

MECANISMO DE AÇÃO DOS VENENOS DAS COBRAS-CORAIS

José Maria Gutiérrez,

Bruno Lomonte,

Steven Douglas Aird

Nelson Jorge da Silva Jr.



1. INTRODUÇÃO

Os venenos apresentam um importante papel fisiológico para as serpentes: são os fatores responsáveis pela subjugação das presas, iniciam e auxiliam sua digestão e constituem um mecanismo de defesa contra predadores/agressores, sendo de vital importância para estes animais (Gans & Elliot, 1968; Thomas & Pough, 1979; Mackessy, 1993). Acredita-se que a glândula de veneno nas serpentes representa uma modificação de glândulas orais e o aparecimento e desenvolvimento de um aparato venenífero são fatores cruciais na sua radiação adaptativa e no seu consequente sucesso ecológico (Thomas & Pough, 1979; Kochva *et al.*, 1983; Vonk *et al.*, 2008). Alguns autores estimam que o aparato venenífero surgiu pela primeira vez cerca de 200 milhões de anos na evolução dos Squamata, constituindo o principal fator norteador da diversidade ecológica em serpentes e lagartos (Fry *et al.*, 2006).

Um importante ponto conceitual é a distinção entre uma secreção que é uma toxina e outra que é um veneno. Em um contexto biológico, secreção tóxica significa letalidade e secreção venenosa tem a função de papel biológico na vida do animal que a produz. Serpentes venenosas possuem uma glândula especializada que produz um veneno com alguns elementos tóxicos que evoluíram em conjunto com um aparato inoculatório eficiente que, combinado com características comportamentais, se transformou em uma adaptação única. De outro lado, várias serpentes não peçonhentas possuem uma glândula especializada (glândula de Duvernoy) capaz de secretar vários componentes também tóxicos, mas não possuem equipamento e comportamento para usar essas secreções como veneno. Se elas podem até funcionar como veneno para paralisar ou tranquilizar a presa, ou auxiliar na digestão, não funcionam na sua captura direta (*fide* Kardong, 1980, 1982).

Assim, os venenos de serpentes são misturas biológicas complexas de proteínas e enzimas, responsáveis pelo efeito letal, mas também pelo papel importante na digestão da presa e por outras substâncias responsáveis por efeitos biológicos não letais ou associados, como potenciadores, ativadores ou amplificadores. Algumas dessas proteínas são caracterizadas por um efeito muito particular em várias funções biológicas essenciais (coagulação sanguínea, regulação da pressão sanguínea, transmissão do impulso nervoso) e têm se tornado excelentes ferramentas farmacológicas e de diagnóstico, ou mesmo medicamentos eficazes. Os diferentes componentes do veneno, de natureza enzimática ou não, provavelmente evoluíram de enzimas digestivas primitivas produzidas por glândulas não orais. Vários componentes do veneno podem ter evoluído em um processo específico de adaptação à dieta, sendo extremamente eficaz para os animais em sua dieta natural e menos eficaz para outros organismos (Silva Jr. & Aird, 2001). Daí a enorme variabilidade de sinais e sintomas quando o homem entra acidentalmente nesse ciclo, podendo ser interespecífico ou mesmo intraespecífico, incluindo variações ontogenéticas, geográficas, sazonais e, possivelmente, relacionadas ao sexo da serpente (Bjarnason & Fox, 1995; Tu, 1991; Silva Jr, 1997a, b; Calvete *et al.*, 2007; Silva Jr. & Bucarechi, 2003, 2009; Mackessy, 2010).

Cobras-corais não se alimentam de mamíferos, tampouco de seres humanos, o que justifica a expressão “acidente ofídico”, fruto da intromissão dos seres humanos no ciclo biológico dessas serpentes. Todos os aspectos do envenenamento humano são expressões da ação de toxinas que porventura têm certa afinidade com o sistema fisiológico humano, o que significa que nem todas as toxinas isoladas do veneno de cobras-corais, com efeito laboratorial comprovado, possuem essa afinidade. Isso fica claro nos estudos *in vitro*, em que a maioria dos ensaios utiliza venenos brutos ou toxinas purificadas, mas em modelos animais.

Mais corretamente, esses acidentes, venenos e antivenenos deveriam ser denominados micrúricos e não elapídicos. A família Elapidae inclui mais de 65 gêneros e acima de 320 espécies, distribuídas pela África, Ásia, Austrália e Oceania (incluindo espécies terrestres e marinhas) e somente os gêneros *Micrurus*, *Leptomicrurus* e *Micruroides* ocorrem no Novo Mundo. O uso do termo acidente elapídico é muito amplo, e se contrapõe a exemplos como acidente botrópico (gênero *Bothrops* e gêneros relacionados) e acidente crotálico (gênero *Crotalus*). Assim, adotamos o termo acidente micrúrico para aqueles causados por cobras-corais-verdadeiras de ocorrência no Brasil.

De outro lado, os estudos bioquímicos e farmacológicos com venenos de cobras-corais sofrem limitações: além de serem animais de pequeno porte, a obtenção de espécimes na natureza e a manutenção dos mesmos em cativeiro são difíceis, o que culmina na pequena quantidade de veneno obtido por extração (Silva Jr., 1997a; Carvalho *et al.*, 2014) (Figura 1).



Figura 1. Extração de veneno de *Micrurus corallinus* com o uso de micropipetas. Foto: Nelson Jorge da Silva Jr.

Em comparações com os venenos de outras serpentes venenosas e, em especial, outros elapídeos (ver Capítulo VI), os venenos de cobras-coraís possuem componentes semelhantes que já foram descritos e um potencial de outros que dependem de estudos mais aprofundados. Entretanto, as ações observáveis nos envenenamentos humanos estão sujeitas à quantidade de veneno injetado que, por sua vez, é limitada pelo tamanho diminuto das presas inoculadoras, do tamanho da serpente, do nível de enchimento das glândulas, do grau de estresse do animal, do peso corporal da vítima, ou uma combinação desses fatores. Os acidentes são raros também devido aos hábitos semi-fossoriais e não agressivos dessas serpentes. Assim, a morbidade dos acidentes micrúricos é dependente da quantidade de veneno injetada e, com certeza, sofre uma variação considerável entre as espécies conhecidas para o Brasil (Silva Jr. & Bucaretychi, 2003, 2009; Bucaretychi *et al.*, 2006; Carvalho *et al.*, 2014).

Outra característica importante é a existência de “picadas secas”, em alusão a acidentes com pouca ou nenhuma quantidade de veneno injetada e sem sintomatologia clara. A esses aspectos devemos considerar que, em um acidente micrúrico, a capacidade de observação do corpo médico (avaliação dos sinais e sintomas), o acesso ao tratamento (drogas de apoio e soroterapia) e a infraestrutura hospitalar (no caso de complicações) são grandes diferenciais (Silva Jr. & Bucaretychi, 2003, 2009; Bucaretychi *et al.*, 2006; Carvalho *et al.*, 2014).

As cobras-coraís possuem um tipo de picada que se assemelha a uma mordida, com um movimento coordenado (semelhante ao mastigatório) para uma maior eficiência no envenenamento. Esse aspecto da picada se refere ao comportamento de alimentação das cobras-coraís, onde elas picam e seguram as presas. Em acidentes com humano raramente é relatado essa ação de picar e não largar o local da picada. Independente disso, o termo “mordida” não é apropriado, pois não se justifica biologicamente, devendo ser referido como “picada” (ver Capítulos IV e V).

Em um estudo sobre o rendimento de extrações de veneno de cobras-coraís em contraste com o comprimento de cada espécime, fica muito evidente as limitações de obtenção de amostras, mas, principalmente quebra um paradigma sobre a quantidade potencial de veneno injetado por picada. Em 277 extrações manuais de *Micrurus* de 12 espécies, com cinco subespécies (*M. lemniscatus carvalhoi*, *M. lemniscatus helleri*, *M. lemniscatus lemniscatus*, *M. spixii obscurus* e *M. spixii spixii*), o rendimento médio foi de 18,87 mg. No relacionamento entre o comprimento do corpo com a quantidade de veneno extraído, observa-se que, a menor média de quantidade de veneno extraída foi de *Micrurus decoratus* com 8,76 mg, que apresentou comprimento corporal médio de 602,59 mm. Já a maior média foi de *Micrurus surinamensis* com 40,47mg de veneno extraído e média do comprimento do corpo de 939,51mm (Carvalho *et al.*, 2014) (Tabela 1).

Tabela 1. Quantidade de extrações de veneno por espécie relacionando o intervalo de variação do comprimento do corpo (mm) e a quantidade de veneno (mg) obtida nas extrações.

Espécie	N	Comprimento do Corpo (mm)		Quantidade de Veneno (mg)	
		Mínimo-Máximo	Média	Mínimo-Máximo	Média
<i>Micrurus albicinctus</i>	5	550,04 - 675,18	609,01	8,04 - 10,81	9,63
<i>Micrurus altirostris</i>	20	679,25 - 865,23	753,3	15,88 - 19,66	17,76
<i>Micrurus averyi</i>	3	566,42 - 676,41	619,85	12,44 - 13,13	12,88
<i>Micrurus brasiliensis</i>	8	675,89 - 766,89	722,76	15,45 - 18,12	16,87
<i>Micrurus corallinus</i>	13	541,24 - 732,16	651,64	15,07 - 17,64	15,47
<i>Micrurus decoratus</i>	3	350,14 - 403,18	602,59	8,06 - 10,06	8,76
<i>Micrurus frontalis</i>	130	544,13 - 1.037,22	822,5	11,76 - 32,54	18,92
<i>Micrurus hemprichii</i>	7	604,33 - 748,66	693,05	15,26 - 18,4	16,58
<i>Micrurus ibiboboca</i>	6	696,48 - 843,54	739,76	15,98 - 18,44	17,08
<i>Micrurus l. carvalhoi</i>	21	587,18 - 876,54	757,54	17,09 - 25,62	20,09
<i>Micrurus l. helleri</i>	10	806,57 - 924,15	861,02	21,18 - 24,13	22,7
<i>Micrurus l. lemniscatus</i>	9	669,45 - 833,71	779,92	17,24 - 24,18	19,79
<i>Micrurus s. obscurus</i>	14	723,67 - 956,67	837,62	17,78 - 32,23	23,59
<i>Micrurus s. spixii</i>	15	712,44 - 906,18	802,64	16,27 - 28,45	22,54
<i>Micrurus surinamensis</i>	13	865,28 - 1.008,44	939,51	34,08 - 52,67	40,47
Total	277	350,14 - 1.037,22	746,18	8,04 - 52,67	18,87

Fonte: Carvalho *et al.* (2014).

Esses dados reforçam o fato de que as cobras-coraís não conseguem injetar uma quantidade grande de veneno. Assim, as picadas secas podem ser realmente a incapacidade de injetar o veneno ou a quantidade que é muito baixa e não suficiente para desencadear a sintomatologia clássica desse tipo de acidente. Outro aspecto de extrema importância é a necessidade do confronto desse tipo de dado com as recomendações de uso do soro antiela-pídico (SAE) (ver Capítulos IX e X).

Apesar dessas atribuições e cuidados, temos que admitir que, a raridade desses acidentes é um fato no Brasil e, quando acontecem, com toda a sintomatologia esperada, os casos clínicos (se publicados) viram uma referência icônica. Isso não diminui a importância desses acidentes. Ao contrário, alertam-nos para observações mais detalhadas, acompanhamento laboratorial mais adequado (dosagens enzimáticas) e uma releitura da soroterapia.

Um grande esforço governamental tem sido feito no Brasil desde a década de 1980 para melhorar o treinamento médico para acidentes ofídicos, incluindo a impressão de material de apoio no formato de manuais de atendimento. Entretanto, a parte ainda negligenciada se refere a uma melhor instrumentação para a identificação das espécies de cobras corais mais comuns no país. Em um atendimento médico, a frequência de pacientes que realmente trazem a serpente (viva ou morta) é muito baixa. Quando isso ocorre, pode auxiliar: a) a identificação da cobra-coral ser verdadeira (venenosa) ou falsa (não venenosa); b) se verdadeira, na avaliação do porte do animal para uma possível correlação sintomatológica quando houver a inoculação efetiva de veneno. Mesmo assim, os manuais de atendimento produzidos pelo Ministério da Saúde (*vide* FUNASA, 2001), bem como a literatura médica mais específica, carecem de atualizações periódicas (ver Capítulos IX e X).

A ação neurotóxica do veneno de cobras-corais brasileiras é conhecida a partir dos trabalhos de Vital Brazil (Vital Brazil, 1965, 1980, 1987; Vital Brazil *et al.*, 1977; Vital Brazil & Fontana, 1984). Nesses estudos pioneiros, foi demonstrada a ação pré-sináptica do veneno de *Micrurus corallinus* e a ação pós-sináptica dos venenos de *Micrurus frontalis* e *Micrurus lemniscatus*, utilizando amostras de veneno bruto. Foi demonstrada também a ação pós-sináptica reversível e irreversível do veneno de diferentes populações de *Micrurus frontalis* de São Paulo e Mato Grosso, quando da competição experimental com D-tubocurarina. Desde esses estudos, muita informação foi gerada, principalmente com o isolamento e a caracterização de toxinas com ações comprovadamente neurotóxicas, além de outros componentes. Entretanto, as maiores referências ainda são os trabalhos detalhados com o veneno de outros elapídeos, como as espécies dos gêneros *Bungarus* e *Dendroaspis*.

2. MECANISMO DE AÇÃO DOS VENENOS ELAPÍDICOS E MICRÚRICOS

Apesar da baixa incidência, os acidentes micrúricos devem ser sempre muito bem observados e avaliados como de potencial gravidade. Os venenos são classicamente conhecidos por serem neurotóxicos, miotóxicos, hemolíticos, hemorrágicos, nefrotóxicos, edematogênicos e causarem efeitos cardiovasculares (McCullough & Gennaro, 1963; Moseley, 1966; Parrish & Khan, 1967; Rosenfeld, 1971; Ramsey *et al.*, 1972; Moussatché *et al.*, 1976; Pettigrew & Glass, 1985; Kitchens & Van Mierop, 1987; Gutiérrez *et al.*, 1992; Barros *et al.*, 1994; Francis *et al.*, 1997; Cecchini *et al.*, 2005; Peterson, 2006; Roodt *et al.*, 2012; Pérez *et al.*, 2012; Renjifo *et al.*, 2012; Arce-Bejarano, 2014). Apesar da demonstração dessas atividades *in vitro*, somente os efeitos neurotóxicos e miotóxicos são observáveis em acidentes

humanos, até o momento. Essas observações se alinham bem à conhecida composição de vários venenos micrúricos (ver Capítulo VI).

As cobras-corais são elapídeos e está comprovado que os venenos micrúricos possuem várias toxinas que agem de forma semelhante à de outros elapídeos, os mais próximos sendo os do gênero *Bungarus*. Entretanto, é certo também que as cobras-corais possuem toxinas com atividades farmacológicas completamente novas.

2.1. Ação Neurotóxica de Venenos Elapídeos

Os venenos de cobras-corais, a exemplo dos venenos elapídeos, têm a sua ação neurotóxica evidenciada na junção neuromuscular. Neurotoxinas possuem ação preponderante no sistema nervoso periférico por que a grande maioria não consegue atravessar a barreira hemato-encefálica (Silva Jr. & Bucarechi, 2003, 2009).

A ação neurotóxica é complexa e se expressa por neurotoxinas que possuem seu efeito manifestado em partes do mecanismo de transmissão sináptica e pode variar de alterações súbitas na liberação de acetilcolina até o bloqueio neuromuscular completo. Pode ser exercido por uma ação pré-sináptica, pós-sináptica, ou ambas, além de ações múltiplas de diferentes toxinas no mesmo veneno (Lee, 1970; Hodgson & Wickramaratna, 2002; Ranawaka *et al.*, 2013; Vulfius *et al.*, 2014).

A junção neuromuscular possui um mecanismo de ação conhecido, mas revela uma complexa rede de interações celulares e moleculares que transcende a simplicidade das explicações didáticas do mecanismo de ação neurotóxico dos venenos elapídeos, em geral e, particularmente, das cobras-corais. Originalmente, e mais frequentemente, os efeitos neurotóxicos dos venenos de cobras-corais são descritos como a ação de neurotoxinas (NTXs) pré-sinápticas e pós-sinápticas, mas isso carece de um melhor entendimento, que passa pelo funcionamento normal da transmissão sináptica e as possíveis ações dessas toxinas.

As vesículas sinápticas se originam do complexo de Golgi e são transportadas até a região do terminal axônico, com o auxílio de proteínas motoras e componentes do citoesqueleto. Dividem-se em dois grupos: a) vesículas utilizáveis – que se concentram no botão axônico terminal; b) vesículas de reserva – que se concentram acima do botão axônico e são ativadas mediante a necessidade. A acetilcolina (ACh) é o produto de uma reação de acetilação da colina, ou um éster de ácido acético e colina (mediada pela colina acetiltransferase – CAT) nas terminações axônicas, onde existe um grande número de mitocôndrias, que disponibilizam a acetilcoenzima A (Acetil CoA) um produto da glicólise, e a colina, um produto da hidrólise da fosfatidilcolina ou esfingomielina (abundantes nas membranas celulares) ou reabsorvida pelas terminações axônicas das fendas sinápticas. A CAT é produzida no corpo dos neurônios e transportada até as terminações axônicas. Após a sua síntese a ACh é transportada para as vesículas de armazenamento (utilizáveis) através da ação de uma bomba energética ativa que acidifica a vesícula. Uma vez acidificada a vesícula utiliza transportadores vesiculares para trocar prótons por moléculas de ACh (*vide* Südhof, 2004) (Figura 2).

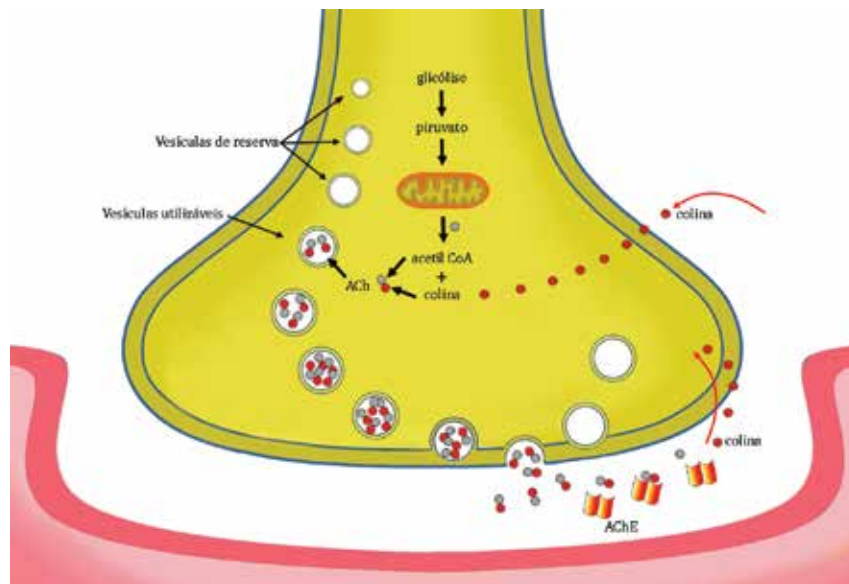


Figura 2. Síntese, armazenamento e degradação da ACh nos terminais axônicos. Desenho: Marcus A. Buononato.

Em um modelo de sinapse na junção neuromuscular (JNM), o potencial de ação desencadeia um processo mediado por íons Ca^{++} para a fusão da vesícula sináptica com a membrana pré-sináptica e a liberação da ACh. O receptor nicotínico da JNM consiste de cinco subunidades: duas α e uma de cada β , γ e δ . O receptor é um canal afunilado cercado por cinco subunidades. O sítio de ligação está localizado em ambas as cadeias α . Quando da ligação da ACh com os sítios de ligação, uma mudança conformacional ocorre, abrindo o canal e permitindo a entrada de íons Na^+ na membrana pós-sináptica, gerando um potencial de placa motora que, por sua vez, gera um potencial de ação que se propaga pela membrana da fibra muscular. Esse potencial de ação se acopla com a liberação do Ca^{++} das reservas do retículo endoplasmático e a consequente contração muscular (Leach *et al.*, 2012).

De forma simplificada, existe um grande número de ações das toxinas elapídicas que bloqueiam essa transmissão pré-sinápticamente, podendo ser:

A. NTXs pré-sinápticas – proteínas de peso molecular variando entre 12 e 60 KDa, algumas das quais possuem atividade fosfolipásica. Atuam nas terminações axônicas, impedindo a liberação de ACh na fenda sináptica da JNM (β -neurotoxinas);

B. NTXs pós-sinápticas – proteínas de peso molecular variando entre 6 e 14 KD, desprovida de ação enzimática. Atuam por fixação nos receptores colinérgicos nicotínicos das membranas pós-sinápticas da JNM de nervos motores (semelhante ao curare) (α -neurotoxinas) (*vide* Silva Jr., 1997b; Silva Jr. & Bucarechi, 2003, 2009) (Figura 3).

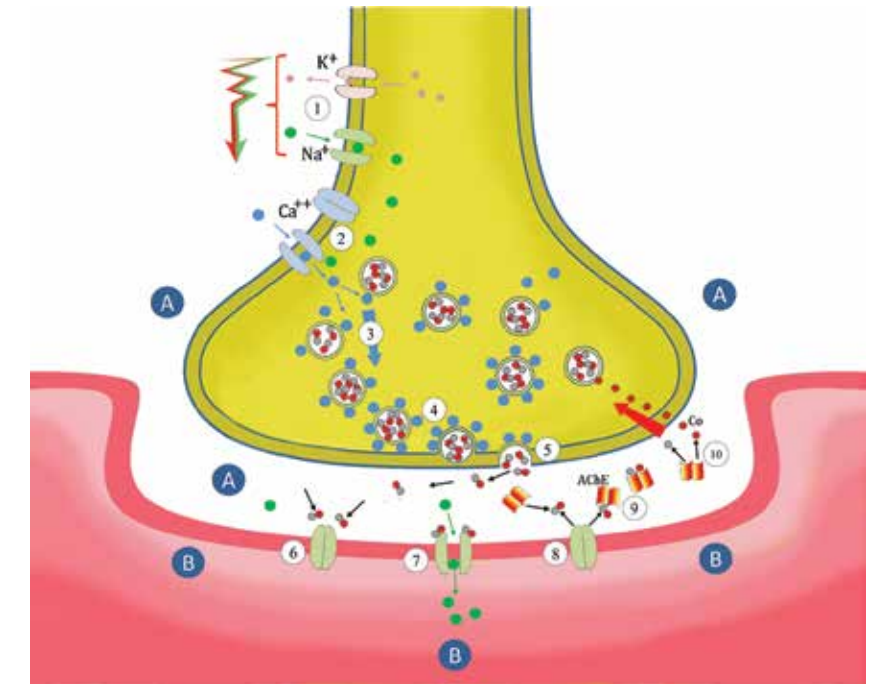


Figura 3. Modelo representativo de sinapse em uma junção neuromuscular. 1. Despolarização da membrana axônica. 2. A despolarização também promove a ativação dos canais iônicos de Ca^{++} com o influxo de íons de Ca^{++} . 3. O aumento de íons Ca^{++} estimula uma cascata de eventos que promovem a mobilização e fusão das vesículas de ACh. 4. As vesículas sinápticas se posicionam na membrana pré-sináptica. 5. Exocitose das vesículas sinápticas e a ACh é liberada na fenda sináptica. 6. A ACh se liga aos receptores de Na^+ na membrana pós-sináptica. 7. Ativação dos canais iônicos da membrana pós-sináptica pela ACh o que promove a entrada de Na^+ e, conseqüentemente, a despolarização da célula muscular. 8. Desligamento da ACh dos receptores pós-sinápticos. 9. A ACh é degradada pela enzima acetilcolinesterase (AChE) em suas unidades formadoras: colina e acetilcoenzima A. 10. A colina é reabsorvida pela membrana pré-sináptica e é reutilizada na síntese de novas moléculas de ACh. A - Sítios de ação de neurotoxinas pré-sinápticas. B - Sítio de ação de neurotoxinas pós-sinápticas. Desenho: Marcus A. Buononato.

Tendo como referência o Capítulo VI, podemos ter uma ideia da complexidade da composição desses venenos e das inúmeras variáveis ambientais, ontogenéticas e populacionais envolvidas e que podem, certamente, oferecer quadros de envenenamento humano diferenciados. Mais que isso, temos um conjunto muito pequeno de toxinas isoladas de veneno de cobras-coraís, mas o que se tem pode ser, em parte, comparado às toxinas de outras espécies de elapídeos. O conhecimento que se tem do veneno dessas outras espécies hoje é desejável que um dia seja alcançado para as cobras-coraís o que seria um grande para o conhecimento de mecanismos de ação detalhados e uma possível aplicabilidade no tratamento de envenenamentos, mas também para entendermos os complexos mecanismos evolutivos desses venenos e seus portadores. Trata-se de uma valorização justa do estudo de um produto (veneno), fruto de um processo evolutivo de um grupo fantástico de vertebrados que sempre fascinou a humanidade.

Nesse sentido, partindo do princípio mais simplista de uma terminação axônica e seu funcionamento para a liberação de um neurotransmissor, pode-se explorar um pouco outra dimensão e o que se conhece da ação específica das neurotoxinas elapídicas.

A zona sináptica ativa (ZSA) é a área da membrana pré-sináptica onde ocorre a exocitose das vesículas sinápticas (Cousteaux & Pecot-Dechavassine, 1970). Localiza-se na interface entre o terminal pré-sináptico e a fenda sináptica, e sua função principal é a transformação do sinal do potencial de ação pré-sináptico em um sinal para a liberação do neurotransmissor (Südhof, 2004, 2012; Südhof & Rothman, 2009).

A ZSA possui um complexo conjunto de proteínas que auxiliam e exercem funções extremamente importantes como: a) proteínas estruturais; b) proteínas do citoesqueleto molecular; c) proteínas que promovem a ancoragem (*docking*) e a ativação (*priming*) das vesículas sinápticas junto à membrana pré-sináptica; d) proteínas localizadas na membrana vesicular e membrana pré-sináptica, que se interagem (dependentes de Ca^{++}) e promovem a exocitose propriamente dita (Jahn & Fasshauer, 2012). Apesar de os papéis dos grupos de proteínas e seus mecanismos de interação contar com várias hipóteses consistentes, devemos nos ater somente ao processo mais diretamente relacionado com a exocitose das vesículas sinápticas.

Após o processo de acoplamento e preparação, as vesículas sinápticas estão prontas para a exocitose do neurotransmissor. Apesar de contar com um mecanismo que envolve outras proteínas, a exocitose é conduzida pela interação de proteínas denominadas SNARE. Trata-se de uma família de proteínas (SNARE = *Soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor Attachment protein Receptor*), divididas em “v-SNARE” (*v=vesicle*) e “t-SNAREs” (*t=target*). A proteína v-SNARE compreende a sinaptobrevina (ou *vesicle associated membrane protein = VAMP*), inserida na membrana vesicular, e as t-SNAREs, que incluem a sintaxina e a SNAP-25 (*synaptosomal associated protein 25*) - com duas α -hélices - inseridas na membrana pré-sináptica. A sinaptotagmina é outra proteína transmembrânica da vesícula sináptica que funciona como um sensor de Ca^{++} e a sua alteração conformacional provoca a rearranjo das proteínas em uma forma *trans*-SNARE, em que as três proteínas formam um complexo de quatro α -hélices, sendo: VAMP (ou R-SNARE), sintaxina (Q_a SNARE) e SNAP-25 (Q_b e Q_c SNAREs), com a fusão das membranas vesicular e pré-sináptica e a liberação da ACh (Chen & Scheller, 2001; Haucke *et al.*, 2011; Jahn & Fasshauer, 2012; Südhof, 2012) (Figura 4).

2.1.1. Neurotoxinas Pré-Sinápticas Elapídicas

Todas as comparações do modo de ação de neurotoxinas (NTXs) pré-sinápticas recaem sobre os estudos com o veneno de espécies de elapídeos da África, Ásia e Austrália, desde que os estudos com os venenos de cobras-corais do Novo Mundo ainda são incipientes e restritos a um grupo muito pequeno de espécies.

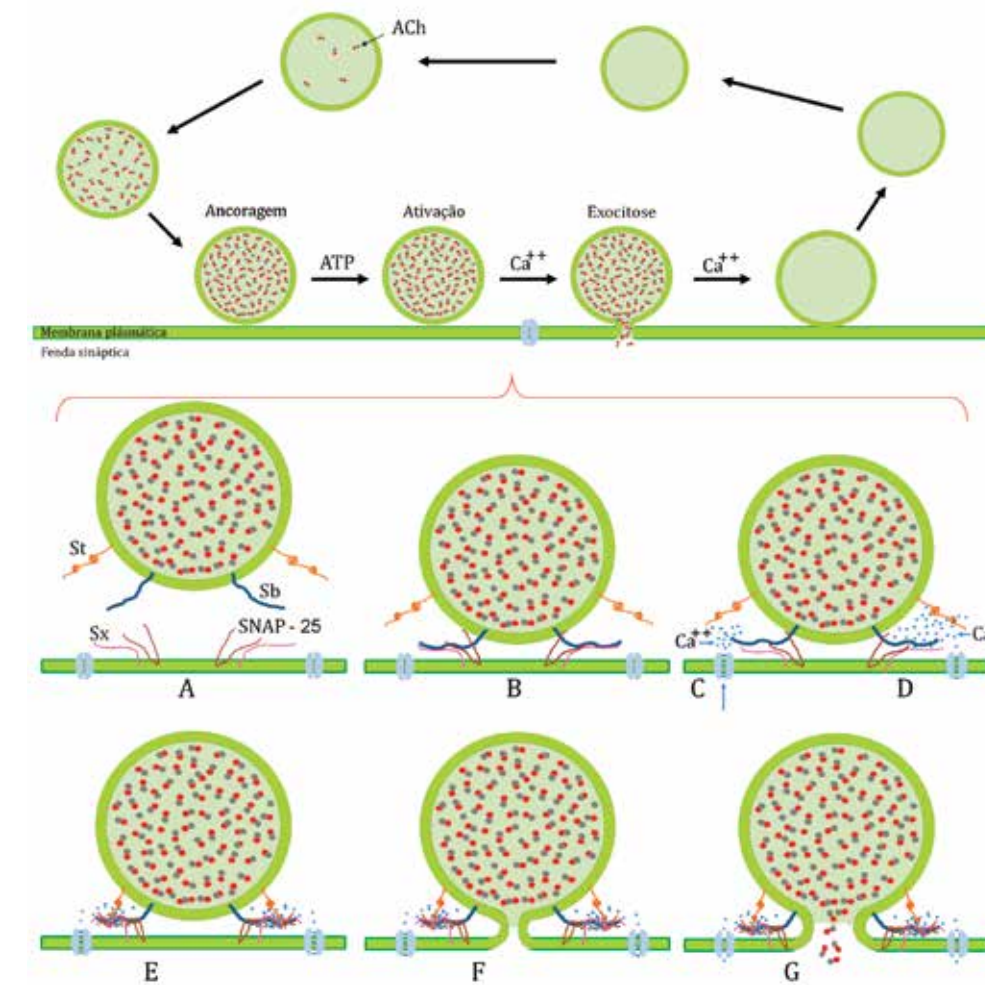


Figura 4. Modelo simplificado do mecanismo molecular da exocitose vesicular através do complexo proteico SNARE. A - Translocação da vesícula sináptica para a ZSA. B - Ancoragem (*docking*) e ativação (*priming*). C - Ativação dos canais de Ca^{++} . D e E - Ativação do complexo SNARE. F - Fusão; G - Exocitose. Sb = sinaptobrevina; St = sinaptotagmina; Sx = sintaxina; SNAP-25 = synaptosomal associated protein 25. Desenho: Marcus A. Buonomato.

As NTXs pré-sinápticas (β -neurotoxinas) são, em sua maioria, fosfolipases A_2 , que se ligam irreversivelmente à membrana pré-sináptica, afetando as vesículas sinápticas, impedindo a liberação de ACh, podendo também causar a degeneração do terminal axônico. Entretanto, esse mecanismo é bem mais complexo, porque pré-sinápticamente as ações podem ser múltiplas, a saber: **a)** ação sobre o complexo SNARE clivando as proteínas e impedindo a ancoragem, ativação e fusão vesicular (ação conhecida no veneno de *Bungarus* sp., *Oxyuranus scutellatus*); **b)** inibição da ação da sinaptotagmina, que inicia a cadeia de mudanças de conformação de *cis*-SNARE para *trans*-SNARE (ação da β -bungarotoxina); **c)** ação sobre canais de Ca^{++} . O bloqueio dos canais e, conseqüentemente, o influxo de Ca^{++} impedem o acoplamento (*docking*), a preparação

(*priming*) e fusão vesicular que são Ca^{++} dependentes. A interação de toxinas com os transportadores Ca^{++} mitocondrial pode provocar um excesso de retirada de Ca^{++} do citosol, ou diminuir a capacidade de ligação desses íons à calmodulina, interrompendo os inúmeros efeitos Ca^{++} -dependentes (ação da calciceptina do veneno de *Dendroaspis polylepis* e β -bungarotoxina); **d**) ação disruptiva direta da membrana pré-sináptica devido à ação fosfolipásica (ação de várias β -neurotoxinas); **e**) ação sobre canais de K^+ . O bloqueio de canais de K^+ afeta o potencial de ação necessário para o processo de exocitose vesicular. A alteração dos canais de K^+ , permitindo a entrada em excesso desses íons afeta o processo de hiperpolarização e, portanto, a liberação regulada do neurotransmissor (ação de dendrotoxinas do veneno de serpentes do gênero *Dendroaspis* sp.); **f**) ação sobre os receptores pré-sinápticos de ACh. Tratam-se de auto-receptores com a função de controlar os processos celulares na terminação axônica e controlar a síntese e / ou a liberação da ACh (ação da candoxina de *Bungarus candidus*); **g**) atividade anticolinesterásica, como toxinas que inibem a ação da AChE (ação de fasciculinas, do veneno de *Dendroaspis* sp.) (Lee, 1972; Chang *et al.*, 1972; Kumar & Elliott, 1973; Cull-Candy *et al.*, 1976; Rodríguez-Iturralde *et al.*, 1983; Karlsson *et al.*, 1984; De Weille *et al.*, 1991; Schweitz *et al.*, 1994; Kini *et al.*, 1998; Dixon & Harris, 1999; Harris *et al.*, 2000; Montecucco & Rossetto, 2000; Stotz *et al.*, 2000; Prasarnpun *et al.*, 2004; Nirthanan *et al.*, 2002, 2003, 2004; Ahmed, 2012; Ranawaka *et al.*, 2013) (Figura 5).

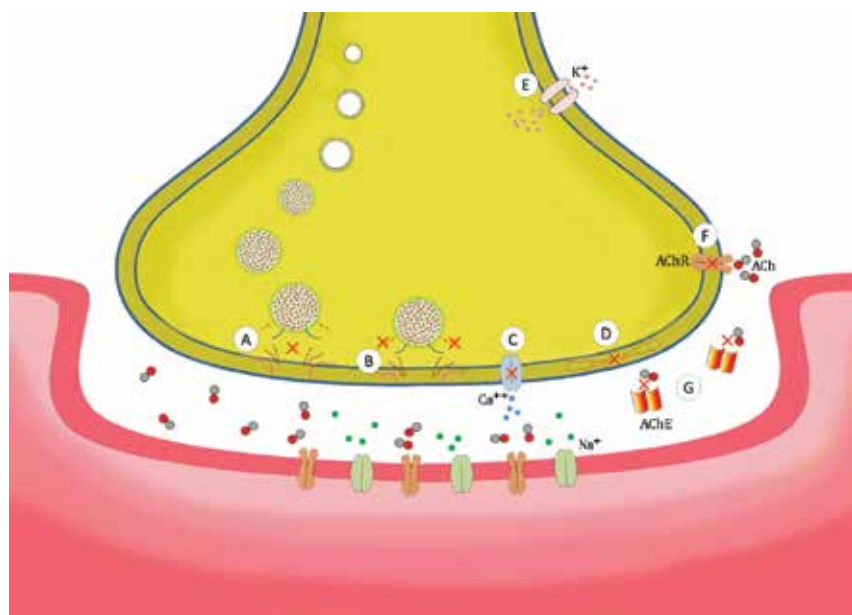


Figura 5. Ação de neurotoxinas presentes no veneno de serpentes elapídicas. NTXs pré-sinápticas: **A** - ação sobre o complexo SNARE; **B** - inibição da sinaptotagmina; **C** - ação sobre canais de Ca^{++} ; **D** - ação fosfolipásica direta; **E** - ação sobre canais de K^+ ; **F** - ação sobre receptores pré-sinápticos da ACh; **G** - atividade anticolinesterásica. Desenho: Marcus A. Buononato.

A limitação do relato da Figura 4 se refere ao fato de serem demonstradas ações pré-sinápticas gerais de toxinas isoladas de outras serpentes elapídicas, o que não implica a existência de toxinas semelhantes nos venenos micrúricos. Entretanto, fica clara a imensa possibilidade de estudos que possam aprimorar o conhecimento atual dos componentes das mais de 30 espécies de cobras-coraís brasileiras.

2.1.1.1. Neurotoxinas Pré-Sinápticas dos Venenos Micrúricos

Dal Belo *et al.* (2005) descreveram uma PLA_2 no veneno de *Micrurus dumerilii carinicauda* chamada MiDCA1. Em várias preparações de pinto e camundongo, MiDCA1 provocou mudanças trifásicas na liberação de neurotransmissor, seguidas de um bloqueio neuromuscular parcial. Os autores concluíram que a MiDCA1 provavelmente ativa canais de Na^+ , juntamente com um bloqueio de canais de K^+ nos terminais neuromotores. Também encontraram que essa toxina possui efeitos pós-sinápticos. A MiDCA1 tem uma sequência semelhante às nigroxinas do veneno de *M. nigrocinctus* ricos em PLA_2 . Renjifo *et al.* (2012) também encontraram uma resposta trifásica em preparações de músculo *biventer cervicis* de pinto utilizando veneno de *M. mipartitus*, mas não de *M. dissoleucus*. Essa resposta depende da ação fosfolipásica do veneno.

Esses resultados são condizentes com a ação de várias PLA_2 s neurotóxicas pré-sinápticas de veneno elapídicos, as quais hidrolisam fosfolípidos da membrana plasmática da terminal pré-sináptica, afetando a permeabilidade a íons e gerando uma despolarização. Como consequência, se observa um efeito trifásico que se resume em um decréscimo na liberação da ACh, seguido de uma fase de facilitação da liberação da ACh que segue para uma terceira fase de inibição completa e irreversível da liberação da ACh, semelhante às ações A e/ou A e F (Figura 5) (Kini, 1997; Montecucco & Rossetto, 2000).

2.1.1.2. Atividades de Moduladores de Nucleosídeos Purina em Venenos Micrúricos

Além das toxinas proteicas que agem pré-sinápticamente, os venenos micrúricos contêm quantidades significantes de nucleosídeos purina (Francis *et al.*, 1997; Aird, 2002, 2005). A adenosina inibe a liberação de neurotransmissores excitatórios (ACh e glutamato) via receptores de adenosina A_1 (Dolphin & Archer, 1983; Corradetti *et al.*, 1984; Ribeiro, 1995; Choi *et al.*, 2015). Em vários sistemas, o ATP liberado é clivado por ecto-enzimas, a última sendo ecto-5'-nucleotidase, para liberar a adenosina (Ribeiro, 1995; Matsuoka & Ohkubo, 2004). A inosina, como a adenosina, reduz a pressão arterial. Menos estudada que a adenosina e a inosina, a guanosina também contribui para a hipotensão, mas parece que a sua função principal é bloquear a neurotransmissão glutamatérgica (Baron *et al.*, 1989; Frizzo *et al.*, 2002; Tort *et al.*, 2004; Vinade *et al.*, 2005; Molz *et al.*, 2008, 2011; Torres *et al.*, 2010; Bettio *et al.*, 2012) (ver outros detalhes no Capítulo VI).

2.1.2. Neurotoxinas Pós-Sinápticas Elapídicas

Os receptores de ACh são os transdutores de sinais primários na junção neuromuscular e funcionam como um receptor ionotrópico. As NTXs pós-sinápticas possuem a sua ação na ligação, competitiva ou não com a ACh, aos receptores colinérgicos pós-sinápticos. As NTXs pós-sinápticas (α -neurotoxinas) podem ser divididas em despolarizantes (NTXsD) e não despolarizantes (NTXsND). As NTXsD promovem, inicialmente, uma despolarização maciça seguida da ligação irreversível aos receptores pós-sinápticos de forma não competitiva com a ACh. Essa ação é irreversível mesmo com o uso de drogas inibidoras da acetilcolinesterase. As NTXsND inibem, de forma competitiva, a ligação da ACh aos receptores pós-sinápticos (semelhante ao curare) e esse bloqueio pode ser reversível com o uso de drogas inibidoras da acetilcolinesterase, como o edrofônio e neostigmina (*vide* Vital Brazil & Vieira, 1996). Entretanto, existem α -neurotoxinas que se enquadram como NTXsND, mas com uma ação dificilmente reversível (Lee *et al.*, 1977; Bowman, 2006; Fagerlung & Eriksson, 2009).

Entretanto, em modelos experimentais (*in vitro*), várias toxinas isoladas também bloqueiam receptores muscarínicos de acetilcolina, de forma seletiva, em seus subtipos (M_1 , M_2 , M_3 , M_4 e M_5) (Max *et al.*, 1993; Jerusalinsky & Harvey, 1994; Carsi *et al.*, 1999; Karlsson *et al.*, 2000; Olianias *et al.*, 2000). Silva *et al.* (2011) descobriram uma toxina muscarínica no veneno de *M. lemniscatus* e o seu peso molecular e a sequência N-terminal de aminoácidos são consistentes com outras toxinas muscarínicas elapídicas.

As α -neurotoxinas pertencem ao grupo de toxinas de três dígitos (3FTx), que podem ser classificadas de acordo com o tamanho de suas cadeias moleculares como: de cadeia curta, cadeia longa e não convencionais. A maioria das 3FTx de cadeia longa produzem um bloqueio semelhante às α -neurotoxinas não despolarizantes e uma das explicações da facilidade da reversão de bloqueio se refere ao tamanho das cadeias, sendo as de cadeia curta mais propensas a uma reversão rápida com o uso de drogas inibidoras da acetilcolinesterase. Entretanto, entre outras hipóteses, diferenças de afinidade de ligação aos receptores são consideradas, desde que as α -neurotoxinas possuem afinidades por diferentes subtipos de receptores de ACh (nicotínicos e também muscarínicos). Dentro do grupo das 3FTxs não convencionais, encontra-se a candoxina (do veneno de *Bungarus candidus*), com uma ação pós-sináptica reversível, mas também uma ação pré-sináptica, nos receptores pré-sinápticos de ACh (Tsetlin, 1999; Karlsson *et al.*, 2000; Nirthanan *et al.*, 2002, 2003, 2004) (Figura 6).

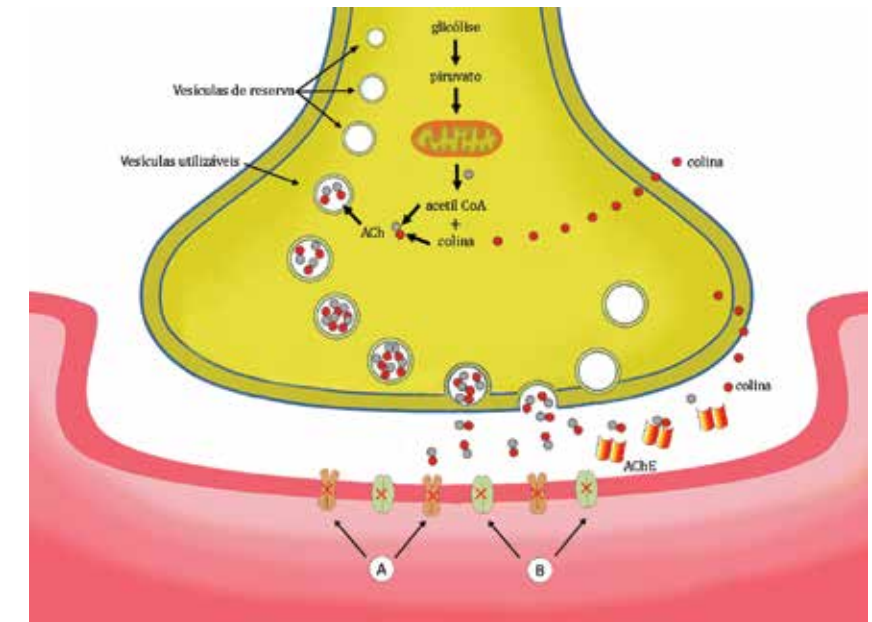


Figura 6. Ação de neurotoxinas pós-sinápticas presentes no veneno de serpentes elapídicas. **A** - Ação de α -neurotoxinas despolarizantes (NTXsD). **B** - Ação de α -neurotoxinas não despolarizantes (NTXsND). Desenho: Marcus A. Buononato.

2.1.2.1. Neurotoxinas Pós-Sinápticas Micrúricas

Neurotoxinas pós-sinápticas foram isoladas do veneno de *Micrurus frontalis*, *Micrurus surinamensis*, *M. frontalis*, *M. fulvius*, *M. altirostris*, *M. laticollaris*, *M. pyrrhocryptus*, *M. nigrocinctus* e *M. mipartitus* (Aird *et al.*, 1992; Alape-Girón *et al.*, 1996; Francis *et al.*, 1997; Olamendi-Portugal *et al.*, 2008; Leão *et al.*, 2009; Dokmetjian *et al.*, 2009; Moreira *et al.*, 2010; Corrêa-Neto *et al.*, 2011; Fenandez *et al.*, 2011; Rey-Suarez *et al.*, 2011, 2012; Ciscotto *et al.*, 2011; Vergara *et al.*, 2014 – ver Capítulo VI).

Além disso, existem na literatura atual, cerca de 90 sequências completas de toxinas 3FTx de venenos de *Micrurus*, e presume-se que a maioria dessas toxinas bloqueia receptores de ACh na junção neuromuscular de serpentes. O alinhamento dessas toxinas com outras da família Elapidae, de farmacologia estabelecida, sugere que muitas são, provavelmente, α -neurotoxinas de cadeias curtas e longas, antagonistas de receptores de ACh (ver Figura 1 do Capítulo VI). Serafim *et al.* (2002) descobriram que o veneno de *Micrurus dumerilii carinicauda* produz um bloqueio neuromuscular em preparações de rato, que foi parcialmente revertido com o uso de neostigmina. Abreu *et al.* (2008) demonstraram que o veneno de *M. altirostris* antagoniza receptores colinérgicos em preparações de músculo *biventer cervicis* de pinto e nervo frênico de camundongo. Renjifo *et al.* (2012) reportaram atividade pós-sináptica nos venenos de *M. dissoleucus* e *M. mipartitus* da Colômbia, enquanto Camargo *et al.* (2011) mostraram qualidades semelhantes no veneno de *M. pyrrhocryptus*.

Moreira *et al.* (2010) purificaram e sequenciaram várias toxinas do veneno de *M. frontalis*, demonstrando que três dessas toxinas bloqueiam a neurotransmissão na junção neuromuscular de rãs (*Rana catesbeiana*). Rey-Suarez *et al.* (2012) confirmaram que a Mipartoxina I é um bloqueador da junção neuromuscular de camundongos e pintos. Carbajal-Saucedo *et al.* (2014) descreveram uma 3FTx denominada MlatA1, do veneno de *M. laticollaris*, que bloqueia receptores neuromusculares de camundongos expressos em ovócitos de *Xenopus laevis*. Entretanto, sem estudos neurofarmacológicos detalhados pouco se pode dizer sobre esses achados.

Ademais, a maioria das cobras-corais se alimenta de serpentes, anfisbenídeos e, em alguns casos, de lagartos e peixes e achados em mamíferos ou aves não necessariamente condizem com a especificidade de seus componentes. Não obstante os alvos moleculares das toxinas possam ser homólogos, potenciais, constantes de ligação, etc., podem variar muito entre as espécies de presa natural e acidental. Infelizmente muitas dessas toxinas denominadas pelos autores possuem nomes enganosos como as toxinas chamadas de “cadeias longas” com somente 8 resíduos de cisteína, uma denominação que recai somente para as toxinas com 10 cisteínas.

Apesar desses resultados, a maioria absoluta dos trabalhos envolve espécies restritas às regiões Sudeste, Sul e Centro-Oeste. Somente com a continuidade de trabalhos comparativos é que um quadro geral poderá ser elaborado, incluindo a maioria das espécies, que possuem distribuição amazônica.

Do ponto de vista dos acidentes humanos, independentemente do mecanismo de ação, o resultado é um quadro de fraqueza neuromuscular e paralisia flácida, evidenciando a ação neurotóxica periférica. Com o envenenamento, segue o comprometimento de nervos cranianos, com ptose palpebral, oftalmoplegia, disartria, disfagia e sialorreia, progredindo para a fraqueza da musculatura esquelética a partir do local da picada, paralisia da musculatura respiratória e, eventualmente, óbito (Vital Brazil, 1965, 1980, 1987, 1990; Vital Brazil & Fontana, 1984; Vital Brazil *et al.*, 1977, 1984; Silva Jr. & Bucarechi, 2003, 2009).

2.2. Ação Miotóxica

Devido à ausência de manifestações macroscópicas locais significantes em envenenamentos humanos com *Micrurus*, a habilidade desses venenos de induzir miotoxicidade aguda permaneceu sem descrição experimental até a década de 1980, quando a mionecrose local em musculatura da coxa foi observada em camundongos após a injeção de veneno de *M. nigrocinctus* (Gutiérrez *et al.*, 1980). Outras investigações demonstraram que o veneno de várias espécies de cobras-corais da América do Norte, Central e do Sul induzem miotoxicidade aguda como *M. nigrocinctus mosquitensis*, *M. alleni*, *M. frontalis*, *M. carinicauda*, *M. altirostris*, *M. baliocoryphus*, *M. fulvius*, *M. pyrrhocryptus*, *M. spixii*, *M. hemprichii*, *M. corallinus*, *M. albicinctus*, *M. lemniscatus* e *M. ibiboboca* (Gutiérrez *et al.*, 1983, 1986, 1992; Roodt *et al.*, 2012). Além disso, o veneno de *M. nigrocinctus* é também miotóxico em uma

presa ectotérmica, como o colubrídeo *Geophis godmani* (Urdaneta *et al.*, 2004). Em contraste, alguns venenos não possuem atividade miotóxica, como *M. surinamensis* (Gutiérrez *et al.*, 1992) e *M. mipartitus* da Costa Rica (Gutiérrez *et al.*, 1983) e Colômbia (Rey-Suarez *et al.*, 2011), apesar de outros estudos apresentarem miotoxicidade no veneno dessas duas últimas espécies (Gutiérrez *et al.*, 1983; Otero *et al.*, 1992).

Muitos venenos elapídicos, incluindo o de serpentes marinhas são conhecidos por produzirem miotoxicidade sistêmica clinicamente relevante, indicada por rabdomiólise associada a grandes incrementos nos níveis de creatinoquinase (CK) e mioglobínúria (Reid, 1961; White, 2010). Em alguns casos, podem desenvolver danos renais agudos como consequência da acumulação da mioglobina nos túbulos renais. No caso dos venenos de cobras-corais, rabdomiólise intensa não tem sido descrita clinicamente, muito provavelmente devido à pequena quantidade de veneno injetado nas picadas desse grupo de serpentes.

A ação específica pode ser demonstrada nos estudos com o veneno de *M. nigrocinctus*, que sugerem que o sarcolema é a principal estrutura celular a ser atingida. Uma vez o sarcolema afetado, ocorre um influxo de Ca^{++} , com a consequente elevação desse íon no citosol, causando a hipercontração dos microfilamentos, danos mitocondriais e ativação de PLA_2 s dependentes do Ca^{++} . A presença de vesículas citoplasmáticas e alterações mitocondriais são indicadoras da degradação de fosfolípidos por PLA_2 s (Gutiérrez *et al.*, 1983, 1986). Assim, o rompimento na integridade da membrana plasmática celular do músculo esquelético provoca uma série de eventos patológicos intracelulares estereotípicos que culminam com o dano celular irreversível (Figura 7).

A miotoxicidade de venenos elapídicos em geral e, em particular, em cobras-corais, ocorre principalmente devido à ação das PLA_2 s (Harris *et al.*, 1975; Alape-Girón *et al.*, 1999) que, nessa família, pertencem ao grupo estrutural I. Uma PLA_2 ácida e várias básicas foram isoladas do veneno de *M. nigrocinctus* (Arroyo *et al.*, 1987; Alape-Girón *et al.*, 1999). Elas induzem um padrão de incremento de CK e alterações histopatológicas semelhantes às ações do veneno bruto. Além disso, uma caracterização proteômica desse veneno identificou várias frações de PLA_2 s miotóxicas (Fernández *et al.*, 2011). Fosfolipases A_2 miotóxicas atuam rompendo a integridade da membrana plasmática das células musculares por um mecanismo dependente da hidrólise enzimática de fosfolípidos. Alape-Girón *et al.* (1999) apresentaram uma hipótese sobre o mecanismo evolutivo molecular que resultou na emergência da miotoxicidade em algumas PLA_2 s da Classe I. Propuseram que a presença de Arg15, Ala100, Asn108 e um resíduo hidrofóbico na posição 109 é característico das PLA_2 s miotóxicas elapídicas, uma hipótese que necessita ser avaliada com o isolamento e caracterização de novas enzimas miotóxicas desses venenos.

O papel adaptativo da miotoxicidade nos venenos de cobras-corais permanece um enigma, desde que a presença generalizada de PLA_2 s miotóxicas sugere um valor adaptativo a essa característica. Tem sido sugerido que a habilidade de um veneno induzir a miotoxicidade sistêmica pode contribuir para a digestão de massas musculares, especialmente em venenos sem

atividade proteolítica, como os das cobras-corais (Urdaneta *et al.*, 2004). Assim, a necrose disseminada resultaria na ativação de proteinases intracelulares, como as calpaínas, que hidrolisariam componentes citoesqueléticos musculares, facilitando a ação posterior de proteinases presentes nas secreções gástricas e pancreáticas, resultando em uma digestão mais eficiente de proteínas musculares. Ainda assim, fica em aberto a interpretação dos resultados de proteases em alguns venenos de *Micrurus*, em especial em *M. hemprichii* (Silva Jr. & Aird, 2001).

Nos acidentes humanos, a presença comum de mialgia e os níveis alterados de CK observados em alguns pacientes (e.g. Castro & Leite, 2015), indicam que venenos de *Micrurus* podem induzir a miotoxicidade à semelhança do demonstrado em camundongos. Esse fato é subestimado pela inexistência de efeitos locais macroscópicos evidentes e o fato de testes laboratoriais, como a dosagem da CK e mioglobina na urina, não serem feitos na rotina dos atendimentos.

2.3. Ação Hemorrágica

Efeitos hemorrágicos foram demonstrados experimentalmente (Moussatché *et al.*, 1976), mas ainda não evidenciados em acidentes humanos. A presença de diferentes proporções e diversidade de proteases nos venenos já estudados também sugere uma ação presa específica. Experimentos demonstram que venenos de *Micrurus brasiliensis*, *Micrurus frontalis* e *Micrurus lemniscatus* causam hemorragia visceral, pulmonar e subendocárdica em camundongos (Francis *et al.*, 1997, 1998). Em contraste com a capacidade de alguns venenos de cobras corais induzirem hemorragia pulmonar eles não apresentam atividade hemorrágica no teste tradicional com pele de camundongos. Essa discrepância aparente pode indicar que a hemorragia pulmonar e em outros órgãos seja dependente do desenvolvimento de processos inflamatórios que levam a drásticas alterações na permeabilidade da microvasculatura, com consequente extravasão. O mecanismo das alterações dos microvasos sanguíneos por venenos de cobras corais merece ser investigado.

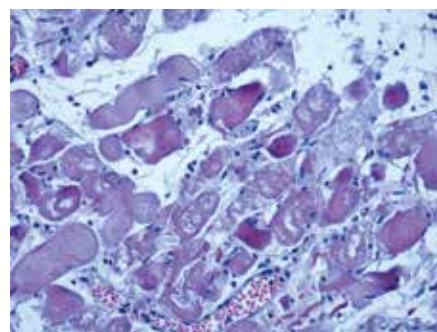


Figura 7. Microfotografia ótica de músculo esquelético de camundongo (gastrocnêmio) seis horas após uma injeção intramuscular de 5 µg de uma PLA₂ do veneno de *Micrurus nigrocinctus*. Fibras musculares necróticas dispersas evidenciadas mostrando hipercontração e grumos de material miofibrilar (aumento de 200x; coloração Hematoxilina-Eosina). Adaptado de Fernández *et al.* (2011).

2.4. Hemólise Intravascular

Uma avaliação dos venenos micrúricos para miotoxicidade mostrou que camundongos injetados com o veneno de *M. fulvius* apresentaram urina bastante vermelha logo após as injeções, além de queda drástica dos valores de hematócritos, evidenciando a ocorrência de hemólise intravascular. Esse é um fenômeno único, desde que a maioria dos venenos de *Micrurus* não apresentam esse efeito. Quando o veneno é incubado com eritrócitos de várias espécies, *in vitro*, a hemólise direta foi observada, sendo preferencial para eritrócitos de cachorros e camundongos, mas não para os de coelhos e humanos (Arce-Bejarano *et al.*, 2014), em concordância com os relatos de hemólises intravasculares clinicamente relevantes em pacientes humanos picados por *M. fulvius* (Kitchens & van Mierop, 1987). A hemólise intravascular também se deve à ação de PLA₂s, desde que esse efeito é mascarado quando da incubação do veneno com *p*-bromofenacil brometo, que alquila o resíduo da histidina no sítio ativo da enzima. Várias PLA₂s hemolíticas foram isoladas desse veneno e a sequência de aminoácidos de uma delas, com atividade hemolítica *in vivo*, foi descrita (Arce-Bejarano *et al.*, 2014).

2.5. Ação Cardiovascular

Alterações cardiovasculares não são características em envenenamentos humanos com cobras-corais. Entretanto, outros venenos elapídicos são conhecidos por possuírem “cardiotoxinas”, que são componentes que atuam sobre a membrana plasmática das fibras musculares cardíacas, produzindo despolarização da fibra e paralisia irreversível, com parada cardíaca. Weis & McIsaac (1971) concluíram que o veneno de *M. fulvius* age diretamente na membrana celular de músculo esquelético e cardíaco. A falta de mioglobina liberada sugeriu que o mecanismo de ação fosse semelhante ao de uma cardiotoxina e não de uma fosfolipase. Silva Jr. *et al.* (1991) observaram componentes nos venenos de *M. albicinctus*, *M. brasiliensis* e *M. frontalis* com a mesma mobilidade cromatográfica da cardiotoxina 1 do veneno de *Naja kaouthia*. Porém, mobilidade cromatográfica idêntica não significa identidade. Assim, as conclusões de Weis & McIsaac (1971) não constituem uma prova de que venenos de *Micrurus* contenham cardiotoxinas, o que poderá ser respondido com estudos transcriptômicos. Efeitos hipotensivos também foram descritos, experimentalmente, com o veneno de *Micrurus fulvius* e *Micrurus frontalis* (Weis & McIsaac, 1971; Ramsey *et al.*, 1972; Francis *et al.*, 1993).

REFERÊNCIAS

- Abreu, V. A., Leite, G. B., Oliveira, C. B., Furtado, M. F. D., Simioni, L. R. 2008. Neurotoxicity of *Micrurus altirostris* (Uruguayan coral snake) venom and its neutralization by commercial coral snake antivenom and specific antiserum raised in rabbits. *Clinical Toxicology* 46: 519-527.
- Ahmed, S. M., Nadeem, A., Islam, M. S., Agarwal, S. & Singh, L. 2012. Retrospective analysis of snake victims in Northern India admitted in a tertiary level institute. *Journal of Anesthesiology and Clinical Pharmacology* 28: 45-50.

- Aird, S. D. 2002. Ophidian envenomation strategies and role of purines. *Toxicon* 40: 335-393.
- Aird, S. D. 2005. Taxonomic distribution and quantitative analysis of free purine and pyrimidine nucleosides in snake venoms. *Comparative Biochemistry and Physiology B: Biochemistry and Molecular Biology* 140: 109-126.
- Aird, S. D., Silva Jr., N. J. & Griffin, P. R. 1992. Preliminary structure of a short postsynaptic neurotoxin from the venom of *Micrurus surinamensis surinamensis*. *Abstracts of the IV Pan American Symposium on Animal, Plant and Microbial Toxins*, 53.
- Alape-Girón, A, Stiles, B., Schmidt, J., Girón-Cortes, M., Thelestam, M., Jornvall, H. & Bergman, T., 1996. Characterization of multiple nicotinic acetylcholine receptor-binding proteins and phospholipases A₂ from the venom of the coral snake *Micrurus nigrocinctus*. *FEBS Letters* 380: 29-32.
- Alape-Girón, A., Persson, B., Cederlund, E., Flores-Díaz, M., Gutiérrez, J. M., Thelestam, M., Bergman, T. & Jornvall, H. 1999. Elapid venom toxins: multiple recruitments of ancient scaffolds. *European Journal of Biochemistry* 259: 225-234.
- Arce-Bejarano, R., Lomonte, B. & Gutiérrez, J. M. 2014. Intravascular hemolysis induced by the venom of the Eastern coral snake, *Micrurus fulvius*, in mouse model: Identification of directly hemolytic phospholipases A₂. *Toxicon* 90: 26-35.
- Arroyo, O., Rosso, J. P., Vargas, O., Gutiérrez, J. M. & Cerdas, L. 1987. Skeletal muscle necrosis induced by a fosfolipase A₂ isolated from the venom of the coral snake *Micrurus nigrocinctus nigrocinctus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry* 87: 949-952.
- Baron, B. M., Dudley, M. W., McCarty, D. R., Miller, F. P., Reynolds, I. J. & Schmidt, C. J. 1989. Guanine nucleotides are competitive inhibitors of N-methyl-D-aspartate at its receptor site bot *in vitro* and *in vivo*. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 250: 162-169.
- Barros, A. C., Fernandes, D. P., Ferreira, L. C. & Santos, M. C. 1994. Local effects induced by venoms from five species of genus *Micrurus* (coral snakes). *Toxicon* 32: 445-452.
- Bettio, L. E., Cunha, M. P., Budni, J., Pazini, F. L., Oliveira, A., Colla, A. R. & Rodrigues, A. L. 2012. Guanosine produces an antidepressant-like effect through the modulation of NMDA receptors, nitric oxide-cGMP and PI3K/mTOR pathways. *Behavioural Brain Research* 234: 137-148.
- Bjarnason, J. B. & Fox, J. W. 1995. Snake venom metalloendopeptidases - reprolysins. *Methods in Enzymology* 248: 345-368.
- Bowman, W. C. 2006. Neuromuscular block. *British Journal of Pharmacology* 147: 277-286.
- Bucarechi, F., Hyslop, S., Vieira, R. J., Toledo, A. S., Madureira, P. R. & De Capitani, E. M. 2006. Bites by coral snakes (*Micrurus* spp.) in Campinas, state of São Paulo, southeastern Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 48: 141-145.
- Calvete, J. J., Juarez, P. & Sanz, L. 2007. Snake venomomics. Strategy and applications. *Journal Mass Spectrometry* 42: 1405-1414.
- Camargo, T. M., Roodt, A. R., Cruz-Höfling, M. A. & Rodrigues-Simioni, L. 2011. The neuromuscular activity of *Micrurus pyrrhocryptus* venom and its neutralization by commercial and specific coral snake antivenoms. *Journal of Venom Research* 2: 24-31.
- Carbajal-Saucedo, A., Floriano, R. S., Dai Belo, C. A., Olvera-Rodriguez, A., Alagon, A., & Rodrigues-Simioni, L. 2014. Neuromuscular activity of *Micrurus laticollaris* (Squamata: Elapidae) venom *in vitro*. *Toxins* 6: 359-370.
- Carsi, J. M., Valentine, H. H. & Potter, L.T. 1999. M₂-Toxin: A selective ligand for M₂ muscarinic receptors. *Molecular Pharmacology* 56: 933-937.
- Carvalho, A. V., David, C. F., Pessoa, A. M. & Silva Jr., N. J. 2014. Um estudo do rendimento do veneno de cobras corais brasileiras e seu uso na avaliação do soro antielapídico. *Scientia Medica* 24: 142-149.
- Castro, F. G., Leite, G. B., Pessoa, A. M., Pinto, R. N. L. & Silva Jr., N. J. 2015. Acidentes elapídicos no Estado de Goiás (2007-2011). *Estudos* 42: 547-559.
- Cecchini, A. L., Marcussi, S., Silveira, L. B., Borja-Oliveira, C. R., Rodrigues-Simioni, L., Amara, S., Stábeli, R. G., Giglio, J. R., Arantes, E. C. & Soares, A. M. 2005. Biological and enzymatic activitie of *Micrurus* sp. (coral) snake venoms. *Comparative Biochemistry and Physiology A. Molecular Integrative Physiology* 140: 125-134.
- Chang, C. C., Chen, T. F. & Lee, C. Y. 1972. Studies of presynaptic effect of β -bungarotoxin on neuromuscular transmission. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 184: 339-345.
- Chen, Y. A. & Scheller, R. H. 2001. Snare-mediated membrane fusion. *Molecular Cell Biology* 2: 98-106.
- Choi, I. S., Cho, J. H., Lee, M. G. & Jang, I. S. 2015. Enzymatic conversion of ATP to adenosine contributes to ATP-induced inhibition of glutamate release in rat medullary dorsal horn neurons. *Neuropharmacology* 93: 94-102.
- Ciscotto, P. H., Rates, B., Silva, D. A., Richardson, M., Silva, L. P., Andrade, H., Donato, M. F., Cotta, G. A., Maria, W. S., Rodrigues, R. J., Sanchez, E., Lima, M. E. & Pimenta, A. M. 2011. Venomic analysis and evaluation of antivenom cross-reactivity of South American *Micrurus* species. *Journal of Proteomics* 74: 1810-1825.
- Corradetti, R., Lo Conte, G., Moroni, F., Passani, M. B. & Pepeu, G. 1984. Adenosine decreases aspartate and glutamate release from rat hippocampal slices. *European Journal of Pharmacology* 104: 19-26.
- Corrêa-Neto, C. L., Junqueira de Azevedo, I. L., Silva, D. A., Ho, P. L., Leitão de Araújo, M., Alves, M. L., Sanz, L., Foguel, D., Zingali, R. B. & Calvete, J. J. 2011. Snake venomomics and venom gland transcriptomic analysis of Brazilian coral snake, *Micrurus altirostris* and *M. corallinus*. *Journal of Proteomics* 74: 1795-1809.
- Cull-Candy, S. G., Fohlman, J., Gustavsson, D., Lüllmann-Rauch, R. & Thesleff, S. 1976. The effects of taipoxin and notexin on the function and fine structure of the murine neuromuscular junction. *Neuroscience* 1: 175-180.
- Couteaux R., & Pecot-Dechavassine, M. 1970. Vesicles synaptiques et poches au niveau des “zones activies” de la jonction neuromusculaire. *Comptes Rendus Hebdomadaires des Seances de l'Academie des Sciences D (Paris)* 271: 2346-2349.
- Dal Belo C. A., Leite G. B., Toyama M. H., Marangoni S., Corrado A. P., Fontana M. D., Southan A., Rowan E. G., Hyslop S. & Rodrigues-Simioni L. 2005. Pharmacological and structural characterization of a novel phospholipase A₂ from *Micrurus dumerilii carinicauda* venom. *Toxicon* 46: 736-750.
- De Weille, J. R., Schweitz, H., Maes, P., Tartar, A. & Lazdunski, M. 1991. Calciseptine, a peptide isolated from black mamba venom, is a specific blocker of the L-type calcium channel. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 88: 2437-2440.
- Dixon, R. W. & Harris, J. B. 1999. Nerve terminal damage by β -bungarotoxin: its clinical significance. *American Journal of Pathology* 154: 447-455.
- Dokmetjian, J. C., Del Canto, S., Vinzon, S. & Jimenez Bonino, M. B. 2009. Biochemical characterization of the *Micrurus pyrrhocryptus* venom. *Toxicon* 53: 375-382.
- Dolphin, A. C. & Archer, E. R. 1983. An adenosine agonist inhibits and a cyclic AMP analogue enhances the release of glutamate but not GABA from slices of rat dentate gyrus. *Neuroscience Letters* 43: 49-54.

- Fagerlung, M. J. & Eriksson, L. I. 2009. Current concepts in neuromuscular transmission. *British Journal of Anesthesiology* 103: 108-114.
- Fernández, J., Alape-Girón, A., Angulo, Y., Sanz, L., Gutiérrez, J. M., Calvette, J. J. & Lomonte, B. 2011. Venomic and antivenomic analyses of the Central American coral snake, *Micrurus nigrocinctus* (Elapidae). *Journal of Proteome Research* 10: 1816-1827.
- Francis, B. R., Williams, E. S., Seebart, C. & Kaiser, I. I. 1993. Proteins isolated from the venom of the common tiger snake (*Notechis scutatus scutatus*) promote hypotension and hemorrhage. *Toxicon* 31: 447-458.
- Francis, B. R., Silva Jr., N. J., Seebart, C., Casais e Silva, L. L., Schmidt, J. J. & Kaiser, I. I. 1997. Toxins isolated from the venom of the Brazilian coral snake (*Micrurus frontalis frontalis*) include hemorrhagic type phospholipases A₂ and postsynaptic neurotoxins. *Toxicon* 35: 1193-1203.
- Francis, B. R., Silva Jr., N. J. & Kaiser, I. I. 1998. A new type of toxic snake venom phospholipases A₂ which promotes hypotension and hemorrhage in mice. In: Bailey, G. S. (Ed.). *Enzymes from Snake Venoms*. Pp. 481-502. Alaken Inc. Fort Collins.
- Frizzo, M. E., Lara, D. R., Prokopiuk Ade, S., Vargas, C. R., Salbego, C. G., Wajner, M. & Souza, D. O. 2002. Guanosine enhances glutamate uptake in Brain cortical slices at normal and excitotoxic conditions. *Cellular and Molecular Neurobiology* 22: 353-363.
- Fry, B. G., Vidal, N., Norman, J. A., Vonk, F. J., Scheib, H., Ramjan, S. F. R., Kuruppu, S., Fung, K., Hedges, S. B., Richardson, M. K., Hodgson, W. C., Ignjatovic, V., Summerhayes R., & Kochva E. 2006. Early evolution of the venom system in lizards and snakes. *Nature* 439: 584-588.
- FUNASA. 2001. *Manual de Diagnóstico e Tratamento de Acidentes por Animais Peçonhentos*. Ministério da Saúde. Brasília, DF.
- Gans, C. & Elliot, W. B. 1968. Snake venoms: production, injection, action. *Archives of Oral Biology* 3: 45-81.
- Gutiérrez, J. M., Chaves, F., Rojas, E. & Bolaños, R. 1980. Efectos locales inducidos por el veneno de *Micrurus nigrocinctus* en ratón blanco. *Toxicon* 18: 633-639.
- Gutiérrez, J. M., Lomonte, B., Portilla, E., Cerdas, L. & Rojas, E. 1983. Local effects induced by coral snake venoms: evidence of myonecrosis after experimental inoculations of venoms from five species. *Toxicon* 21: 777-783.
- Gutiérrez, J. M., Arroyo, O., Chaves, F., Lomonte, B. & Cerdas, L., 1986. Pathogenesis of myonecrosis induced by coral snake (*Micrurus nigrocinctus*) venom in mice. *British Journal of Experimental Pathology* 67: 1-12.
- Gutiérrez, J. M., Rojas, G., Silva Jr., N. J. & Núñez, J. 1992. Experimental myonecrosis induced by the venoms of South American *Micrurus* (coral snake) venoms. *Toxicon* 30: 1299-1302.
- Harris, J. B., Johnson, M. A. & Karlsson, E. 1975. Pathological responses of rat skeletal muscle to a single subcutaneous injection of a toxin isolated from the venom of the Australian tiger snake, *Notechis scutatus scutatus*. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology* 2: 383-404.
- Harris, J. B., Grubb, B. D., Maltin, C. A. & Dixon, R. 2000. The neurotoxicity of the venom phospholipases A₂, notexin and taipoxin. *Experimental Neurobiology* 161: 517-526.
- Haucke, V., Neher, E. & Sigrist, S. J. 2011. Protein scaffolds in the coupling of synaptic exocytosis and endocytosis. *Neuroscience* 12: 127-138.
- Hodgson, W. C. & Wickramaratna J. C. 2002. In vitro neuromuscular activity of snake venoms. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology* 29: 807-814.
- Jahn, R. & Fasshauer, D. 2012. Molecular machines governing exocytosis of synaptic vesicles. *Nature* 490:201-207.
- Jerusalinsky, D. & Harvey, A. L. 1994. Toxins from mamba venoms: small proteins with selectivities for different subtypes of muscarinic acetylcholine receptors. *Trends in Pharmacological Sciences* 15: 424-430.
- Kardong, K. V. 1980. Evolutionary patterns in advanced snakes. *American Zoology* 20: 269-282.
- Kardong, K. V. 1982. The evolution of the venom apparatus in snakes from colubrids to viperids and elapids. *Memórias do Instituto Butantan* 46: 105-118.
- Karlsson, E., Mbugua, P. M. & Rodríguez-Iturralde, D. 1984. Fasciculins, anticholinesterase toxins from the venom of the green mamba *Dendroaspis angusticeps*. *Journal of Physiology* 79: 232-240.
- Karlsson, E., Jolkkonen, M., Mulugeta, E., Onali, P. & Adem, A. 2000. Snake toxins with high selectivity for subtypes of muscarinic acetylcholine receptors. *Biochimie* 82: 793-806.
- Kini, R. M. 1997. *Venom Phospholipase A₂ Enzymes. Structure, Function and Mechanism*. John Wiley and Sons. Chichester.
- Kini, R. M., Caldwell, R. A., Wu, Q. Y., Baumgarten, C. M., Feher, J. J. & Evans, H. J. 1998. Flanking proline residues identify the L-type Ca²⁺ channel binding site of calciseptine and FS2. *Biochemistry* 37: 9058-9063.
- Kitchens, C. S. & Van Mierop, L. H. S. 1987. Envenomation by the eastern coral snake (*Micrurus fulvius fulvius*): A study of 39 victims. *Journal of the American Medical Association* 258: 1615-1618.
- Kochva, E., Nakar, O. & Ovadia, M. 1983. Venom toxins: plausible evolution from digestive enzymes. *American Zoologist* 23:427-433.
- Kumar, V. & Elliott, W. B. 1973. The acetylcholinesterase of *Bungarus fasciatus* venom. *European Journal of Biochemistry* 34: 586-592.
- Leach, K., Simms, J., Sexton, P. M. & Christopoulos, A. 2012. Structure-function studies of muscarinic acetylcholine receptors. In: Freyer, A. D., Christopoulos, A. & Nathanson, N. M. (Eds.). *Muscarinic Receptors. Handbook of Experimental Pharmacology* 208. Pp. 29-48. Springer-Verlag. Berlin.
- Leão, L. I., Ho, P. L. & Junqueira de Azevedo, I. L. 2009. Transcriptomic basis for an antiserum against *Micrurus corallinus* (coral snake) venom. *BMC Genomics* 10: 112.
- Lee, C. Y. 1970. Elapid neurotoxins and their mode of action. *Clinical Toxicology* 3: 457-472.
- Lee, C. Y. 1972. Chemistry and pharmacology of polypeptide toxins in snake venoms *Annual Review of Pharmacology* 12: 265-286.
- Lee, C., Chen, D. & Katz, R. L. 1977. Characteristics of nondepolarizing neuromuscular block: (I) post-junctional block by alpha-bungarotoxin. *Canadian Anaesthesiological Society Journal* 24: 212-219.
- Mackessy, S. P. 1993. Fibrinolytic proteases from the venoms of juvenile and adult northern pacific rattlesnakes (*Crotalus viridis oreganus*). *Comparative Biochemistry and Physiology* 106 B: 181-189.
- Mackessy, S. P. 2010. The field of reptile Toxinology: snakes, lizards, and their venoms. In: Mackessy, S. P. (Ed.). *Handbook of Venoms and Toxins of Reptiles*. Pp. 3-24. CRC Press. Boca Raton.

- Matsuoka, I. & Ohkubo, S. 2004. ATP- and adenosine-mediated signaling in the central nervous system: adenosine receptor activation by ATP through rapid and localized generation of adenosine by ecto-nucleotidases. *Journal of Pharmacological Sciences* 94: 95-99.
- Max, S. I., Liang, J. & Potter, L. T. 1993. Purification and properties of M1-toxin, a specific antagonist of M1 muscarinic receptors. *Journal of Neuroscience* 13: 4293-4300.
- McCullough, N. C. & Gennaro, J. F. 1963. Coral snake bites in the United States. *Journal of the Florida Medical Association* 49: 968-972.
- Molz, S., Tharine, D. C., Decker, H. & Tasca, C. I. 2008. GMP prevents excitotoxicity mediated by NMDA receptor activation but not by reversal activity of glutamate transporters in rat hippocampal slices. *Brain Research* 1231: 113-120.
- Molz, S., Dal-Cim, T., Budni, J., Martín-de-Saavedra, M. D., Egea, J., Romero, A., del Barrio, L., Rodrigues, A. L., Lopez, M. G. & Tasca, C. I. 2011. Neuroprotective effect of guanosine against glutamate-induced cell death in rat hippocampal slices is mediated by the phosphatidylinositol-3 kinase/Akt/glycogen synthase kinase 3 β pathway activation and inducible nitric oxide synthase inhibition. *Journal of Neuroscience Research* 89: 1400-1408.
- Montecucco, C. & Rossetto, O. 2000. How do presynaptic PLA₂ neurotoxins block nerve terminals? *Trends in Biochemical Sciences* 25: 266-270.
- Moreira, K. G., Prates, M. V., Andrade, F. A., Silva, L. P., Beirão, P. S., Kushmerick, C., Naves, L. A. & Bloch Jr., C. 2010. Frontoxins, three finger toxins from *Micrurus frontalis* venom decrease miniature endplate potential amplitude at frog neuromuscular junction *Toxicon* 56: 55-63.
- Moseley, T. 1966. Coral snake bite: recovery following symptoms of respiratory paralysis. *Annals of Surgery* 163: 943-948.
- Moussatché, H., Yates, A., Meléndez, T. & Mendoza, J. 1976. Preliminary report on the fractionation of the venom of *Micrurus nigrocinctus* and the pharmacological properties of the fractions. *Abstracts of the V International Symposium on Animal, Plant and Microbial Toxins*, 60.
- Nirthanan, S., Charpantier, E., Gopalakrishnakone, P., Gwee, M. C., Khoo, H. E., Cheah, L. S., Bertrand, D. & Kini, R. M. 2002. Candoxin, a novel toxin from *Bungarus candidus*, is a reversible antagonist of muscle (alphabeta γ) but a poorly reversible antagonist of neuronal alpha 7 nicotinic acetylcholine receptors. *Journal of Biological Chemistry* 277: 17811-17820.
- Nirthanan, S., Charpantier, E., Gopalakrishnakone, P., Gwee, M. C., Khoo, H. E., Cheah, L. S., Kini, R. M. & Bertrand, D. 2003. Neuromuscular effects of candoxin, a novel toxin from the venom of the Malayan krait (*Bungarus candidus*). *British Journal of Pharmacology* 139: 832-844.
- Nirthanan, S. & Gwee, M. C. 2004. Three-finger alpha-neurotoxins and the nicotinic acetylcholine receptor, forty years on. *Journal of Pharmacological Sciences* 94: 1-17.
- Olamendi-Portugal, T., Batista, C. V., Restano-Cassulini, R., Pando, V., Villa-Hernandez, O., Zavaleta-Martinez-Vargas, A., Salas-Arruz, M. C., Rodriguez de la Vega, R. C., Becerril, B. & Possani, L. D. 2008. Proteomic Analysis of the venom from the fish eating coral snake *Micrurus surinamensis*: novel toxins, their function and phylogeny. *Proteomics* 8: 1919-1932.
- Olianas, M. C., Maullu, C., Adem, A., Mulugeta, E., Karlsson, E. & Onali, P. 2000. Inhibition of acetylcholine muscarinic M₁ receptor function by the M₁-selective ligand muscarinic toxin 7 (MT-7). *British Journal of Pharmacology* 131: 447-452.
- Otero, R., Osorio, R. G., Valderrama, R. & Giraldo, C. A. 1992. Efectos farmacológicos y enzimáticos de venenos de serpientes de Antioquia Y Chocó (Colombia). *Toxicon* 30: 611-620.
- Parrish, H. M. & Khan, M. S. 1967. Bites of coral snakes: report of 11 representative cases. *The American Journal of the Medical Sciences* 253: 561-568.
- Pérez, M. L., Fox, K. & Schaer, M. 2012. A retrospective evaluation of coral snake envenomation in dogs and cats (20 cases) (1996-2011). *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care* 22: 682-689.
- Peterson, M. E. 2006. Snake bite: coral snakes. *Clinical Techniques in Small Animal Practice* 21: 183-186.
- Pettigrew, L. C. & Glass, J. P. 1985. Neurologic complications of a coral snake bite. *Neurology* 35: 589-592.
- Prasarnpun, S., Walsh, J. & Harris, J. B. 2004. Beta-bungarotoxin-induced depletion of synaptic vesicles at the mammalian neuromuscular junction. *Neuropharmacology* 47: 304-314.
- Ramsey, H. W., Taylor, W. J., Boruchow, I. B. & Snyder, G. K. 1972. Mechanism of shock produced by an elapid snake (*Micrurus cf. fulvius*) venom in dogs. *American Journal of Physiology* 222: 782-786.
- Ranawaka, U. K., Lalloo, D. G. & Silva, H. J. 2013. Neurotoxicity in snakebite - The limits of our knowledge. *PloS Neglected Tropical Diseases* 7: 1-18.
- Reid, H. A. 1961. Myoglobinuria and sea-snake-bite poisoning. *British Medical Journal* 1 (5235): 1284-1289.
- Renjifo, C., Smith, E. N., Hodgson, W. C., Renjifo, J. M., Sanchez, A., Acosta, R., Maldonado, J. H. & Riveros, A. 2012. Neuromuscular activity of the venoms of the Colombian coral snakes *Micrurus dissolucus* and *Micrurus mipartitus*: an evolutionary perspective. *Toxicon* 59: 132-142.
- Rey-Suárez, P., Núñez, V., Gutiérrez, J. M. & Lomonte, B. 2011. Proteomic and Biological characterization of the venom of the redbellied coral snake, *Micrurus mipartitus* (Elapidae) from Colombia and Costa Rica. *Journal of Proteomics* 75: 655-667.
- Rey-Suárez, P., Stuani-Floriani, R., Rostelato-Ferreira, S., Saldarriaga, M., Núñez, V., Rodrigues-Simioni, L. & Lomonte, B. 2012. Mipartoxin-I, a novel three-finger toxin, is the major neurotoxic component of the redbellied coral snake *Micrurus mipartitus* (Elapidae). *Toxicon* 60: 851-863.
- Ribeiro, J. A. 1995. Purinergic inhibition of neurotransmitter release in the central nervous system. *Pharmacology and Toxicology* 77: 299-305.
- Rodríguez-Iturralde, D., Silveira, R., Barbeito, I. & Dajas, F. 1983. Fasciculin, a powerful anticholinesterase polypeptide from *Dendroaspis angusticeps* venom. *Neurochemistry International* 5: 267-274.
- Roodt, A. R., Lago, N. R. & Stock, R. P. 2012. Myotoxicity and nephrotoxicity by *Micrurus* venoms in experimental envenomation. *Toxicon* 59: 356-364.
- Rosenfeld, G. 1971. Symptomatology, pathology, and treatment of snakebites in South America. In: Bücherl, W. & Buckley, E. (Eds.). *Venomous Animals and Their Venoms. Volume II*. Pp. 346-341. Academic Press. New York.
- Schweitz, H., Heurteaux, C., Bois, P., Moinier, D., Romey, G. & Lazdunski, M. 1994. Calcicludine, a venom peptide of the Kunitz-type protease inhibitor family, is a potent blocker of high threshold Ca²⁺ channels with a high affinity for L-type channels in cerebellar granule neurons. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 91: 878-882.
- Serafim, F. G., Reali, M., Cruz-Höfling, M. A. & Fontana, M. D. 2002. Action of *Micrurus dumerilii carinicauda* coral snake venom on the mammalian neuromuscular junction. *Toxicon* 40: 167-174.
- Silva, D. C., Medeiros, W. A., Batista I. F., Pimenta, D. C., Lebrun, I., Abdalla, F. M., & Sandoval, M. R. 2011. Characterization of a new muscarinic toxin from the venom of the Brazilian coral snake *Micrurus lemniscatus* in rat hippocampus. *Life Sciences* 89: 931-938.

Silva Jr., N. J. 1997a. *Fundamentos de Ofiologia*. Editora PUC Goiás. Goiânia.

Silva Jr., N. J. 1997b. *Micrurus*. In: Nicolella, A., Barros, E., Torres, J. B. & Marques M. G. (Eds.). *Acidentes com Animais Peçonhentos*. 1ª Edição. Pp. 104-110. Ministério da Saúde. Porto Alegre.

Silva Jr., N. J. & Aird, S. D. 2001. Prey specificity, comparative lethality and compositional differences of Brazilian coral snake venoms. *Comparative Biochemistry and Physiology C* 128: 425-456.

Silva Jr., N. J. & Bucarechi, F. 2003. Mecanismos de ação do veneno elapídico e aspectos clínicos de acidentes. In: Cardoso, J. L. C., França, F. O. S., Wen, F. H., Málaque, C. M. S. & Haddad Jr., V. (Eds.). *Animais Peçonhentos no Brasil – Biologia, Clínica e Terapêutica dos Acidentes*. Pp. 99-107. 1ª Edição. Editora Sarvier. São Paulo.

Silva Jr., N. J. & Bucarechi, F. 2009. Mecanismos de ação do veneno elapídico e aspectos clínicos de acidentes. In: Cardoso, J. L. C., França, F. O. S., Wen, F. H., Málaque, C. M. S. & Haddad Jr., V. (Eds.). *Animais Peçonhentos no Brasil – Biologia, Clínica e Terapêutica dos Acidentes*. Pp. 116-124. 2ª Edição. Editora Sarvier. São Paulo.

Silva, Jr., N. J., Griffin, P. R. & Aird, S. D. 1991. Comparative chromatography of Brazilian coral snake (*Micrurus*) venoms. *Comparative Biochemistry and Physiology B* 100: 117-126.

Stotz, S. C., Spaetgens, R. L. & Zamproni, G. W. 2000. Block of voltage-dependent calcium channels by the green mamba toxin calcicludine. *Journal of Membrane Biology* 174: 157-165.

Südhof, T. C. 2004. The synaptic vesicle cycle. *Annual Review of Neurosciences* 27: 509-547.

Südhof, T. C. 2012. The presynaptic active zone. *Neuron* 75: 11-25.

Südhof, T. C. & Rothman, J. E. 2009. Membrane fusion: grappling with SNARE and SM proteins. *Science* 323: 474-477.

Thomas, R. G. & Pough, F. H. 1979. The effects of rattlesnake venom on the digestion of prey. *Toxicon* 17:221-228.

Torres, F. V., Silva Filho, M., Antunes, C., Kalinine, E., Antonioli, E., Portela, L. V., Souza, D. O. & Tort, A. B. 2010. Electrophysiological effects of guanosine and MK-801 in a quinolitic acid-induced seizure model. *Experimental Neurology* 221: 296-306.

Tort, A. B., Mantese, C. E., Anjos, G. M., Dietrich, M. O., Dall’Igna, O. P., Souza, D. O. & Lara, D. R. 2004. Guanosine selectively inhibits locomotor stimulation induced by the NMDA antagonist dizocilpine. *Behavioural Brain Research* 154: 417-422.

Tsetlin, V. 1999. Snake venom alpha-neurotoxins and other “three-finger” proteins. *European Journal of Biochemistry* 264: 281-286.

Tu, A. T. 1991. *Handbook of Natural Toxins. Volume 5. Reptile Venoms and Toxins*. Marcel Dekker. New York.

Urdaneta, A., Bolaños, F. & Gutiérrez, J. M. 2004. Feeding behavior and venom toxicity of coral snake *Micrurus nigrocinctus* (Serpentes: Elapidae) on its natural prey in captivity. *Comparative Biochemistry and Physiology C: Toxicology & Pharmacology* 138: 385-492.

Vergara, I., Pedraza-Escalona, M., Paniagua, D., Restano-Cassulini, R., Zamudio, F., Batista, C. V., Possani, L. D. & Alagon, A. 2014. Eastern coral snake *Micrurus fulvius* venom toxicity in mice is mainly determined by neurotoxic fosfolipases A₂. *Journal of Proteomics* 105: 295-306.

Vinade, E. R., Schmidt, A. P., Frizzo, M. E., Portela, L. V., Soares, F. A., Schwalm, F. D., Elisabetsky, E., Izquierdo, I. & Souza, D. O. 2005. Effects of chronic administered guanosine on behavioral parameters and brain glutamate uptake in rats. *Journal of Neuroscience Research* 79: 248-253.

Vital Brazil, O. 1965. Ação neuromuscular da peçonha de *Micrurus*. *O Hospital* 68: 183-224.

Vital Brazil, O. 1980. Venenos ofídicos neurotóxicos. *Revista da Associação Médica Brasileira* 26: 212-218.

Vital Brazil, O. 1987. Coral snake venoms: mode of action and pathophysiology of experimental envenomation. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 29: 119-126.

Vital Brazil, O. 1990. Sinais e sintomas neurotóxicos do envenenamento ofídico: ação central ou periférica da peçonha das serpentes. *Revista da Associação Médica Brasileira* 36: 63-65.

Vital Brazil, O., Fontana, M. D. & Pellegrini Filho, A. 1977. Physiopathologie et therapeutique de l’envenomation expérimentale cause por le venom de *Micrurus frontalis*. *Memórias do Instituto Butantan* 40/41: 221-240.

Vital Brazil, O. & Fontana, M. D. 1984. Ações pré-juncionais e pós-juncionais da peçonha da cobra coral *Micrurus corallinus* na junção neuromuscular. *Memórias do Instituto Butantan* 40/41: 221-240.

Vital Brazil, O. & Vieira, R. J. 1996. Neostigmine in the treatment of snake accidents caused by *Micrurus frontalis*: report of two cases. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 38: 61-67.

Vonk, F. J., Admiraal, J. F., Jackson, K., Reshef, R., Bakker, M. A. G., Vanderschoot, K., Berge, I., Atten, M., Burgerhout, E., Beck, A., Mirtschin, P. J., Kochva, E., Witte, F., Fry, B. G., Woods, A. E. & Richardson, M. K. 2008. Evolutionary origin and development of snake fangs. *Nature* 454: 630-633.

Vulfius, C. A., Kasheverov, I. E., Starkov, V. G., Osipov, A. V., Andeeva, T. V., Filkin, S. Y., Gorbacheva, E. V., Astashev, M. E., Tsetlin, V. I. & Utkin, Y. N. 2014. Inhibition of nicotinic acetylcholine receptors, a novel facet in the pleiotropic activities of snake venom phospholipases A₂. *PLoS One*: e115428.

Weis, R. & McIsaac, R. J. 1971. Cardiovascular and muscular effects of venom from coral snake, *Micrurus fulvius*. *Toxicon* 9: 219-228.

White, J. 2010. Envenomation, prevention and treatment in Australia. In: Mackessy, S. P. (Ed.). *Handbook of Venoms and Toxins of Reptiles*. Pp. 424-451. CRC Press. Boca Raton.