricos em 3FTx, tal como outras em que, tal como nas *Viperidae*, estas proteínas aparecem em quantidades ínfimas. Contudo, a maioria dos venenos colubrídeos estudados contém normalmente alguns componentes enzimáticos, geralmente SVMPs e acetilcolinesterases. [28,29]

Exemplificando a predominância geográfica, na América Latina, por exemplo, a maior prevalência deve-se às cobras da família *Viperidae*, onde estão incluídas as cascavéis (*Crotalus*). Estas são conhecidas por produzirem veneno com toxinas hemotóxicas (principalmente: SVSPs, hialuronidases, SVMPs e PLA2) que normalmente levam a hemorragias, degradação dos tecidos e necrose. [30]

No mesmo seguimento, o género *Micrurus* é o representante americano da família *Elapidae*. *Micrurus spixii* é endêmica da América do Sul, inclusive em alguns estados do norte do Brasil. Os seus venenos contêm neurotoxinas que promovem o bloqueio neuromuscular, num modo de ação semelhante ao curare (propriedades paralisantes, extraído de plantas da América do Sul). [31]

4.1. Proteínas e compostos peptídicos com propriedades enzimáticas

4.1.1. Enzimas proteolíticas

A maioria dos venenos de cobras contém enzimas proteolíticas. Estas catalisam a digestão de proteínas e peptídeos em aminoácidos, podendo ser classificadas em dois grandes grupos: SVMP e SVSP, que afetam o sistema hemostático através de diferentes mecanismos. [32]

As SVMP estão entre as toxinas mais abundantes nos venenos das *Crotalidae* e *Viperidae* e são agrupadas em várias subclasses, de acordo com a organização do seu domínio. [33,34] Na família *Elapidae* os estudos apontam para quantidades baixas de SVMP. [35] A sua atividade catalítica depende da presença de iões de zinco [3] e a maioria das atividades funcionais está associada à hemorragia e/ou interrupção do sistema hemostático, desempenhando um papel crucial na patogénese, nos processos de sangramento, mas também de edema, inflamação e necrose. Estes efeitos derivam da capacidade de degradação das proteínas da membrana celular endotelial e componentes da membrana basal. Por outro lado, estão também associadas a atividade fibrinolítica, ativação da protrombina, inibição da agregação plaquetária, e inativação de inibidores de SVSP no sangue. [3,33] Este espectro diversificado de atividades bioquímicas e biológicas associadas às SVMP mostra o seu papel crítico na toxicidade global do veneno e a sua própria versatilidade funcional. [34]

As SVSP, principalmente presentes nos venenos das *Viperidae*, *Crotalidae* e *Elapidae* mas raramente detetadas nas *Hidrofidae*, [36] contribuem para o efeito tóxico quando combinadas com outras proteínas do veneno, mas não são consideradas individualmente como letais.

Podem ser categorizadas em diferentes subtipos consoante o seu modo de ação inclui: [37] enzimas do tipo trombina e, neste caso a atividade coagulante é semelhante à trombina, convertem fibrinogénio em fibrina, aumentam *in vitro* a coagulação mas *in vivo* as enzimas têm efeitos alternativos que incluem a hemóstase e a anticoagulação; [38] enzimas do tipo calicreína que levam à libertação de bradicinina a partir de cininogénio de elevado peso molecular e da degradação da angiotensina, [39] ativadores de plasminogénio, inibidores de agregação plaquetária, ativadores de proteína C e ativadores de protrombina.

4.1.2. Fosfolipases

Classe de enzimas com a capacidade de hidrolisar substratos específicos como glicerofosfolípidos. Até ao momento, são reconhecidas quatro famílias: A1, A2, C e D, de acordo com o local da hidrólise no substrato. [40]

As PLA2 são as enzimas mais estudadas e relevantes, de baixo peso molecular, e requerem cálcio para as suas atividades. São potentes moléculas nos venenos de cobra e com uma ampla distribuição na natureza. Desempenham um papel significativo na digestão da presa, além de uma grande variedade de outros efeitos farmacológicos, produzindo alterações na permeabilidade das membranas celulares, clivando a ligação sn-2 em glicerofosfolípidos para libertar ácidos gordos livres e lisofosfolípidos. [31,41]

As PLA2 apresentam uma grande variedade de propriedades farmacológicas – anticoagulantes (geralmente causam hemorragia na vítima/presa por inibição de uma ou duas etapas na cascata de coagulação): [42] hemolíticas; neurotóxicas (podem bloquear a transmissão neuromuscular no músculos esquelético dos vertebrados, causando fraqueza neuromuscular aguda e paralisia resultando em depressão respiratória e morte); [43] miotóxicas (podem induzir necrose aguda do músculo esquelético (mionecrose); [44] no processo de envenenamento esta mionecrose pode potencialmente levar à perda permanente de tecido ou amputação); [45] edema-indutoras; cardiotoxícas; antimuscarínicas e antiplaquetárias. [46-48]

4.1.3. L-aminoácido oxidases (LAAO)

São flavoenzimas que estimulam a desaminação oxidativa estereoespecífica de um L-aminoácido e agem como um substrato para o α -cetoácido produzindo amónia e peróxido de hidrogénio. As LAAO ocorrem em vários venenos de cobras venenosas como as *Viperidae* e

as *Elapidae*, mas as fontes mais ricas destas proteínas são os venenos de serpentes *Crotalidae*. [49] Têm-se tornado uma fonte interessante de pesquisa biomédica, com um elevado potencial biotecnológico para o desenvolvimento de agentes terapêuticos devido à sua atividade anticoagulante, antimicrobiana, indutora e inibidora de agregação plaquetária, indução de apoptose e anticancerígena. [49,50]

4.1.4. Outras

Para além das referidas anteriormente, existe um vasto leque de outras enzimas presentes nos venenos das várias famílias e espécies de cobras, normalmente em proporções mais reduzidas, com menor relevância e impacto na composição dos venenos e seus efeitos. Dentro destas destacam-se:

- Hidrolases do éster da arginina

Causam a hidrólise da ligação éster ou peptídica à qual um resíduo de arginina contribui com o grupo hidroxilo. A sua atividade é frequentemente acompanhada pela presença de enzimas tipo trombina e libertação de enzimas tipo quinina. [3] As hidrolases do éster da arginina estão presentes nos venenos das cobras *Crotalidae* e *Viperidae* mas não estão presentes nos venenos das cobras *Elapidae* e *Hidrophidae*. [51]

- Hialuronidases

Classe de endoglicosidases presente em quase todos os venenos das cobras *Crotalidae*, *Viperidae* e *Elapidae*, embora em menor concentração no veneno elapídeo. São um grupo ubiquamente expresso de enzimas, que naturalmente clivam o ácido hialurónico que é um glicosaminoglicano, principal componente da matriz extracelular dos vertebrados que conecta com as células do tecido conjuntivo, filamentos de proteínas e fibras de colagénio. São enzimas não tóxicas, consideradas "fatores de disseminação" durante o processo de envenenamento, levando à degeneração do ácido hialurónico na matriz extracelular no local onde ocorreu a mordida e, conseqüentemente, a morbidade severa. A sua ação facilita a distribuição de outras toxinas, tal como danifica o tecido local das vítimas. [52]

- Acetilcolinesterase (AChE)

Presente em todos os organismos vertebrados, localizada principalmente nos músculos e tecidos nervosos. A AChE desempenha um papel central na transmissão colinérgica, hidrolisando rapidamente o neurotransmissor acetilcolina em colina e ácido acético. [53] Uma

elevada atividade da AChE foi descrita para quase toda a família *Elapidae*. [54] mas, por outro lado, não foi detetada em nenhum veneno das cobras da família *Crotalidae* ou *Viperidae*. [55]

- Nucleases (RNase, DNase, fosfodiesterase)

As enzimas nucleases estão presentes em quase todos venenos de serpentes, hidrolisam especificamente os ácidos nucleicos (DNA e RNA) [56] e estão subdivididas em endonucleases (DNase, RNase) e exonucleases (fosfodiesterases). [57,58] Estas últimas, as mais estudadas [57] e em maior quantidade nas cobras da família *Crotalidae* ou *Viperidae* [59] quebram as ligações fosfodiéster e catalisam a hidrólise de DNA, RNA ou qualquer cadeia nucleotídica. [60]

4.2. Proteínas e compostos peptídicos sem propriedades enzimáticas

Geralmente, atuam em recetores específicos de membrana, canais iônicos ou proteínas plasmáticas, o que causa a interrupção de processos fisiológicos na presa levando a efeitos neurotóxicos e cardiotoxicos. Dentro de cada família, as proteínas e peptídeos não enzimáticos compartilham notáveis semelhanças nas suas estruturas primárias, secundárias e terciárias, mas normalmente diferirem nos seus efeitos farmacológicos. Assim, as famílias de proteínas não enzimáticas nos venenos das cobras, representadas na Figura 3, são: 3FTx, péptidos natriuréticos, desintegrinas, inibidores de protease, peptídeos potenciadores da bradicinina, lectina tipo C, fatores de crescimento neuronal, vascular e endotelial e CRISP, sarafotoxinas, vesprinas. [28,61]

4.2.1. Desintegrinas

As desintegrinas são peptídeos ricos em cisteína e de baixo peso molecular, originalmente purificadas a partir de venenos viperídeos que normalmente contêm o motivo RGD (tripéptido Arginina-Glicina-Aspartato) integrador. São capazes de inibir a agregação plaquetária e interagir com a adesão molecular, particularmente com as integrinas, de uma forma dose dependente. Embora sejam altamente homólogas, existem diferenças significativas na sua afinidade e seletividade para integrinas, o que explica a sua multiplicidade de efeitos. [33]

De acordo com o estudo de Theo Tasoulis e colaboradores [62] esta família de proteínas está ausente nos elapídeos mas presente nas viperinas e nas crotalinas, em 88% e

68% das espécies estudadas, respetivamente. Deste estudo ainda foi determinada a quantidade máxima de desintegrinas de 18% para as viperinas, e 17% para as crotalinas.

4.2.2. Lectinas tipo Cerinas

As lectinas são proteínas abundantes do veneno de diversas cobras da família *Viperidae*, *Elapidae* e *Crotalidae* [63,64] com várias funções, dependentes de cálcio, e têm uma estrutura heterodimérica básica com duas subunidades, quase sempre ligadas covalentemente, através de uma ligação de dissulfeto. De acordo com a sua estrutura e função biológica, estas proteínas podem ser classificadas em 2 subgrupos: lectinas tipo-C verdadeiras (chamadas “snaclec”), as quais contêm um domínio de reconhecimento de hidratos de carbono (CRD) que se liga ao açúcar e aglutina os eritrócitos e, as proteínas relacionadas com as lectinas tipo-C, com o domínio de reconhecimento de hidratos de carbono incompleto e, por isso apresentam outras atividades biológicas contra os fatores de coagulação e plaquetas. [33,65,66]

Apesar da estrutura primária altamente conservada, são caracterizadas por várias atividades biológicas. São consideradas moduladoras da agregação plaquetária, tal como têm sido descritos potenciais efeitos anti tumor. [67]

4.2.3. Toxinas *three-finger* (3FTx)

As 3FTx são uma família de polipeptídeos caracterizada por uma cadeia peptídica curta com 60 a 80 aminoácidos, [23,68] são neurotoxinas não enzimáticas que contêm uma estrutura, em forma de três dedos, dobrável e estabilizada por pontes de dissulfeto. [68,69] Estão presentes, principalmente, nos venenos de cobras *Elapidae* e *Colubridae*, exercendo efeitos neurotóxicos, através de uma ligação pós-sináptica nas junções neuromusculares, induzindo assim paralisia nas suas vítimas. [70] Existem vários subtipos e uma enorme diversidade de isoformas, com conseqüentes diferenças biológicas e funcionais, o que se reflete nos alvos e efeitos: inibição de recetores de acetilcolina, de recetores muscarínicos, da acetilcolinesterase, modulação dos canais de cálcio do tipo L e conseqüente processo de necrose, alteração da frequência cardíaca através da modulação de β -adrenoreceptores, entre outros. [4]

4.3. Constituintes não proteicos

Apesar de quase constituírem a sua totalidade percentual, a composição dos venenos não se restringe aos compostos proteicos. Outros componentes normalmente presentes são nucleosídeos, catiões metálicos, carboidratos e (em níveis muito reduzidos) aminoácidos livres e lípidos com menor atividade biológica. [71]

Estes pequenos metabolitos, que incluem também neurotransmissores e neuromoduladores, encontram-se, comparativamente entre si, também em proporções muito variáveis. O ácido cítrico, metabolito orgânico, é abundante em venenos das subfamílias *Viperidae* – *Viperinae* e *Crotalinae*, sendo um quelante de catiões bivalentes, prevenindo tanto a degradação do veneno por metaloproteínases como danos no tecido glandular por fosfolipases. Por exemplo, bases como a adenina e nucleosídeos como a adenosina são predominantes no veneno de *Dendroaspis polylepis* (mamba negra), uma *Elapidae*. Noutro sentido, a guanosina e a guanina fazem parte, em média, dos 50 constituintes orgânicos mais abundantes em venenos de cobras. [72]

O sódio, por sua vez, é o catião mais abundante em venenos de serpentes, contudo o seu papel não é conhecido. O zinco, por outro lado, é necessário para a ativação da anticolinesterase (inibidor da acetilcolinesterase), enquanto o cálcio está associado à atividade da fosfolipase. [73]

5. Toxicidade

A toxicidade dos venenos deriva diretamente das propriedades dos seus componentes. Nesse seguimento, estes podem causar perturbações ao nível do sistema nervoso central e periférico, interferir com a cascata de coagulação sanguínea, atuar nos sistemas cardiovascular, no músculo-esquelético ou até mesmo alterar o estado de homeostase geral. [3]

Os principais efeitos provocados pelo veneno de cobra são: neurotoxicidade, mais comum nas *Elapidae*; venenos com efeito nos vasos sanguíneos e sistema cardiovascular, característicos das *Viperidae*; venenos miotóxicos, os quais são característicos, por exemplo, das cobras marinhas (*Elapidae*). [11] Estes efeitos tóxicos estão de acordo com a classificação atribuída pela OMS [74] aos aspetos clínicos do envenenamento em três grupos: neurotóxicos, citotóxicos e hemotóxicos. No entanto, é importante ter em conta que certas espécies de cobras são capazes de causar combinações destas diferentes toxicidades ou as mesmas espécies causar patologias diferentes no homem consoante as partes atingidas. [75]

Geralmente, o veneno das víboras europeias é descrito por ter atividades citotóxicas e hemotóxicas, afetando sobretudo o sistema de coagulação, quer como função procoagulante quer como anticoagulante. No caso do veneno da *Vipera ammodytes* estão acrescidos os efeitos neurotóxicos, para além dos citotóxicos e hemotóxicos. Contudo, nos últimos anos, as manifestações neurológicas após mordidas de cobras de espécies europeias – como as áspides (*V.aspis aspis*, *V.aspis zinnikeri*) ou a víbora cruzada dos Balcãs (*V.berus bosniensis*) – tornaram-se recorrentes. [18]

5.1. Hemotoxicidade

A hemotoxicidade é um dos sinais clínicos mais comuns em vítimas de mordida de cobras, principalmente das *Viperidae*. De uma maneira geral, os venenos hemotóxicos podem ter efeitos cardiovasculares e/ou hemostáticos (Figura 5).

As toxinas que interferem na coagulação podem ser pro-coagulantes (protrombina ativador, enzimas do tipo trombina, fator X e ativadores do fator V) ou anticoagulantes. Os venenos de cobras *Viperidae* são uma rica fonte de proteínas e peptídeos que interagem com os componentes do sistema hemostático, resultando em hemorragias e outros efeitos associados após a mordida. [76] Vários estudos indicam que mais de 100 componentes do veneno de cobra atuam no sistema hemostático através de diferentes mecanismos. [75,77,78] Os componentes enzimáticos e não enzimáticos do veneno podem ser classificados em coagulantes, anticoagulante e fatores fibrinolíticos. [75,79]

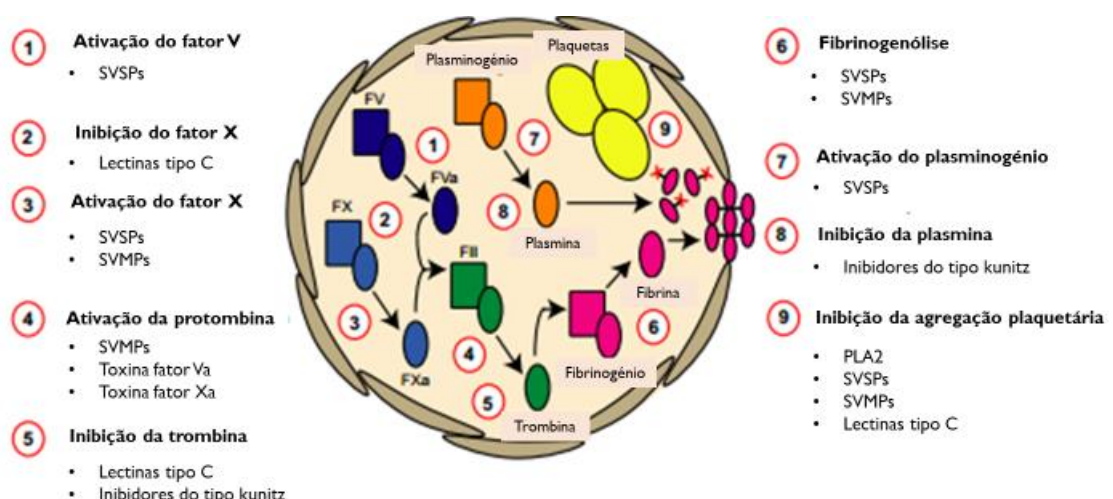


Figura 5: Alvos de toxinas que causam efeitos hemostáticos. Adaptado de [75]

5.1.1. Atividade pró-coagulante vs anticoagulante

Vários componentes dos venenos atuam sobre os elementos da cascata do sistema de coagulação e também têm a capacidade de o ativar. [80] Estas proteínas venenosas incluem diferentes ativadores dos fatores de coagulação do sangue, tais como o fator V, IX, X, e ativadores da protrombina. A maior parte das toxinas que afetam a coagulação sanguínea são metaloproteínas ou serina proteínases. Os ativadores do veneno das *Viperidae* e *Crotalidae* são as SVMP enquanto que nas *Elapidae* são as SVSP. No processo de coagulação, os fatores V, IX e X, tal como iões cálcio e fosfolípidos, ativam a protrombina e induzem a formação de coágulos de fibrina. [3,81]

Por outro lado, determinadas toxinas venenosas das cobras funcionam como anticoagulantes, diretos ou indiretos, inibindo o processo de coagulação, [78,82] sendo por isso responsáveis pelas hemorragias associadas ao envenenamento. A ação anticoagulante das proteínas do veneno da cobra é devida aos ativadores da proteína C, fatores de coagulação sanguínea IX e X inibidores e a inibição de trombina ou fosfolipases. As proteínas anticoagulantes podem ser enzimas, nomeadamente PLA2 e SVMP, ou proteínas não enzimáticas. As PLA previnem a formação do complexo de protrombinase por degradação dos fosfolípidos dentro deste complexo. [3,77,83,84]

5.2. Miotoxicidade e cardiotoxicidade

A miotoxicidade é um efeito importante do envenenamento por cobras e pode manifestar-se por uma degeneração muscular local e sistémica. A necrose muscular local é um componente dos efeitos de necrose local, [85,86] e a miotoxicidade sistémica, com vários graus de severidade, foi descrita após o envenenamento por algumas víboras, [67,87] cobras marinhas, [88] elapídeos australianos. [89,90] A perda de células musculares em funcionamento devido à miotoxicidade pode agravar a fraqueza coexistente devido ao bloqueio neuromuscular causado por neurotoxinas. Por outro lado, a rabdomiólise pode causar lesão renal aguda secundária e hipercaliemia com risco de vida, devido a extensos danos provocados nas células musculares. [67, 85, 91]

Embora muitos componentes citotóxicos nos venenos das cobras possam contribuir para o desenvolvimento de miotoxicidade, as miotoxinas mais importantes e descritas na literatura são as toxinas da PLA2. [92] sendo as mais referidas as Asp49, Ser49 e Lys49 no veneno viperídeo. É importante ressaltar que a atividade enzimática e a atividade miotóxica

das miotoxinas da PLA2 são independentes. [93] As PLA2 miotóxicas causam dano muscular principalmente pela destruição do sarcolema. [85,88]

As 3FTx têm diversos alvos e atividades biológicas e inclui as β -cardiotoxinas que são responsáveis por atuar de forma não específica com os fosfolípidos e necrose (citotoxicidade), [94] inibir os β -adrenoreceptores [95] e alteração da frequência cardíaca através da modulação da α - e da β -adrenoreceptores. [95] Os principais alvos das cardiotoxinas encontram-se ilustrados na Figura 6.

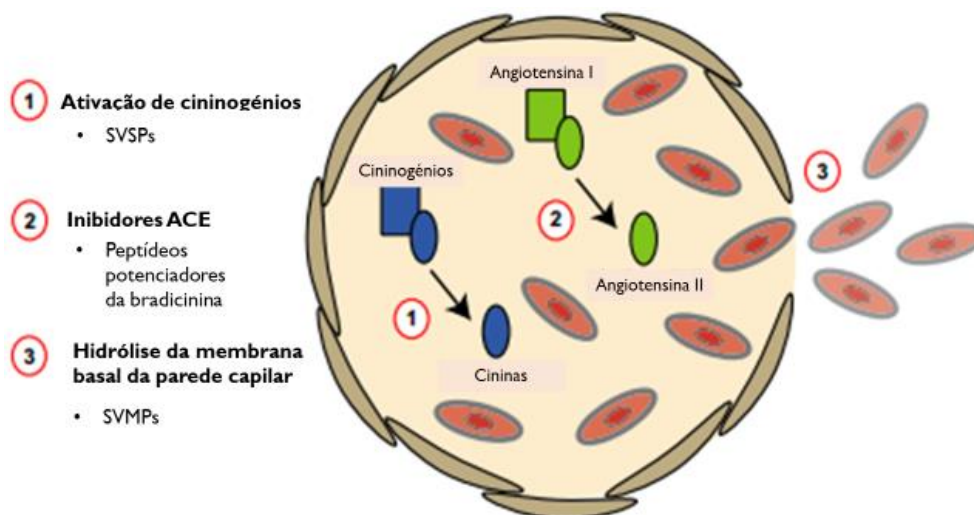


Figura 6: Alvos de toxinas que causam efeitos cardiovasculares. Adaptado de [75]

5.3. Neurotoxicidade

A neurotoxicidade é outro mecanismo de toxicidade apresentada nos envenenamentos por cobras. A maior parte das neurotoxinas (i.e., bloqueadores de canal iónico e bloqueadores de recetores de membrana) atua no sistema nervoso periférico, sendo a junção neuromuscular o alvo favorito, produzindo dois tipos de bloqueio, de acordo com o local de ação:

- pré-sináptico (β -neurotoxinas), danificando de forma irreversível o terminal pré-sináptico;
- pós-sináptico (α -neurotoxinas), que se ligam ao recetor nicotínico da acetilcolina.

As neurotoxinas, pouco características das *Viperidae*, levam à paralisia neuromuscular aguda, relevante causa de morbidade e mortalidade. [96]

5.3.1. Neurotoxinas pré sinápticas (β -neurotoxinas)

São toxinas que afetam a liberação de acetilcolina (ACh) a partir da membrana pré-sináptica. Várias neurotoxinas pré-sinápticas estão relacionadas com a atividade das enzimas PLA2 em venenos de cobra. Estas β -neurotoxinas desempenham um papel fundamental no envenenamento, bloqueando a transmissão na junção neuromuscular sem afetar a sensibilidade da placa terminal do motor ao ACh. São responsáveis por uma elevada toxicidade e insuficiência respiratória. [97,98] Estas toxinas foram identificadas em venenos de quatro famílias de cobras venenosas: *Crotalidae*, *Elapidae*, *Hydrophiidae* e *Viperidae*. [3]

5.3.2. Neurotoxinas pós sinápticas (α -neurotoxinas)

As α -neurotoxinas afetam a membrana pós-sináptica, evitando a abertura de canais iônicos, e perturbam a circulação neuromuscular, ao ligar-se com alta afinidade aos recetores nicotínicos pós-sinápticos de acetilcolina na junção neuromuscular esquelética. [99,100] Este efeito leva à morte por asfixia. [3] As α -neurotoxinas foram descritas mais nos venenos das famílias de cobras venenosas *Elapidae* e *Hydrophiidae*. [97]

5.4. Sinergismo entre toxinas

Quando o efeito conjunto é maior que a soma das suas potências individuais, a combinação é descrita como sinergismo. [101] O sinergismo é um fenómeno significativo presente nos venenos de cobra que pode ser uma estratégia evolutiva para potenciar a toxicidade. Existe sinergismo entre diferentes toxinas ou complexos de toxinas em vários venenos de cobra, tendo normalmente as PLA2 (toxinas ou subunidades) como as principais intervenientes. Para além destas, também as SVMP, as SVSP e as 3FTx desempenham papéis essenciais em processos sinérgicos, os quais culminam em atividades farmacológicas mais potentes, inclusive potenciando a toxicidade resultante. Por exemplo, PLA2 e SVMP (enquanto toxinas miotóxicas) aumentam sinérgicamente a liberação de ATP das células musculares ou endoteliais danificadas, levando à acumulação de adenosina. PLA2 com propriedades antiplaquetárias, em sinergismo com desintegrinas e lectinas tipo cerinas, induzem trombocitopenia. Por outro lado, PLA2 altamente catalíticas também atuam em sinergismo com outras toxinas, para induzir hemólise e trombocitopenia. [29]

Os efeitos sinérgicos entre diferentes toxinas são também um aspeto a considerar na conceção de antivenenos. A seleção da provável toxina ou subunidade venenosa não tóxica,

que pode potencializar a toxicidade de outra toxina/subunidade através do sinergismo, ou talvez dos seus análogos sintéticos para a concepção de antiveneno, proporciona potencialmente uma melhor eficácia e segurança, bem como um menor custo de tratamento. Esta panorâmica dos efeitos sinérgicos já descobertos em vários venenos de cobra e os seus possíveis mecanismos, juntamente com os métodos para avaliar o sinergismo é significativo para o desenvolvimento de antivenenos ou inibidores mais eficientes. [102,103]

6. Envenenamento

O envenenamento é o resultado da injeção de uma secreção tóxica altamente especializada, chamada veneno, por uma cobra venenosa no ser humano, geralmente em situações acidentais. Dependendo do tamanho das presas, o veneno é injetado por via subcutânea ou de forma intramuscular. Pode também chegar à vítima por contato com a camada exterior da pele. Uma vez no organismo alvo, algumas toxinas venenosas exercem efeitos patológicos locais nos tecidos vizinhos, enquanto outras são distribuídas de forma sistémica. [7]

6.1. Manifestações clínicas

Venenos de cobras venenosas, seja através de mordedura ou quando pulverizados, podem causar uma série de sinais e sintomas, constituindo emergências que podem ser agudas ou graves, podendo culminar em danos físicos nefastos. As manifestações clínicas estão também dependentes da cobra em questão e respetivo tipo de veneno produzido. [5] Serpentes da família *Elapidae* (kraits, mambas, marinhas, etc.) e da família *Viperidae* são, quase sempre, responsáveis pelos casos de envenenamento mais severo nos humanos. [8]

Assim, os primeiros sinais e sintomas de envenenamento por víboras são geralmente dor e edema na região da mordedura. A intensidade da dor tende a aumentar com o tempo e a irradiar, enquanto o edema progride, sendo estas manifestações indicativas de envenenamento. A equimose pode ser vista no local da mordedura, não necessariamente associada a uma desordem de coagulação, mas a alterações da permeabilidade capilar que permitem a fuga dos eritrócitos. [18] As pessoas podem igualmente sofrer distúrbios hemorrágicos, passíveis de se tornarem fatais, tal como a falência de órgãos, por exemplo a nível renal. [5] Com o passar de horas, geralmente nas primeiras 4-12h, podem então surgir manifestações sistémicas, como alterações gastrointestinais sinais neurológicos, como a ptose

oftalmoplegia, diplopia e disartria, paralisia do esfíncter, disfagia e outras manifestações gerais como vertigens e dispneia. [18] Frequentemente causa paralisia no organismo-alvo, o qual pode inclusive impedir a respiração, sendo uma das situações mais críticas e necessitadas de atenção médica imediata. [5] No caso de víboras os envenenamentos com manifestações neurológicas são tidos como uma característica comum, e normalmente iniciam com sintomas locais escassos. [18]

No que concerne à patogênese envolvida nos danos e inflamações dos tecidos locais induzidos por determinados componentes, na sua maioria PLA2 miotóxicas e SVMP, esses mesmos efeitos acabam por gerar uma resposta inflamatória, que causa dor e edema. As células residentes no tecido, tais como macrófagos e mastócitos, são ativadas e contribuem para o processo inflamatório, que pode levar à resolução do dano tecidual ou piorar o mesmo. Por sua vez, a inflamação é seguida de respostas reparadoras e regenerativas que, dependendo do equilíbrio entre os vários processos no tecido, podem resultar em regeneração funcional ou em cicatrizes e perda de tecidos. [42]

Em situações de extrema gravidade, pode então ocorrer uma destruição local dos tecidos, que pode levar a incapacidade permanente e/ou a amputação de membros. No pior cenário possível, um envenenamento causado por uma cobra pode mesmo levar à morte. [5]

Embora com frequência reduzida, é possível o desenvolvimento de síndrome compartimental após a inoculação do veneno, com o aparecimento progressivo das manifestações clínicas descritas como 6 Ps: *parestias* (parestesia), *pain* (dor), *pressure* (pressão), *palor* (palidez), *paralysis* (paralisia) e *pulseless* (sem pulso). [18]

A gravidade do quadro clínico está associada a diferentes níveis de envenenamento: 0 (sem envenenamento), I (ligeiro), II (moderado) e III (severo) - classificação tida em conta por alguns autores (Tabela 2). [18]

Tabela 2: Manifestações clínicas dos diferentes níveis de envenenamento. Adaptada de [18]

Nível 0 (Sem envenenamento)	Ausência de reações locais ou sistêmicas. Apenas marcas da mordedura e/ou dor mínima.
Nível 1 (Envenenamento ligeiro)	Dor intensa. Edema local moderado que pode progredir para bolha. Ausência de sintomas sistêmicos.
Nível 2 (Envenenamento moderado)	Progressão do edema. Equimose. Linfocite. Adenopatias ou manifestações sistêmicas (como hipotensão arterial moderada, náuseas, vômitos, diarreia, dores abdominais, tonturas, desconforto generalizado, entre outras). Sintomas neurológicos: ptose palpebral, oftalmoplegia, disartria, disfagia, letargia, vertigem ou parestesia, etc.
Nível 3 (Envenenamento severo)	Edema local maior que pode ir além do membro lesionado. Dor muito intensa. Manifestações sistêmicas graves (rabdomiólise, coagulação intravascular dispersa, tendência à hemorragia, insuficiência renal aguda, insuficiência respiratória, choque, hemólise, desequilíbrio de fluidos e eletrólitos). Sintomas neurológicos graves.

6.2. Tratamento

Os antivenenos, cujo principal objetivo e meio de ação reside na criação de uma resposta imunitária reforçada face ao veneno, são considerados tratamentos eficazes para prevenir ou reverter a maioria dos efeitos nocivos causados pelas mordeduras, a solução de referência face a essa situação. Estão incluídos na lista de Medicamentos Essenciais da OMS e devem fazer parte de qualquer *kit* de cuidados de saúde primários em áreas de risco. A sua disponibilidade e acessibilidade, juntamente com a sensibilização das comunidades e profissionais de saúde para os métodos de prevenção primária, são as melhores formas de atuar, particularmente em zonas de maior risco, nas quais seja comum e/ou provável a ocorrência de casos, no sentido de limitar consequências mais graves, contribuindo para a informação e preparação perante a necessidade de lidar com a situação. [5]

É importante recolher informações sobre o local da ocorrência, a hora do dia e sobre a descrição geral da cobra (por exemplo as víboras europeias possuem aspetos característicos comuns), de forma a identificar o antiveneno mais adequado. [18]

Atualmente, existe uma necessidade urgente de assegurar a disponibilidade de antivenenos seguros, eficazes e acessíveis, particularmente para os dos países em desenvolvimento e de melhorar o controlo regulamentar sobre o fabrico, importação e venda de antivenenos. [105]

Como referido anteriormente, a imunoterapia inerente ao antiveneno é a terapêutica de primeira linha, a única terapia específica disponível, contudo tal apenas se aplica se as imunoglobulinas utilizadas (derivadas de outros animais como cavalos) forem resultado de processos de purificação, certificados, o que, infelizmente, muitas vezes não se verifica por diversos fatores. O antiveneno é indicado em casos de envenenamento sistémico (graus II e III), que representam metade de todos as situações de mordida de cobra, mas podem estender-se também a pacientes pertencentes ao grau I com edema extenso e que sofrem de uma incapacidade prolongada. A administração deste deve ocorrer o mais cedo possível, de preferência até 10 horas após a ocorrência, e por via intravenosa. [4,10]

Paralelamente, existem, naturalmente, linhas orientadoras de primeira assistência a seguir após uma mordida de uma cobra suspeita de ser venenosa, independentemente da necessidade posterior de deslocação a uma unidade clínica. [5] (Anexo 1)

7. Potencial terapêutico

As proteínas e compostos peptídicos de venenos de cobra foram identificados como sendo na sua maioria muito estáveis, através de estruturas moleculares na sua maioria resistentes à degradação da protease e que podem contornar outros mecanismos imunitários das presas. Tem sido demonstrado que estes compostos influenciam e condicionam importantes mecanismos fisiológicos, tais como regulação da pressão arterial, homeostasia, processos do sistema nervoso, etc. As mais recentes tecnologias analíticas tornaram possível aprofundar o conhecimento já existente acerca de alguns dos principais constituintes, tal como investigar outros ainda desconhecidos. Na sua maioria, a aplicação prática neste âmbito reside na mimetização desses mesmos compostos, aproveitando as propriedades fármaco e toxicológicas evidenciadas, propícias à utilização em variadas patologias. [23]

7.1. Propriedades antimicrobianas

Os peptídeos antimicrobianos encontram-se em vários organismos e fazem parte do seu sistema imune, participando na defesa do hospedeiro e contribuindo para a sobrevivência destes organismos em ambientes ricos em micróbios. Os venenos de cobra contêm peptídeos biologicamente ativos, que são uma fonte rica de possíveis novos agentes antimicrobianos. Além disso, várias toxinas de cobra bem caracterizadas, tais como PLA2, SVMP e LAAO têm demonstrado efeitos contra muitos microrganismos. [106]

Na verdade, as infecções bacterianas são uma das causas importantes de morte e um problema de saúde vital que necessita de novas fontes de agentes antibacterianos. [107] Muitos estudos antimicrobianos mostram que um grande número de componentes do veneno de cobra tem propriedades antibacterianas, incluindo LAAO e PLA2 que hidrolisam os fosfolípidos e que podem atuar, possivelmente, na superfície celular bacteriana. [108-111]

Por outro lado, existem também exemplos de propriedades antivirais - foram demonstrados os efeitos da crotocina, da PLA2 e dos componentes da crotapotina isolada do veneno de *Crotalus durissus terrificus*, uma cascavel, sobre o ciclo de vida do vírus da hepatite C; antifúngicas – venenos de *Crotalus durissus cumanensis* e *Crotalus durissus terrificus* demonstraram ter uma atividade antifúngica uma vez que vários componentes do veneno (como a crotamina) inibem o crescimento de fungos; e antiparasitárias – vários venenos de cobra inibem o crescimento de alguns parasitas, incluindo o *Trypanosoma cruzi* e espécies de *Leishmania* (este efeito pode estar ligado à atividade de LAAO). [3]

7.2. Propriedades anticancerígenas e imunoterapêuticas

Os venenos citotóxicos têm como alvos locais celulares específicos. Estas citotoxinas podem interagir com as lipoproteínas presentes na membrana plasmática das células para provocar a retração. Assim, os efeitos citotóxicos de componentes de veneno de cobra têm o potencial de degradar/destruir as células tumorais. [3]

A investigação nesta área, através de abordagens multidisciplinares, incluindo *screening* molecular, proteômica, genômica e ensaios farmacológicos *in vitro*, e *in vivo*, permitiu a identificação e caracterização de moléculas altamente específicas de venenos de cobra com capacidade de inibir as funções da integrina. Estas proteínas anti adesivas do veneno da cobra pertencem a diferentes famílias (fosfolipases, desintegrinas, lectinas do tipo C e SVMP). As integrinas exibem diversas atividades farmacológicas - antitumoral, anti-angiogênica e/ou efeitos pró-apoptóticos. Os recetores de integrina suportam a adesão das células a vários substratos, parecendo muito provável que o *scaffold* geral de algumas desintegrinas poderia ser utilizado como um protótipo para a conceção de medicamentos para novas terapias antimetastáticas através do bloqueio da adesão das células tumorais e da angiogênese tumoral. [33,112]

Por outro lado, têm sido reveladas novas utilizações no diagnóstico das doenças cardiovasculares e o desenho de agentes terapêuticos na trombose arterial, osteoporose e crescimento de tumores e metástases relacionadas com a angiogênese. A triflavina do veneno

da víbora *Trimeresurus flavoviridis*, por exemplo, foi uma das primeiras que mostrou inibir a angiogênese tanto *in vitro* como *in vivo*. [33]

As PLA2 possuem também propriedades antitumorais e anti-angiogênicas. O BthA-I, uma PLA2 não tóxica isolada do veneno de *Bothrops jararacussu*, apresenta um efeito no adenocarcinoma da mama, bem como na leucemia T humana e na ascese Erlich (tumor). [33, 113]

Para além dos exemplos referidos, recentemente foram também descritos potenciais efeitos antitumorais (bloqueio da adesão, migração, proliferação e invasão de diferentes linhas de células cancerígenas) na lebecetina e na lebectina, purificadas do veneno de *Macrovipera lebetina*. São os únicos *snaclecs*, até hoje, com um evidente efeito antitumoral, para além da sua atividade antiagregante. [67]

As SVMP e PLA2 são as principais classes de toxinas enzimáticas com atividade imunomoduladora. No entanto, LAAO e SVSP também podem ter um potencial imunoterapêutico relevante, representando plataformas promissora para a conceção de estratégias farmacológicas para tratar doenças inflamatórias e do sistema imunitário. A maioria destas toxinas exercem atividade pró-inflamatória e ativam os componentes do sistema imunitário, indicando que podem ajudar na terapêutica de imunodeficiências. Tais descobertas, associadas a estudos adicionais para explorar estes efeitos biológicos, permitirão desenvolver novas abordagens imunoterapêuticas num futuro próximo. [114]

7.3. Propriedades analgésicas

Algumas toxinas características de venenos de cobra possuem potencial aplicação como analgésicos. Por exemplo, a crotalfina é um peptídeo de 14 aminoácidos com uma ligação dissulfeto, e tem propriedades analgésicas através da dessensibilização dos canais iónicos TRPA1. [115] A crotalfina é um análogo estrutural de um novo peptídeo analgésico, identificado pela primeira vez no veneno bruto da cascavel *Crotalus durissus terrificus* da América do Sul. [116]

Por outro lado, a mesma toxina crotalfina é capaz de induzir analgesia através da modulação de recetores μ, δ, κ -opióides e canais TRPV1, enquanto a mambalgina, um 3FTX de veneno de *Dendroaspis polylepis*, induz a analgesia inibindo os canais ASIC. [4]

7.4. Propriedades cosméticas e de diagnóstico

O creme cosmético antirrugas SYN-AKE, disponível no mercado, tem como composto ativo um peptidomimético concebido utilizando *waglerin* (uma α -neurotoxina, antagonista de nAChR, da víbora *Tropidolaemus wagleri*) como modelo. [4,23]

Toxinas ou fármacos projetados com base nas toxinas encontraram aplicação como ferramentas de diagnósticos e, quatro enzimas do veneno das *Viperidae* são utilizadas para este fim. Evidencia-se o Textarin: Teste de Ecarin, utilizado para detetar Lúpus Anticoagulante. [117] Este é composto por uma SVSP do veneno da cobra australiana *Pseudonajatextilis* e uma SVMMP do veneno da víbora *Echis carinatus* (Ecarin). [4,118]

O Protac[®] utiliza uma SVSP isolada do veneno de *Agkistrodon contortix*, a qual ativa a proteína plasmática C e é utilizada na determinação dos níveis de proteína C e de proteína S no sangue. [119]

A crotamina (uma mioneurotoxina, componente principal do veneno da sul-americana *Crotalus durissus terrificus*) interage electrostaticamente com o DNA. Penetra na membrana através da ligação de proteoglicanos de sulfato de heparano. Pode ser utilizado como transportador de biomoléculas, constituindo ferramenta para estudos do cancro. [23]

7.5. Aplicações dos fatores de crescimento - NGF e VEGF

O NGF possui propriedades de neuroprotecção e regeneração nervosa periférica. [106] É sintetizado nas glândulas venenosas das serpentes, sendo semelhante na estrutura e na gama de atividade biológica ao NGF dos mamíferos. Contudo, em comparação com estes últimos, pode ser mais facilmente isolado na forma ativa do veneno natural da serpente de origem. [120]

Sendo uma possibilidade este possuir também propriedades antitumorais, foram já realizados vários estudos nesse sentido, nomeadamente em ratos. Segundo os resultados, o mecanismo antitumoral do NGF causa um aumento da infiltração linfocítica no tumor, um aumento dos níveis de IL-1 β e TNF- α no soro de ratos portadores de tumor, e um aumento de glicólise aeróbica. [121] No mesmo seguimento, também o VEGF aparenta possuir propriedades antitumorais (estimula a angiogénese), para além de poder ser utilizado no

tratamento da doença renovascular crônica (induz hipotensão e a proliferação de células vasculares endoteliais). [106]

7.6. Outros exemplos

Para além dos tópicos supramencionados, as potencialidades terapêuticas associadas aos constituintes típicos de venenos de cobra verificam-se em casos mais individualizados. São exemplos desta premissa a α -Bungarotoxina (presente em venenos de *Elapidae*), que desempenhou um papel significativo na compreensão da patologia da miastenia gravis, uma doença que provoca a fraqueza dos músculos esqueléticos. [3] Por outro lado, as propriedades hidrofílicas das hialuronidases facilitam a difusão do veneno no tecido da vítima, característica que pode, da mesma forma, promover a difusão de fármacos e cosméticos. [106]

8. Descoberta de novos fármacos e formulações

8.1. Fármacos aprovados e comercializados

Com o avanço da biotecnologia moderna, a utilização de componentes de venenos animais como potenciais agentes terapêuticos atraiu a atenção da indústria farmacêutica. Nas últimas décadas, vários potenciais medicamentos em uso ou em ensaios clínicos foram isolados ou derivados de proteínas de veneno de cobra. [3]

Há um desenvolvimento contínuo de novos medicamentos a partir de constituintes de venenos de cobra, essencialmente para a área da coagulopatia e hemostasia, mas também com vista a agentes anticancerígenos, uma vez que, tal como abordado, existe enorme potencial nesse sentido. [105] Os fármacos e respetivos medicamentos já produzidos têm por base a estrutura de determinadas moléculas, não tendo sido até agora produzido nenhum a partir da molécula nativa purificada. Esses peptidomiméticos possuem benefícios comparativamente a outros agentes (como anticorpos) utilizados para o tratamento de certas patologias: tempo de semivida mais curto; inibição reversível; imunogenicidade muito baixa. [33]

Na lista de fármacos derivados de proteínas de venenos de cobra aprovados pela FDA surge, enquanto primeiro medicamento derivado de venenos animais, o captopril – um potente inibidor da enzima de conversão da angiotensina, enzima responsável pela conversão da angiotensina I em angiotensina II (iECA), utilizado no tratamento da hipertensão e a insuficiência cardíaca congestiva. [4] O captopril foi, em 1975, uma descoberta do vencedor

do Prémio Nobel Sir John Vane, posteriormente comercializado pela farmacêutica Squibb. O medicamento é um biomimético de um peptídeo potenciador de bradicinina, tendo sido isolado do veneno da *Bothrops jararaca* (víbora da ponta de seta brasileira). [122,123]

Outros conhecidos exemplos são o Aggrastat[®] (Tirofiban) e o Integrilin[®] (Eptifibatide), dois fármacos derivados de desintegrinas de veneno de cobra e disponíveis no mercado como agentes antiplaquetários. [3,124,125]

O Aggrastat[®] constitui um inibidor da glicoproteína plaquetária (GP) IIb/IIIa. Foi desenvolvido com base no motivo da sequência RGD (Arg-Gly-Asp), a partir de desintegrinas isoladas do veneno de *Echis carinatus*. O medicamento foi aprovado pela FDA a 14 de maio de 1998 e é utilizado para o tratamento de doentes com enfarte do miocárdio. [3,4,126,127]

O Integrilin[®] (Eptifibatide), por sua vez, constitui uma injeção dada a doentes com síndrome coronária aguda, para diminuir a probabilidade de um novo ataque cardíaco, incluindo pacientes submetidos a intervenção coronária percutânea. [128] O Integrilin é um peptídeo destinado a imitar uma pequena porção do inibidor da glicoproteína (GP) IIb/IIIa barbourin encontrado no veneno da *Sistrurus miliaris barbouri* (cascavel pigmeu do Sudeste). [129] A integrina GP IIb/IIIa desempenha um papel fundamental na mediação da agregação plaquetária. No entanto, o Intergrilin, ao contrário da Aggrastat, é desenvolvido com base na sequência KGD (Lys-Gly-Asp) da desintegrina. [3] A FDA aprovou o Integrilin em 1998, e o medicamento é utilizado para o tratamento de doentes com síndrome coronária aguda. [4,128]

Para além dos referidos, foram surgindo outros nomes. Defibrase[®] (Batroxobina) não está clinicamente aprovado nos EUA, mas foi aprovado para utilização noutros países. A batroxobina é uma serinoprotease tipo trombina, isolada do veneno de duas subespécies, *Bothrops atrox* e *Bothrops moojeni*. [130] A batroxobina converte fortemente fibrinogénio em fibrina, através da libertação de fibrinopeptídeo. É utilizada para tratar várias patologias, incluindo acidentes vasculares cerebrais, doenças pulmonares, embolia, trombose venosa profunda, enfarte do miocárdio e hemorragia perioperatória. Da mesma forma, o Reptilase (Hemocoagulase) deriva do veneno da cobra brasileira *Bothrops atrox*. Tem sido utilizado em cirurgia plástica, cirurgia abdominal e vitrectomia humana. [131] Exanta[®] (Ximelagatran) é um anticoagulante inibidor de trombina que tem sido usado como anticoagulante e inibidor da trombina. [3,4,132]

8.2. Fármacos e formulações em desenvolvimento

Existem alguns medicamentos à base de toxinas que estão atualmente a ser aprovados para a fase III dos ensaios clínicos e encontram-se em várias fases de desenvolvimento com horizontes promissores.

A alfimeprase é uma proteína recombinante da enzima P-I metaloproteinase fibrolase com atividade trombolítica, originalmente isolada do veneno da *Agkistrodon contortrix*, utilizada para o tratamento de pacientes com oclusão arterial periférica. [4]

Viprinex™ (Ancrod) é uma SVSP isolada do veneno da víbora *Agkistrodon rhodostoma*. Está a ser testado como um agente desfibrinogénico para utilização no tratamento de AVC isquémico agudo para atenuar ou bloquear a formação de coágulos adicionais. [33]

Botrocetin é um agregado plaquetário do veneno de *Bothrops jararaca* que aumenta a afinidade do fator AI do domínio von Willebrand para o receptor plaquetário da glicoproteína Ibalpha (GPIbalpha). A trombina, como a serina proteínase RVV-V do veneno de *Vipera russelli*, é um ativador do fator V, um dos componentes da cascata de coagulação do sangue. [3]

Duas proteínas venenosas da serpente castanha australiana, *Pseudonaja textilis*, estão atualmente em desenvolvimento como terapêutica (QRxPharma). A primeiro é um agente pró-coagulante, homólogo de ativador do fator Xa, enquanto a outra, denominada Textilnina-I, é um inibidor de plasmina, possuindo propriedades anti-hemorrágicas. [33]

Existem também tratamentos baseados em proteínas ativas e não tóxicas de veneno de cobra, como por exemplo a contortrostatina de *Agkistrodon contortrix* e a eristostatina de *Eristocophis macmahoo*. [33]

Outras SVSP fibrinogenolíticas estão atualmente em desenvolvimento, incluindo 'hemocogulase agkistrodon' isoladas da *Deinagkistrodon acutus* e 'crotalase' da cascavel diamante oriental (*Crotalus adamanteus*). Ambas estas SVSP estão em desenvolvimento como terapêuticas anticoagulantes, com indicações previstas incluindo a diminuição dos tempos de coagulação durante os procedimentos cirúrgicos. Várias toxinas venenosas isoladas do veneno da cobra castanha oriental (*P. textilis*) estão também atualmente em desenvolvimento, como agentes hemostáticos. [75]

No geral, as moléculas anteriormente referidas encontram-se na fase de desenvolvimento, em ensaios clínicos, podendo, no futuro, vir a constituir medicamentos e/ou formulações comercializadas por todo o mundo. [33]

9. Considerações finais

Apesar dos consideráveis e constantes avanços na investigação científica, nos métodos tecnológicos, no conhecimento, falta ainda identificar e estudar uma boa porção dos componentes dos venenos de cobra. [3] As toxinas mais abundantes e relevantes, tal como referenciado, têm sido amplamente estudadas nas últimas décadas. No entanto, a maioria das classes de proteínas de veneno de cobra, menores, continuam a ser pouco exploradas, sendo que apresentam igualmente um enorme potencial de aplicação em diversas áreas. Uma das principais adversidades ao estudo destas proteínas reside na impossibilidade de obter quantidades suficientes para uma investigação exaustiva. [106]

O objetivo de continuar os estudos nesta área reside na importância que novas descobertas permitam, por um lado, melhorar a eficácia e variedade dos antivenenos e, por inerência, o tratamento de mordidas de cobra; [4] por outro, a existência de fármacos já aprovados e comercializados, bem como outros ainda na fase de desenvolvimento, são evidências do potencial terapêutico inerente a uma vasta gama dos constituintes dos venenos de cobras, das mais variadas espécies. Esse potencial deriva das mesmas propriedades farmacológicas que estão na base da toxicidade característica dos venenos, sendo importante definir e consolidar soluções de tratamento para casos de mordidas destes animais, nomeadamente nos países em desenvolvimento, nos quais a frequência de situações de envenenamento é elevada. Também outras medidas como a promoção da informação nas próprias comunidades e da própria acessibilidade aos cuidados necessários constituem pontos de melhoria.

O paralelismo entre a toxicidade e o potencial terapêutico é uma realidade – toxinas comumente associadas a incontáveis envenenamentos em todo o mundo podem ter aplicabilidade em inúmeras patologias, desde o cancro a doenças cardiovasculares.

10. Referências Bibliográficas

- [1] FRY, B.G.; ROELANTS, K.; CHAMPAGNE, D.E.; SCHEIB, H.; TYNDALL, J.D.; KING, G.F.; NEVALAINEN, T.J.; NORMAN, J.A.; LEWIS, R.J.; NORTON, R.S.; RENJIFO, C., DE LA VEJA, R.C. - **The toxicogenomic multiverse: Convergent recruitment of proteins into animal venoms.** *Annu. Rev. Genom. Hum. Genet.* 10 (2009) 483-511.
- [2] MEBS, D - **Venomous and Poisonous Animals: A Handbook for Biologists, Toxicologists and Toxinologists, Physicians and Pharmacists.** CRC Press: Boca Raton, FL, USA, 2002. ISBN 0-8493-1264-7.
- [3] EL-AZIZ, T., SOARES, A., STOCKAND, J. - **Snake Venoms in Drug Discovery: Valuable Therapeutic Tools for Life Saving.** *Toxins.* 11 (2019) 54.
- [4] FERRAZ, C. ARRAHMAN, A., XIE, C., CASEWELL, N., LEWIS, R., KOOL J., CARDOSO, F. - **Multifunctional toxins in snake venoms and therapeutic implications: from pain to hemorrhage and necrosis.** *Frontiers in Ecology and Evolution.* 7 (2019).
- [5] **Snakebite envenoming** - WHO [Acedido a 25 de junho de 2020]. Disponível na internet: <https://www.who.int/snakebites/disease/en/>
- [6] SMITH, M.A. - **The Classification of Snakes in accordance with their Dentition and the Evolution of the Poison Fang: Section of Tropical Diseases and Parasitology.** *Proc. R. Soc. Med.* 27 (1934) 1081-1083.
- [7] GUTIÉRREZ J.M., CALVETE J.J., HABIB A.G., HARRISON R.A., WILLIAMS D.J., WARRELL D.A. - **Snakebite envenoming.** *Nat. Rev. Dis. Primers.* (2017) 17063.
- [8] SANHAJARIYA, S., DUFULL, S., ISBISTER, G., **Pharmacokinetics of Snake Venom.** *Toxins.* 10 (2018) 73.
- [9] MALINA, T., KRECSÁK, L., WESTERSTRÖM, A., SZEMÁN-NAGY, G., GYÉMÁNT, G., M-HAMVAS, M., ROWAN, E., HARVEY, A., WARRELL, D.A., PÁL, B., RUSZNÁK, Z., VASAS, G. - **Individual variability of venom from the European adder (*Vipera berus berus*) from one locality in Eastern Hungary.** *Toxicon.* 135 (2017) 59-70.
- [10] CHIPPAUX, J., **Epidemiology of snakebites in Europe: A systematic review of the literature.** *Toxicon.* 59 (2012) 86-99.
- [11] VORA, D., VORA, J., **An Epidemiological Study of Venomous Snake Bites: A Hospital Based Analysis.** *Natl J Community Med.* 10 (2019) 474-478.

- [12] **Víboras e cobras: como agir em caso de picada ou mordedura?** – INEM [Acedido a 29 de junho de 2020] Disponível na internet: <https://www.inem.pt/2019/06/14/viboras-e-cobras-como-agir-em-caso-de-picada-ou-mordedura/>
- [13] MARQUES DA COSTA, P., SOUSA, R., LOBO ANTUNES, M., AZEVEDO, S., ARAÚJO E SÁ, G., MACHADO, M.C. - **Hospital Protocol for Snakebite Victims Management**, *Acta Med Port.* 27 (2014) 141-145.
- [14] **Atlas dos Anfíbios e Répteis terrestres de Portugal** - ICNF [Acedido a 29 de junho de 2020] Disponível na internet: <http://www2.icnf.pt/portal/pn/biodiversidade/patrinatur/atlas-anfi-rept/repteis#v>
- [15] CARRANZA, S., ARNOLD, E.N., WADE, E., FAHD, S. - **Phylogeography of the false smooth snakes, *Macroprotodon* (Serpentes, Colubridae): mitochondrial DNA sequences show European populations arrived recently from Northwest Africa**. *Molecular Phylogenetics and Evolution.* 33 (2004) 523-532.
- [16] LOUREIRO, A., FERRAND DE ALMEIDA, N., CARRETERO, M.A. & PAULO, O.S. (eds.): **Atlas dos Anfíbios e Répteis de Portugal**. 1ª edição, Instituto da Conservação da Natureza e da Biodiversidade, Lisboa. 2008. ISBN: 978-972-775-197-6.
- [17] MARTÍN SIERRA, C., NOGUÉ XARAU, S. - **Snake venom poisoning in the Iberian Peninsula**. *SEMERGEN - Medicina de Familia.* 37 (2011) 136-141.
- [18] MARTIN, C., NOGUÉ, S. - **Changes in viper bite poisonings. Novedades en el envenenamiento por mordedura de víbora**. *Med Clin.* (2015) 132-136.
- [19] KINI, R.M. - **Molecular moulds with multiple missions: Functional sites in three-finger toxins**. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 29 (2002) 815–822.
- [20] YAMAZAKI, Y., HYODO, F., MORITA, T. - **Wide distribution of cysteine-rich secretory proteins in snake venoms: Isolation and cloning of novel snake venom cysteine-rich secretory proteins**. *Arch. Biochem. Biophys.* 412 (2003) 133–141.
- [21] KOSTIZA, T., MEIER, J. - **Nerve growth factors from snake venoms: Chemical properties, mode of action and biological significance**. *Toxicon.* 34 (1996) 787–806.
- [22] HIGUCHI, S., MURAYAMA, N., SAGUCHI, K., OHI, H., FUJITA, Y., CAMARGO, A.C.M., OGAWA, T., DESHIMARU, M., OHNO, M. - **Bradykinin-potentiating peptides and C-type natriuretic peptides from snake venom**. *Immunopharmacology.* 44 (1999) 129-135.
- [23] MUNAWAR, A., ALI S., AKREM, A., BETZEL C. - **Snake Venom Peptides: Tools of Biodiscovery**. *Toxins.* 10 (2018) 474.

- [24] JUÁREZ, P., SANZ, L., CALVETE, J.J. - **Snake venomomics: characterization of protein families in *Sistrurus barbouri* venom by cysteine mapping, N-terminal sequencing, and tandem mass spectrometry analysis.** *Proteomics*. 4 (2004) 327-38.
- [25] JUÁREZ, P., WAGSTAFF, S., OLIVER, J., SANZ, L., HARRISONRA, CALVETE, J. **Molecular cloning of disintegrin-like transcript BA-5A from *Bitis arietans* venom gland cDNA library: a putative intermediate in the evolution of the long chain disintegrin bitistatin.** *J Mol Evol*.63 (2006) 142-52.
- [26] CALVETE, J., MARCINKIEWICZ, C., MONLEÓN, D., ESTEVE, V., CELDA, B., JUAREZ, P., SANZ, L. - **Snake venom disintegrins: evolution of structure and function.** *Toxicon*. 40 (2005) 1063-74.
- [27] CASEWELL, N., WAGSTAFF, S.C., WÜSTER, W., COOK, D., BOLTON, F., KING, S., PLA, D., SANZ, L., CALVETE, J., HARRISON, R.A. - **Medically important differences in snake venom composition are dictated by distinct postgenomic mechanisms.** *PNAS*. 111 (2014) 9205-9210.
- [28] MACKESSY S. - **Handbook of Venoms and Toxins of Reptiles.** Boca Raton: Taylor & Francis Group, 2010. ISBN 978-0-8493-9165-1.
- [29] XIONG, S., HUANG, C. - **Synergistic strategies of predominant toxins in snake venoms.** *Toxicology Letters*. 287 (2018) 142-154.
- [30] ROLDÁN-PADRÓN, O., CASTRO-GUILLÉN, J.L., GARCÍA-ARREDONDO, J.A., CRUZ-PÉREZ, M.S., DÍAZ-PEÑA, L.F., SALDAÑA, C., BLANCO-LABRA, A., GARCÍA-GASCA, T. - **Snake Venom Hemotoxic Enzymes: Biochemical Comparison between *Crotalus* Species from Central Mexico.** *Molecules*. 24 (8) (2019) 1489.
- [31] TERRA, A., MOREIRA-DILLA, L.S., SIMÕES-SILVA, R., MONTEIRO, J.R., CAVALCANTE, W., GALLACCI, M., BARROS, N., NICOLETE, R., TELES, C.B.J., MEDEIROS, P., ZANCHI, F., ZULIANI, J., CALDERON, L., STÁBELI, R., SOARES, A. - **Biological characterization of the Amazon coral *Micrurus spixii* snake venom: Isolation of a new neurotoxic phospholipase A2.** *Toxicon* 103 (2015) 1-11.
- [32] MATSUI, T., FUJIMURA, Y., TITANI, K. - **Snake venom proteases affecting hemostasis and thrombosis.** *Biochim. Et Biophys*. 1477 (2000) 146-156.
- [33] SARRAY, S., LUIS, J., EL AYEB, M., MARRAKCHI, N. - **Snake Venom Peptides: Promising Molecules with Anti-Tumor Effects.** *InTech*. 9 (2013).

- [34] PRECIADO, L.M., PEREAÑEZ, J.A. - **Low molecular mass natural and synthetic inhibitors of snake venom metalloproteinases.** *Toxin Rev.* 37 (2018) 19-26.
- [35] BIRRELL, G.W., EARL, S.T., WALLIS, T.P., MASCI, P.P., DE JERSEY, J., GORMAN, J.J., LAVIN, M.F. - **The diversity of bioactive proteins in Australian snake venoms.** *Mol. Cell Proteom.* 6 (2007) 973-986.
- [36] SERRANO, S.M.; MAROUN, R.C. **Snake venom serine proteinases: Sequence homology vs. substrate specificity, a paradox to be solved.** *Toxicon.* 45 (2005) 1115-1132.
- [37] YANG, Z.M., YU, H., LIU, Z.Z., PEI, J.Z., YANG, Y.E., YAN, S.X., ZHANG, C., ZHAO W.L., WANG, Z.Z., WANG, Y.M., TSAI, I.H. - **Serine protease isoforms in *Gloydus intermedius* venom: Full sequences, molecular phylogeny and evolutionary implications.** *J. Proteom.* 164 (2017)19-32.
- [38] ZAQUEO, K.D., KAYANO, A.M., SIMÕES-SILVA, R., MOREIRA-DILL, L.S., FERNADES, C.F., FULY, A.L., MALTAROLLO, V.G., HONÓRIO, K.M., DA SILVA, S.L., ACOSTA, G., CABALLOL, M.A., DE OLIVEIRA, E., ALBERICIO, F., CALDERON, L.A., SOARES, A.M., STÁBELI, R.G. - **Isolation and Biochemical Characterization of a New Thrombin-Like Serine Protease from *Bothrops pirajai* Snake Venom.** *BioMed Res. Int.* 2014 (2014) 1-13.
- [39] SERRANO, S.M.T. - **The long road of research on snake venom serine proteinases.** *Toxicon.* 62 (2013) 19-26.
- [40] VAN DEENEN, L.L.M., DE HAAS, G.H., HEEMSKERK, C.T. - **Hydrolysis of synthetic mixed-acid phosphatides by phospholipase A from human pancreas.** *Biochim. Biophys. Acta (BBA) -Spec. Sect. Enzymol. Subj.* 67 (1963) 295-304.
- [41] CEDRO, R.C.A., MENALDO, D.L., COSTA, T.R., ZOCCAL, K.F., SARTIM, M.A., SANTOS-FILHO, N.A., FACCIOLI, L.H., SAMPAIO, S.V. - **Cytotoxic and inflammatory potential of a phospholipase A2 from *Bothrops jararaca* snake venom.** *J. Venom. Anim. Toxins Incl. Trop. Dis.* 24 (2018) 33.
- [42] VERHEIJ, H.M., BOFF, M.C., ROTHEN, C., BRYCKAERT, M., VERGER, R., DE HAAS, G.H. - **Correlation of Enzymatic Activity and Anticoagulant Properties of Phospholipase A2.** *European Journal of Biochemistry.* 112(1980) 25-32.
- [43] RANAWAKA, U.K., LALLOO, D.G., DE SILVA, H.J., WHITE, J. - **Neurotoxicity in snakebite—the limits of our knowledge** *PLO S Neglected Tropical Diseases.* 7 (2013).

- [44] LOMONTE, B., RANGEL, J. - **Snake venom Lys49 myotoxins: from phospholipases A2 to non-enzymatic membrane disruptors.** *Toxicon*. 60 (2012) 520-530.
- [45] OTERO, R., GUTIERREZ, J., BEATRIZ MESA, M., DUQUE, E., RODRÍGUEZ, O., ARANGO, J.L., GÓMEZ, F., TORO, A., CANO, F., RODRÍGUEZ, L., CARO, E., MARTÍNEZ, J., CORNEJO, W., GÓMEZ, L.M., URIBE, F.L., CÁRDENAS, S., NÚÑEZ, V., DÍAZET, A. - **“Complications of Bothrops, Porthidium, and Bothriechis snakebites in Colombia. A clinical and epidemiological study of 39 cases attended in a university hospital,”** *Toxicon*. 40 (2002) 1107-1114.
- [46] KINI, R. - **Excitement ahead: structure, function and mechanism of snake venom phospholipase A2 enzymes.** *Toxicon* 42(8) (2003) 827-840.
- [47] KINI, R., EVANS, H. - **Correlation between the enzymatic activity, anticoagulant and antiplatelet effects of phospholipase A2 isoenzymes from Naja nigricollis venom.** *Thrombosis and Haemostasis*. 60 (2) (1998) 170-173.
- [48] KASTURI, S., GOWDA, TV. - **Purification and characterization of a major phospholipase A2 from Russell’s viper (Vipera russelli) venom.** *Toxicon*. 27(2) (1989) 229-237.
- [49] ABDELKAFI-KOUBAA, Z., MORJEN, M., SRAIRI-ABID, N., EL AYEB, M., MARRAKCHI, N. - **Snake Venom L-Amino Acid Oxidases potential biomedical applications.** *Arch. Inst. Pasteur Tunis*. 91 (2014) 15-32.
- [50] MORE, S., KIRAN, K., VEENA, S., GADAG, J. - **Purification of an L-amino acid oxidase from Bungarus caeruleus (Indian krait) venom.** *J. Venom. Anim. Toxins Incl. Trop. Dis*. 16 (2010) 60-76.
- [51] OSHIMA, G., SATO-OHMORI, T., SUZUKI, T. - **Proteinase, arginine ester hydrolase and a kinin releasing enzyme in snake venoms.** *Toxicon* 7 (1969) 229-233.
- [52] BALA, E., HAZARIKA, R., SINGH, P., YASIR, M., SHRIVASTAVA, R. - **A biological overview of Hyaluronidase: A venom enzyme and its inhibition with plants materials.** *Mater. Today: Proc*. 5 (2018) 6406-6412.
- [53] VANZOLINI, K.L., AINSWORTH, S., BRUYNEEL, B., HERZIG, V., SERAUS, M.G.L., SOMSEN, G.W., CASEWELL, N.R., CASS, Q.B., KOOL, J. - **Rapid ligand fishing for identification of acetylcholinesterase-binding peptides in snake venom reveals new properties of dendrotoxins.** *Toxicon*. 152 (2018) 1-8.

- [54] COUSIN, X., CREMINON, C., GRASSI, J., MEFLAH, K., CORNU, G., SALIOU, B., BON, S., MASSOULIE, J., BON, C. - **Acetylcholinesterase from *Bungarus* venom: A monomeric species.** *FEBS Lett.* 387 (1996) 196-200.
- [55] FROBERT, Y., CRÉMINON, C., COUSIN, X., RÉMY, M.-H., CHATEL, J.-M., BON, S., BON, C., GRASSI, J. - **Acetylcholinesterases from *Elapidae* snake venoms: Biochemical, immunological and enzymatic characterization.** *Biochim. Et Biophys. Acta (BBA) - Protein Struct. Mol. Enzymol.* 1339 (1997) 253-267.
- [56] SALES, P.B.V., SANTORO, M.L. - **Nucleotidase and DNase activities in Brazilian snake venoms.** *Comp. Biochem. Physiol. Part. C Toxicol. Pharmacol.* 147 (2008) 85-95.
- [57] DHANANJAYA, B.L., C], D.S. - **An overview on nucleases (DNase, RNase, and phosphodiesterase) in snake venoms.** *Biochem. (Mosc)* 75 (2010) 1-6.
- [58] DE ROODT, A.R., LITWIN, S., ANGEL, S.O. - **Hydrolysis of DNA by 17 snake venoms.** *Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharm.* 135 (2003) 469-479.
- [59] TRUMMAL, K., AASPOLLU, A., TONISMAGI, K., SAMEL, M., SUBBI, J., SIIGUR, J., SIIGUR, E. - **Phosphodiesterase from *Vipera lebetina* venom-structure and characterization.** *Biochimie.* 106 (2014) 48-55.
- [60] MAMILLAPALLI, R., HAIMOVITZ, R., OHAD, M., SHINITZKY, M. - **Enhancement and inhibition of snake venom phosphodiesterase activity by lysophospholipids.** *FEBS Lett.* 436 (1998) 256-258.
- [61] MCCLEARY, R.J.R., KINI, R.M. - **Non-enzymatic proteins from snake venoms: A gold mine of pharmacological tools and drug leads.** *Toxicon.* 62 (2013) 56-74.
- [62] TASOULIS, T., ISBISTER. G.K. - **A Review and Database of Snake Venom Proteomes.** *Toxins.* 9 (2017) 290
- [63] LIN, LP., LIN, Q., WANG, Y.Q. - **Cloning, expression and characterization of two C-type Lectins from the venom gland of *Bungarus multicinctus*.** *Toxicon.* 50 (2007) 411-419.
- [64] WANG, WJ. - **Agglucetin, a tetrameric C-type lectin-like venom protein regulates endothelial cell survival and promotes angiogenesis by activating integrin signaling.** *Biochemical and biophysical reserach communications.* 369 (2008) 753-760
- [65] MORITA, T. - **C-type lectin-related proteins from snake venoms.** *Current Drug targets.* 4(4) (2004) 357-373.

- [66] WEI, Q., LU, Q.M., JIN, Y., LI, R., WEI, J.F., WANG, W.Y., XIONG, Y.L. - **Purification and cloning of a novel C-type lectin-like protein with platelet aggregation activity from *Trimeresurus mucrosquamatus* venom.** *Toxicon*. 40 (2002) 1331-1338.
- [67] DENIS, D., LAMIREAU, T., LLANAS, B., BEDRY, R., FAYON, M. - **Rhabdomyolysis in European viper bite.** *Acta Paediatr.* 87 (1998) 1013-5.
- [68] KESSLER, P., MARCHOT, P., SILVA, M., SERVENT, D. - **The three-finger toxin fold: a multifunctional structural scaffold able to modulate cholinergic functions.** *J. Neurochem.* 142 (2017) 7-18.
- [69] OSIPOV, A. V., UTKI, Y. N. - **Snake venom toxins targeted at the nervous system.** *Snake Venoms*. (2015) 1-21.
- [70] BARBER, C. M., ISBISTER, G. K., HODGSON, W. C. - **Alpha neurotoxins.** *Toxicon*. 66 (2013) 47-58.
- [71] GOPALAKRISHNAKONE, P., INAGAKI, H. - **Snake Venoms.** Springer: Berlin, Germany, 2017.
- [72] VILLAR-BRIONES, A., AIRD, S. - **Organic and Peptidyl Constituents of Snake Venoms: The Picture Is Vastly More Complex Than We Imagined.** *Toxins*. 10 (2018) 392.
- [73] KUMAR, V., REJENT, T.A., ELLIOTT, W.B. - **Anticholinesterase activity of elapid venoms.** *Toxicon*. 11 (1973) 131-138.
- [74] World Health Organization, **Guidelines for the prevention and clinical management of snakebite in Africa.** (2010).
- [75] SLAGBOOM, J., KOOL, J., HARRISON, R., CASEWELL, R. - **Haemotoxic snake venoms: their functional activity, impact on snakebite victims and pharmaceutical promise.** *British Journal of Haematology*, 177 (2017) 947-959.
- [76] HUTTON, R.A., WARRELL, D.A. - **Action of snake venom components on the haemostatic system.** *Blood Rev.* 7 (1993) 176-189.
- [77] LU, Q., CLEMETSON, J.M., CLEMETSON, K.J. - **Snake venoms and hemostasis.** *J. Thromb. Haemost.* 3 (2005) 1791-1799.
- [78] KINI, R.M. - **Anticoagulant proteins from snake venoms: Structure, function and mechanism.** *Biochem. J.* 397 (2006) 377-387.

- [79] OUYANG, C., TENG, C.M., HUANG, T.F. - **Characterization of snake venom components acting on blood coagulation and platelet function.** *Toxicon.* 30 (1992) 945-966.
- [80] MARSH, N.; WILLIAMS, V. - **Practical applications of snake venom toxins in haemostasis.** *Toxicon.* 45 (2005) 1171-1181.
- [81] TANS, G.; ROSING, J. - **Snake venom activators of factor X: An overview.** *Haemostasis.* 31 (2001) 225-233.
- [82] BITTENBINDER, M.A., ZDENEK, C.N., OP DEN BROUW, B., YOUNGMAN, N.J., DOBSON, J.S., NAUDE, A., VONK, F.J., FRY, B.G. - **Coagulotoxic Cobras: Clinical Implications of Strong Anticoagulant Actions of African Spitting Naja Venoms That Are Not Neutralised by Antivenom but Are by LY315920 (Varespladib).** *Toxins.* 10 (2018) 516.
- [83] HUTTON, R.A., WARRELL, D.A. - **Action of snake venom components on the haemostatic system.** *Blood Rev.* 7 (1993) 176-189.
- [84] BAKKER, H.M., TANS, G., YUKELSON, L.Y., JANSSEN-CLAESSEN, T.W., BERTINA, R.M., HEMKER, H.C., ROSING, J. - **Protein C activation by an activator purified from the venom of Agkistrodon halys halys.** *Blood Coagul. Fibrinolysis.* 4 (1993) 605-614.
- [85] GUTIÉRREZ, J.M., OWNBY, C.L., RICA, U.D.C., JOSE, S., RICA, C. - **Skeletal muscle degeneration induced by venom: insights into the mechanisms of local and systemic myotoxicity.** *Toxicon.* 42 (2003) 915-931.
- [86] GUTIÉRREZ, J.M., RUCAVADO, A., CHAVES, F., DÍAZ, C., ESCALANTE, T. - **Experimental pathology of local tissue damage induced by Bothrops asper snake venom.** *Toxicon.* 54(7) (2009) 958-975.
- [87] AZEVEDO-MARQUES, M.M., HERING, S.E., CUPO, P. - **Evidence that Crotalus durissus terrificus (South American rattlesnake) envenomation in humans causes myolysis rather than hemolysis.** *Toxicon.* 25 (1987) 1163-1168.
- [88] SILVA A., JOHNSTON, C., KURUPPU, S., KNEISZ, D., MADUWAGE, K., KLEIFELD, O., SMITH, A., SIRIBADDANA, S., BUCKLEY, N., HODGSON, W., ISBISTE, G. - **Clinical and linical and Pharmacological Investigation of Myotoxicity in Sri Lankan Russell's Viper.** *Envenoming PLOS Neglected Tropical Diseases* (2016).

- [89] ISBISTER, G.K., O'LEARY, M.A., ELLIOTT, M., BROWN, S. - **Tiger snake (*Notechis spp*) envenoming: Australian Snakebite Project (ASP-13).** *Med J Aust.* 197 (2012) 173-177.
- [90] JOHNSTON, C.I., BROWN, S.G.A., O'LEARY, M.A., CURRIE, B.J., GREENBERG, R., TAYLOR, M., BARNES, C., WHITE, J., ISBISTER G.K. - **Mulga snake (*Pseudechis australis*) envenoming: a spectrum of myotoxicity, anticoagulant coagulopathy, haemolysis and the role of early antivenom therapy—Australian Snakebite Project (ASP-19).** *Clin Toxicol (Phila).* 51 (2013) 417-424.
- [91] ISBISTER, G.K. - **Snakebite doesn't cause disseminated intravascular coagulation: coagulopathy and thrombotic microangiopathy in snake envenoming.** *Semin Thromb Hemost.* 6 (2010) 444-451.
- [92] HARRIS, J.B., SCOTT-DAVEY, T. - **Secreted of snake venoms: effects on the peripheral neuromuscular system with comments on the role of disorders of the CNS and their uses in industry.** *Toxins (Basel).* 1 (2013) 2533-257.
- [93] SOARES, A.M., GIGLIO, J.R. - **Chemical modifications of phospholipases on catalytic and pharmacological properties.** *Toxicon.* 42 (2003) 855-868.
- [94] KONSHINA, A. G., KRYLOV, N. A., AND EFREMOV, R. G. - **Cardiotoxins: functional role of local conformational changes.** *J. Chem. Inf. Model.* 57 (2017) 2799-2810.
- [95] KOIVULA, K., RONDINELLI, S., NASMAN, J. - **The three-finger toxin MTa is a selective $\alpha(2b)$ -adrenoceptor antagonist.** *Toxicon* 56 (2010) 440-447.
- [96] SILVA, A.; HODGSON, W.C.; ISBISTER, G.K. - **Antivenom for Neuromuscular Paralysis Resulting from Snake Envenoming.** *Toxins.* 9 (2017) 143.
- [97] HODGSON, W.C., WICKRAMARATNA, J.C. - **In vitro neuromuscular activity of snake venoms.** *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 29 (2002) 807-814.
- [98] HARVEY, A.L. - **Presynaptic effects of toxins.** *Int. Rev. Neurobiol.* 32 (1990) 201-239.
- [99] TSETLIN, V. - **Snake venom neurotoxins and other 'three-finger' proteins.** *Eur. J. Biochem.* 264 (1999) 281-286.
- [100] LEWIS, R.L. - **Gutmann, L. Snake venoms and the neuromuscular junction.** *Semin Neurol.* 24 (2004) 175-179.
- [101] GROTEN, J.P., FERON, V.J., SUHNEL, J. - **Toxicology of simple and complex mixtures.** *Trends Pharmacol Sci.* 22(6) (2001) 316-322.

- [102] CARMO, A.O, CHATZAKI, M., HORTA, C.C.R., MAGALHÃES, B.F., OLIVEIRA-MENDES, B.B.R., CHÁVEZ-OLÓRTEGUI, C., KALAPOTHAKIS, E. - **Evolution of alternative methodologies of scorpion antivenoms production.** *Toxicon.* 97 (2015) 64-74.
- [103] LAUSTSEN, A., SOLÀ, M., JAPPE, E., OSCOZ, S., LAURIDSEN, L., ENGMARK, M. - **Biotechnological Trends in Spider and Scorpion Antivenom Development.** *Toxins.* 8(8) (2016) 226.
- [104] GUTIÉRREZ, J. - **Understanding and confronting snakebite envenoming: The harvest of cooperation,** *Toxicon.* 109 (2016) 51-62.
- [105] WHO. **Guidelines for the Production, Control and Regulation of Snake Antivenom Immunoglobulins.** 2018. [Acedido a 20 de junho de 2020]. Disponível na internet: https://www.who.int/bloodproducts/snake_antivenoms/snakeantivenomguide/en/
- [106] BOLDRINI-FRANÇA, J., TAKENO COLOGNA, M., BERTO PUCCA, M., BORDON, K., AMORIM, F.G., PINO ANJOLETTE, F., ALMEIDA CORDEIRO, F., WIEZEL, G., CERNI, F.A., PINHEIRO-JUNIOR, E.L., TANAKA SHIBAO, P.Y., FERREIRA, I., OLIVEIRA, I., CARDOSO, I., ARANTES, E. - **Minor snake venom proteins: Structure, function and potential applications.** *Biochimica et Biophysica Acta* 1861 (2017) 824-838.
- [107] FERREIRA, B.L., SANTOS, D.O., SANTOS, A.L.D., RODRIGUES, C.R., DE FREITAS, C.C., CABRAL, L.M., CASTRO, H.C. - **Comparative Analysis of Viperidae Venoms Antibacterial Profile: A Short Communication for Proteomics.** *Evid. Based Complement. Altern. Med.* 2011 (2011) 1-4.
- [108] DE OLIVEIRA JUNIOR, N.G., E SILVA CARDOSO, M.H., FRANCO, O.L. - **Snake venoms: Attractive antimicrobial proteinaceous compounds for therapeutic purposes.** *Cell Mol. Life Sci.* 70 (2013) 4645-465.
- [109] CHARVAT, R.A., STROBEL, R.M., PASTERNAK, M.A., KLASS, S.M., RHEUBERT, J.L. - **Analysis of snake venom composition and antimicrobial activity.** *Toxicon.* 150 (2018) 151-167.
- [110] ALMEIDA, J.R., PALACIOS, A.L.V., PATIÑO, R.S.P., MENDES, B., TEIXEIRA, C.A.S., GOMES, P., DA SILVA, S.L. - **Harnessing snake venom phospholipases A2 to novel approaches for overcoming antibiotic resistance.** *Drug Dev. Res.* 80 (2019) 68-85.
- [111] PERUMAL SAMY, R., STILES, B.G., FRANCO, O.L., SETHI, G., LIM, L.H.K. - **Animal venoms as antimicrobial agents.** *Biochem. Pharmacol.* 134 (2017) 127-138.

- [112] ZOUARI-KESENTINI R., JEBALI, J., TABOUBI, S., SRAIRI-ABID, N., MORJEN, M., KALLECH ZIRI O., BEZZINE, S., MARVALDI J., EL AYEB, M., MARRAKCHI, N. - **CC-PLA2-1 and CC-PLA2-2, two cerastes venom-derived phospholipases A2, inhibit angiogenesis both in vitro and in vivo.** *Lab Invest* 90(4) (2010) 510-9.
- [113] ZOUARI-KESENTINI R., LUIS, L., KARRAY, A., KALLECH-ZIRI, O., SRAIRI-ABID, N., BAZAA, A., LORET, E., BEZZINE, S., EL AYEB, M., MARRAKCHI, N. - **Two purified and characterized phospholipases A2 from Cerastes cerastes venom, that inhibit cancerous cell adhesion and migration** *Toxicon*. 53(4) (2009) 444-453.
- [114] BURIN, S., MENALDO, D., SAMPAIO, S., FRANTZ, F., CASTRO, F. - **An overview of the immune modulating effects of enzymatic toxins from snake venoms.** *International Journal of Biological Macromolecules* 109 (2018) 664-671.
- [115] BRESSAN, E., TOUSKA, F., VETTER, I., KISTNER, K., KICHKO, T., TEIXEIRA, N., PICCOLO, N., CURY, Y., LEWIS, R.J., FISCHER, M., ZIMMERMANN, K., REEH, P.W. - **Crotalphine desensitizes TRPA1 ion channels to alleviate inflammatory hyperalgesia.** *PAIN*. 157(11) (2016) 2504-2516.
- [116] OJEDA, P., RAMIREZ, D., AZATE-MORALES, J., CABALLERO, J., KASS, Q., GONZÁLEZ, W. - **Computational Studies of Snake Venom Toxins.** *Toxins* (2018).
- [117] TRIPLETT, D. A., STOCKER, K. F., UNGER, G. A., AND BARNA, L. K. - **The Textarin/Ecarin ratio: a confirmatory test for lupus anticoagulants.** *Thromb. Haemost.* 70 (1993) 925-931.
- [118] STOCKER, K., HAUER, H., MULLER, C., AND TRIPLETT, D. A. - **Isolation and characterization of Textarin, a prothrombin activator from eastern brown snake (*Pseudonaja textilis*) venom.** *Toxicon* 32 (1994) 1227-1236.
- [119] JOHNSTONE, I.B., MARTIN, C.A. - **Comparative effects of the human protein C activator, Protac, on the activated partial thromboplastin clotting times of plasmas, with special reference to the dog.** *Can. J. Vet. Res.* 64 (2000) 117-122.
- [120] OSIPOV, A., TERPINSKAYA, T., ULASCHIK, V., TSETLIN, V., UTKIN, Y. - **Nerve Growth Factor Suppresses Ehrlich Carcinoma Growth.** *Doklady Biochemistry and Biophysics*. 51 (2013) 207-208.
- [121] PEIGNEUR, S., TYTGAT, J. - **Toxins in Drug Discovery and Pharmacology.** *Toxins*. 10 (2018) 126.
- [122] CROW, J.M. - **Venomous drugs: Captopril.** *New Sci.* 214 (2012) 35.

- [123] PENG, H., CARRETERO, O.A., VULJAJ, N., LIAO, T.D., MOTIVALA, A., PETERSON, E.L., RHALEB, N.E. - **Angiotensin-converting enzyme inhibitors: A new mechanism of action.** *Circulation.* 112 (2005) 2436-2445.
- [124] KOH, C.Y., KINI, R.M. - **From snake venom toxins to therapeutics—cardiovascular examples.** *Toxicon.* 59 (2012) 497-506.
- [125] LAZAROVICI, P., MARCINKIEWICZ, C., LELKES, P.I. - **From Snake Venom's Disintegrins and C-Type Lectins to Anti-Platelet Drugs.** *Toxins* 11 (2019) 303.
- [126] CHEN, Y., PITZENBERGER, S.M., GARSKY, V.M., LUMMA, P.K., SANYAL, G., BAUM, J. - **Proton NMR assignments and secondary structure of the snake venom protein echistatin.** *Biochemistry.* 30 (1991) 11625-11636.
- [127] HUANG, T.F., HOLT, J.C., LUKASIEWICZ, H., NIEWIAROWSKI, S. TRIGRAMIN. - **A low molecular weight peptide inhibiting fibrinogen interaction with platelet receptors expressed on glycoprotein IIb-IIIa complex.** *J. Biol Chem.* 262 (1987) 16157-16163.
- [128] CURRAN, M.P., KEATING, G.M. - **Eptifibatide: a review of its use in patients with acute coronary syndromes and/or undergoing percutaneous coronary intervention.** *Drugs* 65 (2005) 2009-2035.
- [129] O'SHEA, J.C., TCHENG, J.E. - **Eptifibatide: a potent inhibitor of the platelet receptor integrin glycoprotein IIb/IIIa.** *Expert Opin. Pharmacother.* 3 (2002) 1199-1210.
- [130] VU, T.T., STAORD, A.R., LESLIE, B.A., KIM, P.Y., FREDENBURGH, J.C., WEITZ, J.I. - **Batroxobin binds fibrin with higher affinity and promotes clot expansion to a greater extent than thrombin.** *J. Biol. Chem.* 288 (2013) 16862-16871.
- [131] LODHA, A., KAMALUDEEN, M., AKIERMAN, A., AMIN, H. - **Role of hemocoagulase in pulmonary hemorrhage in preterm infants: a systematic review.** *Indian J. Pediatrics.* 78 (2011) 838-844.
- [132] HO, S.J., BRIGHTON, T.A. - **Ximelagatran: Direct thrombin inhibitor.** *Vasc. Health Risk Manag.* 2(1) (2015) 49-58.

11. Anexo

Anexo I: Procedimentos de primeira assistência a seguir após mordida de uma cobra suspeita de ser venenosa (segundo a OMS):

- Afastar-se imediatamente da área onde a mordedura ocorreu.
- Remover qualquer coisa apertada em redor da parte mordida do corpo para evitar danos se ocorrer inchaço.
- Manter a vítima desperta, uma vez que a maioria das mordeduras de cobra venenosa não causam a morte imediata.
- Imobilizar completamente a pessoa e transportá-la para uma instalação de saúde o mais rapidamente possível.
- A aplicação de pressão no local da mordedura com uma almofada de pressão pode ser adequada em alguns casos.
- Evitar os métodos tradicionais de primeiros socorros ou medicamentos à base de ervas.
- O paracetamol pode ser administrado para dores locais (que podem ser graves).
- O vômito pode ocorrer, portanto, colocar a pessoa do seu lado esquerdo na posição de recuperação.
- Monitorizar de perto as vias respiratórias e estar pronto para ressuscitar se necessário.