



GRADO EN FARMACIA

Facultad de Farmacia
Universidad de Sevilla



VENENOS DE SERPIENTE, NO TAN MALOS COMO LOS PINTAN

TRABAJO FIN DE GRADO

Curso 2018-2019



Asunción Nosti Alés



Universidad de Sevilla



Facultad de Farmacia

VENENOS DE SERPIENTE, NO TAN MALOS COMO LOS PINTAN

Trabajo Fin de Grado Bibliográfico

- Tipología del proyecto realizado: **Revisión bibliográfica.**
- Nombre del título de grado: **Grado en Farmacia.**
- Departamento o área donde se ha realizado el TFM: **Departamento de Nutrición y Bromatología, Toxicología y Medicina Legal / Área de Toxicología.**
- Nombre del tutor del trabajo: **Daniel Gutiérrez Praena.**
- Alumna: **Asunción Nosti Alés.**
- **Presentado el 18 de Enero de 2019. Facultad de Farmacia. Universidad de Sevilla.**

Resumen

El veneno de serpiente es una sustancia que, desde las más antiguas civilizaciones, viene siendo objeto de curiosidad e investigación por parte del hombre. En concreto, estos venenos se han utilizado desde la antigüedad en diferentes actividades del ser humano, tales como, la caza o la guerra. Dicho veneno no es más que una saliva modificada que se ha producido como mecanismo de defensa o de caza y, el hecho de que contengan una gran variedad de moléculas con una actividad concreta sobre las proteínas y los receptores específicos del cuerpo humano, los convierten en patrones inspiradores en el diseño de nuevas moléculas con actividad farmacológica.

En los últimos años se están desarrollando nuevas líneas de investigación encaminadas a darles un uso terapéutico, llegando algunas de ellas a conseguir sintetizar fármacos que se encuentran actualmente comercializados, como pueden ser ejemplo de ello el captopril, tirofibán, eptifibatida o batroxobina. Además, habría que añadir su contribución a profundizar en el conocimiento sobre el mecanismo de acción de algunos fenómenos como son la coagulación o el cáncer, entre otros.

En este trabajo, se han recopilado las distintas aplicaciones terapéuticas de diferentes venenos de serpiente que se emplean actualmente como innovadoras herramientas terapéuticas para el diseño de nuevos fármacos. Entre otras, estas sustancias se están desarrollando para el tratamiento farmacológico de diferentes patologías tales como: infecciones parasitarias, bacterianas y fúngicas, cáncer, trastornos cardiovasculares, enfermedades neuropsiquiátricas, enfermedades inmunosupresoras, Diabetes Mellitus tipo II, etc.

Así pues, debido a las amplias aplicaciones de sus componentes, los venenos son de gran interés hoy en día, por lo que se siguen investigando sus efectos sobre las enfermedades mencionadas y se intentan corroborar hipótesis acerca de otras.

Palabras clave: serpiente, veneno, fármaco, farmacología, toxicología

ÍNDICE

	Pág.
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Antecedentes históricos	1
1.2. Clasificación de las serpientes	3
1.3. Distribución geográfica	4
1.4. Composición de venenos	6
1.5. Tipos de venenos	11
2. OBJETIVOS	13
3. METODOLOGÍA	14
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	16
4.1. Cáncer	17
4.2. Trastornos cardiovasculares	21
4.3. Infecciones bacterianas, parasitarias y fúngicas	26
5. CONCLUSIONES	28
6. BIBLIOGRAFÍA	29

1. INTRODUCCIÓN

Las serpientes, también llamadas ofidios, son animales vertebrados que se clasifican como reptiles. Conforman el suborden *Serpentes*, pertenecientes al orden *Squamata*, al superorden *Lepidosauria* (lagartos con escamas), a la subclase *Diápsida* (caracterizada por presentar originalmente dos fosas a cada lado del cráneo, por detrás de la órbita) y a la clase *Saurópsida* (Gómez, 2018).

Estos animales presentan la peculiaridad de poseer un cuerpo muy alargado con ausencia de extremidades, aunque algunos ejemplares pueden presentarlas en estado vestigial. Tanto su tamaño como comportamiento varían conforme a la especie de que se trate, las cuales pueden diferenciarse en venenosas o constrictoras (Gómez, 2018).

Los accidentes ofídicos y los envenenamientos por estos animales, son una importante causa de morbimortalidad a nivel mundial, causando, entre los principales efectos, en las víctimas: dolor, inflamación, infecciones locales, alteraciones hemostáticas y de la cascada de la coagulación, alteraciones cardiovasculares, renales y nerviosas. Sin embargo, existe gran variedad de estudios sobre sus posibles beneficios terapéuticos. Los venenos son saliva modificada, consecuencia de un proceso evolutivo por la supervivencia desarrollado en ciertas especies a raíz de la imposibilidad de matar usando la constricción sobre sus presas, por un lado, o como mecanismo de defensa, por el otro. Esta secreción se sintetiza y almacena en áreas específicas del cuerpo de la serpiente, las cuales se conocen como glándulas de veneno (Ortiz-Prado et al., 2015).

1.1. ANTECEDENTES HISTÓRICOS

Durante miles de años los venenos han sido empleados por diferentes civilizaciones y culturas como armas letales o para tratar diversas enfermedades y males. Desde la antigua Grecia hasta las actuales tribus indígenas aisladas del Amazonas se han venido utilizando los venenos como herramienta para la caza (Mayor, 2011).

Así, la mitología griega señala que Hércules impregnaba las puntas de sus lanzas y flechas con veneno de la Hidra de Lerna. En el año 326 A.C., Alejandro el Grande y su ejército fueron reprimidos en la India con flechas envenenadas, posiblemente con

veneno de la víbora de Russel. No obstante, el uso del veneno de serpientes no solamente ha sido bélico. Muchas tribus y poblaciones manejaban serpientes con el fin de extraer y usar su veneno con fines terapéuticos (Mayor, 2011). El primer caso documentado del uso medicinal de estos venenos se remonta al año 67 A.C. cuando Mitrídates requirió de los servicios chamánicos de sus curanderos con el fin de parar la hemorragia que había sufrido en el campo de batalla. Ésta fue detenida y corregida tras la instilación de pequeñas dosis de veneno de serpiente en la herida, provocando un efecto pro-coagulante de la misma. En épocas más recientes, varias culturas, incluidas las indochinas y las precolombinas de las Américas, se han caracterizado por usar varios tipos de compuestos con fines medicinales, entre los cuales se encuentran algunos tipos de veneno de serpiente (Ortiz-Prado et al., 2015).

Albert Calmette, médico francés y notable discípulo de Louis Pasteur, empezó a interesarse en el envenenamiento ofídico. En octubre de 1891, llamó poderosamente su atención el problema de los accidentes por mordeduras de ofidios, animándolo a estudiar sus venenos. En aquellos entonces y tras sufrir una inundación, una aldea en las cercanías de Bac-Lieu fue invadida por numerosas cobras *Naja naja*, las serpientes entraron a las casas y cuarenta nativos fueron mordidos, muriendo cuatro de ellos en pocas horas. Diecinueve serpientes fueron capturadas y enviadas a Calmette. Con estos especímenes, éste empezó a investigar los efectos de los venenos en varios animales, lo cual le llevó a postular una analogía entre los componentes de los venenos de serpiente y las toxinas bacterianas, experimentando diferentes tratamientos físicos y químicos para poder reducir la potencia letal de estos venenos (Chacón, 2001).

Desde entonces, el interés por estas sustancias ha ido aumentando progresivamente hasta la actualidad en la que ya se extraen, purifican, estudian e, incluso, se comercializan estas biotoxinas como agentes activos (Waqar y Batool, 2015). Así pues, en la década de 1980 se empezaron a realizar los primeros descubrimientos relacionados con las desintegrinas. La primera desintegrina aislada, fue la trigramina, procedente del veneno crudo de *Trimeresurus gramineus*, una especie de víbora, y la cual podía inhibir la agregación plaquetaria (David et al., 2018).

1.2. CLASIFICACIÓN DE LAS SERPIENTES

Atendiendo a las familias, las serpientes venenosas se pueden clasificar en:

- *Elapidae*. Gran familia de serpientes venenosas. Poseen características morfológicas que las diferencian de las víboras y otras, entre las que se puede mencionar su aparato venenoso, algo más primitivo y menos eficiente que el de las víboras, aunque los venenos de éstas en general son muy potentes. Recoge entre otras, cobras, corales y mambas (*Van Brussel, 2008*).
- *Viperidae*. Poseen el aparato venenoso más evolucionado y, por ello, presentan una cabeza grande y triangular, provocado por las voluminosas glándulas venenosas de Duvernoy; cuerpo grueso y cola corta. Se localizan en Asia, Europa y África. En esta familia se incluyen las víboras (*Huertos et al., 2002*).
- *Crotalidae*. Engloba a las serpientes de cascabel, cuyo extremo de la cola contiene el dispositivo sonoro característico, y las víboras de las fosetas. Esta familia exhibe una morfología similar a las víboras (*Huertos et al., 2002*). Destacan los géneros de *Crotalus*, *Agkistrodon*, *Sistrurus* y *Bothrops* (*Van Brussel, 2008*).
- *Colubridae*. Familia donde se encuadran muchas serpientes no venenosas, con las excepciones de *Dispholidus typus*, *Rhabdophis tigrinus*, *Rhabdophis subminiatus*, *Thelotornis kirtlandii* y *Thelotornis capensis*. Ninguna de las especies que la integra poseen colmillos canaliculados como sucede en las anteriores familias. No obstante, un número indeterminado de especies de *Colubridae* sin colmillos delanteros, como las citadas anteriormente, producen secreciones tóxicas de la glándula de Duvernoy (*Weinstein et al., 2011*).
- *Hydrophiidae*. Familia que recoge las llamadas serpientes marinas, cuyo hábitat son las aguas cálidas del indopacífico y Australia. Presentan aplastamiento lateral del cuerpo, más acentuado en la cola. La cabeza y sus proximidades son más finas que el abdomen, puesto que presenta una morfología más gruesa y pesada (*Huertos et al., 2002*)

Además de su clasificación por familias, las serpientes pueden clasificarse por la posición de sus colmillos en el maxilar, siendo esto de importancia de cara a su

capacidad para ser venenosas. Así, podrían clasificarse según queda recogido en la Tabla 1 (González-Ribera, 2009; Van Brussel, 2008):

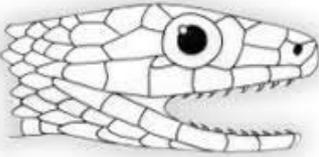
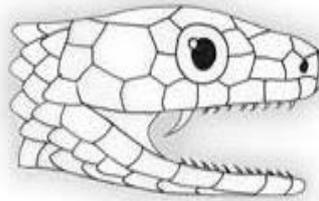
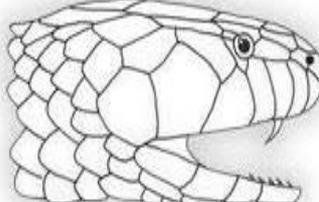
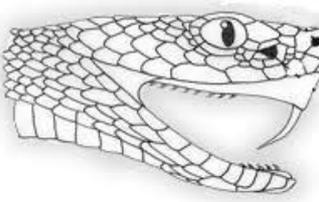
	<p style="text-align: center;">AGLIFA</p> <p>Poseen una dentadura pareja con colmillos cortos. Es difícil que inyecten el veneno. La mordedura suele ser muy dolorosa.</p>	<p style="text-align: center;">Culebras Falsa coral</p>
	<p style="text-align: center;">OPISTOGLIFA</p> <p>Presentan colmillos en la parte posterior del maxilar. Necesitan morder con la boca completamente abierta para introducir los colmillos. Su veneno es de baja toxicidad.</p>	<p style="text-align: center;">Culebras</p>
	<p style="text-align: center;">PROTEROGLIFA</p> <p>Sus colmillos se encuentran en la parte anterior del maxilar; son fijos y recubiertos por una membrana que conecta con la glándula venenosa. Facilita la inoculación del veneno al morder o al lanzarlo a los ojos de su presa. El veneno es altamente peligroso.</p>	<p style="text-align: center;">Cobras Corales Mambas</p>
	<p style="text-align: center;">SOLENOGLIFA</p> <p>Presentan colmillos largos y se encuentran en la zona anterior de la mandíbula. Son móviles por la acción de músculos especializados; poseen un canal interno con un orificio en su parte terminal, conectado a la glándula del veneno. Al abrir la boca se colocan en posición de ataque y al morder funcionan como agujas hipodérmicas. Su veneno es altamente peligroso.</p>	<p style="text-align: center;"><i>Bothrops</i> Crótalos Víboras</p>

Tabla 1. Clasificación según la posición de los colmillos en las serpientes venenosas.

1.3. DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), existen más de 3000 especies de serpientes en el mundo, siendo venenosas unas 600 y consideradas clínicamente importantes más de 200 (OMS, 2017). Al evaluar el riesgo relativo de cada especie, se han considerado dos principales categorías dentro de las Directrices de la OMS de 2017 sobre producción, control y regulación de inmunoglobulinas antivenenos de serpiente:

- Categoría I: Máxima importancia médica. Serpientes altamente venenosas que son comunes y causan numerosas mordeduras, lo que resulta en altos niveles de morbilidad, discapacidad o mortalidad. Las especies incluidas en esta categoría dentro de un país, territorio o área deben considerarse como las de mayor prioridad para la producción de antivenenos (Longbottom et al., 2018).
- Categoría II: Importancia médica secundaria. Serpientes altamente venenosas capaces de causar morbilidad, discapacidad o muerte, de las cuales pueden faltar datos epidemiológicos o clínicos exactos y/o están menos implicadas en mordeduras a seres humanos (debido a sus ciclos de actividad, comportamiento, preferencias de hábitat u ocurrencia en áreas remotas a grandes poblaciones humanas).

En la Figura 1 se observa como la mayor prevalencia de especies de serpientes venenosas de Categoría I y II se encuentran en las regiones de Sudamérica, centro y sudeste de África, y este de Australia. También pueden encontrarse, aunque en menor medida, en la Cuenca del Congo y el sudeste de Asia.

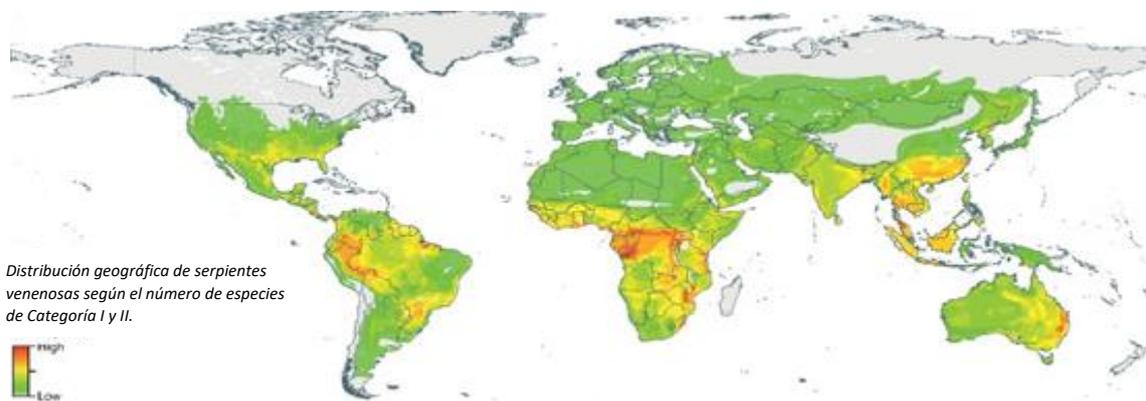


Figura 1. Distribución geográfica de serpientes venenosas según el número de especies de Categoría I y II. Adaptada de la OMS (2017).

De las 278 especies de serpientes mapeadas, se ha identificado que 119 (43%) no presentan una terapia específica. De estas especies identificadas, 24 (20%) pertenecen a la Categoría I, y 95 (80%) pertenecen a la Categoría II. En la Figura 2 se

puede observar que la mayoría de las especies de las que no existen antivenenos se encuentran en África occidental y central, América del Sur y en el sur de Asia.

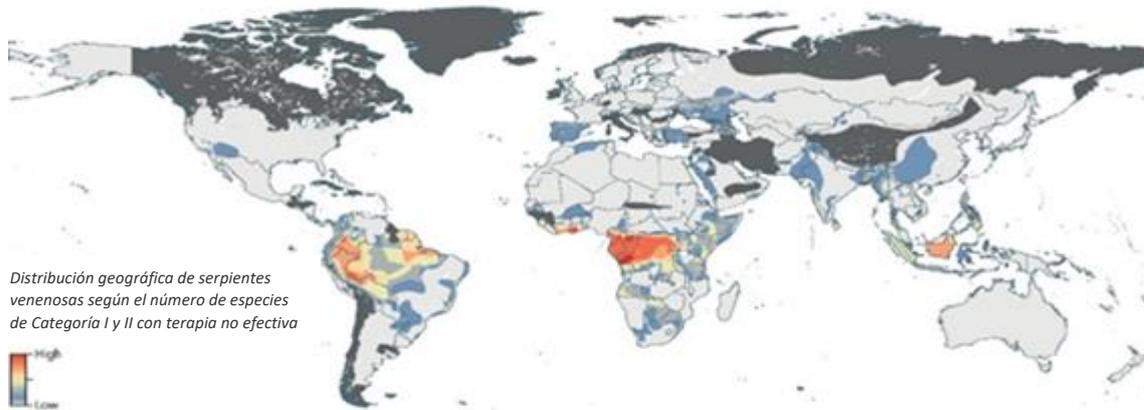


Figura 2. Distribución geográfica de serpientes venenosas según el número de especies de Categoría I y II con terapia no efectiva. Adaptada de la OMS (2017).

1.4. COMPOSICIÓN DE LOS VENENOS

Los venenos consisten en una variedad de moléculas, tales como carbohidratos, nucleósidos, aminoácidos, lípidos, proteínas y péptidos. Las proteínas y los péptidos son los principales constituyentes del peso seco de los venenos de serpiente y poseen una gran variedad de actividades biológicas (Figura 3). Debido a esto, son de gran interés para la ciencia, debido a que pueden presentar actividades farmacológicas interesantes (Munawar et al., 2018).

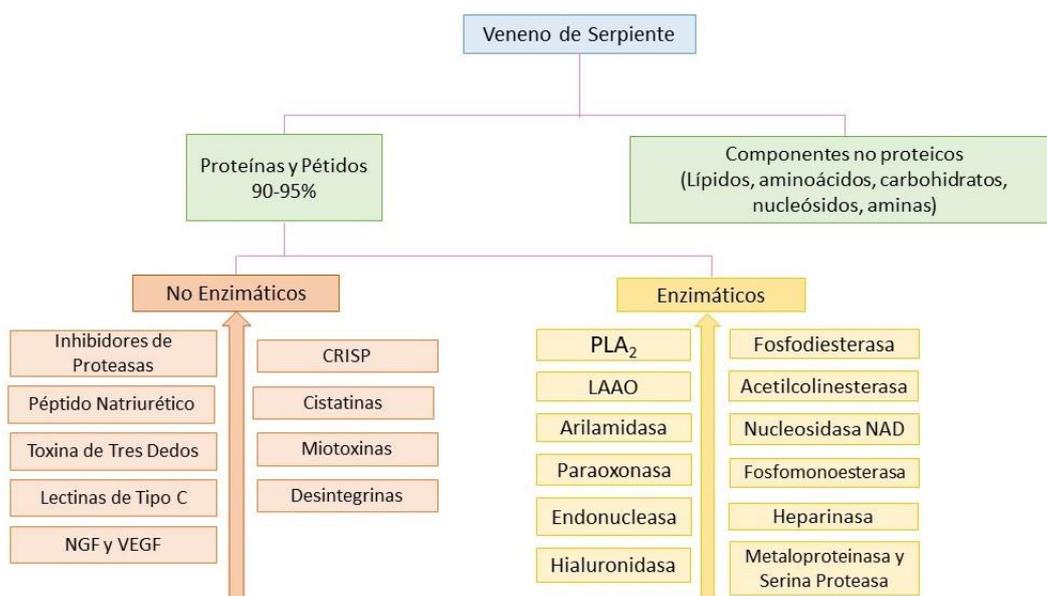


Figura 3. Composición de los venenos de serpiente. Adaptada de Munawar et al. (2018).

Estos venenos contienen proteínas y péptidos enzimáticos y no enzimáticos que se agrupan en diferentes familias según su estructura y función. Los miembros de una sola familia muestran similitudes significativas en sus estructuras primaria, secundaria y terciaria, pero en muchos casos tienen distintas funciones farmacológicas y diferentes bioactividades. La especificidad funcional de los péptidos que pertenecen a la misma familia puede atribuirse a variaciones sutiles en sus secuencias de aminoácidos (*Munawar et al., 2018*).

Las proteínas y péptidos enzimáticos incluyen:

- Fosfolipasa A₂ (PLA₂). Es uno de los componentes más frecuentes en los venenos de serpiente. Presenta actividad hidrolítica sobre los fosfolípidos, participando en muchos procesos fisiopatológicos, como la inflamación y el dolor. Además, produce neurotoxicidad pre- o post-sináptica, miotoxicidad, cardiotoxicidad, inhibición de la agregación plaquetaria, edema, anticoagulación, convulsiones e hipotensión. Posee también acción bactericida (*Zambelli et al., 2017*).
- L-amino ácido oxidasa (LAAO). Constituye el 1-9% de la composición total de los venenos de serpiente. Su toxicidad se debe principalmente a la actividad enzimática, produciendo agregación plaquetaria, inducción de apoptosis, hemorragia y citotoxicidad (*Izidoro et al., 2014*).
- Acetilcolinesterasa. Enzima que produce efectos sobre el sistema nervioso central (SNC), llevando a cabo un papel importante en el sistema colinérgico donde es responsable de bloquear la transmisión del impulso nervioso. En consecuencia, su principal actividad es la parálisis (*Moga et al., 2018*).
- Hialuronidasa. Se encuentra en todos los venenos de serpiente, presentando dos actividades principales: destrucción de la integridad de la matriz extracelular (ECM) en el sitio de la mordedura y apoptosis (*Moga et al., 2018*).
- Enzimas proteolíticas. Pueden dividirse principalmente en dos grupos: metaloproteinasas y serina proteasas (*Zaqueo et al., 2014*):
 - Metaloproteinasas de veneno de serpiente (SVMP). Son componentes principales en la mayoría de los venenos de *Crotalidae* y *Viperidae*. Además de la capacidad hemorrágica, las metaloproteinasas

mimetizan la actividad de la fibrina, actuando como activadores de protrombina y del factor X de coagulación sanguínea, poseen efecto apoptótico, inhiben la agregación plaquetaria, son proinflamatorios e inactivan la serina sanguínea (Markland y Swenson, 2013).

- Serina proteasa (SP). Son abundantes en los venenos de las serpientes de la familia *Viperidae*, y pueden constituir hasta el 20% de las proteínas totales de los venenos. Al igual que las metaloproteinasas, afectan al sistema hemostático a través de diferentes mecanismos (Zaqueo et al., 2014).

Entre las proteínas y péptidos no enzimáticos se encuentran:

- Desintegrina. Son péptidos ricos en cisteína que resultan de la escisión postraduccional de las SVMP. Las desintegrinas se encuentran en los venenos de las serpientes de las familias *Crotalidae* y *Viperidae*, y constituyen aproximadamente el 17% y 18% de las proteínas totales del veneno, respectivamente (Tasoulis y Isbister, 2017). Se unen selectivamente a los receptores de integrina presentes en la superficie de las plaquetas y otras células (Munawar et al., 2018).
- Toxinas de tres dedos (3FTX). Son neurotoxinas que inhiben de forma selectiva a los receptores nicotínicos en la unión neuromuscular, impidiendo la neurotransmisión de acetilcolina (ACh) en el músculo esquelético. Además, se unen a receptores muscarínicos de acetilcolina (AChR muscarínico), actuando como antagonistas o agonistas de varios subconjuntos de AChR muscarínico (M1-M5). También son cardiotoxinas, ya que perturban a la membrana por interacciones electrostáticas e hidrofóbicas con las membranas celulares (Munawar et al., 2018). Se ha demostrado que se encuentran en mayor proporción en los venenos de las serpientes de la familia *Elapidae* (Kessler et al., 2017) y que contribuyen a más del 60% de la composición del veneno de las cobras (Slagboom et al., 2018). Sin embargo, también se hallan en los venenos de las familias *Hydrophiidae*, *Colubridae* y *Crotalidae*, ya sea a nivel de transcriptoma o proteinoma (Lomonte et al., 2016).

- Inhibidores de tipo Kunitz. Son una familia de inhibidores de la serina proteasa que se encuentran en los venenos de las serpientes de las familias *Elapidae* y *Viperidae* (Tasoulis y Isbister, 2017). Interfieren en la cascada de coagulación, perturbando la homeostasis y en la fibrinólisis (Munawar et al., 2018). Además, se puede encontrar más de un tipo de inhibidor de tipo Kunitz en el veneno de una sola especie de serpiente (Munawar et al., 2014).
- Péptido natriurético (PN). Su unión con los receptores de guanilil ciclasa conlleva a un aumento del guanosina monofosfato cíclico (GMPc), afectando a la posterior cascada de señalización. También, puede interferir en el sistema renina-angiotensina, pues inhibe a la enzima convertidora de angiotensina (ECA) (Munawar et al., 2018), lo cual conllevaría a vasodilatación, diuresis y natriuresis, conduciendo a hipotensión y promoviendo la excreción de sodio y agua (Sanhajariya et al., 2018). El PN se encuentra en mayor concentración en el veneno de serpientes de la familia *Viperidae* (Tasoulis y Isbister, 2017).
- Péptidos potenciadores de bradisinina (BPP). Son pequeños péptidos hipotensivos que inhiben a la ECA y elevan el nivel de bradisinina (Munawar et al., 2018).
- Proteínas secretoras ricas en cisteína. Constituyen el 9% del veneno total de las serpientes y presentan diversas actividades biológicas, tales como, la inhibición de la contracción del músculo liso, el bloqueo del canal iónico activado por nucleótidos cíclicos e hipotermia (Tan et al., 2018).
- Lectinas de tipo C. Heterodímero formado por dos subunidades, α y β , unidas covalentemente para formar estructuras multiméricas $(\alpha\beta)_2$ y $(\alpha\beta)_4$ (Mukherjee et al., 2014). Presentan actividad de aglutinación de eritrocitos y leucocitos (Sartim y Sampaio, 2015).
- Sarafotoxina. Potente vasoconstrictor por interacción con los receptores de endotelina, pudiendo modular la contracción del músculo cardíaco y el músculo liso de diferentes tejidos. Son péptidos altamente tóxicos (Munawar et al., 2018).

Por otro lado, los nucleósidos de purina, adenosina, inosina y guanosina, juegan un papel importante desde el punto de vista de los envenenamientos. Algunos venenos

también contienen metabolitos que varían entre individuos y que pueden actuar de forma sinérgica con otros componentes proteicos del veneno para lograr una rápida inmovilización. Además, existen ácidos carboxílicos en los venenos, siendo los más abundantes: el ácido 4-guanidinobutírico (4GBA), el ácido 5-guanidino-2-oxopentanoico (5G2OA) y el ácido imidazol-4-acético (I4AA). El 4GBA presenta capacidad para inducir convulsiones. Tanto el 5G2OA como el 4GBA pueden producir hipotensión. El I4AA reduce la excitabilidad neuronal y presenta efectos sedantes. Los venenos de serpiente también contienen una pequeña cantidad de aminoácidos, siendo L-arginina el aminoácido libre más abundante, el cual sirve como inductor del hipotensor óxido nítrico. El segundo más abundante, la prolina constituyente principal de los péptidos hipotensores (*Atack, 2011; Villar-Briones y Aird, 2018*).

La composición tóxica del veneno de serpiente varía entre las distintas especies. Es importante destacar que el alcance de esta variación no se refleja en la distancia taxonómica (*Casewell et al., 2014*).

Esta variación se atribuye en gran medida a las diferencias en los genes codificadores de toxinas presentes en el genoma o glándula venenosa de las serpientes. *Casewell et al. (2014)* demostraron que los mecanismos que afectan a la transcripción, traducción y modificación post-traducciona de las toxinas también contribuyen significativamente a la diversidad de la composición proteica de los venenos. Esta variación entre especies relacionadas es, por tanto, el resultado de una interacción compleja entre una variedad de factores genéticos y post-genómicos que actúan sobre los genes encargados de codificar. Otra causa de la variación del veneno se percibe como la rápida evolución de diferentes familias de genes que codifican toxinas en diferentes linajes de serpientes. En definitiva, es probable que los mecanismos de control de transcripción y transducción jueguen un papel crítico en la generación de venenos distintos en cuanto a composición y funcionalidad entre las especies relacionadas (*Casewell et al., 2014*).

En última instancia, esta variación conlleva a diferencias significativas en la patología y letalidad inducidas por el veneno, afectando a la eficacia de las terapias

antivenenos, ya que los anticuerpos específicos encontrados en ellos no son efectivos contra las toxinas heterólogas encontradas en diferentes venenos.

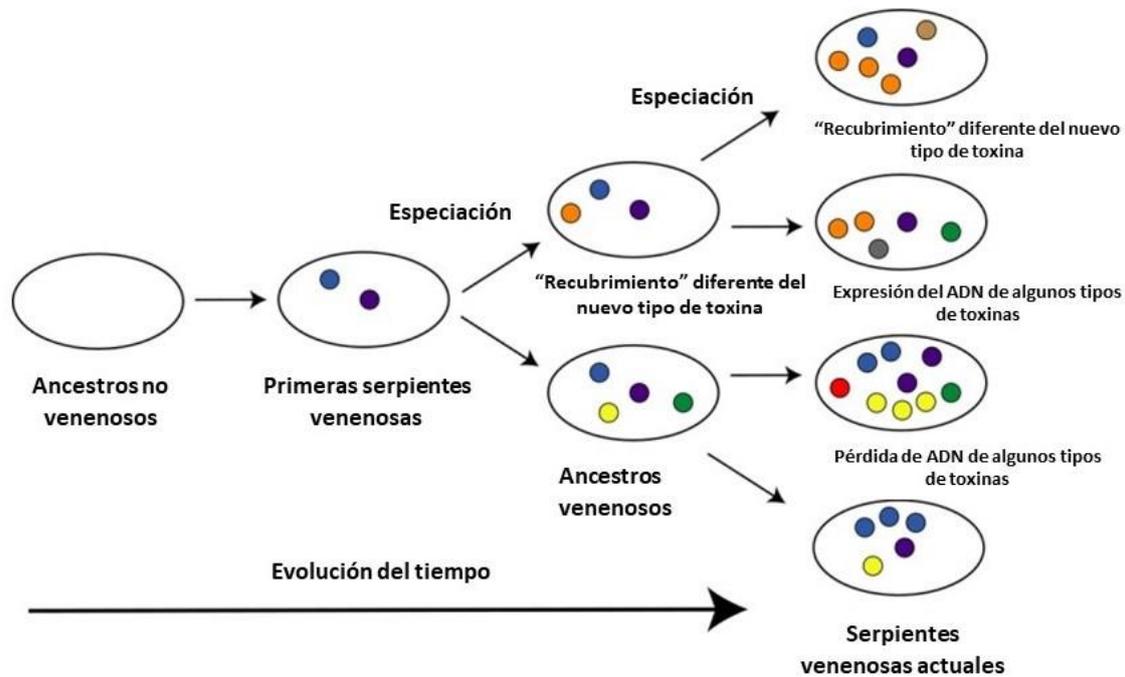


Figura 4. Descripción esquemática de cómo ha evolucionado la variación en la composición del veneno de serpiente. Los óvalos representan glándulas de veneno en diferentes serpientes y los círculos de colores representan distintas toxinas. Adapta de Slagboom et al. (2017).

En la Figura 4 se puede apreciar cómo los venenos se han convertido en mezclas de toxinas variables a lo largo del tiempo. Los ancestros no venenosos no tenían toxinas (o las expresaban a niveles muy bajos), pero los ancestros de serpientes venenosas tempranas incorporaron varios tipos de toxinas en su veneno. A lo largo del tiempo, a medida que los linajes se separaron, diferentes toxinas se diversificaron a través del proceso de duplicación y pérdida de genes, lo que produjo una variación en la composición del veneno entre diferentes grupos de serpientes (Slagboom et al., 2017).

1.5. TIPOS DE VENENOS

Los venenos de serpiente se pueden clasificar en general como hemotóxicos, neurotóxicos o citotóxicos (OMS, 2010; Slagboom et al., 2017):

- Hemotóxicos. La hemotoxicidad es uno de los signos clínicos más comunes en las víctimas de mordedura de serpiente, especialmente de la familia *Viperiadae*. En

general, los venenos hemotóxicos pueden tener efectos cardiovasculares y/o hemostáticos. Los efectos cardiovasculares están caracterizados por una caída brusca de la presión arterial (*Gutiérrez et al., 2016*). Las hemotoxinas se caracterizan por causar hemorragia local y sistémica. El sangrado sistémico espontáneo contribuye a las muertes causadas por shock hipotenso. También son responsables de causar muertes por hemorragia, especialmente cuando se produce sangrado intracraneal (*Slagboom et al., 2017*).

- **Neurotóxicos.** La parálisis neuromuscular aguda es el principal tipo de neurotoxicidad y es una causa importante de morbilidad y mortalidad relacionada con la mordedura de serpiente. Las neurotoxinas pre-sinápticas (β -neurotoxinas, en su mayoría toxinas PLA₂) se unen a las terminales nerviosas motoras, lo que conduce al agotamiento de las vesículas sinápticas de ACh, la liberación alterada de ACh y, posteriormente, la degeneración de la terminal nerviosa motora. La unión de las toxinas pre-sinápticas a la terminal nerviosa es irreversible. La recuperación clínica es lenta, ya que depende de la regeneración del terminal nervioso y de la formación de una nueva unión neuromuscular (*Ranawaka et al., 2013*). Las neurotoxinas post-sinápticas (α -neurotoxinas) se unen a los receptores nicotínicos de la ACh (nAChR). Las α -neurotoxinas pertenecen al grupo de las 3FTX. La mayoría se unen de manera casi irreversible a los nAChR post-sinápticos, produciendo un bloqueo no despolarizante (*Nirathanan y Gwee, 2004; Ranawaka et al., 2013*).
- **Citotóxicos.** Se caracterizan por producir una inflamación dolorosa y progresiva en el sitio de la mordedura, convirtiéndose en ampollas y hematomas, que a veces se combinan con efectos sistémicos, incluyendo shock hipovolémico (*Slagboom et al., 2017*). A menudo, se desarrolla un daño tisular local extenso, caracterizado por necrosis de la extremidad afectada. Las enzimas hidrolíticas, como las SVMP y PLA₂, y los 3FTX citotóxicos no enzimáticos se han relacionado como agentes causales (*Rivel et al., 2016*).

2. OBJETIVOS

Los objetivos del presente trabajo fueron la revisión bibliográfica de los principales venenos de serpiente con importancia toxicológica y farmacológica, así como la valoración de las aplicaciones terapéuticas ya contrastadas de algunos de éstos, además de las diferentes investigaciones y ensayos clínicos que se están llevado a cabo actualmente para la mejora terapéutica de diferentes enfermedades con gran incidencia en la población.

3. METODOLOGÍA

Se empezaron a realizar búsquedas bibliográficas en diferentes bases de datos, fundamentalmente en “Pubmed” “Google Scholar” y “ScienceDirect”. Para ello, fueron empleadas palabras clave generales, tales como snake venom y therapeutic applications, y palabras clave específicas, siendo algunos ejemplos de éstas BPP5a, hypotensive o *Bothrops jararacá*, entre otras.

En la Figura 5 se puede apreciar la cantidad de fuentes que aparecen en cada una de las bases de datos empleadas aplicando distintas combinaciones de las diferentes palabras clave, tanto generales como específicas. Se observa cómo va disminuyendo el número de resultados encontrados a medida que empleamos palabras más específicas.

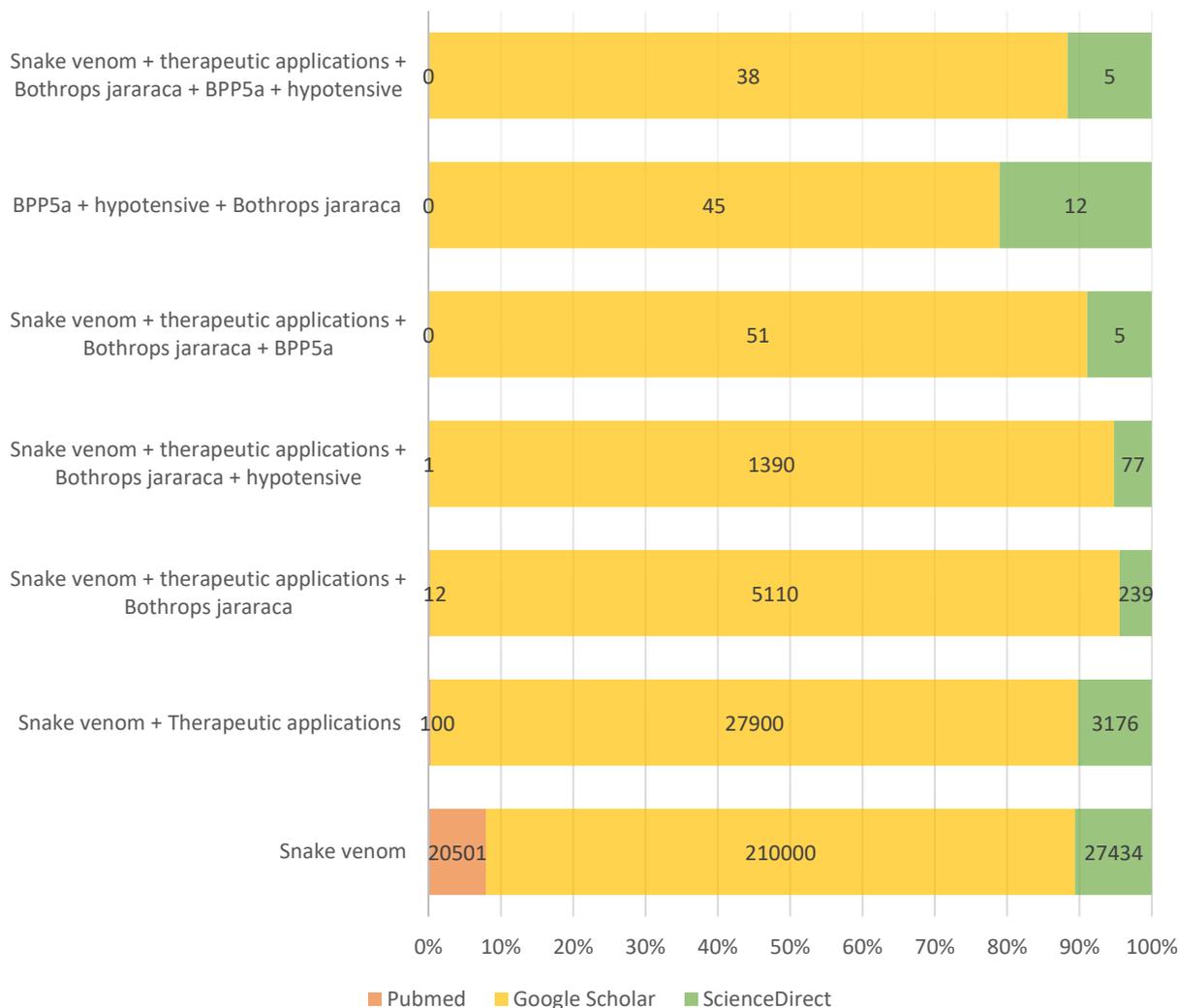


Figura 5. Resultados encontrados tras una búsqueda bibliográfica en las distintas bases de datos consultadas aplicando diversas palabras clave.

Otro dato que se tuvo en cuenta a la hora de realizar las búsquedas fue la fecha de publicación, dándole especial importancia a aquellas fuentes publicadas más recientemente. Por esto, la mayoría de las fuentes bibliográficas donde se recogen los datos más interesantes en cuanto a aplicaciones terapéuticas de los venenos de serpiente se encuentran comprendidas entre los años 2015 a la actualidad. Por otro lado, se ha accedido a otras páginas web de diferentes instituciones oficiales como son las de la Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios (AEMPS) y Organización Mundial de la Salud (OMS) para conocer datos estadísticos relativos al objetivo del presente trabajo.

De toda la información recabada, se le dieron prioridad, a aquellos artículos que procedían o estaban incluidos en fuentes de reconocida solvencia y, de éstos, aquellos que eran en un mayor número de veces citados por otros investigadores de reconocido prestigio. Además de aquellos que, al realizar la búsqueda, fueran un resultado singular.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los posibles usos clínicos de los diferentes derivados de venenos de serpiente se encuentran, en su mayoría, en distintas etapas de desarrollo. Así mismo, la síntesis de agentes terapéuticos o la investigación de éstos como candidatos se basan en el propio mecanismo de acción tóxico de los venenos.

Cabe mencionar que las serpientes más empleadas en la búsqueda de nuevos compuestos activos a partir de sus venenos son: *Bothrops jararaca*, *Crotalus durissus terrificus*, *Crotalus durissus cascavella*, *Agkistrodon contortrix*, *Bothrops moojeni*, *Daboia russelii*, *Bothrops atrox* y *Crotalus adamanteus* (Figura 6).



Figura 6. Imágenes de las distintas especies de serpientes venenosas más empleadas en el desarrollo de fármacos. 1. *Bothrops jararaca*. 2. *Crotalus durissus terrificus*. 3. *Crotalus durissus cascavella*. 4. *Agkistrodon contortrix*. 5. *Bothrops moojeni*. 6. *Daboia russelii*. 7. *Bothrops atrox*. 8. *Crotalus adamanteus*.

Actualmente, son una fuente de inspiración para la síntesis de nuevos fármacos en una amplia variedad de enfermedades tales como, inflamación, Diabetes Mellitus II y enfermedades autoinmunes y neuropsiquiátricas (Alzhéimer, Párkinson, etc.), entre otras. Sin embargo, como se puede apreciar en la Figura 7, entre los campos más investigados por el posible beneficio de estos derivados sobre distintas patologías, caben destacar aquellos relacionados con la oncología y sus efectos sobre células cancerígenas, con su potente actividad hipotensiva y anticoagulante, o con sus

propiedades antibacterianas, antiparasitarias y antifúngicas. Es por ello que, dada la relevancia de estas últimas enfermedades, se profundiza a continuación.

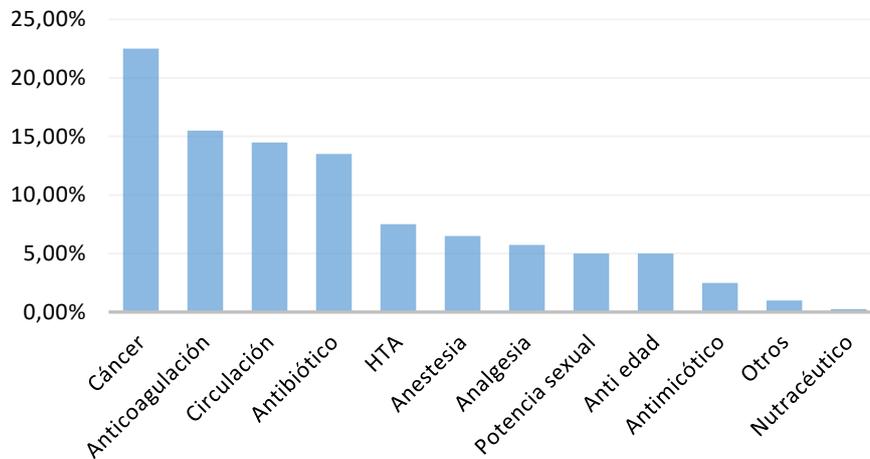


Figura 7. Tendencia mundial en investigación del veneno de serpientes y sus posibles usos. Adaptada de Ortiz-Prado et al. (2015).

4.1. CÁNCER

Las integrinas son los receptores de adhesión que conectan las células a la ECM (Moritz et al., 2018). Su estructura presenta dos subunidades α y β distintas y regulan diversas funciones en la patología del cáncer y en el desarrollo de células tumorales (Macêdo et al., 2015). Las **desintegrinas**, presentes en los venenos de las serpientes de las familias *Viperidae*, *Crotalidae*, *Elapidae* y *Colubridae*, tienen la capacidad de interactuar con las integrinas, incluso con las específicas. La Figura 8 refleja cómo las integrinas actúan sobre las células, sanas o cancerígenas, y las desintegrinas contra aquellas.

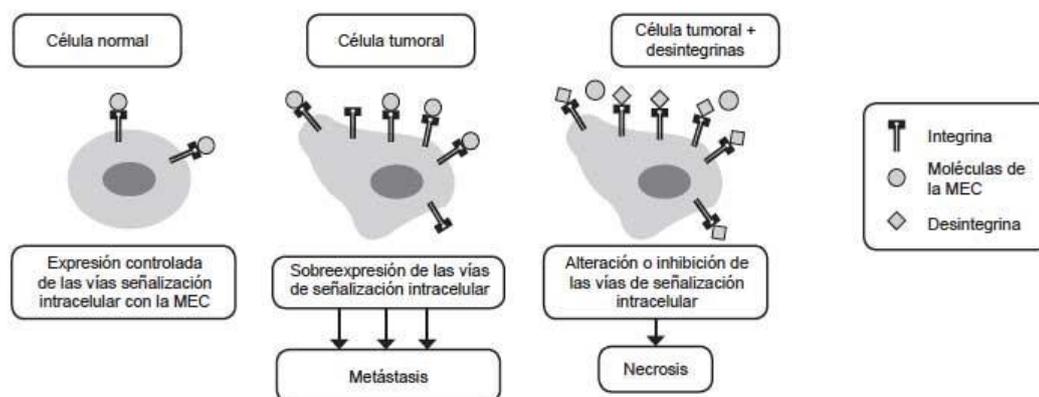


Figura 8. Esquema de la expresión de las integrinas y mecanismo de acción sugerente de las desintegrinas (Vivas et al., 2012).

En consecuencia, es razonable que puedan interferir en procesos importantes implicados en la carcinogénesis, el crecimiento de tumores, la invasión y la migración. Aunque las desintegrinas son altamente efectivas para unir e inhibir la función de la integrina, la mayoría de los estudios clínicos no han avanzado más allá del desarrollo clínico temprano debido a los problemas de inestabilidad e inmunogenicidad, comunes a los fármacos basados en péptidos (Macêdo et al., 2015).

En este sentido, se ha estudiado la aplicación de una desintegrina llamada salmosin, procedente del veneno de la serpiente *Agkistrodon halys brevicaudus*. Este compuesto se une a la integrina $\alpha\beta_3$ inhibiendo fuertemente la proliferación celular inducida por el factor de crecimiento de fibroblastos básico (bFGF). Su administración diaria es capaz de suprimir la progresión de tumores. Sin embargo, es muy difícil mantener sus niveles terapéuticos en la sangre mediante la administración sistémica. Por esta razón, se ha desarrollado un método único de lipoplex para administrar ADN de salmosin *in vivo*, donde el gen de salmosin se administra con liposomas catiónicos. La administración subcutánea de este gen dio como resultado la expresión sistémica y la inhibición concomitante del crecimiento de las células de melanoma B16BL6 y la supresión de las metástasis pulmonares. Estos resultados sugieren que la administración del gen de salmosin complejado con liposomas catiónicos es eficaz para mantener el salmosin a un nivel terapéutico efectivo y puede ser clínicamente aplicable a la terapia génica contra el cáncer (Macêdo et al., 2015).

La contortostatina (CN), desintegrina constituyente del veneno de *Agkistrodon contortrix contortrix* y purificada por primera vez en 1994 (Tripathi et al., 1994), presenta actividad antitumoral. Se une a la integrina $\alpha\beta_3$, pero también es capaz de reconocer las integrinas $\alpha_{IIb}\beta_3$, $\alpha_5\beta_1$ y $\alpha\nu\beta_5$, por lo que tiene una amplia variedad de efectos (Zhou et al., 2000). Para su uso terapéutico, se ha desarrollado un método clínicamente relevante de administración mediante el suministro liposomal. Las ventajas de la administración liposomal de CN son que tiene una vida media circulatoria significativamente prolongada en comparación con la proteína nativa, se acumula de forma pasiva en el tumor, no tiene reactividad plaquetaria y el sistema inmunitario no lo reconoce. En cuanto a la actividad biológica, se conservó por completo, lo que llevó a una potente actividad antiangiogénica en el modelo de tumor mamario (Swenson et al.,

2004). Posteriormente, se utilizó una formulación liposomal similar, y la preparación también demostró proporcionar una actividad antitumoral y antiangiogénica *in vivo* efectiva en un modelo animal de cáncer de ovario humano (Swenson *et al.*, 2005). Minea *et al.* en 2005 llevaron a cabo el mismo procedimiento de encapsulación liposomal, pero en lugar de CN nativa, utilizaron una proteína recombinante y demostraron que la CN se puede producir de manera fácil y rentable, de forma recombinante y con una excelente eficacia antitumoral en el modelo de carcinoma de mama.

Alternagin-C (ALT-C), un glutamato-cisteína-aspartato-desintegrina del veneno de *Bothrops alternatus*, tiene una alta afinidad por unirse a la integrina $\alpha 2\beta 1$, uno de los principales receptores de colágeno I, en la actividad y expresión de las metaloproteasas de matriz (MMP), siendo claves en la progresión tumoral, ya que ayudan a las células tumorales a modificar su microentorno, permitiendo la migración de estas células a sitios secundarios. La ALT-C actúa mediante dos mecanismos distintos, según el tipo de célula: en las células tumorales, disminuye los contenidos y la actividad de MMP-9 y MMP-2; y en las células endoteliales, la ALT-C inhibe la MMP-2, necesaria para la angiogénesis tumoral. Por todo ello, esta desintegrina es de gran interés para el desarrollo de terapias antiangiogénicas y antimetastásicas (Moritz *et al.*, 2018). Además, gracias al veneno de esta serpiente, se ha podido desarrollar una desintegrina recombinante llamada DisBa-01, la cual interactúa con las integrinas $\alpha v\beta 3$, perdiéndose la actividad direccional celular de las células de carcinoma escamoso orales migratorias (Montenegro *et al.*, 2017).

A modo resumen, en la Figura 9 se puede observar las distintas desintegrinas que se están investigando para poder ser utilizadas como futuros agentes terapéuticos frente al cáncer.

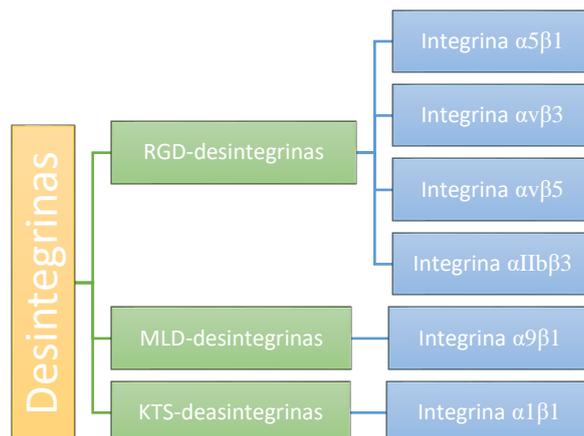


Figura 9. Esquema de tipos de desintegrinas expresadas en el cáncer. Creación propia.

Además de a las desintegrinas, la actividad antineoplásica de los venenos de serpiente también puede deberse parcialmente a la actividad de la **LAAO**, pues se une preferentemente a la superficie de las células tumorales. Esto produce la liberación de peróxido de hidrógeno que, una vez acumulado, induce estrés oxidativo y, en consecuencia, apoptosis de las células (Ande et al., 2006). Se ha estudiado el efecto antitumoral de la LAAO del veneno de *Ophiophagus Hannah*, demostrándose que presenta una actividad antiproliferativa muy potente contra células tumorales de mamas y pulmones humanos, pero no en el resto de células no tumorales (Nicolau et al., 2018). Además, LAAO demostró exhibir una potente citotoxicidad contra las células prostáticas cancerosas PC-3, sin producir daño evidente en el resto de los tejidos. Dada su potente actividad antitumoral mostrada tanto *in vitro* como *in vivo*, LAAO podría desarrollarse para tratar el cáncer de próstata y otros tumores sólidos (Lee et al., 2014). La rusvinoxidasa, una LAAO purificada del veneno de la víbora de Russell (*Daboia russelii*) indujo apoptosis en células MCF7 (línea celular del cáncer epitelial) (Nicolau et al., 2018).

Debido a la resistencia de las células de melanoma al cisplatino hace que su uso clínico se restrinja, por lo que sería necesario encontrar nuevos inhibidores de tumores y tratamientos de combinación efectivos que sensibilicen las células tumorales a este medicamento (Morjen et al., 2018). En este sentido, se purificó la **macrovipecetina**, una lectina de tipo C del veneno de la serpiente *Macrovipera lebetina* para investigar su efecto antitumoral solo o combinado con cisplatino en células de melanoma humano SK-MEL-28. La macrovipecetina disminuyó la viabilidad celular del melanoma 100 veces

más que el cisplatino. Estos tratamientos perjudicaron la adhesión celular SK-MEL-28, la migración y la invasión a través de la modulación de la función y la expresión de la integrina $\alpha\beta3$ (Hammouda et al., 2018). Cabe añadir que el veneno de esta serpiente presenta un componente llamado lebetina 2 que también posee efecto antitumoral (Morjen et al., 2018).

La **citotoxina-I** y la **citotoxina-II**, aisladas del veneno de *Naja oxiana*, son otro ejemplo de compuestos que han mostrado presentar una actividad anticancerígena más efectiva que el cisplatino (Munawar et al., 2018). Se ha de mencionar que la **crotalidina** (Ctn), péptido relacionado con la catelidina del veneno de la serpiente de cascabel sudamericana, *Crotalus durissus terrificus*, y su fragmento C-terminal [15-34], también se les atribuye actividad antitumoral (Pérez-Peinado et al., 2018). Por último, se conoce que otros componentes de los venenos de serpiente, como **SVMP** y **PLA₂**, tienen propiedades antiangiogénicas, siendo capaces de influir en la actividad antitumoral (Nicolau et al., 2018).

4.2. TRASTORNOS CARDIOVASCULARES

Los receptores adrenérgicos β se clasifican en tres subtipos: $\beta1$, $\beta2$, $\beta3$, siendo los dos primeros de interés dado al mecanismo de acción de ciertos componentes de los venenos de serpiente. Los receptores $\beta1$ causan, tras su estimulación, incremento de la fuerza y velocidad de contracción del corazón y agregación plaquetaria, entre otras y los adrenérgicos $\beta2$ producen vasodilatación y aumentan o facilitan la liberación de noradrenalina (Bachiller, 2017).

El veneno de *B. jararaca* puede presentar moléculas que ejercen su acción sobre receptores β -adrenérgicos. Estas moléculas son parecidas a la **β -cardiotoxina**, componente del veneno de *Ophiophagus hannah*, la cual inhibe a los receptores $\beta-1$ y $\beta-2$. Además, pueden actuar como agonistas de estos receptores para tratar la insuficiencia cardíaca/ shock cardiogénico y la bradicardia (Nicolau et al., 2018).

En otros estudios se ha demostrado que los venenos de *Montivipera bornmuelleri* y *Crotalus durissus cascavella* presentan efecto vasodilatador,

posiblemente por inducir la producción de NO, presentando un posible uso en tratamientos frente a la hipertensión (Accary et al., 2016; Santos et al., 2017).

Así mismo, el veneno de serpiente es de gran interés en los estudios de coagulación debido a que presentan una gran cantidad de compuestos hemotóxicos. Muchas de las proteínas del veneno que se dirigen a la hemostasia son los **snaclecs**. Éstos son lectinas de tipo C de veneno de serpiente y poseen un bucle muy extendido que interactúa con proteínas críticas que controlan la hemostasia. Como se aprecia en la Figura 10, el efecto de los snaclecs puede ser bien, pro o anticoagulante, como los que se dirigen al factor IX, factor X, protrombina o α -trombina o bien, pro o antitrombótico, aquellos que actúan sobre los receptores de plaquetas, como la glucoproteína Iba, la glucoproteína Ia/IIa, o glucoproteína VI [GPVI]) (Herr, 2017).

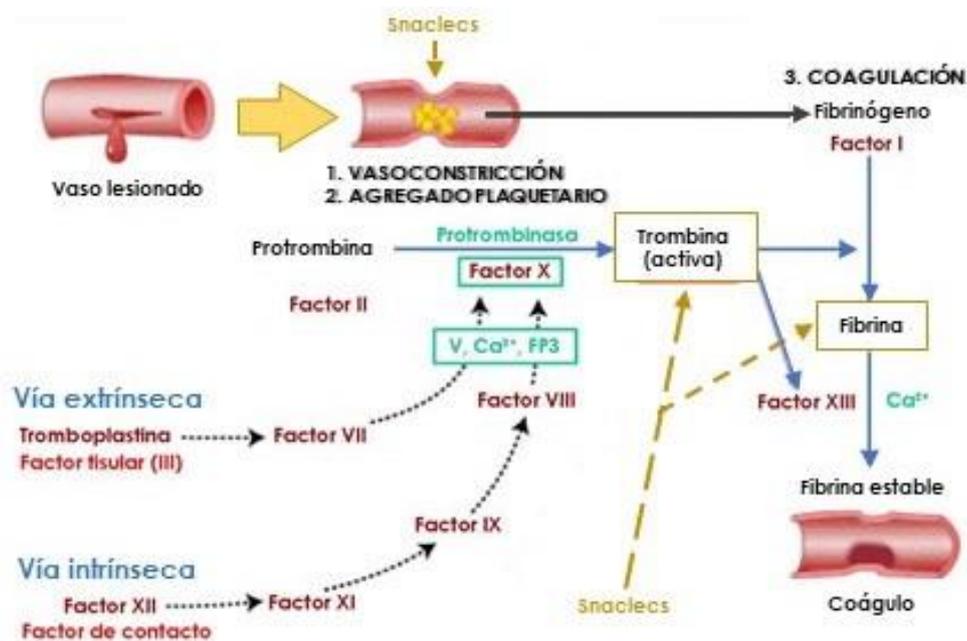


Figura 10. Mecanismo general de coagulación. Acción de los snaclecs como agentes anticoagulantes y antitrombóticos. Creación propia.

La convulxina, proteína derivada del veneno de *Crotalus durissus terrificus*, fue el primer snaclec identificado capaz de inducir activación plaquetaria a través de la unión a GPVI y glucoproteína Iba (GPIba) (Chang et al. 2017). Es particularmente eficaz para activar la señalización de GPVI por su alta afinidad por la GPVI y alta avidéz. Estas características generales para snaclecs son de gran interés, ya que se pueden utilizar como atractivos puntos de partida para el diseño de nuevos agentes terapéuticos. Sin

embargo, su naturaleza heterodimérica unida por disulfuro supone un reto en la expresión recombinante de éstos (Herr, 2017). En este sentido, un estudio de Chang *et al.* (2017) mostraba que los péptidos cortos derivados del snakec trowaglerix, presentes en el veneno de la víbora *Tropidolaemus waglerix*, son altamente eficaces impidiendo la activación plaquetaria mediada por GPVI *in vitro* e *in vivo*, sin inducir trombocitopenia ni prolongando el tiempo de sangrado. A diferencia de la convulxina, que puede unirse tanto a GPVI como a la GPIb α , trowaglerix es específico para GPVI (Herr, 2017).

Chang *et al.* (2017) también realizó diferentes estudios con péptidos sintéticos cortos (6 ó 10 residuos de longitud) de la porción C-terminal de la subunidad α de trowaglerix (llamados Tro α 6 o Tro α 10, respectivamente) para comprobar si presentaban actividad inhibitoria. Así, se observó que Tro α 6 y Tro α 10 presentaban una específica y marcada actividad inhibitoria en la agregación plaquetaria, inducida por colágeno al interactuar con el receptor de GPVI *in vitro*. Así mismo, ejercieron eficazmente actividad antitrombótica en modelos de ratones sin causar tendencia al sangrado, atribuyéndoles, en un principio, ciertas ventajas frente a los medicamentos antiplaquetarios actuales.

En la Figura 11 se puede apreciar el mecanismo de acción del péptido Tro α 10, que inhibe la activación plaquetaria inducida por el colágeno a través de GPVI.

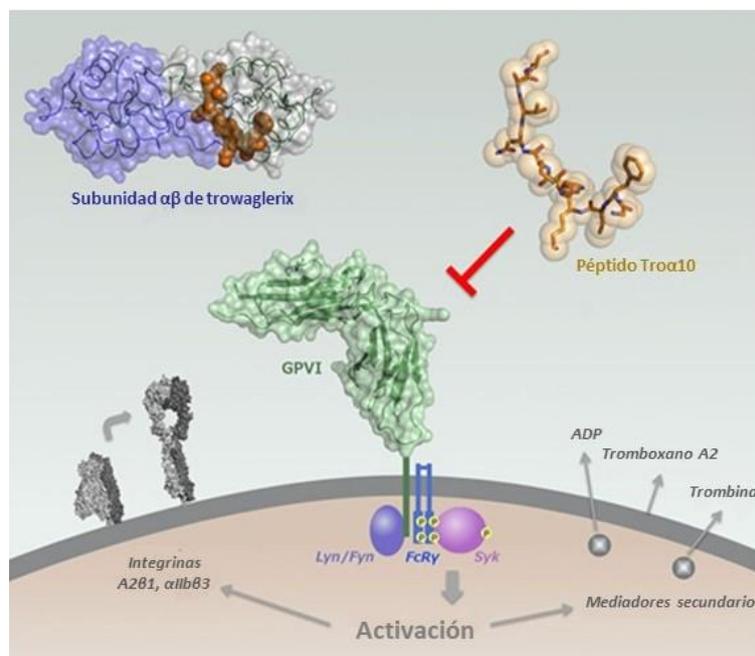


Figura 11. Mecanismo de acción del péptido Tro α 10. Adaptada de Herr (2017).

Actualmente se están desarrollando otros **SVSP** fibrinogenolíticos, como el "hemocogulase agkistrodon" aislado de la serpiente *Deinagkistrodon acutus* y el "crotalase" de la serpiente de cascabel oriental *Crotalus adamanteus*. Estas dos toxinas de la SP se encuentran en desarrollo temprano como terapias anticoagulantes, con indicaciones pronosticadas que incluyen la disminución de los tiempos de coagulación durante los procedimientos quirúrgico (*Slagboom et al., 2017*).

Otros agentes hemostáticos que se encuentran en investigación son varias toxinas aisladas del veneno de la serpiente *Pseudonaja textiles*. **Textilinin-1**, inhibidor de la serina proteasa tipo kunitz, inhibe la plasmina y presenta pocos efectos sobre otras SP. A priori, esta toxina podría emplearse como un medicamento antifibrinolítico. Además, se está desarrollando su uso como posible reductor de hemorragias en cirugías complejas. Las **toxinas similares Factor X y Factor V activadas**, aisladas del veneno de esta misma serpiente, también se están empleando en nuevas terapias para controlar el sangrado. La proteína similar al factor Xa se está evaluando, bajo el nombre de Haempatch, para controlar el sangrado en traumatología o cirugía, mientras que la proteína similar al factor Va, CoVase, para combatir la hemorragia no compresible (*Slagboom et al., 2017*).

Por último, los compuestos hemotóxicos también se utilizan con fines de diagnóstico, particularmente en relación con las pruebas de coagulación de la sangre. Por ejemplo, la toxina **ecarina** de *Echis carinatus* se ha utilizado durante más de dos décadas como estándar en la prueba del tiempo de coagulación con ecarina (TDE), ensayo utilizado en la cuantificación de los inhibidores directos de la trombina, y en el control de los niveles de medicamentos, como la hirudina, durante la terapia con anticoagulantes (*Nowak y Bucha, 1993*). La ecarina también se usa en una prueba de diagnóstico para anticoagulantes de lupus, junto con la toxina **textarina** de la serpiente *P. textiles* (*Stocker et al, 1994*). La prueba de tiempo de veneno de la víbora de Russell diluido (prueba dRVVT), también aprovecha esta acción procoagulante como un estándar de coagulación (*Takeya et al., 1992*).

A pesar de todos los componentes que actualmente están en investigación, otros se han empleado como estructuras de partida, contribuyendo a la síntesis de nuevos

agentes activos, de los cuales han sido comercializados: captopril, tirofibán, eptifibatida, batroxobina y ancrod.

Ferreira (1965) demostró cómo varios extractos del veneno de *B. jararaca* potenciaban los efectos de la bradisinina, debido a la inhibición de la ECA, provocando el gran interés de éstos en la regulación de la presión arterial. *Ferreira et al.* (1970) y *Ondetti et al.* (1971) aislaron y analizaron de forma independiente extractos de *B. jararacá* con una potente acción antihipertensiva, pero inactivos por vía oral. Tras esto, *Ondetti et al.* (1977) anunciaron un nuevo fármaco inhibidor de la ECA llamado **captopril**, con la ventaja de poder ser administrado por vía oral.

Este compuesto se diseñó en base a BPP5a, pentapéptido potenciador de la bradisinina (*Li et al., 2018*), aprovechando las actividades hipotensivas y vasodilatadoras presentes en los BPP. De esta forma, el captopril fue el primer fármaco exitoso elaborado a partir del veneno de serpiente, siendo el precursor del diseño racional de medicamentos (*Rebello Horta et al., 2016*).

Tirofibán (Aggrastat®) y **eptifibatida** (Integrillin®) son dos tipos de toxinas que se han usado con éxito en terapias humanas. Derivan de los péptidos de las desintegrinas que se encuentran en los venenos de la víbora de sierra (*Echis carinatus*) y la serpiente de cascabel pigmea (*Sistrurus miliarius barbouri*), respectivamente. Ambas desintegrinas presentan un potente efecto inhibidor sobre el receptor de integrina $\alpha_2\beta_3$, evitando así la agregación de plaquetas. Ambas toxinas se desarrollaron sintéticamente; como una molécula no peptídica en el caso de tirofibán y como un análogo de heptapéptido cíclico para eptifibatide. Estos fármacos anticoagulantes están indicados para pacientes que sufren anginas inestables e infartos de miocardio (*Gan et al., 1988; Ohman et al., 1995; Slagboom et al., 2017*).

Otro medicamento es la **batroxobina**, desarrollada a partir de la toxina SP aislada del veneno de la víbora *Bothrops moojeni*. Es un fármaco anticoagulante de importancia para el tratamiento de trastornos trombóticos. Esta toxina enzimática presenta una potente especificidad por el fibrinógeno, liberando el fibrinopéptido A a través de la ruptura de la cadena α del fibrinógeno (desfibrinación), de manera secundaria e

indirecta, esto a su vez induce la liberación de un activador del plasminógeno tisular, que convierte el plasminógeno en plasmina y promueve la degradación de los coágulos. Las SP presentan similitudes con las trombinas y, además, exhiben la ventaja de no ser inhibidas por los inhibidores endógenos o exógenos clásicos de la SP. Está indicada para el tratamiento del ictus isquémico, angina de pecho, infarto de miocardio y cerebral y manejo de heridas tras intervenciones quirúrgicas (Stocker et al., 1988; Hutton y Warrell, 1993; Slagboom et al., 2017).

Ancrod es otra SVSP aislada del veneno de la víbora malaya (*Calloselasma rhodostoma*) que degrada el fibrinógeno. Ancrod se empleaba como agente anticoagulante en accidentes cerebrovasculares isquémicos, infarto de miocardio y la trombosis venosa profunda y mostró un beneficio potencial en la trombocitopenia y en el síndrome de trombosis asociados a heparina. A pesar de ello, tras muchos años, los resultados erróneos de los ensayos clínicos dieron lugar a su suspensión (Bell, 1988; Slagboom et al., 2017).

4.3. INFECCIONES BACTERIANAS PARASITARIAS Y FÚNGICAS

Las defensinas humanas son una familia importante de péptidos antimicrobianos catiónicos que mejoran la resistencia de las superficies epiteliales frente a la colonización microbiana. Se clasifican en: α -, β - y θ - (Rivas-Santiago et al., 2006) y poseen actividades antimicrobianas frente a una amplia gama de bacterias Gram-negativas y Gram-positivas (Yamane et al., 2013). En la Figura 12 se puede observar el mecanismo de acción de éstas sobre las membranas bacterianas.

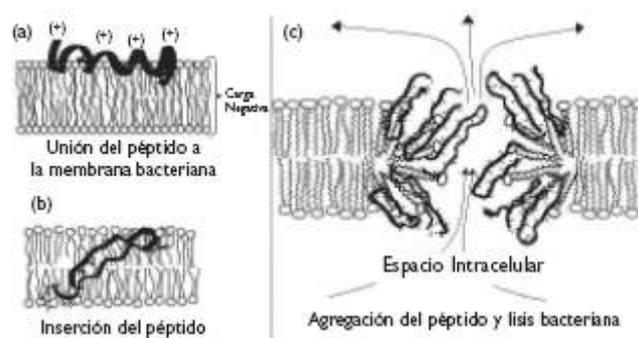


Figura 12. Mecanismo de acción de las defensinas (Rivas-Santiago et al., 2006).

La **crotamina**, péptido presente en el veneno de *Crotalus durissus terrificus*, presenta similitud estructural con las β -defensinas humanas, deduciéndose una actividad antimicrobiana contra bacterias Gram-positivas y Gram-negativas. Así mismo, presenta una marcada actividad antifúngica a bajas concentraciones contra *Candida* spp., *Trichosporon* spp. y *Cryptococcus neoformans*, presentando, además, pocos efectos perjudiciales sobre las células normales de mamíferos (Yamane et al., 2013).

Algunos venenos del género *Bothrops* presentan, entre otras, actividades antibacterianas frente bacterias Gram-negativas y Gram-positivas. Esta actividad se asocia a la proteína **PLA₂** o al **LAO**, cuyos mecanismos de acción aún están por determinar. A ambas enzimas también se les atribuye también una acción antiparasitaria, por ejemplo, contra *Leishmania amazonensis*, *Leishmania infantum*, *Leishmania major*, *Trypanosoma cruzi* y *Plasmodium falciparum* (Nicolau et al., 2018).

La **crotalidina** (Ctn), al margen de la actividad antineoplásica mencionada anteriormente, posee potentes propiedades antimicrobianas y antifúngicas. Particularmente, se ha investigado el mecanismo de acción de Ctn y su fragmento C-terminal [15-34] contra bacterias Gram-negativas. Ambos péptidos han demostrado ser bactericidas, eliminando aproximadamente el 90% de poblaciones de *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* en un intervalo de 90-120 min y 5-30 min, respectivamente. Ambos péptidos permeabilizan la membrana celular bacteriana, pero con mecanismos de acción ligeramente diferentes. Ctn [15-34] se une y rompe inmediatamente las membranas lipídicas, mostrando preferencia por las vesículas que imitan las membranas de las células bacterianas, mientras que Ctn presenta un período de retraso antes de inducir daño a las membranas con una actividad de destrucción celular más compleja. En consecuencia, todo esto sugiere que Ctn [15-34] es una ventaja prometedora para su desarrollo como agente antibacteriano (Pérez-Peinado et al., 2018).

5. CONCLUSIONES

Las conclusiones más destacadas obtenidas en este trabajo pueden resumirse en:

1. El empleo de los venenos de serpiente ha conllevado a la búsqueda de nuevos fármacos, así como a conocer con mayor profundidad los mecanismos empleados en algunas enfermedades.
2. Actualmente, el estudio de los venenos como posibles agentes terapéuticos van encaminados principalmente en la cura contra el cáncer, gracias a las desintegrinas presentes en ellos.
3. El desarrollo de los péptidos cortos, Tro α 6 o Tro α 10, podría proporcionar nuevas vías efectivas para el diseño de nuevos fármacos antitrombóticos de manera segura y efectiva.
4. Gracias al estudio de los componentes de dichos venenos, ha sido posible la síntesis de fármacos hipotensivos (captopril) y anticoagulantes (tirofibán, eptifibatida, batroxobina).
5. Algunos péptidos presentes en los venenos están dando buenos resultados frente a infecciones bacterianas, parasitarias y fúngicas.
6. Debido a las amplias aplicaciones de sus componentes, son de gran interés hoy en día, por lo que se siguen investigando sus efectos sobre las enfermedades mencionadas y se intentan aplicar a otras, tales como la enfermedad por reflujo gastroesofágico, trastornos del sistema nervioso central, como el Párkinson o el Alzhéimer, Diabetes Mellitus tipo II, enfermedades autoinmunes, alergias, etc.

6. BIBLIOGRAFÍA

1. Accary C, Hraoui-Bloquet S, Sadek R, Alameddine A, Fajloun Z, Desfontis JC, et al. The relaxant effect of the *Montivipera bornmuelleri* snake venom on vascular contractility. *J Venom Res.* 2016; 7: 10-15.
2. Ande SR, Kommoju PR, Draxl S, Murkovic M, Macheroux P, Ghisla S, Ferrando-May E. Mechanisms of cell death induction by L-amino acid oxidase, a major component of ophidian venom. *Apoptosis.* 2006; 11(8): 1439-1451.
3. Atack JR. GABAA receptor subtype-selective modulators. I. $\alpha 2/\alpha 3$ -selective agonists as non-sedating anxiolytics. *Curr Top Med Chem.* 2011; 11(9): 1176-1202.
4. Bachiller A. Fármacos simpaticomiméticos y parasimpaticomiméticos [en línea]. Lima: 2017. [Consultado en Enero 2019]. Disponible en: <http://repositorio.uigv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.11818/1342/TRABAJO%20ODE%20SUFICIENCIA%20FERNANDEZ%20ZAMORA,%20ANDREA.pdf?sequence=2>
5. Bell WR. Clinical trials with Ancrod. En: Pirkle H, Markland FS, editores. *Haemostasis and animal venoms.* New York: Marcel Dekker; 1988. p. 541-551.
6. Casewell NR, Wagstaff SC, Wüster W, Cook DAN, Bolton FMS, King SI, et al. Medically important differences in snake venom composition are dictated by distinct postgenomic mechanisms. *PNAS.* 2014; 111(25): 9205-9210.
7. Chacón M. Breve reseña de la historia de la seroterapia. *Bol Inst Nac Salud.* 2001; 7(6): 6-9.
8. Chang CH, Chung CH, Tu YS, Tsai CC, Hsu CC, Peng HC, et al. Trowaglerix venom polypeptides as a novel antithrombotic agent by targeting immunoglobulin-like domains of glycoprotein VI in platelet. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2017; 37(7): 1307-1314.
9. David V, Succar BB, de Moraes JA, Saldanha-Gama RFG, Barja-Fidalgo C, Zingali RB. Recombinant and chimeric disintegrins in preclinical research. *Toxins.* 2018; 10(8): 321.
10. Ferreira SH. A bradykinin-potentiating factor (bpf) present in the venom of *Bothrops jararaca*. *Brit J Pharmacol.* 1965; 24(1): 163-169.
11. Ferreira SH, Bartelt DC, Greene LJ. Isolation of bradykinin-potentiating peptides from *Bothrops jararaca* venom. *Biochemistry.* 1970; 9(13): 2583-2593.

12. Gan ZR, Gould RJ, Jacobs JW, Friedman PA, Polokoff MA. Echistatin: a potent platelet aggregation inhibitor from the venom of the viper *Echis carinatus*. J Biol Chem. 1988; 263(36): 19827-19832.
13. Gómez G. Características de las serpientes, clasificación, alimentación y hábitat [en línea]. 2018. [Consultado en Diciembre 2018]. Disponible en: <https://reptiles.paradais-sphynx.com/informacion/caracteristicas-serpientes.htm>
14. González-Rivera A, Chico-Aldama P, Domínguez-Viveros W, Iracheta-Gerez ML, López-Alquicira M, Cuellar-Ramírez A, et al. Epidemiología de las mordeduras por serpiente. Su simbolismo. Acta Pediatr Mex. 2009; 30(3): 182-191.
15. Gutiérrez JM, Escalante T, Rucavado A, Herrera C. Hemorrhage caused by snake venom metalloproteinases: a journey of discovery and understanding. Toxins. 2016; 8(4): 93.
16. Hammouda MB, Riahi-Chebby I, Souid S, Othman H, Aloui Z, Srairi-Abid N, et al. Macrovipecetin, a C-type lectin from *Macrovipera lebetinavenom*, inhibits proliferation migration and invasion of SK-MEL-28 human melanoma cells and enhances their sensitivity to cisplatin. Biochim Biophys Acta Gen Subj. 2018; 1862(3): 600-614.
17. Herr AB. Charming the snake: venom-derived peptides show surprising efficacy as glycoprotein vi-targeting antithrombotic agents. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2017; 37(7): 1266-1268.
18. Huertos MJ, Fernández-Ruiz A, Ginestal RJ, Ginestal RC. Intoxicaciones, picaduras y mordeduras por animales venenosos. En: Torres LM, director. Tratado de cuidados críticos y emergencias. 1ª ed. Madrid: ARÁN ediciones, S.L.; 2002. p. 1543-1571.
19. Hutton RA, Warrell DA. Action of snake venom components on the haemostatic system. Blood reviews.1993; 7(3):176-189.
20. Izidoro LFM, Sobrinho JC, Mendes MM, Costa TR, Grabner AN, Rodrigues VM, et al. Snake venom L-amino acid oxidases: trends in pharmacology and biochemistry. Biomed Res Int. 2014; 2014: 196754.
21. Kessler P, Marchot P, Silva M, Servent D. The three-finger toxin fold: a multifunctional structural scaffold able to modulate cholinergic functions. J Neurochem. 2017; 142(2): 7-18.

22. Lee ML, Fung SY, Chung I, Pailoor J, Cheah SH, Tan NH. King cobra (*Ophiophagus hannah*) venom L-amino acid oxidase induces apoptosis in PC-3 cells and suppresses PC-3 solid tumor growth in a tumor xenograft mouse model. *Int J Med Sci.* 2014; 11(6): 593-601.
23. Li L, Huang J, Lin Y. Snake venoms in cancer therapy: past, present and future. *Toxins.* 2018; 10(9): 346.
24. Lomonte B, Rey-Suárez P, Fernández J, Sasa M, Pla D, Vargas N, et al. Venoms of *Micrurus* coral snakes: evolutionary trends in compositional patterns emerging from proteomic analyses. *Toxicon.* 2016; 122: 7-25.
25. Longbottom J, Shearer FM, Devine M, Alcoba G, Chappuis F, Weiss DJ, et al. Vulnerability to snakebite envenoming: a global mapping of hotspots. *Lancet.* 2018; 392(10148): 673-684.
26. Macêdo JKA, Fox JW, Castro MS. Disintegrins from snake venoms and their applications in cancer research and therapy. *Curr Protein Pept Sci.* 2015; 16(6): 532-548.
27. Markland FS Jr, Swenson S. Snake venom metalloproteinases. *Toxicon.* 2013; 62: 3-18.
28. Mayor A. The uses of snake venom in antiquity [en línea]. Tennessee: 2011. [Consultado en Noviembre 2018]. Disponible en: <http://www.wondersandmarvels.com/2011/11/the-uses-of-snake-venom-in-antiquity.html>
29. Minea R, Swenson S, Costa F, Chen TC, Markland FS. Development of a novel recombinant disintegrin, contortrostatin, as an effective anti-tumor and anti-angiogenic agent. *Pathophysiol Haemost Thromb.* 2005; 34(4-5): 177-183.
30. Moga MA, Dimienescu OG, Arvătescu CA, Ifteni P, Pleş L. Anticancer activity of toxins from bee and snake venom—an overview on ovarian cancer. *Molecules.* 2018; 23(3): 692.
31. Montenegro CF, Casali BC, Lino RLB, Pachane BC, Santos PK, Horwitz AR, et al. Inhibition of $\alpha v\beta 3$ integrin induces loss of cell directionality of oral squamous carcinoma cells (OSCC). *PLoS One.* 2017; 12(4): e0176226.

32. Moritz MNO, Eustáquio LMS, Micocci KC, Nunes ACC, Dos Santos PK, de Castro Vieira T, et al. Alternagin-C binding to $\alpha 2\beta 1$ integrin controls matrix metalloprotease-9 and matrix metalloprotease-2 in breast tumor cells and endothelial cells. *J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis*. 2018; 24: 13.
33. Morjen M, Othman H, Abdelkafi-Koubaa Z, Messadi E, Jebali J, El Ayeb M, et al. Targeting $\alpha 1$ inserted domain (I) of $\alpha 1\beta 1$ integrin by Lebetin 2 from *M. lebetina transmediterranea* venom decreased tumorigenesis and angiogenesis. *Int J Biol Macromol*. 2018; 117: 790-799.
34. Mukherjee AK, Dutta S, Mackessy SP. A new C-type lectin (RVsnaclec) purified from venom of *Daboia russelii russelii* shows anticoagulant activity via inhibition of FXa and concentration-dependent differential response to platelets in a Ca^{2+} -independent manner. *Thromb Res*. 2014; 134(5): 1150-1156.
35. Munawar A, Ali SA, Akrem A, Betzel C. Snake venom peptides: tools of biodiscovery. *Toxins*. 2018; 10(11): 474.
36. Munawar A, Trusch M, Georgieva D, Hildebrand D, Kwiatkowski M, Behnken H, et al. Elapid snake venom analyses show the specificity of the peptide composition at the level of genera *Naja* and *Notechis*. *Toxins*. 2014; 6(3): 850-868.
37. Nicolau CA, Prorock A, Bao Y, Neves-Ferreira AGDC, Valente RH, Fox JW. Revisiting the therapeutic potential of *Bothrops jararaca* venom: screening for novel activities using connectivity mapping. *Toxins*. 2018; 10(2): 69.
38. Nirthanan S, Gwee MC. Three-finger alpha-neurotoxins and the nicotinic acetylcholine receptor, forty years on. *J Pharmacol Sci*. 2004; 94(1): 1-17.
39. Nowak G, Bucha E. A new method for the therapeutical monitoring of hirudin. *Thromb Haemost*. 1993; 69: 1306.
40. Ohman EM, Harrington RA, Lincoff AM, Kitt MM, Kleiman NS, Tcheng JE. Early clinical experience with integrelin, an inhibitor of the platelet glycoprotein IIb/IIIa integrin receptor. *Eur Heart J*. 1995; 16: 50-55.
41. Ondetti MA, Rubin B, Cushman DW. Design of specific inhibitors of angiotensin-converting enzyme: new class of orally active antihypertensive agents. *Science*. 1977; 196(4288): 441-444.

42. Ondetti MA, Williams NJ, Sabo EF, Pluscec J, Weaver ER, Kocy O. Angiotensin-converting enzyme inhibitors from the venom of *Bothrops jararaca*. Isolation, elucidation of structure, and synthesis. *Biochemistry*. 1971; 10(22): 4033-4039.
43. Organización Mundial de la Salud. Guidelines for the prevention and clinical management of snakebite in Africa [en línea]. Brazaville: 2010. [Consultado en Noviembre 2018]. Disponible en:
<http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/204458/9789290231684.pdf;jsessionid=8983CD5AF2F7EBFCDB027FCB7641BFA3?sequence=1>
44. Organización Mundial de la Salud. Venomous snakes and antivenoms search interface [en línea]. Ginebra: 2017. [Consultado en Diciembre 2018]. Disponible en:
<http://apps.who.int/bloodproducts/snakeantivenoms/database/>
45. Ortiz-Prado E, Molina C, Ramírez D, Espín E, Fierro D. Perspectivas actuales sobre el uso terapéutico del veneno de serpientes. *Rev Med Vozandes*. 2015. 26(1): 47-52.
46. Pérez-Peinado C, Dias SA, Domingues MM, Benfield AH, Freire JM, Radis-Baptista G, et al. Mechanisms of bacterial membrane permeabilization by crotalidin (Ctn) and its fragment Ctn(15-34), antimicrobial peptides from rattlesnake venom. *J Biol Chem*. 2018; 293(5): 1536-1549.
47. Ranawaka UK, Laloo DG, de Silva HJ. Neurotoxicity in snakebite the limits of our knowledge. *PLoS Negl Trop Dis*. 2013; 7(10): e2302.
48. Rebello Horta CC, Chatzaki M, Rezende BA, Magalhães Bde F, Duarte CG, Felicori LF, et al. Cardiovascular-active venom toxins: an overview. *Curr Med Chem*. 2016; 23(6): 603-622.
49. Rivas-Santiago B, Sada E, Hernández-Pando R, Tsutsumi V. Péptidos antimicrobianos en la inmunidad innata de enfermedades infecciosas. *Salud Publica Mex*. 2006; 48(1): 62-71.
50. Rivel M, Solano D, Herrera M, Vargas M, Villalta M, Segura Á, et al. Pathogenesis of dermonecrosis induced by venom of the spitting cobra, *Naja nigricollis*: an experimental study in mice. *Toxicon*. 2016; 119: 171-179.
51. Sanhajariya S, Duffull SD, Isbister GK. Pharmacokinetics of snake venom. *Toxins*. 2018; 10(2): 73.

52. Santos SS, Jesus RLC, Simões LO, Vasconcelos WP, Medeiros IA, Veras RC, et al. NO production and potassium channels activation induced by *Crotalus durissus cascavella* underlie mesenteric artery relaxation. *Toxicon*. 2017; 133: 10-17.
53. Sartim MA, Sampaio SV. Snake venom galactoside-binding lectins: a structural and functional overview. *J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis*. 2015; 21: 35.
54. Slagboom J, Kool J, Harrison RA, Casewell NR. Haemotoxic snake venoms: their functional activity, impact on snakebite victims and pharmaceutical promise. *Br J Haematol*. 2017; 177(6): 947-959.
55. Slagboom J, Otvos RA, Cardoso FC, Iyer J, Visser JC, van Doodewaerd BR, et al. Neurotoxicity fingerprinting of venoms using on-line microfluidic achbp profiling. *Toxicon*. 2018; 148: 213-222.
56. Stocker KF. Clinical trials with batroxobin. En: Pirkle H, Markland FS, editores. *Haemostasis and animal venoms*. New York: Marcel Dekker; 1988. p. 525-540.
57. Stocker K, Hauer H, Müller C, Triplett DA. Isolation and characterization of Textarin, a prothrombin activator from eastern brown snake (*Pseudonaja textilis*) venom. *Toxicon*. 1994; 32(10): 1227-1236.
58. Swenson S, Costa F, Ernst W, Fujii G, Markland FS. Contortrostatin, a snake venom disintegrin with anti-angiogenic and anti-tumor activity. *Pathophysiol Haemost Thromb*. 2005; 34(4-5): 169-176.
59. Swenson S, Costa F, Minea R, Sherwin RP, Ernst W, Fujii G, Yang D, Markland FS Jr. Intravenous liposomal delivery of the snake venom disintegrin contortrostatin limits breast cancer progression. *Mol Cancer Ther*. 2004; 3(4): 499-511.
60. Takeya H, Nishida S, Miyata T, Kawada S, Saisaka Y, Morita T, et al. Coagulation factor X activating enzyme from Russell's viper venom (RVV-X). A novel metalloproteinase with disintegrin (platelet aggregation inhibitor)-like and C-type lectin-like domains. *J Biol Chem*. 1992; 267(20): 14109-14117.
61. Tan CH, Tan KY, Ng TS, Sim SM, Tan NH. Venom proteome of spine-bellied sea snake (*Hydrophis curtus*) from penang, malaysia: toxicity correlation, immunoprofiling and cross-neutralization by sea snake antivenom. *Toxins*. 2018; 11(1): 3.
62. Tasoulis T, Isbister GK. A review and database of snake venom proteomes. *Toxins*. 2017; 9(9): 290.

63. Trikha M, Rote WE, Manley PJ, Lucchesi BR, Markland FS. Purification and characterization of platelet aggregation inhibitors from snake venoms. *Thromb Res.* 1994; 73(1): 39-52.
64. Van Brussel E. Ofidismo [en línea]. México: 2008. [Consultado en Noviembre 2018].
Disponible en: <http://ambiental.uaslp.mx/Urgencias/Serpientes.pdf>
65. Villar-Briones A, Aird SD. Organic and peptidyl constituents of snake venoms: the picture is vastly more complex than we imagined. *Toxins.* 2018; 10(10): 392.
66. Vivas D, Inga R, Yarlequé A. Uso potencial de componentes del veneno de serpiente en el tratamiento del cáncer. *Rev perú med exp salud publica.* 2012; 29(3): 396-401.
67. Waqar M, Batool S. In silico analysis of binding of neurotoxic venom ligands with acetylcholinesterase for therapeutic use in treatment of Alzheimer's disease. *J Theor Biol.* 2015; 372: 107-117.
68. Weinstein SA, Warrell DA, White J, Keyler DE. "Venomous" bites from non-venomous snakes: a critical analysis of risk and management of "colubrid" snake bites. 1ª ed. Londres: Elsevier; 2011.
69. Yamane ES, Bizerra FC, Oliveira EB, Moreira JT, Rajabi M, Nunes GL, et al. Unraveling the antifungal activity of a South American rattlesnake toxin crotamine. *Biochimie.* 2013; 95(2): 231-240.
70. Zambelli VO, Picolo G, Fernandes CAH, Fontes MRM, Cury Y. Secreted phospholipases A₂ from animal venoms in pain and analgesia. *Toxins.* 2017; 9(12): 406.
71. Zaqueo KD, Kayano AM, Simões-Silva R, Moreira-Dill LS, Fernandes CFC, Fuly AL, et al. Isolation and biochemical characterization of a new thrombin-like serine protease from *Bothrops pirajai* snake venom. *Biomed Res Int.* 2014; 2014: 595186.
72. Zhou Q, Nakada MT, Brooks PC, Swenson SD, Ritter MR, Argounova S et al. Contortrostatin, a homodimeric disintegrin, binds to integrin alphavbeta5. *Biochem Biophys Res Commun.* 2000; 267(1): 350-355.