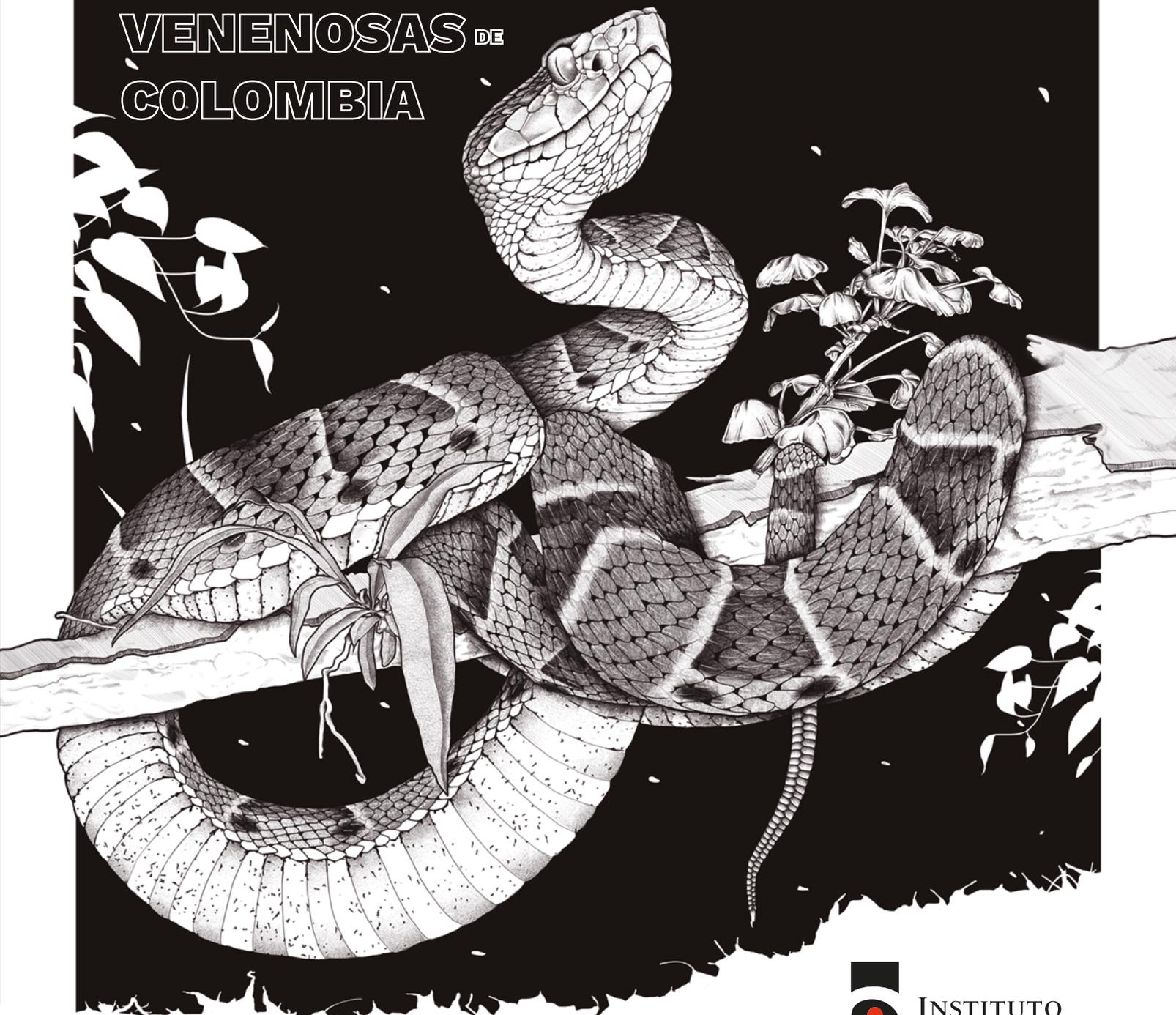


# MORDEDURAS, VENENOS Y SERPIENTES

VENENOSAS DE  
COLOMBIA



INSTITUTO  
NACIONAL DE  
SALUD



# MORDEDURAS, VENENOS Y SERPIENTES VENENOSAS <sup>DE</sup> COLOMBIA

## Editores

Teddy Angarita Sierra  
Francisco J. Ruiz Gómez



Mordeduras, venenos y serpientes venenosas de Colombia. Bites, venoms and venomous snakes of Colombia/ Teddy Angarita Sierra y Francisco Ruiz [eds.]; primera edición. Bogotá : Instituto Nacional de Salud, 2024.

500 p. (ilustraciones a color)

ISBN Impreso: 978-958-13-0188-1

ISBN Digital: 978-958-13-0189-8

1. Venenos de serpientes- Colombia 2. Mordeduras de serpientes 3. Antivenenos. 4. Viperidae 5. Elapidae. 6. Toxinas biológicas 7. Envenenamiento 8. Toxinología I. Angarita Sierra, Teddy II. Ruiz Gómez, Francisco.

NLM: QW630.5.V4 - AN581m

### **Presidente de la Republica**

Gustavo Francisco Petro Urrego

### **Ministro de Salud y Protección Social**

Guillermo Alfonso Jaramillo Martínez

### **Directora General, Instituto Nacional de Salud**

Dra. Diana Marcela Pava Garzón

### **Director Producción, Instituto Nacional de Salud**

Dr. Juan Felipe Bedoya Meneses

### **Comité científico**

Dr. Franklyn Edwin Prieto Alvarado

Director de Vigilancia y Análisis del Riesgo en Salud Pública, Instituto Nacional de Salud.

Dr. William W. Lamar

Profesor emérito, Universidad de Texas en Tyler.

Dr. Thomas Defler

Profesor emérito, Departamento de biología Universidad Nacional de Colombia sede Bogotá.

Dr. Juan Felipe Bedoya Meneses

Director Producción, Instituto Nacional de Salud Instituto Nacional de Salud.

### **Editores**

Teddy Angarita-Sierra

Grupo de investigación Biodiversidad para la Sociedad, Dirección Académica, Universidad Nacional de Colombia sede De La Paz, La Paz, Cesar.

Francisco J. Ruiz-Gómez

Grupo de Investigación en Animales Ponzofiosos y sus Venenos, Dirección de Producción, Instituto Nacional de Salud.

### **Autores**

Adrián Marcelo Franco Vásquez, Alejandro Montañez Méndez, Amira Abultaif Kadamani, Andrés C. Montes-Correa, Ariadna Rodríguez Vargas, Brayan Fahir Castillo Calderón, Camila Figueredo Salinas, Carlos Andrés Bravo-Vega, Carlos Antonio Castro-Sandoval, Carolina Zona, Chris Akcali, Cristian González Acosta, Daniel Bocanumenth, Daniel J. Sánchez-Ochoa, Daniela García Cobos, Diana Marcela Walteros Aceero, Dina Lucía Rivera-Robles, Esteban Alzate, Felipe Andrés Toro Cardona, Fernando Vargas Salinas, Francisco J. Ruiz Gómez, Guido F. Medina-Rangel, Jackeline Rivera Gómez, Jaime Andrés Pereañez Ji-

ménez, José Rancés Caicedo-Portilla, Juan Carlos Vega Garzón, Juan Daniel Vásquez Restrepo, Juan David Bayona Serrano, Juan David Jiménez Bolaño, Juan José Torres Ramírez, Juan Pablo Hurtado Gómez, Julián Alberto Ríos Soto, Julián Andrés Rojas Morales, Katterine Isabel Urieles Sierra, Kristian Alberto Torres-Bonilla, Laura Rubio-Rocha, Lina Maria Peña Acevedo, Luis Enrique Vera Pérez, Manuel Maldonado-Contreras, María Carlina Castillo-Beltrán, María F. Diago-Toro, María Paula Toro-Gómez, María Victoria Cubillos Abrahams, Mariela Osorno Muñoz, Marley Tatiana Gómez Rincón, Miguel Arévalo-Páez, Mónica M. Saldarriaga Córdoba, Mónica Sarmiento, Monica T. Rincón Aranguri, Nathalie Citeli, Santiago Casas-Cardona, Santiago J. Sanchez-Pacheco, Sebastián Navarro González, Sergio D. Cubides-Cubillos, Teddy Angarita Sierra, Wilmar Agudelo-Sánchez, Yelenny López Aguirre.

### **Revisores y evaluadores científicos**

Dr. Eliecer de Jesús Jiménez Charris,

Grupo de Nutrición, Facultad de Salud, Universidad del Valle.

Dra. Leidy Johana Vargas

Universidad Cooperativa de Colombia.

Dr. Alejandro Carbajal-Saucedo

Laboratorio de Herpetología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León.

Dra. Nohora Vega

Grupo de Investigación en Proteínas, Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia.

Dr. Gerardo Corzo

Departamento de Medicina Molecular y Bioprocesos, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México.

Dr. William W. Lamar

Universidad de Texas en Tyler.

Dra. María Elisa Peichoto

Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Instituto Nacional de Medicina Tropical (INMeT) -ANLIS Dr. Carlos G Malbrán, Puerto Iguazú, Misiones, Argentina.

Dr. Alexis Rodríguez Acosta

Laboratorio de Inmunología y Ultraestructura, Instituto Anatómico, Universidad Central de Venezuela.

Dra. María Elena Barragán  
Fundación Gustavo Orcés, Ecuador.

M.Sc. Juan Manuel Renjifo  
Ex profesor del Grupo de Investigación en Manejo y Conservación de Fauna, Flora y Ecosistemas Estratégicos Neotropicales (MIKU), Facultad de Ciencias Básicas, Universidad del Magdalena.

MD. Rafael Otero-Patiño  
Ex profesor del Programa de Ofidismo/Escorpionismo, Facultad de Medicina y Corporación Académica para el Estudio de las Patologías Tropicales, Universidad de Antioquia.

MD. Santiago Ayerbe  
Ex profesor de pediatría de la Facultad de Ciencias de la Salud y de Toxinología de la Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y de la Educación de la Universidad del Cauca.

Dr. Thomas Defler  
Profesor emérito, Departamento de biología, Universidad Nacional de Colombia sede Bogotá.

Dr. Osnamir Elías Bru Cordero  
Dirección Académica, Universidad Nacional de Colombia sede De La Paz.

Dra. Paola Rey-Suárez  
Grupo de Investigación en Toxinología, Alternativas Terapéuticas y Alimentarias, Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Alimentarias, Universidad de Antioquia.

Dra. Nancy Oguiura  
Laboratorio. Especial de Ecología e Evolução, Instituto Butantan

#### Revisores de estilo

Franklin Ruiz— Español  
Thomas Defler— Inglés

#### Diseño y diagramación digital e impresa

María Catalina Durán y Johanna Montes Bustos

#### Diseño y diagramación Web

Jonathan Medina - Daiby Javier Jiménez

#### Portada y contraportada

Oscar A. Ramírez Ruiz

#### Arte e ilustraciones

Oscar A. Ramírez Ruiz y Juliana Mendoza

#### Cartografía

Carlos A. Bravo-Vega

#### Cítese como

Obra completa en español:  
Angarita-Sierra, T., Ruiz-Gómez, F.J. Mordeduras, venenos y serpientes venenosas de Colombia. Instituto Nacional de Salud: Bogotá D.C., Colombia, 2024.

Obra completa en inglés:  
Angarita-Sierra, T., Ruiz-Gomez, F.J. Bites, venoms, and venomous snakes of Colombia. Instituto Nacional de Salud: Bogotá D.C., Colombia, 2024.

Capítulo en español:  
Cubides-Cubillos, S.D; Saldarriaga-Córdoba, M.M;

Pereañez, J.A; Angarita-Sierra, T. Capítulo 3. Ase-  
sinos por naturaleza: Comprendiendo los caminos  
evolutivos de las víboras colombianas. En: Morde-  
duras, venenos y serpientes venenosas de Colombia;  
Angarita-Sierra, T., Ruiz-Gómez, F.J, Eds.; Instituto  
Nacional de Salud: Bogotá D.C., Colombia, 2024; pp.  
117–166.

#### Capítulo en inglés:

Cubides-Cubillos, S.D; Saldarriaga-Córdoba, M.M;  
Pereañez, J.A; Angarita-Sierra, T. Chapter 3. Natu-  
ral-born killers: Understanding the evolutionary pa-  
ths of Colombian pitvipers. In book: Bites, venoms,  
and venomous snakes of Colombia; Angarita-Sierra,  
T., Ruiz-Gomez, F.J, Eds.; Instituto Nacional de Sa-  
lud: Bogota D.C., Colombia, 2024; pp. 117–166.

#### Copyright: © 2024 Instituto Nacional de Salud

Publicación en acceso abierto bajo los términos y  
condiciones de la licencia Creative Commons Attri-  
bution (CC BY-NC-ND 4.0). Avenida calle 26 No. 51-  
20, Zona 6, CAN Bogotá, D. C., Colombia Teléfono:  
(+57) 6012207700 [www.ins.gov.co](http://www.ins.gov.co)

#### Primera edición 2024

ISBN Impreso: 978-958-13-0188-1

ISBN Digital: 978-958-13-0189-8

DOI: <https://doi.org/10.33610/9789581301881>

#### Responsabilidad y uso legal

Las denominaciones empleadas y la presentación del  
contenido en esta publicación no implican la expre-  
sión de opinión ni juicio alguno por parte del Instituto  
Nacional de Salud (INS). Del mismo modo, las opinio-  
nes expresadas no representan necesariamente las  
decisiones, políticas o posiciones oficiales del (INS).  
Todos los conceptos, análisis y opiniones aquí expues-  
tos son de exclusiva responsabilidad de los autores  
correspondientes.

Todos los derechos de titularidad sobre esta obra per-  
tenecen al Instituto Nacional de Salud (INS) de Colom-  
bia. La publicación es de acceso abierto y se encuen-  
tra licenciada bajo los términos de la licencia Creative  
Commons Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0  
Internacional (CC BY-NC-ND 4.0). Esto significa que se  
permite copiar y redistribuir el material en cualquier  
medio o formato, SIN FINES COMERCIALES, siempre  
y cuando se otorgue el crédito correspondiente al INS  
como titular de los derechos y sin realizar modifica-  
ciones ni adaptaciones del contenido, y se conserven  
intactos todos los avisos legales. Para mayor informa-  
ción sobre esta licencia, consulte: <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>.



Esta obra cumple con la normativa colombiana sobre  
depósito legal. No podrá ser utilizada para promocio-  
nar ni respaldar productos, servicios o entidades es-  
pecíficas. El uso del logotipo institucional del INS está  
restringido y requiere autorización previa y expresa por  
escrito por parte de la entidad.



# Presentación

El libro "*Mordeduras, venenos y serpientes venenosas de Colombia*" representa un hito científico que refuerza el compromiso del Instituto Nacional de Salud (INS) con la generación y gestión del conocimiento para la salud pública. Con base en la biodiversidad única de Colombia, esta obra aborda de manera exhaustiva la toxínología, venómica y epidemiología del accidente ofídico, así como el desarrollo de antivenenos y medicamentos derivados de las toxinas de los venenos.

Esta obra cuenta con el respaldo de 55 científicos nacionales e internacionales, que, de forma generosa y desinteresada, aportaron sus conocimientos y experiencias en torno a los aspectos taxonómicos, bioquímicos, farmacológicos, ecoepidemiológicos y clínicos de las serpientes colombianas de importancia médica, proporcionando una base moderna que promueve el avance en la investigación, educación y políticas de salud pública.

Los aportes consignados en esta obra se alinean de forma sinérgica con la misión de INS que busca: (1) *Producir conocimiento científico en salud*, al caracterizar y analizar la diversidad y propiedades bioquímicas de los venenos de serpientes, promoviendo el entendimiento del ofidismo y sus implicaciones médicas; (2) *Contribuir a la soberanía sanitaria*, al destacar el desarrollo nacional de antivenenos y tecnologías biomédicas innovadoras derivadas de toxinas de serpientes, que posiciona a Colombia como uno de los países tropicales del mundo a la vanguardia de los desarrollos biomédicos que reducen la morbilidad y mortalidad ocasionada por el ofidismo, una de las enfermedades tropicales más desatendidas a nivel mundial.

Así mismo, las contribuciones de los autores y revisores de los diez capítulos y 59 fichas de especies de serpientes, ayudan a la consolidación de los objetivos estratégicos del INS que propenden por: (1) *Generar y gestionar del conocimiento*, al proporcionar evidencia científica que facilita la formulación de políticas públicas y estrategias de salud basadas en las necesidades territoriales de Colombia; (2) *Fortalecer el sistema de vigilancia en salud pública*, a través de un análisis ecoepidemiológico detallado que proporciona información primordial para identificar patrones y factores de riesgo relacionados con el accidente ofídico; (3) *Producción de bienes de interés para la salud pública*, al realizar el recuento histórico y analizar los avances en la producción de antiofídicos, reforzando el papel del INS como líder en la producción nacional de estos medicamentos esenciales.

Particularmente, esta obra aporta al liderazgo del INS en salud pública mediante la creación del *Geovisor Colombiano de Ofidismo* (<https://ofidismo.ins.gov.co/>), una herramienta que utiliza datos abiertos para proporcionar acceso gratuito a información epidemiológica y ambiental de libre de consulta y descarga. Esto robustece el compromiso del INS con



la transparencia institucional, acceso libre a la información pública, así como al desarrollo de estrategias basadas de salud pública en evidencia científica. Sumado a esto, el libro se presenta en tres formatos diferentes: un PDF descargable de forma gratuita, una versión web (<https://serpientes.ins.gov.co>) y una edición limitada impresa. De esta manera el INS fomenta el acceso libre a la obra como recurso educativo, de consulta técnica y científica para profesionales de salud, investigadores, tomadores de decisiones y público en general.

El libro y el geovisor, implementa de forma activa el principio articulación territorial del Instituto Nacional de Salud al proporcionar acceso directo a información de alta calidad en los territorios y para los territorios. Esta contribución impacta de manera significativa en la educación comunitaria, promoviendo un conocimiento integral sobre las serpientes venenosas y fomentando la prevención y el manejo adecuado de mordeduras. Estos esfuerzos son esenciales para reducir los casos graves de ofidiotoxicosis y fortalecer la protección de las comunidades más vulnerables.

«*Mordeduras, venenos y serpientes venenosas de Colombia*» es una contribución fundamental al avance científico y médico de Colombia. Su enfoque interdisciplinario resalta la capacidad del INS para abordar problemas de salud pública prioritarios. Asimismo, fortalece la soberanía sanitaria del país mediante la innovación en la producción de antivenenos que responden a las necesidades territoriales y retos únicos que presenta Colombia al ser un país biológica y culturalmente megadiverso.

**¡Un paso adelante hacia la protección de la biodiversidad y la salud pública en Colombia, porque la salud pública se construye con y desde los territorios!**

**Dra. Diana Marcela Pava Garzón**

Médica toxicóloga

Directora general

Instituto Nacional de Salud

# Prólogo

## **La biodiversidad única de Colombia y mis amigos y colaboradores en el país**

Colombia posee la mayor biodiversidad faunística de cualquier país, albergando el 10 % de las especies animales del mundo, muchas de ellas endémicas. Esto incluye más de 1.800 especies de aves, 1.500 de peces de agua dulce, aproximadamente 460 de mamíferos y 340 de serpientes.

En los últimos 25 años, tuve el privilegio de conocer algunas de estas maravillas durante visitas a Bogotá, Medellín, Villa de Leyva y Cartagena, donde, en el año 2000, ayudé a organizar un Congreso Internacional de Medicina Tropical inaugurado por el presidente Andrés Pastrana Arango. Pero mucho antes de mi primera visita a Colombia, ya había mantenido correspondencia con Juan José Silva-Haad del Hospital Regional de Leticia. Me envió copias de sus fascinantes publicaciones, una de las cuales ilustraba la devastadora destrucción de tejidos y hemorragias locales causadas por el envenenamiento de *Lachesis muta* en indígenas locales. Describió un síndrome distintivo de estimulación del sistema nervioso autónomo que comenzaba tan solo 15 minutos después de la mordedura [1]. Incluía shock vasogénico con marcada bradicardia, vómitos, diarrea y cólico abdominal [2].

Desde aproximadamente el año 2000, mi guía, filósofo y amigo en Colombia ha sido Juan Manuel Renjifo. Sus fotografías y publicaciones celebran los animales, plantas y paisajes de Colombia, destacándose: *Ranas y Sapos de Colombia* (1997); *Anfibios y Reptiles de Urrá* (1999); y la asombrosa *La Amazonia de Colombia* (2008). Dave Theakston y Yo lo conocimos en el Instituto Nacional de Salud (INS) en Bogotá, para buscar su ayuda con la iniciativa internacional de la Escuela de Medicina Tropical de Liverpool para desarrollar un nuevo antiveneno polispecífico panafricano dirigido a las víctimas olvidadas del envenenamiento por serpientes en ese vasto continente [3]. Juan Manuel y sus colegas del INS, incluidos Francisco Ruiz Gómez y Santiago Nicholls, lograron formular el antiofídico candidato más potente de nuestro programa, inmunizando exitosamente caballos colombianos contra venenos seleccionados de serpientes africanas, incluyendo la letal mamba negra (*Dendroaspis polylepis*). Desafortunadamente, problemas políticos impidieron la implementación de este prometedor resultado.

## **La necesidad de «Mordeduras, venenos y serpientes venenosas de Colombia»**

Con este trasfondo de admiración por los colaboradores colombianos, las serpientes venenosas de Colombia y los antivenenos del INS, me emocionó escuchar el plan del Serpentario del INS para publicar *Mordeduras, Venenos y Serpientes Venenosas de Colombia*. Este ambicioso proyecto incluye 10 capítulos y 59 fichas de especies tanto en español



como en inglés, redactados por 55 expertos, en tres formatos diferentes: un PDF descargable gratuitamente, una versión web y (afortunadamente para aquellos que aún prefieren el formato físico) una edición impresa limitada. Además, cuenta con una base de datos vinculada al libro, el Geovisor Colombiano de Ofidismo (<https://ofidismo.ins.gov.co/>), en la cual está disponible para descarga gratuita todos los shapefiles de información epidemiológica, inventarios de variables ambientales y registros de distribución curados de las especies de serpientes colombianas de importancia médica. Esta estrategia generosa mostrará el contenido a una amplia y agradecida audiencia internacional. Anticipo la publicación con tanto entusiasmo como otros apasionados por las serpientes, el ofidismo y la toxínología alrededor del mundo.

Espero que esta publicación estimule el debate hacia la elaboración de nuevas directrices consensuadas para la prevención y manejo clínico del envenenamiento por mordeduras de serpiente en Colombia. Observé la creencia persistente en tratamientos chamánicos tradicionales entre las comunidades rurales y los enfoques diversos en el tratamiento médico en los diferentes países de América Latina que he tenido el privilegio de visitar (Brasil, Ecuador, Perú, Costa Rica, Martinica, Santa Lucía y Colombia). Ante la ausencia de consensos unificadores de la OMS/OPS sobre el ofidismo, o directrices nacionales actualizadas en muchos países, aún se utilizan terapias controvertidas en algunos centros. Por ejemplo, un paciente mordido por *Bothrops asper* en Colombia, que buscó mi consejo tras regresar a Europa, fue tratado con compresas de hielo tópicas (que causaron congelación durante una fuerte sedación con opiáceos), un anticoagulante, un inhibidor plaquetario, un agente antiinflamatorio no esteroideo, corticoides, un antihistamínico y un antibiótico profiláctico, y se le mantuvo inmovilizado en cama. La crioterapia ha sido abandonada en la mayoría de los países, porque se encontró que causaba daño tisular en las víctimas de mordeduras de serpientes de cascabel en América del Norte [4]. También se han proscrito los anticoagulantes y otros medicamentos, mientras que se fomenta la pronta movilización a un centro médico para restaurar la función normal del miembro mordido.

### **Producción de antiofídicos en Colombia**

De particular interés para mí fue el capítulo 7: «*De Venenos, Amores y Odios*», escrito por Amira Abultaif Kadamani, el cual ofrece una perspectiva detallada sobre la historia de la producción de antiofídicos. Comienza con el «sérum antivenimeux» original de Albert Calmette, utilizado exitosamente por primera vez en 1896 en una víctima de envenenamiento por cobra de monóculos (*Naja kaouthia*) en Saigón, Vietnam; pasando por los aportes de Vital Brazil en Brasil y Clodomiro Picado en Costa Rica (a principios del siglo XX); hasta Bernardo Samper en Colombia (desde 1937), quien contó posteriormente con la colaboración de Roger Bolaños desde Costa Rica, y culminando con la producción de antiofídicos en el INS bajo la coordinación de Juan Manuel Renjifo, líder del Grupo de Sueros a mediados de la década de 1970.



## Características de las especies y la búsqueda de fenotipos clínicos del envenenamiento

El enfoque de este libro está en el reconocimiento e identificación de las especies venenosas de Colombia, con detalles sobre su distribución geográfica precisa (*Geovisor Colombiano de Ofidismo*, <https://ofidismo.ins.gov.co/>); su morfología, identificación, síntomas de envenenamiento, tratamiento, epidemiología del ofidismo, conservación, entre otros (incluidos en las fichas individuales de las especies). Esto se alinea perfectamente con mi interés profesional de toda la vida por definir los fenotipos clínicos (síndromes o cuadros clínicos compuestos) del envenenamiento según las diferentes especies. Sin datos tan detallados, no sería posible proporcionar un tratamiento óptimo a los pacientes gravemente envenenados, ni guiar a los toxicólogos de laboratorio en el desarrollo de mejores tratamientos dirigidos a toxinas/epítomos de relevancia médica.

Las ilustraciones a mano de cada especie son una característica muy atractiva de estas fichas y ofrecen una oportunidad para enfatizar sobre las características distintivas, como la marca nugal en forma de ancla negra invertida de *M. ancoralis*. Noto que el nombre en español de esta especie es «gargantilla», que significa «collar ajustado» o «collar real ornamentado» en inglés, en referencia a las marcas del cuello de esta serpiente. La falta de datos específicos sobre sintomatología y consejos de tratamiento resalta la necesidad de estudios clínicos prospectivos en pacientes envenenados por serpientes identificadas por expertos, estudios toxicológicos de su venómica y, en particular, de su neutralización mediante antivenenos disponibles; así como el posible papel de los anticolinesterásicos como primeros auxilios [5].

De cara al futuro, es alentador que un antiveneno polispecífico para *Micrurus*, desarrollado en Medellín, haya reconocido inmunológicamente los venenos de *M. ancoralis* y otras ocho especies de *Micrurus* colombianas [6], lo que posiblemente amplíe el alcance del antiveneno polivalente contra serpientes de coral desarrollado previamente en el INS [7].

## ¿Mitología sobre serpientes? El temido verrugoso/surucucú/shuchúpe (*Lachesis muta*)

Espero con entusiasmo leer el relato sobre las serpientes venenosas más espectaculares de Colombia y del hemisferio occidental: las matabuey, surucucú, o verrugoso. A pesar de sus hábitos crípticos y generalmente inofensivos, no resulta sorprendente que su formidable tamaño (quizás superando los 3,6 metros de longitud total) y los devastadores efectos de su veneno (mencionados anteriormente) hayan generado asombro y temor en los países donde habitan.

Una expedición televisada recientemente en la selva de Guyana [8] me recordó uno de los mitos más extendidos sobre estos magníficos animales: su supuesto «canto». Esto fue mencionado por primera vez por Evaristo García en su clásico *Los Ofidios Venenosos del Cauca* (Cali, París: Ch. Bouret, 1896): «...A este ofidio se refieren las leyendas más singulares,



contadas por los que han viajado en los Chocóes. Abunda en los bosques, en donde se la oye gritar sonidos semejantes al cacareo de la gallina... ronca durante el día cuando duerme envuelta en espirales...».

Sin embargo, en Guyana, el sonido atribuido a los verrugosos era muy diferente al «cacareo de una gallina» o «ronquido» descrito por García. Se trataba de un silbido agudo *in crescendo* continuo, que daba a los viajeros la impresión de que su campamento estaba rodeado por estas serpientes. William Lamar, quien ha viajado extensamente en busca de reptiles por la mayor parte de los países de América Latina, afirma: «Desde Costa Rica hasta Sudamérica, diversos grupos de pueblos indígenas, colonos, cazadores y otros comparten la creencia, que data de casi dos siglos, de que la matabuey emite un sonido distintivo» [9].

En la región occidental de la Amazonia, se ha propuesto una explicación para este mito con el descubrimiento de dos ranas de la familia Hylidae (*Tepuihyla shushupe* y *T. tuberculosa*), cuyos llamados, en algunas partes de Perú y Ecuador, son atribuidos por los lugareños a los matabuey o verrugosos [10].

Este es otro ejemplo de la fascinación interminable que generan las serpientes y de la necesidad de contar con información autorizada, como la que ofrece esta nueva y bienvenida publicación.

¡Felicitaciones a todos los involucrados!

**David A. Warrell**

Universidad de Oxford, Reino Unido, noviembre 2024.

## Referencias

1. Silva-Haad, J. Accidentes Humanos Por Las Serpientes de Los Géneros Bothrops y Lachesis. *Mem. Inst. Butantan* **1980**, *44*, 403–423.
2. Campbell, J.A.; Lamar, W.W. *The Venomous Reptiles of the Western Hemisphere (Vol. 2)*; Comstock Publishing: New York, 2nd edition, 2004; ISBN 978-0801441417.
3. Theakston, R.D.G.; Warrell, D.A. Crisis in Snake Antivenom Supply for Africa. *Lancet* **2000**, *356*, 2104, doi:10.1016/S0140-6736(05)74319-1.
4. McCollough, N.C.; Gennaro, J.F. Treatment of Venomous Snakebite in the United States. *Clin. Toxicol.* **1970**, *3*, 483–500, doi:10.3109/15563657008990121.
5. Vital Brazil, O.; Vieira, R.J. Neostigmine in the Treatment of Snake Accidents Caused by *Micrurus Frontalis*: Report of Two Cases (1). *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo* **1996**, *38*, 61–67, doi:10.1590/s0036-46651996000100012.
6. Tabares Vélez, S.; Preciado, L.M.; Vargas Muñoz, L.J.; Madrid Bracamonte, C.A.; Zuluaga, A.; Gómez Robles, J.; Renjifo-Ibañez, C.; Estrada-Gómez, S. Standard Quality Characteristics and Efficacy of a New Third-Generation Antivenom Developed in Colombia Covering *Micrurus* Spp. Venoms. *Toxins (Basel)*. **2024**, *16*, doi:10.3390/toxins16040183.

7. Castillo-Beltrán, M.C.; Hurtado-Gómez, J.P.; Corredor-Espinel, V.; Ruiz-Gómez, F.J. A Polyvalent Coral Snake Antivenom with Broad Neutralization Capacity. *PLoS Negl. Trop. Dis.* **2018**, *13*, 1–14, doi:10.1371/journal.pntd.0007250.
8. Shepherd, L. Secret Amazon: Into the Wild Available online: <https://www.lucy-shepherd.com/amazonuncharted> (accessed on 21 November 2024).
9. Lamar, W.W. Lachesis Muta: Cantante y Bailarín? In Proceedings of the Primer Simpósio. Lachesis muta: um desafio biológica e toxinológico.; Instituto Vital Brazil: Rio de Janeiro, 1998; p. 1.
10. Ron, S.R.; Venegas, P.J.; Ortega-Andrade, H.M.; Gagliardi-Urrutia, G.; Salerno, P.E. Systematics of Ecnomiohyla Tuberculosa with the Description of a New Species and Comments on the Taxonomy of Trachycephalus Typhonioides (Anura, Hylidae). *Zookeys* **2016**, *2016*, 115–154, doi:10.3897/zookeys.630.9298.



# Dedicatoria



Teddy Angarita-Sierra.— A Myriam Sierra Guerrero, mi madre, y Tulio Angarita Serrano†, mi padre, por alentarme a perseguir mis sueños más locos y a creer en la voluntad de lo imposible.

Francisco J. Ruiz Gómez.— A María Carlina, mi esposa, y a Ana María, mi hija, las raíces profundas de mi esfuerzo y dedicación. Gracias infinitas por iluminar mis noches de insomnio y mis días grises, y por creer siempre en mí.



# Agradecimientos

Este libro, en esencia, es el fruto del esfuerzo colectivo, intenso y apasionado de todos los autores de los capítulos y fichas que desinteresadamente, aceptaron participar y unir sus voluntades con el propósito común de proveer un contexto contemporáneo sobre el conocimiento en torno a las mordeduras, venenos y serpientes venenosas de Colombia, que potencie las investigaciones futuras, fortalezca la prevención, manejo y tratamiento del accidente ofídico, y reduzca los imaginarios negativos sobre las serpientes. Por ello, los editores, agradecemos profundamente a los autores, ya que la excelencia y rigor presentado en esta obra no hubiera sido posible sin ellos.

A los revisores: Dr. Eliecer de Jesús Jiménez Charris (Universidad del Valle); Dra. Leidy Johana Vargas (Universidad Cooperativa de Colombia); Dr. Alejandro Carbajal-Saucedo (Universidad Autónoma de Nuevo León); Dr. Osnamir Elías Bru Cordero, Dr. Thomas Defler, Dra. Nohora Vega (Universidad Nacional de Colombia); Dr. Gerardo Corzo (Universidad Nacional Autónoma de México); Dra. María Elisa Peichoto (Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Buenos Aires, Argentina); Dr. Alexis Rodríguez Acosta (Universidad Central de Venezuela); Dra. María Elena Barragán (Fundación Gustavo Orcés, Ecuador); MSc. Juan Manuel Renjifo (Universidad del Magdalena), Dra. Paola Rey-Suarez, MD. Rafael Otero-Patiño (Universidad de Antioquia); MD. Santiago Ayerbe (Universidad del Cauca); Dra. Nancy Oguiura (Instituto Butantan) por su lectura crítica, recomendaciones y tiempo invertido en la mejora de esta obra.

Un especial agradecimiento a los compañeros del Grupo de Animales Venenosos de la Dirección de Producción del Instituto Nacional de Salud (INS), por su apoyo incondicional y vocación de servicio, así como por sus aportes innovadores, recursivos y acuciosos a esta obra, que honran la función pública y contribuyen a la construcción de país.

Al comité científico conformado por el Dr. Franklyn Edwin Prieto Alvarado, Dr. William W. Lamar (Profesor emérito, Universidad de Texas en Tyler), y Dr. Thomas Defler (Profesor emérito, Departamento de biología, Universidad Nacional de Colombia sede Bogotá), quienes garantizaron la excelencia y calidad de esta obra.

Asimismo, extendemos un especial agradecimiento a los directivos del Instituto que creyeron en este sueño y brindaron su apoyo y soporte institucional, en particular a la Dra. Diana Marcela Pava Garzón (directora general INS), Dr. Franklyn Edwin Prieto Alvarado (director de Vigilancia y Análisis del Riesgo en Salud Pública, INS), Dr. Juan Felipe Bedoya Meneses (director de Producción, INS), y a los doctores Helver Guiovanni Rubiano García y Martha Lucía Ospina Martínez (ex Directores Generales del INS)

Un especial agradecimiento al Dr. William W. Lamar (Universidad de Texas en Tyler) por brindar de forma abierta y generosa sus conocimientos y experiencias sobre las serpientes venenosas colombianas, contribuyendo enormemente a mejorar las fichas de las especies y capítulos; al Dr. David Warrell (University of Oxford) por lectura del borrador del manuscrito y contribuir con un acogedor prólogo para el libro.

Al artista Oscar A. Ramírez y diseñadores gráficos María Catalina Durán y Johanna Montes Bustos por dotar a esta obra de sensibilidad, belleza estética y científica.

A Carlos A. Bravo-Vega por el desarrollo de la cartografía y análisis espaciales que colocan a esta obra a la vanguardia del conocimiento.

Los autores del Capítulo 3 agradecen al Laboratorio de Ecología y Evolución del Instituto Butantan por su contribución en la obtención de algunas de las secuencias de DNA usadas para la reconstrucción filogenética. A los revisores Thomas Defler, William Lamar y Nancy Ouguira por su valioso aporte en la revisión del capítulo. Además, agradecemos a las entidades y fondos que financiaron y/o apoyaron a los autores en el proceso de análisis y escritura del capítulo como Universidad de Sao Paulo, CAPES, COLFUTURO, Universidad de Antioquia, Universidad Bernardo O`Higgins y Agencia Nacional de Investigación y Desarrollo (Proyecto Fondecyt Regular 1220921).

Los autores del Capítulo 5 y 6 agradecen al Grupo de Animales Venenosos y al Grupo de Innovación y Desarrollo Tecnológico del Instituto Nacional de Salud, al Grupo de Investigación en Proteínas de la Universidad Nacional de Colombia, a la Universidad de Antioquia y al Laboratorio de Química de Biomacromoléculas de la Universidad Nacional Autónoma de México por el apoyo en el plan de trabajo, y A la Universidad Nacional de Colombia sede De La Paz, por su apoyo y soporte institucional.

Los autores del Capítulo 9 agradecen a las secretarías de salud municipales y departamentales, así como a la Unidad Primaria Generadora de Datos (UPGD) por la gestión de la información para la vigilancia epidemiológica en Colombia.

La Dra. Lina María Peña Acevedo, coautora del Capítulo 9 agradece a la Universidad de Antioquia y al Hospital San Vicente Fundación Medellín, instituciones en las cuales desarrolla todas sus actividades docentes y asistenciales, por haberle permitido aprender y amar todo lo que sabe sobre las mordeduras de serpientes, pasión que no para de crecer. Asimismo, agradece al Instituto Nacional de Salud de Colombia, por la confianza depositada en ella para realizar el análisis de la información que se presenta en este libro, la cual contribuye de significativamente al conocimiento de la casuística y epidemiología del accidente ofídico en Colombia y el mundo.

El autor de la ficha *Bothrocophias tulitoi* agradece al grupo de Biotecnología y Medio Ambiente de la Universidad INCCA de Colombia por

permitirme hacer parte de un equipo comprometido con el avance del conocimiento. Un especial agradecimiento al profesor Teddy Angarita Sierra por su confianza y apoyo al invitarme a participar en este libro, y de esta forma, contribuir al conocimiento y divulgación científica de las serpientes de importancia médica en Colombia.

Los autores de las fichas de *Micrurus clarki*, *M. spurrelli* y *Bothrops taeniatus* agradecen a los integrantes del grupo de investigación en Evolución, Ecología y Conservación EECO, y al Programa de Biología de la Universidad del Quindío, por su contribución en la obtención de información, revisión de textos o apoyo logístico durante la realización de estas fichas.

A la Universidad Nacional de Colombia sede De La Paz, por su apoyo y soporte institucional en los dos últimos años de este proyecto.

Este libro y el Geovisor colombiano de ofidismo (<https://ofidismo.ins.gov.co/>), son parte de los productos derivados del proyecto de investigación denominado «Fortalecimiento, consolidación y generación de conocimiento de las actividades misionales del serpentario del Instituto Nacional de Salud», financiado de 2021 a 2022 por Minciencias por medio de la convocatoria 891 fortalecimiento de vocaciones y formación en CTel para la reactivación económica en el marco de la postpandemia 2020.

Más allá de una publicación, este libro representa un testimonio de la unión de voluntades de un creciente grupo de investigadores colombianos, que, a pesar de las limitaciones financieras, técnicas, y sociales, las cuales retan día a día el hacer ciencia en Colombia, resisten y superan estas barreras con tenacidad, pasión, alta calidad académica y camaradería, contribuyendo de forma vanguardista al conocimiento integral de las serpientes colombianas.



# Introducción

Colombia se erige como un bastión de la biodiversidad a nivel mundial, albergando aproximadamente el 10 % de las especies animales del mundo y posicionándose como uno de los 25 puntos críticos de biodiversidad más importantes del planeta. Entre su vasta riqueza natural, el país es hogar de una notable diversidad de serpientes venenosas que desempeñan roles ecológicos y biomédicos cruciales. Sin embargo, este extraordinario patrimonio natural conlleva una serie de desafíos de salud pública relacionados con el ofidismo, —término médico que se refiere al envenenamiento causado por la mordedura de serpiente—.

En respuesta, el libro, *Mordeduras, venenos y serpientes venenosas de Colombia* ofrece una evaluación exhaustiva de base científica de las 59 especies de serpientes de importancia médica en el país. Esta obra busca satisfacer la necesidad apremiante de contar con información accesible y rigurosa sobre estos temidos y extraordinarios reptiles, así como enriquecer nuestra comprensión sobre el conocimiento toxinológico y salubrista de las especies de importancia médica en Colombia. Esta obra se erige como un recurso fundamental que refuerza la misión del Instituto Nacional de Salud de Colombia (INS) de proteger la salud pública y contribuir al conocimiento científico global.

Estructurado en diez capítulos, el libro explora los aspectos taxonómicos, evolutivos, bioquímicos, toxinológicos, ecoepidemiológicos, e históricos relacionados con el desarrollo de los antiofídicos que neutralizan los envenenamientos causados por las especies de serpientes colombianas de importancia médica. Este libro se fundamenta en el análisis de las investigaciones más recientes, aporta nuevas evidencias y hallazgos relevantes para la comprensión del ofidismo, y destaca la necesidad de continuar indagando sobre las preguntas aún no resueltas que motivan el avance científico en estos campos.

El Capítulo 1 presenta una visión retrospectiva de las especies de serpientes relevantes para la salud pública en Colombia, incluyendo una taxonomía actualizada, datos sobre su distribución y estado de conservación. Este capítulo subraya la necesidad de continuar investigando la ecología y la historia natural de estas especies, aspectos esenciales para implementar medidas de conservación que mitiguen el riesgo e incidencia del ofidismo.

Uno de los apartados destacados del libro es el análisis profundo del veneno de las especies del género *Micrurus* (corales) en el Capítulo 2. Conocidas por sus potentes neurotoxinas, las serpientes coral son fascinantes desde el punto de vista biológico y médico. Sin embargo, la notable variabilidad en la composición de su veneno sigue siendo poco comprendida. Los autores instan a realizar estudios más amplios sobre los

factores ecológicos y evolutivos que impulsan esta variabilidad, así como a reevaluar el papel de la coloración aposemática (colores brillantes de advertencia) en la disuasión de sus depredadores.

El Capítulo 3 se centra en la complejidad evolutiva y variabilidad del veneno de las víboras de foseta (cascabeles, mapanás, verrugosos y patoccos), las cuales representan las serpientes de mayor importancia médica en Colombia. A pesar de su papel protagónico en la salud pública, estas especies y sus venenos han sido poco estudiados en comparación con las serpientes venosas presentes en otras regiones tropicales del planeta. Este capítulo examina su historia evolutiva, la variabilidad en la composición y actividad biológica de sus venenos, así como su potencial como modelos para el estudio de la biología evolutiva al brindar nuevas perspectivas sobre su adaptación a los diversos paisajes tropicales colombianos.

El Capítulo 4 explora los colúbridos (serpientes cazadoras), los cuales, generalmente, son consideradas como serpientes «no venenosas». No obstante, este capítulo recopila de forma sólida los estudios más recientes que evidencian como muchos colúbridos en sus secreciones salivales presentan toxinas que pueden causar envenenamientos leves pero significativos para la salud pública. Además, subraya la importancia de comprender la historia evolutiva de sus venenos, su significado biológico, así como su increíble potencial farmacológico para el desarrollo de nuevos medicamentos y aplicaciones biomédicas.

La naturaleza bioquímica de los venenos de serpientes se examina en el Capítulo 5, enfocándose en los componentes clave como las metaloproteinasas, las fosfolipasas  $A_2$  y las toxinas de tres dedos. Estos componentes del veneno, esenciales para inmovilizar y digerir a sus presas, así como para disuadir a sus depredadores, también son responsables de los procesos fisiopatológicos observados en los accidentes ofídicos. Este capítulo aborda de manera detallada los mecanismos de acción de las toxinas y analiza la composición y la variabilidad de los venenos de las especies de importancia médica en Colombia, asociando la bioquímica del veneno con los cuadros clínicos de los envenenamientos.

Comprender esta relación tiene implicaciones inmediatas para la gestión clínica del accidente ofídico, ya que la gravedad de los envenenamientos y los enfoques de tratamiento están altamente influenciados por la composición y actividades de los venenos.

Los antiofídicos o antivenenos, siguen siendo la piedra angular para tratar el envenenamiento causado por las mordeduras de serpiente. El Capítulo 6 detalla su desarrollo y aplicación en Colombia, resaltando los avances en la producción farmacéutica de antiofídicos y la aplicación de técnicas moleculares para mejorar su eficacia. Dada la significativa variabilidad del veneno dentro y entre las especies de serpientes, la investigación continua de sus componentes proteicos es esencial. Además, los autores exploran enfoques terapéuticos complementarios, como las técnicas de inmunoreconocimiento, para mejorar la efectividad de los antiofídicos.

La historia de la producción de antiofídicos en Colombia se narra en el Capítulo 7, desde los primeros esfuerzos pioneros hasta la consolidación de protocolos de producción estructurados. Este capítulo ofrece una mirada profunda del papel del INS en el avance de la salud pública colombiana y regional, a través de la gestión, producción y desarrollo de antiofídicos que para hacer frente a una de las enfermedades tropicales más desatendidas a nivel mundial. Este capítulo captura la evolución de la capacidad de producción del INS en la elaboración antiofídicos en Colombia, situando las iniciativas actuales dentro de un marco histórico que contextualiza los logros y desafíos del país en la atención de los envenenamientos por mordedura de serpiente.

El Capítulo 8 examina los desafíos únicos de mantener serpientes venenosas en cautiverio para la producción de antiofídicos. Los autores con base en décadas de experiencia en el serpentario del INS comparten las lecciones aprendidas sobre las mejores prácticas para garantizar la salud y el bienestar de las serpientes cautivas. Asimismo, los autores destacan la importancia de comprender cuáles son las condiciones integrales e idóneas para la estadía de las serpientes que reduzcan al máximo el estrés, faciliten la valoración y seguimiento de patrones fisiológicos y conductuales que conlleven a garantizar su bienestar y supervivencia en el cautiverio. La consolidación de estos aprendizajes contribuye a los esfuerzos de conservación de estas especies, así como a la obtención de veneno de alta calidad, que permite la investigación, desarrollo, producción y mejora de los antiofídicos.

El envenenamiento causado por las mordeduras de serpientes sigue siendo un problema de salud pública prioritario en Colombia, particularmente en las áreas rurales donde la pobreza, la inseguridad alimentaria y el acceso limitado a la asistencia médica representan desafíos significativos. El Capítulo 9 proporciona un análisis ecoepidemiológico de los accidentes ofídicos utilizando datos del sistema nacional de vigilancia, SIVIGILA (2010-2020). Los autores examinan los patrones espaciales y temporales en la ocurrencia de mordeduras, identifican factores demográficos asociados con el riesgo de envenenamiento y revisan las prácticas de manejo clínico. En línea con las directrices de la Organización Mundial de la Salud, ofrecen recomendaciones para mejorar la recolección de datos y la formación médica, con el objetivo de reducir la morbilidad y mortalidad asociada al ofidismo.

Finalmente, el Capítulo 10 explora el potencial terapéutico de los venenos de serpiente colombianos, centrándose en sus aplicaciones en tratamientos para el sistema cardiovascular y nervioso, así como su potencial en terapias contra el cáncer y antimicrobianas. Los autores abogan por el uso de tecnologías ómicas para explorar el potencial farmacológico de los venenos de serpiente colombianos, al mismo tiempo que enfatizan el valor de la investigación bioquímica y farmacéutica tradicional para descubrir compuestos bioactivos con una relevancia médica significativa.

Este ambicioso proyecto, redactado por 55 científicos, se presenta en tres formatos diferentes: un PDF descargable de forma gratuita, una ver-



sión web (<https://serpientes.ins.gov.co>) y una edición limitada impresa. El proyecto incluye una base de datos vinculada al libro llamada el *Geovisor Colombiano de Ofidismo*, que proporciona acceso gratuito a archivos shapfile con información epidemiológica, variables ambientales y registros de distribución de las especies de serpientes de importancia médica en Colombia (<https://ofidismo.ins.gov.co>). Además, presenta 59 fichas de especies que resumen la información biológica, toxicológica y epidemiológica clave sobre estas serpientes de importancia médica en el país.

Este libro titulado *Mordeduras, venenos y serpientes venenosas de Colombia* se convierte así en un recurso indispensable para herpetólogos y toxicólogos, clínicos y profesionales de la salud pública, y público en general, ofreciendo una investigación exhaustiva de las dimensiones biológicas, ecológicas y médicas de las serpientes venenosas de Colombia. Alineado con la misión del INS, este libro no solo avanza en el entendimiento científico, sino que también refuerza el compromiso de Colombia con la salud pública y la colaboración internacional en el campo de la toxicología y salud pública. La meticulosa investigación y formato accesible de esta obra sin duda apoyará el desarrollo de políticas de salud pública informadas y promueve la conservación de estas criaturas incomprendidas y ecológicamente significativas.

**Teddy Angarita-Sierra y Francisco J. Ruiz-Gómez**

Editores

# Autores de los capítulos



## Amira Abultaif Kadamani

amiabu@hotmail.com

Formación Académica: Comunicadora social-periodista

Perfil profesional: Periodista, escritora, editora y productora documental

Afiliación: Consultora independiente

Capítulo 7



## Adrián Marcelo Franco-Vásquez

adrian.franco.vasquez@gmail.com

Formación Académica: Licenciado en Biología y Química, Máster en Ciencias, PhD (c) en Ciencias

Perfil profesional: Toxinología, Bioquímica, Proteómica y Caracterización de toxinas

Afiliación: Departamento de Química de Biomacromoléculas, Instituto de Química, Universidad Nacional Autónoma de México

CvLAC: [https://scienti.minciencias.gov.co/cvlac/visualizador/generarCurriculoCv.do?cod\\_rh=0001627511](https://scienti.minciencias.gov.co/cvlac/visualizador/generarCurriculoCv.do?cod_rh=0001627511)

Capítulos 5, 6



## Andrés Camilo Montes Correa

andresc.montes@gmail.com

Formación Académica: Biólogo, estudiante de maestría en Biodiversidad y Evolución

Perfil profesional: Herpetología, sistemática, taxonomía, ecología, evolución y conservación

Afiliación: Laboratorio de Herpetología, Coordenação de Zoologia, Museu Paraense Emilio Goeldi, Belém, Pará, Brasil; Fundación GECOS, Santa Marta, Magdalena, Colombia; Grupo de Investigación en Ecología Neotropical (GIEN), Universidad del Magdalena, Santa Marta, Magdalena, Colombia

CvLAC: [https://scienti.minciencias.gov.co/cvlac/visualizador/generarCurriculoCv.do?cod\\_rh=0001468823](https://scienti.minciencias.gov.co/cvlac/visualizador/generarCurriculoCv.do?cod_rh=0001468823)

Capítulo 1



## Ariadna Rodríguez Vargas

arlrodriguezva@unal.edu.co

Formación Académica: Médica, Magíster en Toxicología, PhD en Ciencias - Bioquímica

Perfil profesional: Toxinología, Bioquímica

Afiliación: Grupo de Investigación en Animales Ponzosñosos y sus Venenos, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, Colombia; Grupo de Investigación en Proteínas, Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá, Colombia

CvLAC: [https://scienti.minciencias.gov.co/cvlac/visualizador/generarCurriculoCv.do?cod\\_rh=0001378971](https://scienti.minciencias.gov.co/cvlac/visualizador/generarCurriculoCv.do?cod_rh=0001378971)

Capítulos 5, 6



### Camila Figueredo Salinas

cfigueredo@unal.edu.co

Formación Académica: Bióloga e Ingeniera Ambiental y Sanitaria, Estudiante Magíster en Toxicología

Perfil profesional: Toxinología, Bioquímica

CvLAC: [https://scienti.minciencias.gov.co/cvlac/visualizador/generarCurriculoCv.do?cod\\_rh=0001710948](https://scienti.minciencias.gov.co/cvlac/visualizador/generarCurriculoCv.do?cod_rh=0001710948)

Capítulos 5, 6



### Carlos Andrés Bravo-Vega

ca.bravo955@uniandes.edu.co

Formación Académica: Ingeniero Químico, MSc en Ingeniería Biomédica, PhD en Ingeniería

Perfil profesional: Ecoepidemiología

Afiliación: Asistente postdoctoral docente, grupo de investigación en biología matemática y computacional BIOMAC, Departamento de Ingeniería Biomédica, Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia.

CvLAC: [https://scienti.minciencias.gov.co/cvlac/visualizador/generarCurriculoCv.do?cod\\_rh=0001542803](https://scienti.minciencias.gov.co/cvlac/visualizador/generarCurriculoCv.do?cod_rh=0001542803)

Capítulos 1, 9



### Carlos Antonio Castro

cacastro@ins.gov.co

Formación Académica: Zootecnista

Afiliación: Grupo de Investigación en Animales Ponzofiosos y sus Venenos, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, Colombia

Capítulo 8



### Carolina Zona

dczonar@unal.edu.co

Formación Académica: Terapeuta respiratoria, Especialista en cuidado crítico, Msc en Farmacología, PhD (c) Ciencia-Farmacéuticas

Perfil profesional: Cuidado intensivo, Ventilación mecánica, Farmacología, Toxicología

Afiliación: Vicerrectoría de investigación, Universidad Manuela Beltrán

CvLAC: [https://scienti.minciencias.gov.co/cvlac/visualizador/generarCurriculoCv.do?cod\\_rh=0001596825&lang=es](https://scienti.minciencias.gov.co/cvlac/visualizador/generarCurriculoCv.do?cod_rh=0001596825&lang=es)

Capítulo 10



### Chris Akcali

chrisakcali@yahoo.com

Formación Académica: Biólogo, PhD en Ciencias Biología

Perfil profesional: Herpetólogo

Afiliación: Museo de Ciencias Naturales de Carolina del Norte, Raleigh, Carolina del Norte, EEUU

Capítulo 2



**Diana Marcela Walteros Acero**

dianamwalteros@hotmail.com

Formación Académica: Médica, Especialista en Epidemiología, Msc en Epidemiología, Epidemióloga de campo, PhD (c) en Salud Pública

Perfil profesional: Médica epidemióloga y salubrista pública

Afiliación: Subdirectora de Prevención, Vigilancia y Control en Salud Pública, Instituto Nacional de Salud de Colombia, Bogotá.

CvLAC: [https://scienti.minciencias.gov.co/cvlac/visualizador/generarCurriculoCv.do?cod\\_rh=0000022512](https://scienti.minciencias.gov.co/cvlac/visualizador/generarCurriculoCv.do?cod_rh=0000022512)

Capítulo 9



**Francisco J. Ruiz Gómez**

fr Ruiz@ins.gov.co

Formación Académica: Médico Veterinario

Perfil profesional: Herpetólogo, Producción y Desarrollo Tecnológico de Antivenenos

Afiliación: Grupo de Investigación en Animales Ponzosos y sus Venenos, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, Colombia

CvLAC: [https://scienti.minciencias.gov.co/cvlac/visualizador/generarCurriculoCv.do?cod\\_rh=0000959790](https://scienti.minciencias.gov.co/cvlac/visualizador/generarCurriculoCv.do?cod_rh=0000959790)

Editor, Capítulo 8



**Jaime Andrés Pereañez Jiménez**

andrespj20@gmail.com

Formación Académica: Químico Farmacéutico, PhD en Ciencias Básicas Biomédicas

Perfil profesional: Toxicología, Terapias alternativas, Bioquímica, Caracterización de toxinas

Afiliación: Grupo de investigación Toxinología, alternativas terapéuticas y alimentarias, Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Alimentarias, Universidad de Antioquia; Grupo de investigación Promoción y Prevención Farmacéutica, Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Alimentarias, Universidad de Antioquia.

CvLAC: [https://scienti.minciencias.gov.co/cvlac/visualizador/generarCurriculoCv.do?cod\\_rh=0000958042](https://scienti.minciencias.gov.co/cvlac/visualizador/generarCurriculoCv.do?cod_rh=0000958042)

Capítulos 3, 5, 6, 10



**Juan Carlos Vega Garzón**

jcvegag@unal.edu.co

Formación Académica: Licenciado en biología, Médico Veterinario, Msc en Microbiología, PhD en biología funcional y Molecular

Perfil profesional: Tecnología educativa y divulgación científica

Afiliación: Profesor asistente, grupo de investigación Intersedes (Bogotá y De La Paz) Control Genético en salud animal, Universidad Nacional de Colombia.

CvLAC: [https://scienti.minciencias.gov.co/cvlac/visualizador/generarCurriculoCv.do?cod\\_rh=0000482498](https://scienti.minciencias.gov.co/cvlac/visualizador/generarCurriculoCv.do?cod_rh=0000482498)

Capítulo 5



### Juan David Bayona Serrano

juan.serrano.esib@esib.butantan.gov.br

Formación Académica: Biólogo, PhD en Ciencias - Toxinología

Perfil profesional: Transcriptómica, Genómica, Proteómica y Evolución de toxinas del veneno de serpiente

Afiliación: Laboratorio de Toxinología Aplicada (LETA), Instituto Butantan, Brasil

Capítulos 2, 4



### Juan José Torres Ramírez

jtorresr@ins.gov.co

Formación Académica: Biólogo

Perfil profesional: Herpetólogo

Afiliación: Grupo de Investigación en Animales Ponzosos y sus Venenos, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, Colombia

CvLAC: [https://scienti.minciencias.gov.co/cvlac/visualizador/generarCurriculoCv.do?cod\\_rh=0001437428](https://scienti.minciencias.gov.co/cvlac/visualizador/generarCurriculoCv.do?cod_rh=0001437428)

Capítulo 8



### Juan Pablo Hurtado Gómez

juanphg@gmail.com

Formación Académica: Biólogo, Msc en Biología, PhD (c) en Biología

Perfil profesional: Sistemática, Taxonomía, Evolución, Biogeografía, Herpetología

Afiliación: Museo de Zoología, Colecciones de Historia Natural, Senckenberg Dresde, Dresde, Alemania

CvLAC: [https://scienti.colciencias.gov.co/cvlac/visualizador/generarCurriculoCv.do?cod\\_rh=0000974633](https://scienti.colciencias.gov.co/cvlac/visualizador/generarCurriculoCv.do?cod_rh=0000974633)

Capítulo 2



### Katterine Isabel Urieles Sierra

kurieles@unal.edu.co

Formación Académica: Médica, Especialista en Epidemiología, Msc en Salud Pública, PhD (c) en Salud Pública

Perfil profesional: Médica epidemióloga y salubrista pública

Afiliación: Grupo de investigación en políticas de salud, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá

CvLAC: [https://scienti.minciencias.gov.co/cvlac/visualizador/generarCurriculoCv.do?cod\\_rh=0001696428](https://scienti.minciencias.gov.co/cvlac/visualizador/generarCurriculoCv.do?cod_rh=0001696428)

Capítulo 9



### Kristian Alberto Torres-Bonilla

kristiantorres19@gmail.com

Formación Académica: Biólogo, Msc en Farmacología, PhD en Farmacología

Perfil profesional: Toxinología, Bioquímica y Farmacología de venenos y toxinas

Afiliación: Laboratorio de Farmacología bioquímica e farmacológica, Universidade Estadual de Campinas, Brasil

CvLAC: [https://scienti.minciencias.gov.co/cvlac/visualizador/generarCurriculoCv.do?cod\\_rh=0001577247](https://scienti.minciencias.gov.co/cvlac/visualizador/generarCurriculoCv.do?cod_rh=0001577247)

Capítulo 4



### Lina María Peña Acevedo

lina.pena@udea.edu.co

Formación Académica: Médica Toxicóloga Clínica, Especialista y Msc en seguridad y salud en el trabajo, PhD (c) Medicina Clínica

Perfil profesional: Toxicología Clínica

Afiliación: Profesora Titular, Departamento de Farmacología y Toxicología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

CvLAC: [https://scienti.minciencias.gov.co/cvlac/visualizador/generarCurriculoCv.do?cod\\_rh=0000166332](https://scienti.minciencias.gov.co/cvlac/visualizador/generarCurriculoCv.do?cod_rh=0000166332)

Capítulo 9



### María Carlina Castillo-Beltrán

mcastillo@ins.gov.co

Formación Académica: Ingeniera Química, Especialista en estadística

Perfil profesional: Producción de antivenenos, optimización de procesos, control de calidad, estandarización y validación de métodos de ensayo y pruebas biológicas

Afiliación: Grupo de Investigación en Animales Ponzosñosos y sus Venenos, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, Colombia

Grupo de Investigación en Proteínas, Universidad Nacional de Colombia

CvLAC: [https://scienti.minciencias.gov.co/cvlac/visualizador/generarCurriculoCv.do?cod\\_rh=0001368324](https://scienti.minciencias.gov.co/cvlac/visualizador/generarCurriculoCv.do?cod_rh=0001368324)

Capítulo 6



### Mónica M. Saldarriaga Córdoba

monica.saldarriaga@ubo.cl

Formación Académica: Médico Veterinario, Msc Ciencias Biomédicas, PhD en Ciencias con mención en Ecología y Biología Evolutiva

Perfil profesional: Bióloga Molecular, Biología Evolutiva y Bioinformática,

Afiliación: Centro de Investigación en Recursos Naturales y Sustentabilidad (CIRENYS), Universidad Bernardo O'Higgins. Chile

Capítulo 3



### Monica Sarmiento

msarmiento@ins.gov.co

Formación Académica: Médica Veterinaria, Especialista en Gerencia de la Calidad, Msc en Salud Pública

Perfil profesional: Medicina veterinaria de especies domésticas y reptiles, Producción y Desarrollo Tecnológico de Antivenenos, Salud Pública

Afiliación: Grupo de Investigación en Animales Ponzosñosos y sus Venenos, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, Colombia

CvLAC: [https://scienti.minciencias.gov.co/cvlac/visualizador/generarCurriculoCv.do?cod\\_rh=0000168101](https://scienti.minciencias.gov.co/cvlac/visualizador/generarCurriculoCv.do?cod_rh=0000168101)

Capítulo 8

**Sergio D. Cubides-Cubillos**

sergio.cubides@usp.br

Formación Académica: Biólogo, Magíster en Educación, PhD en Biotecnología.  
Perfil profesional: Herpetólogo, Taxónomo, Ofidismo, Sistemática Molecular

Afiliación: Laboratorio de Ecología y Evolución, Instituto Butantan - São Paulo, Brasil.

CvLAC: [https://scienti.minciencias.gov.co/cvlac/visualizador/generarCurriculoCv.do?cod\\_rh=0001163612](https://scienti.minciencias.gov.co/cvlac/visualizador/generarCurriculoCv.do?cod_rh=0001163612)

Capítulo 3

**Teddy Angarita Sierra**

tgangaritas@unal.edu.co

Formación Académica: Biólogo, Ms en Auditoría y Gestión Ambiental, Doctor en Ciencias Biología

Perfil profesional: Herpetólogo, Taxónomo, Ecólogo, Biólogo de la conservación, Ofidismo

Afiliación: Grupo de investigación Biodiversidad para la Sociedad, Dirección Académica, Universidad Nacional de Colombia sede De La Paz, Cesar, Colombia

CvLAC: [https://scienti.minciencias.gov.co/cvlac/visualizador/generarCurriculoCv.do?cod\\_rh=0000868353&lang=es](https://scienti.minciencias.gov.co/cvlac/visualizador/generarCurriculoCv.do?cod_rh=0000868353&lang=es)

Editor, Capítulos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10

# Contenido

<b>Presentación</b> .....	V
<i>Dra. Diana Marcela Pava Garzón</i>	
<b>Prólogo</b> .....	VII
<i>David A. Warrell</i>	
<b>Dedicatoria</b> .....	XIII
<b>Agradecimientos</b> .....	XV
<b>Introducción</b> .....	XIX
<b>Autores de los capítulos</b> .....	XXIII
<b>Capítulo 1</b>	Serpientes de importancia médica en Colombia: Una mirada retrospectiva a su conocimiento, avances y perspectivas futuras.....31
<b>Capítulo 2</b>	Linajes, variabilidad del veneno y señales de advertencia en las serpientes coral del Nuevo Mundo ..... 91
<b>Capítulo 3</b>	Asesinos por naturaleza: Revisión de los caminos evolutivos de las víboras colombianas ..... 125
<b>Capítulo 4</b>	Un universo inexplorado: Venenos y toxinas de los colúbridos..... 179
<b>Capítulo 5</b>	Mezclas intrincadas: Buceando entre venenos de serpiente .....217
<b>Capítulo 6</b>	Tratamiento contra mordeduras de serpientes en Colombia: antivenenos como respuesta fundamental .....295
<b>Capítulo 7</b>	De venenos, amores y odios .....325
<b>Capítulo 8</b>	Serpientes venenosas en cautiverio: Una historia de lecciones aprendidas..... 373
<b>Capítulo 9</b>	Ecoepidemiología en el contexto colombiano: una mirada clínica de las mordeduras de serpientes venenosas ..... 411
<b>Capítulo 10</b>	La dosis hace al veneno: Revisión del potencial farmacológico de los venenos de serpiente..... 463
<b>Abreviaciones y significados</b> .....	515
<b>Glosario</b> .....	519



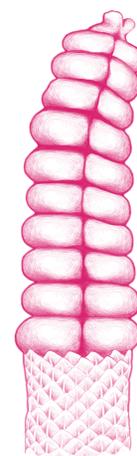
# Capítulo 1

## Serpientes de importancia médica en Colombia: Una mirada retrospectiva a su conocimiento, avances y perspectivas futuras

**Teddy Angarita-Sierra, Carlos A. Bravo-Vega, Andrés C. Montes-Correa**

**Resumen:** El conocimiento sobre las serpientes colombianas ha sido pobremente explorado a lo largo de la historia, enfocándose principalmente en las especies de importancia médica debido al miedo y aversión de las personas a los efectos graves y potencialmente mortales de sus venenosas mordeduras. No obstante, muchos aspectos esenciales de su historia natural, ecología, comportamiento, sistemática, taxonomía, distribución, ofidismo, usos etnobiológicos y percepciones sociales siguen siendo poco comprendidos. Desde los años 2000, una explosión de estudios ha reducido las brechas históricas en su conocimiento, lo que ha llevado a avances significativos en la comprensión de las serpientes colombianas. En este capítulo realizamos una revisión detallada que resume la información disponible sobre las especies de importancia médica presentes en Colombia, integrándola con información sobre su riqueza, endemidad, distribuciones, taxonomía y estado de conservación. Proporcionamos una breve reseña histórica sobre la riqueza de serpientes venenosas en Colombia, así como una lista revisada de las especies de importancia médica. Nuestro objetivo no es resolver todos los problemas taxonómicos actuales de las serpientes colombianas, sino ofrecer un tratamiento taxonómico y criterios para asignar las especies de serpientes problemáticas a entidades taxonómicas con base en la evidencia disponible actualmente. Además, revisamos el estado de conservación de las especies venenosas colombianas y proponemos un nuevo marco conceptual para abordar sus amenazas y desafíos para su conservación, el cual, a su vez, propende por la reducción de los accidentes ofídicos como una enfermedad tropical desatendida.

**Palabras clave:** Ofidiofauna; distribución geográfica; endemidad; riqueza de especies; taxonomía; conservación.



Citación: Angarita-Sierra, T.; Bravo-Vega, CA.; Montes-Correa, AC. Capítulo 1: Serpientes de importancia médica en Colombia: Una mirada retrospectiva a su conocimiento, avances y perspectivas futuras. En el libro: *Mordeduras, venenos y serpientes venenosas de Colombia*; Angarita-Sierra, T., Ruiz-Gómez, FJ, Eds.; Instituto Nacional de Salud: Bogotá D.C., Colombia, 2024; pp. 31–90. doi:10.33610/167266agfaqh



Copyright: © 2024 por los autores. Publicación de acceso abierto bajo los términos y condiciones de licenciamiento Creative Commons Atribución (CC BY-NC-ND 4.0) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Ilustraciones por:  
Oscar A. Ramírez Ruiz

## 1. Breve reseña histórica de la riqueza de especies de serpientes en Colombia

Históricamente, la mayoría de las serpientes de Colombia han sido pobremente estudiadas, lo que ha provocado importantes vacíos de conocimiento sobre aspectos esenciales de su historia natural, ecología, comportamiento, sistemática, taxonomía, distribuciones, ofidismo, usos etnobiológicos y percepciones sociales. Actualmente, algunos de estos temas siguen siendo poco comprendidos [1–3]. Sin embargo, desde finales del siglo XX y la primera década del siglo XXI, ha surgido una explosión de estudios que han reducido la deuda histórica en la comprensión de la riqueza de serpientes que habitan en uno de los países más megadiversos del mundo [1].

El conocimiento sobre las serpientes de Colombia está limitado por múltiples razones, tales como: baja financiación para realizar trabajo de campo; bajo porcentaje de holotipos (espécimen en el que se basa la descripción de una especie) alojados en colecciones biológicas colombianas; baja representatividad de las especies de serpientes de importancia médica en las colecciones biológicas colombianas, lo que a su vez redundante en una limitada representatividad geográfica (ver detalle más adelante); escasez de expertos y personal capacitado en las universidades e instituciones de investigación capaces de describir, delimitar especies y enseñar sobre biología de serpientes; submuestreo o ausencia de muestreo en vastas áreas del país, así como en la mayoría de las localidades tipo (localidad donde se recolectó el holotipo de una especie); acceso limitado a múltiples regiones del país debido al conflicto armado interno, haciendo que muchas localidades hayan sido históricamente inaccesibles o altamente peligrosas para los científicos [4–6].

Como consecuencia, grandes regiones de Colombia aún carecen de muestreos intensivos, haciendo que la mayoría de la ofidiofauna colombiana no haya sido objeto de estudios biológicos exhaustivos. A pesar de la posición geográfica de Colombia como una región clave en el intercambio histórico de faunas entre América del Norte y América del Sur [7], así como de ser uno de los países con la tasa anual más alta de mordeduras de serpiente reportada en América (ver Capítulo 9), Colombia es un «agujero negro» debido a los profundos vacíos de conocimiento biológico esencial para la mayoría de serpientes de importancia médica.

Como miembro de la Real Expedición Botánica, y líder del componente zoológico, Jorge Tadeo Lozano [8,9], fue el primer investigador colombiano que realizó estudios sobre anfibios y reptiles en el país, con énfasis particular en la historia natural de las serpientes y las prácticas no médicas utilizadas para tratar las mordeduras de serpiente durante el final del periodo del Nuevo Reino de Granada (1538-1819) y el comienzo del periodo de la Gran Colombia (1819-1831). Así, Jorge Tadeo Lozano, se convirtió oficialmente en el primer herpetólogo colombiano [9] (ver Capítulo 7). Particularmente, Lozano en su estudio titulado «*Memorias sobre serpientes*» estableció las directrices futuras para la investigación y comprensión del ofidismo y su contexto ecoepidemiológico en Colombia (ver Capítulo 9), recomendando [10]:

1. Estudiar la anatomía de las serpientes buscando un mayor entendimiento para clasificar las venenosas de las no venenosas, evaluando con mucho cuidado las estructuras bucales para asegurar la existencia de «bolsas acumuladoras de veneno (=glándulas venenosas)» y colmillos huecos (=dentadura de solenoglifa).
2. Experimentar sobre la actividad y efecto de sus venenos, utilizando animales de diferentes tamaños y tipos, anotando escrupulosamente todos los fenómenos que surjan.
3. Una vez conocidos los efectos de cada veneno, probar si pueden introducirse en la medicina como tratamiento de enfermedades, o para combatir los venenos de otras especies.
4. Evaluar el efecto de retirar el aparato venenoso de las serpientes.
5. Examinar la cantidad e intensidad de los venenos de las serpientes, dependiendo de su edad, sexo, tamaño, épocas del año y otras circunstancias.
6. Realizar un análisis químico del «licor del veneno», reconociendo su naturaleza, composición y diferencias entre especies.
7. Reconocer los «antivenenos» que se emplean, y comprobar su eficacia en los animales mordidos, o mezclándolos con venenos, y observar si los descomponen, desorganizan o privan de su virtud deletérea.
8. Hacer todos los experimentos posibles para evaluar la planta de guaco (= *Mikania guaco*), el «antiveneno» más empleado.
9. Investigar cuánto veneno es necesario para matar a un animal de cada orden.
10. Hacer un estudio detallado de las serpientes venenosas para distinguirlas de las inofensivas, valiéndose de características en número, disposición y figuras que forman sus escamas.
11. Averiguar si la naturaleza dio a las serpientes el veneno únicamente para su defensa y para matar a sus enemigos, o si, como sospecho, es un suplemento para ayudar a digerir los alimentos en lugar de mastícarlos, lo que no pueden hacer debido a la estructura de sus dientes que se lo impiden.

Las directrices de Lozano fueron visionarias porque la mayoría de sus recomendaciones y conjeturas son las líneas de investigación más importantes y priorizadas en la actualidad en el estudio de las serpientes venenosas y el ofidismo [11–13] (ver Capítulo 3, 5, 6, 7, 9, y 10). Después de las directrices visionarias de Lozano, investigadores nacionales y extranjeros han intentado describir la historia natural y documentar la capacidad de envenenamiento de las serpientes que habitaban en el vasto territorio que dio origen al país que hoy conocemos como Colombia. Para la mayoría de ellos, la principal motivación para el estudio de las serpientes venenosas fue generar conocimiento y terapias para enfrentar el ofidismo, así como en comprender las terapias tradicionales utilizadas como prácticas médicas.

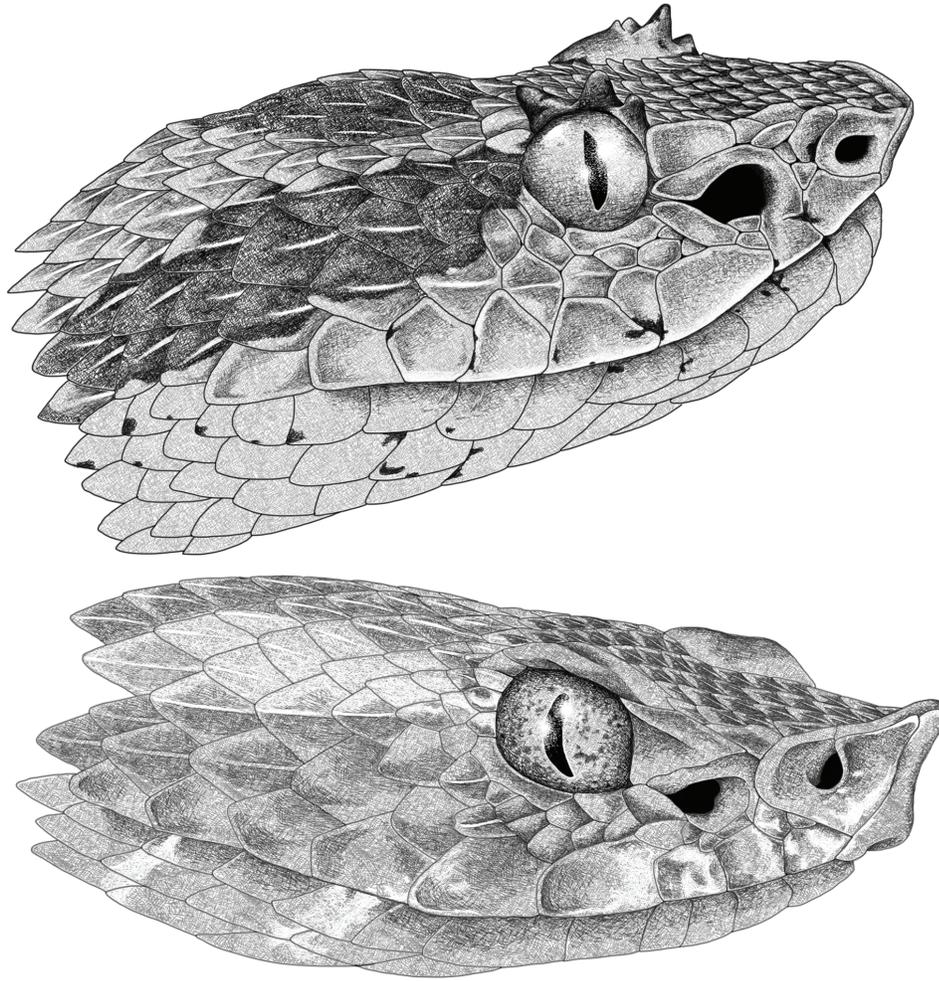
En 1870, el ingeniero y médico homeópata Silvestre B. Higgins, originario de la ciudad de Barranquilla (departamento de Atlántico), publicó el libro «*Culebras i reptiles venenosos: sus hábitos características i particularidades*». Este libro se centró en las prácticas no médicas utilizadas como terapias frente a las serpientes por los curanderos colombianos. Además,

describió las generalidades sobre los rasgos de la historia natural de algunas especies venenosas y su contexto ecoepidemiológico. Recopiló las creencias, cuentos, mitos y eventos mágicos más sorprendentes sobre las serpientes colombianas, explicando sus nombres comunes e imaginarios sociales que aún prevalecen en muchas comunidades rurales.

Curiosamente, Higgins proporcionó una lista anotada de especies de serpientes venenosas de cada uno de los nueve estados colombianos (Higgins vivió durante un período histórico en el que Colombia era un grupo de estados federales denominados Estados Unidos de Colombia 1863-1886). Sin embargo, Higgins no proporcionó una base científica sólida en su libro, por lo que las especies de serpientes venenosas y no venenosas se listaron según los nombres comunes en lugar de los científicos. Por lo tanto, con base en la lista de especies de Higgins, es difícil asignar de manera confiable un nombre científico para la mayoría de los taxones de serpientes descritos. Sin embargo, al descartar los sinónimos en los nombres comunes, las especies que no son serpientes (p. ej., anfisbénidos) y las especies no venenosas (p. ej., *Pseudoboa neuwiedii*) de la lista de especies de Higgins, se puede estimar que el número de serpientes de importancia médica estaba alrededor de las 12 especies: *Bothrops asper*, *B. atrox*, *B. bilineatus*, *B. punctatus*, *Bothrocophias* spp., *Bothriechis schlegelii*, *Crotalus durissus*, *Micrurus dumerillii*, *M. mipartitus*, *Lachesis acrochorda*, *L. muta*, y *Porthidium lansbergii*.

En 1889, el médico Andrés Posada Arango publicó el artículo «*Note Sur Quelques Solenoglyphes de Colombie*» en el que describe, según su interpretación, cuatro nuevas especies de serpientes venenosas del antiguo género *Thanatophis* (*Thanatophis patoquilla*, *T. sutus*, *T. montanus* y *T. torvus*). Sin embargo, estas especies fueron débilmente descritas y posteriormente sinonimizadas en tres géneros y tres especies, o complejos de especies diferentes (*T. patoquilla* y *T. sutus* fueron sinonimizadas como *Porthidium lansbergii* [14]; *T. montanus* fue sinónimo como *Bothrops punctatus* [15], y *T. torvus* fue asignado al género *Bothriechis* como *B. torvus* [16]).

En 1896 el médico Evaristo García Piedrahita proporcionó una lista de especies de serpientes de importancia médica del departamento del Cauca (actualmente departamentos de Cauca, Valle del Cauca y Putumayo). El Dr. García-Piedrahita en su libro «*Serpientes venenosas del Cauca*» [17], proporciona un estudio detallado de la clasificación de las serpientes venenosas, caracteriza, describe y diagnostica el aparato venenoso, los efectos de los venenos y los síntomas de envenenamiento causados por mordeduras de serpientes. Adicionalmente, realiza un análisis y reflexión sobre los métodos empíricos utilizados contra las mordeduras de serpientes, los métodos para neutralizar el veneno y el tratamiento de los síntomas de mordeduras de serpientes [1]. García-Piedrahita proporcionó una lista y descripción de 19 especies de serpientes de importancia médica. Sin embargo, descontando los nombres comunes, sinonimias y especies que no son serpientes venenosas de la lista, este autor reportó un total de 11 especies (*Bothriechis schlegelii*, *Bothrops asper*, *B. rhombeatus*, *B. punctatus*, *Crotalus durissus*, *Lachesis acrochorda*, *L. muta*, *Porthidium lansbergii*, *Micrurus mipartitus* y *M. hemprichii*).



**Figura 1.** Ilustraciones de la nueva especie propuesta por Andrés Posada-Arango. (Arriba) Cabeza en vista lateral del complejo de especies *Bothriechis schlegelii* de Manizales, Caldas (INSV-SR-00138). (Abajo) Cabeza en vista lateral de *Porthidium lansbergii* (INSV-SR-89) de Yondó, Antioquia, Colombia. Ilustraciones por Oscar A. Ramírez Ruiz.

Dos décadas después, Afranio do Amaral [18,19] amplió el conocimiento sobre las serpientes colombianas proporcionando listas regionales, reportando cinco especies venenosas de la región de Santa Marta (*Micrurus dumerillii*, *M. mipartitus*, *Bothrops asper*, *Crotalus durissus*, *Porthidium lansbergii*,) y seis de la cuenca baja del río San Juan para el departamento del Chocó (*Micrurus ancoralis*, *M. mipartitus*, *Bothrops asper*, *B. punctatus*, *Bothriechis schlegelii*, *Porthidium nasutum*). No obstante, hasta la década de 1940, Nicéforo María [20] fue el primer investigador que intentó consolidar una lista completa de especies de serpientes colombianas. Reportó aproximadamente 180 especies de serpientes. Sin embargo, descontando las subespecies de la lista de especies de Nicéforo, el número de especies de serpientes alcanza 174 (comunicación personal, J.D. Lynch, 2017), Nicéforo María reporta un total de 26 serpientes venenosas, de las cuales 15 eran elápidos (incluyendo la descripción de *Micrurus sangilensis* como una nueva especie) y 11 eran vipéridos.

En 1968, Federico Medem (Friedrich Johann Graf von Medem) [21], proporcionó una revisión exhaustiva del desarrollo histórico de la herpetología en Colombia, enumerando todas las especies conocidas de anfibios y

reptiles del país, abarcando registros de exploradores desde el siglo XVIII hasta los tiempos modernos. Reportó un total de 231 especies de serpientes que habitan en Colombia, de las cuales, descontando las subespecies, 10 eran vipéridos y 13 elápidos. Medem ofreció descripciones detalladas de sus distribuciones geográficas, hábitats, características de historia natural, datos etnozoológicos y creencias sociales.

Dos años después, Peters y Orejas-Miranda [15] proporcionaron un catálogo detallado de las serpientes neotropicales, incluyendo claves taxonómicas para géneros, especies y subespecies. Elucidaron los nombres científicos y las distribuciones, ayudando a resolver especies crípticas o indefinidas. Descontando las subespecies, estos autores reportaron 182 especies de serpientes que habitan en Colombia, de las cuales 16 eran vipéridos y 17 elápidos. Las claves taxonómicas para géneros, especies y subespecies siguen siendo válidas para muchos taxones, y continúan utilizándose en varias academias de biología en América Latina como una aproximación introductoria para comprender la riqueza taxonómica de las serpientes neotropicales.

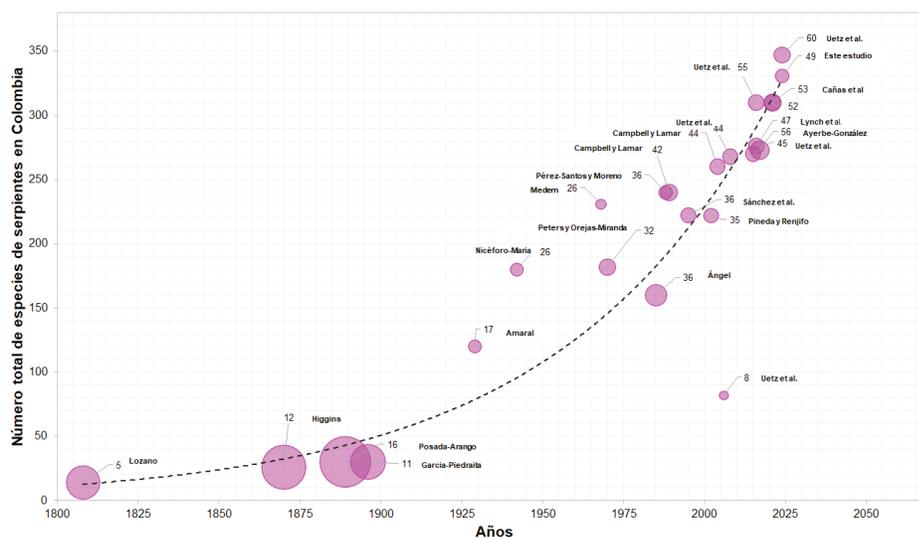
En 1985, se realizó un nuevo intento de compilar el conocimiento sobre las serpientes venenosas de Colombia por parte del médico y profesor de la Universidad de Antioquia, Rodrigo Ángel [22] al publicar la monografía «*Serpientes de Colombia: guía práctica para la clasificación y tratamiento del envenenamiento causado por sus mordeduras*». Ángel reportó 160 especies de serpientes que habitan en Colombia, de las cuales 13 eran vipéridos y 31 elápidos. Sin embargo, descontando las subespecies de la lista de especies de Ángel, el número de serpientes venenosas en Colombia alcanza 36 especies (Figura 2). Este libro fue una de las principales referencias para la mayoría del personal médico que enfrentó mordeduras de serpientes en Colombia a finales del siglo XX.

En 1988, Pérez-Santos y Moreno publicaron la primera monografía moderna que compiló exhaustivamente la riqueza de especies que habitan en Colombia, proporcionando claves para su identificación, descripción de caracteres diagnósticos y mapas de distribución. Estos autores reportaron 240 especies de serpientes en Colombia, descontando las subespecies, reportando un total de 36 especies venenosas (20 elápidos y 16 vipéridos). No obstante, esta monografía presenta deficiencias significativas en la calidad de los registros de especies, principalmente porque la mayoría de los registros de distribución y la información de historia natural están documentados de manera inadecuada, presentando identificaciones y distribuciones cuestionables, sin referencias cruzadas de los especímenes, o los números de colección de museos que sustentan la información para cada especie [23]. A pesar de esto, el libro proporcionó listas de verificación de especies y caracteres diagnósticos útiles. No obstante, dado que los datos utilizados carecen de una evaluación rigurosa, la riqueza de especies en el país resultó subestimada y creó confusión en el conocimiento de los rangos de distribuciones de las serpientes dentro del territorio nacional [1,23].

En 1989, Campbell y Lamar ofrecieron un recuento completo y bien fundamentado sobre las especies de serpientes venenosas en toda América Latina, incluyendo Colombia. Su trabajo abordó varios errores generados por estudios previos y corrigieron los datos de estudios anteriores que a menudo carecían de referencias cruzadas de especímenes por especie y números de colecciones de museos, o bien omitían referencias de datos publicados, lo que resultaba en rangos de distribución geográfica confusos.

Hacia finales del siglo XX, Sánchez et al. [24] proporcionaron una revisión de las especies de reptiles en Colombia. Sin embargo, en esta publicación no se evaluó la calidad de los registros utilizados. Este descuido llevó a una subestimación de la riqueza de especies en el país y confusión en sus distribuciones dentro del territorio nacional [1]. Como resultado, estos autores subestimaron la riqueza de especies en el país (Figura 2).

Desde el inicio del siglo XXI, un número creciente de estudios se han generado buscando reducir el déficit histórico en la comprensión de la riqueza de serpientes, incrementando rápidamente el número de especies a través de revisiones taxonómicas exhaustivas, así como con la descripción de nuevas especies, pasando de 240 a aproximadamente 331 especies de serpientes (Figura 2). En 2002, Pineda y Renjifo presentaron una lista actualizada de accidentes por mordeduras de serpientes en Colombia; enfocándose en reportes clínicos que describían los efectos de los venenos y los síntomas de envenenamiento causados por mordeduras de serpiente en Colombia, proporcionando una visión completa de las manifestaciones clínicas, información epidemiológica y cómo manejar el accidente ofídico y su tratamiento, actualizando lo previamente presentado por Ángel en 1985. Además, estos autores reportaron 35 especies de serpientes venenosas. Sin embargo, citaron incorrectamente la lista de serpientes venenosas previamente proporcionada por Campbell y Lamar [25], omitiendo algunas especies de *Micrurus* (Figura 2).



**Figura 2.** Recuento histórico que ilustra el crecimiento exponencial del conocimiento sobre la riqueza de serpientes en Colombia. El tamaño de las burbujas corresponde a la proporción de serpientes venenosas con respecto al total de especies de serpientes, según los datos reportados por el autor. Las notas indican el número de serpientes venenosas.

En 2004, Campbell y Lamar [26], en su libro «*The venomous reptiles of the western hemisphere*» realizaron avances notables en la comprensión de los reptiles venenosos del hemisferio occidental del planeta. Este compendio clásico estableció la base moderna para entender los enigmas taxonómicos de las serpientes venenosas de Colombia, actualizando su propuesta de 1989. Sus decisiones taxonómicas siguen siendo válidas para muchas especies de serpientes venenosas distribuidas en Colombia.

En 2016 Cañas et al. [27] en su Libro «*Serpientes venenosas: lecciones aprendidas desde Colombia*» realizan una interesante revisión del conocimiento acumulado hasta el Siglo XX e inicios del siglo XXI sobre la riqueza, biología general, caracteres de identificación de las serpientes de importancia médica en Colombia; describen los caracteres que permiten diferenciar las serpientes venenosas de las no venenosas; y brinda una visión clínica de las manifestaciones del ofidismo. Son los primeros autores en compilar los avances toxinológicos relacionados con la venómica, bioquímica y actividades biológicas de los venenos de las serpientes de importancia médica en el país. Además, presentan información epidemiológica y lineamientos para el manejo del accidente ofídico y tratamiento de las intoxicaciones, con énfasis en las serpientes distribuidas en las cuatro zonas de vida del departamento del Valle del Cauca. Estos autores indican que en Colombia habitan 310 especies de serpientes de las cuales 53 especies (21 vipéridos y 32 elápidos) son de importancia médica, y de estas 14 especies se distribuyen en el departamento del Valle del Cauca. No obstante, su listado de especies carece de referencias cruzadas con ejemplares de colecciones o literatura publicada. Por lo tanto, no es posible rastrear la fuente de los datos utilizados para su construcción.

En 2021 Ayerbe [28], en su libro «*Serpientes: accidentes y soluciones*» provee una detallada descripción de los síntomas y signos del envenenamiento causado por serpientes colombianas, sus manifestaciones clínicas y complicaciones en su tratamiento, presentando abordajes terapéuticos para hacer frente al accidente ofídico. Dentro de las generalidades de la biología de las serpientes de importancia médica en Colombia, Ayerbe [28] indica que en el país habitan 310 especies de serpientes de las cuales 56 son de importancia médica. No obstante, de forma similar que Cañas et al. [27], no proporciona referencias cruzadas con ejemplares de colecciones o literatura publicada que permita sustentar sus listados. Además, considera varias subespecies de corales como especies sin indicar el criterio taxonómico usado (p. ej., *Micrurus hemprichii* versus *Micrurus ortonii*; ver la explicación en las siguientes secciones de este capítulo).

Desde Campbell y Lamar [26], la mayoría de los estudios del siglo XXI han corregido las deficiencias del pasado, proporcionando registros basados en literatura revisada por pares, especímenes de colecciones y museos, repositorios o bases de datos biológicos curadas [1]. El proyecto en curso de Uetz, Hallermann, Hosek y colaboradores, Reptile database (<http://www.reptile-database.org>), ha acelerado y consolidado los esfuerzos históricos realizados por varios autores, proporcionando un método

moderno para actualizar anualmente las listas de especies de reptiles no aviares en todo el mundo.

Actualmente, este sitio web es la opción inicial para cualquier investigador o entusiasta de los reptiles que busca una comprensión básica de la riqueza taxonómica, distribuciones geográficas, literatura especializada, descripciones originales, imágenes y otros datos biológicos relevantes. Reptile database representa el «consenso moderno» entre los herpetólogos de todo el mundo sobre los nombres científicos, decisiones taxonómicas y distribuciones. Sin duda, Uetz, Hallermann, Hosek y sus colaboradores han realizado un avance enorme en la compilación de una cantidad colosal de conocimientos sobre las especies de reptiles no aviares [29].

No obstante, Reptile database no ofrece una evaluación taxonómica, sino una lista de especies con los aporte de algunos autores que proponen nuevas especies o cambios taxonómicos; y además, estas listas de especies se basan en información de diversas fuentes [30]. Por lo tanto, la controversia sobre las decisiones taxonómicas y distribuciones de varios taxones, especialmente de serpientes, persiste. La taxonomía es un campo científico dinámico, en el cual la controversia siempre impulsa su avance. Por tal razón, el número total de especies de serpientes podría cambiar entre autores o incluso dentro de las propuestas de un mismo autor a lo largo del tiempo, debido al cambio de los criterios empleados por ellos, generando una constante expansión y contracción de la lista de especies de serpientes como resultado de sumar, restar, omitir especies o listar especies redundantes.

Por ejemplo, en este libro consideramos que actualmente están presentes en Colombia un total de 331 especies de serpientes, de las cuales 49 taxa son especies venenosas (Viperidae y Elapidae; ver <https://ofidismo.ins.gov.co>). Nuestros conteo de especies varían con respecto a lo reportado por Uetz et al. [29] en un 4,6% con respecto al total de especies de serpientes presentes en el país, y en 18% en el caso de especies venenosas (Figura 2, Tabla 1). Los criterios empleados que explican estas diferencias se definen en la siguiente sección de este capítulo. A pesar de la variabilidad en las listas de especies de serpientes entre autores, en el siglo XXI, Colombia ha logrado un avance exponencial en la comprensión de su ofidiofauna, indicando que el país ha comenzado a salir del «agujero negro» al adquirir conocimientos biológicos esenciales sobre sus serpientes. Con el tiempo, la proporción serpientes venenosas en los listados especies disminuyó con respecto al total de especies reportadas, indicando que la visión médica de las serpientes que predominó en el siglo XX ha cambiado gradualmente hacia una visión biológica más amplia, que incluye en los listados de especies todas las serpientes, tanto venenosas como no venenosas.

Además, desde el siglo XXI, la riqueza proporcional de especies venenosas promedio reportado en cada estudio es de 16,3% (9,8-20,1%), lo que indica que las especies de serpientes de importancia médica en Colombia representan menos del 20% de la ofidiofauna total del país. Esperamos



que, en un futuro cercano, esta tendencia continúe, reduciendo las incertidumbres taxonómicas de las serpientes colombianas. Sin embargo, esta tendencia histórica también señala que nuestra comprensión de las serpientes colombianas está lejos de estar completa, lo que nos motiva a seguir invirtiendo esfuerzos significativos para dilucidar su naturaleza críptica, y reducir la escasez de información que las rodea. Esperamos que este desafío sea abordado por jóvenes herpetólogos nacionales y extranjeros.

## **2. Un caos megadiverso: El enigma taxonómico de las especies de serpientes de importancia médica en Colombia**

Una de las etapas clave cuando una persona común o un médico enfrenta un accidente ofídico es la identificación precisa de la serpiente. Según la identificación taxonómica de la serpiente, el médico puede determinar el tipo de envenenamiento, establecer el tratamiento y antiofídico adecuado, así como anticipar las posibles complicaciones clínicas [31]. Por esta razón, la mayoría de las guías médicas, manuales, guías de campo y protocolos destinados a tratar o manejar accidentes ofídicos incluyen la identificación taxonómica de la serpiente como una etapa primordial en su proceso paso a paso (algoritmo) [27,28,31–34] (ver Capítulo 9).

A pesar que esta tarea parece clara y sencilla, en países tropicales y megadiversos como Colombia puede volverse complicada, aún más cuando varias especies de serpientes tienen un estado taxonómico confuso debido a la escasa investigación científica y su alta crípticidad [1]. Además, las distribuciones de varias especies de serpientes venenosas pueden superponerse ampliamente (especies simpátricas), lo que hace que la identificación de especies mediante el método de eliminación geográfica sea inadecuado en la mayoría de los casos.

Recientemente, varios investigadores han realizado importantes esfuerzos para desentrañar el enigma taxonómico de algunas serpientes de importancia médica distribuidas en Colombia [35–38]. Sin embargo, la mayoría de la diversidad de serpientes del país sigue teniendo un estado taxonómico confuso, manteniendo como referencia taxonómica las revisiones clásicas y exhaustivas realizadas a finales del siglo XX y principios del siglo XXI [15,23,39–44].

La mayoría de estos trabajos científicos concluyen que las poblaciones de serpientes venenosas colombianas requieren una revisión taxonómica detallada [15,26,39,45–47]. A pesar de esto, varios investigadores han utilizado sinónimos y epítetos subespecíficos como nombres a nivel de especies, sin realizar una revisión taxonómica, o sin contar con evidencia sólida para su uso, creación o resurrección [28,48]. Esta práctica ha causado inestabilidad taxonómica, profundizando la dificultad para determinar la identidad taxonómica de las serpientes de importancia médica en Colombia, la cual va más allá del simple cambio del nombre científico de las especies [49].

Este fenómeno no solo ha ocurrido con las serpientes colombianas, a nivel mundial, surgen problemas cuando los datos utilizados para tomar decisiones taxonómicas se presentan de manera deficiente, derivan de investigaciones espurias o carecen de evidencia [50]. Así, su aplicación posterior en una amplia gama de campos, como la conservación o la atención de enfermedades tropicales desatendidas (p. ej., ofidismo), se ve socavada por la falta de coherencia. Además, la explosión de la información electrónica y la revolución de las redes sociales en las primeras dos décadas del siglo XXI [3], ha conllevado a una rápida dispersión y fusión de información taxonómica científica y no científica, lo que dificulta la toma de decisiones taxonómicas adecuadas para los profesionales médicos, o público no especializado en herpetología.

Según la propuesta de Kaiser et al. [50], una decisión taxonómica científica debe seguir tres pasos principales: (1) generar hipótesis de pertinencia a un grupo (p. ej., una especie, un taxón) o linaje evolutivo (p. ej., taxa hermanos) basadas en fuentes primarias disponibles (p. ej., registro fósil, especímenes de colecciones existentes, nuevos de especímenes colectados en campo, tejidos, análisis cuantitativos, secuencias de ADN, etc.) y la literatura disponible; (2) probar estas hipótesis mediante análisis adecuados, rigurosos y honestos empleando datos relevantes y utilizando el método científico; y (3) someter las decisiones taxonómicas propuestas (p. ej., reorganizaciones taxonómicas, descripciones de nuevas especies, elevación de subespecies a rango de especie) a revistas revisadas por pares en forma de manuscritos que presenten los datos y proporcionen una justificación racional para las decisiones propuestas.

Desafortunadamente, es común que numerosas investigaciones de alto impacto no sigan el enfoque de Kaiser et al. [50], sino que basan sus decisiones taxonómicas en evidencias carentes de solidez, presentadas de manera deficiente o, peor aún, cometiendo vandalismo taxonómico [52,53], es decir, estableciendo de forma deliberada nombres científicos (=hipótesis) sin llevar a cabo el proceso científico descrito anteriormente [49,50]. Además de estos inconvenientes, algunas decisiones taxonómicas se han publicado en revistas predatorias/falsas o en revistas de publicación rápida, donde, a cambio de un pago, los autores obtienen una publicación rápida y una amplia audiencia, a costa de la calidad científica, la legitimidad de las decisiones taxonómicas, la robustez del proceso de revisión por pares, y el valor científico.

La confusión sobre los nombres de especies o géneros de serpientes venenosas podría causar serias limitaciones en la implementación de esquemas de salud pública, así como en el tratamiento de accidentes ofídicos. Por ejemplo, esto puede aumentar el subregistro de los casos de ofidismo al clasificarlos bajo un nombre de especie que no está basado en la ciencia. Además, enmascara la variabilidad de los síntomas clínicos del envenenamiento de especies de amplia distribución [54–57].

Particularmente en Colombia, una de las principales dificultades durante el diagnóstico y tratamiento del accidente ofídico es la correcta

identificación de la especie o género de la serpiente [1]. Esto surge como uno de los principales obstáculos que limitan el proceso de toma de decisiones rápidas por parte del médico sobre la terapia y antiofídico adecuado, la dosificación del antiofídico, así como la prevención de complicaciones clínicas durante el tratamiento [58].

El concepto de especie sigue siendo controversial debido a que un único concepto no es suficiente para incluir simultáneamente todas las formas y combinaciones en las que evoluciona la vida [59]. Sin embargo, todos los conceptos de especie tienen algo en común: todos consideran las especies como una hipótesis. Por lo tanto, un taxon pueden tratarse como «un supuesto educado fundamentado en el método científico, la lógica y la observación» [60]. Por lo tanto, todas las especies pueden ser objeto de prueba. Tratar las especies como hipótesis permite emplear múltiples líneas de evidencia como criterios operativos (sensu Mayden [61]), para realizar pruebas empíricas y diagnósticos a las especies como unidades evolutivas en la naturaleza [61–63].

De acuerdo con esta perspectiva, en esta sección presentamos una lista revisada de especies venenosas basada en la información actualmente disponible sobre el estado taxonómico de las especies de serpientes de importancia médica en Colombia, abarcando colúbridos (aglifos y opistoglifos), vipéridos (solenoglifos) y elápidos (proteroglifos). Realizamos una revisión detallada basada en la literatura disponible para tomar la «mejor» decisión taxonómica siguiendo la propuesta científica de Kaiser et al. [50], así como considerando todas las publicaciones que contaban con múltiples líneas de evidencia para la delimitación de especies.

Nuestro objetivo no es resolver todos los problemas taxonómicos actuales en torno a las serpientes colombianas, sino proporcionar un tratamiento taxonómico y criterios que ayuden a asignar las especies de serpientes problemáticas a una entidad taxonómica basada en la evidencia disponible. Esto ayudará a los médicos a asignar una entidad taxonómica a las serpientes involucradas en accidentes ofídicos en el país, reduciendo los errores en su identificación, así como la tasa de subregistro de las mordeduras de serpientes [56,64] (ver Capítulo 9).

Esperamos que, en un futuro cercano, los taxónomos, mediante una revisión exhaustiva basada en el método científico (con enfoque de taxonomía integradora) y la publicación en revistas de alta calidad revisadas por pares, puedan desentrañar los enigmas de las serpientes colombianas señaladas aquí. Todos los criterios definidos en este capítulo establecerán el tratamiento taxonómico de las especies a lo largo de todos los capítulos de este libro.

## **2.1 Serpientes de importancia médica: Abordaje ante las incertidumbres taxonómicas**

Durante las últimas dos décadas, con la explosión de técnicas y análisis moleculares, el uso masivo de análisis cuantitativos, bioinformática,

tomografías computarizadas de alta resolución (HRCT), análisis por software libre de código abierto disponible (p. ej., R, Python, Past, etc.), y la popularización de las técnicas de eversión hemipenial entre los investigadores [65], se han propuesto nuevas especies, resurrección de géneros, revalidación o elevación de especies a partir de subespecies y sinonimias de especies [35,36,66–71]. Estos esfuerzos, la mayoría de ellos incluyendo múltiples líneas de evidencia (taxonomía integrativa), han permitido resolver varios problemas taxonómicos de las serpientes venenosas de Suramérica previamente señalados por Campbell y Lamar [26], proporcionando un avance notable en nuestra comprensión.

Sin embargo, en comparación con estos esfuerzos, se han hecho pocos intentos taxonómicos que utilicen múltiples líneas de evidencia para resolver algunas especies de serpientes venenosas colombianas que resultan desconcertantes [35,37,72]. En la mayoría de las especies colombianas, Campbell y Lamar [26] sigue siendo la guía primordial para las decisiones taxonómicas porque no se cuenta con nueva evidencia para abordar las especies problemáticas (p. ej., *Micrurus dumerilii*, *M. mipartitus*, *Bothrops venezuelensis*), o la nueva evidencia proporcionada se ha presentado de manera deficiente, causando más confusión que claridad (p. ej., *Bothrops ayerbei* and *Bothrops rhombeatus*; ver Capítulo 3).

Los problemas taxonómicos tienen causas multifactoriales. Sin embargo, aquí las resumimos en dos categorías principales de la siguiente manera:

*Cripticidad.*— Los investigadores pueden observar indicios que sugieren que las poblaciones de una especie en particular podrían representar diferentes linajes evolutivos, pero en el estado actual del conocimiento, no pueden distinguirse o delimitarse fácilmente debido a su incertidumbre en torno a sus caracteres diagnósticos (p. ej., caracteres morfológicos poco definidos y/o propiedades ecológicas, falta de datos de ADN o análisis cuantitativos disponibles) [63,73,74]. Por lo tanto, este taxón se considera un complejo de especies que podría agrupar dos o más especies, pero que requiere nuevas líneas de evidencia para un diagnóstico y delimitación adecuada [74].

*Datos insuficientes.*— Esta categoría agrupa especies que: (1) además del espécimen holotipo empleado en su descripción original y la serie tipo (el grupo de especímenes diferentes al tipo empleados en la descripción original de una especie), no se conocen nuevos especímenes o poblaciones; (2) carecen de espécimen tipo o este se ha perdido; (3) especies descritas a partir de un único espécimen conocido; (4) especies que su nombre taxonómico no puede asignarse con certeza a ningún grupo taxonómico porque la descripción es insuficiente para su identificación y/o el espécimen original se ha perdido o ya no existe (*nomen dubium*) [75]; (5) a pesar de que se han realizado revisiones taxonómicas objetivas a lo largo de su distribución conocida (empleando un enfoque taxonómico integrador o una única línea de evidencia), las poblaciones colombianas de esta especie no han sido incluidas en estas evaluaciones; y (6) la delimitación y diagnóstico de la especie presentan grandes deficiencias e incongruen-

cias desde su descripción original. Por lo tanto, las conclusiones sobre su estatus taxonómico no pueden asumirse de manera directa para las poblaciones colombianas.

Utilizando una visión taxonómica conservadora, proponemos una lista de especies de serpientes de importancia médica para Colombia (Tabla 1), con base en la revisión exhaustiva de las líneas de evidencia disponibles para la delimitación de especies (ver Apéndice A), como se detalla en la siguiente sección.

## 2.2 Registros de las serpientes de importancia médica en Colombia

Recuperamos y curamos aproximadamente 5.488 registros de especies de serpientes de importancia médica geolocalizadas en Colombia a partir de 50 fuentes. Estas referencias incluyen especímenes alojados en colecciones biológicas, registros de literatura herpetológica especializada (artículos, libros), datos no publicados de cuadernos de campo de varios herpetólogos colombianos y extranjeros, y registros clínicos de serpentarios colombianos dedicados a la investigación y producción de antiofídicos (ver <https://ofidismo.ins.gov.co>).

Colombia alberga un total de 59 especies de serpientes de importancia médica, de las cuales 10 especies son colúbridos, 20 son vipéridos y 29 son elápidos. Alrededor del 13,6% de estas especies muerden con frecuencia y están asociadas con envenenamientos graves y potencialmente mortales, mientras que el resto de las especies de serpientes rara vez causan envenenamientos graves y potencialmente mortales, o no tienen casos reportados (Tabla 1).

**Tabla 1.** Especies de serpientes de importancia médica en Colombia. m: Metros sobre el nivel del mar.

Especies	Endémica	Localidad tipo en Colombia	Distribución por departamento	Rango Altitudinal (m)
<b>Serpientes que muerden frecuentemente y están asociadas con envenenamientos graves y potencialmente mortales</b>				
<i>Bothriechis schlegelii</i> *	No	Si	Ant, Boy, Cal, Cau, Ch, Cor, Cu, Hui, Nar, Qui, Ris, San, Tol, Val	2—2946; $\bar{x}$ = 1832
<i>Bothrops asper</i> *	No	No	Ant, Atl, Bol, Boy, Cal, Cau, Ces, Cho, Cór, Cun, LaG, Mag, NSa, Qui, Ris, San, Suc, Tol, Val	2—2200; $\bar{x}$ = 547
<i>Bothrops atrox</i> *	No	No	Ama, Arau, Boy, Caq, Cas, Cun, Gua, Guav, Met, NSa, Put, Vau, Vic	57—1923; $\bar{x}$ = 308

<i>Crotalus durissus</i>	No	No	Ant, Ara, Atl, Bol, Boy, Ces, Cun, Hui, LaG, Mag, Met, Tol, Vic	7—1717, $\bar{x}$ = 235
<i>Porthidium lansbergii</i> *	No	Si	Ant, Atla, Bol, Boy, Cas, Ces, Cho, Cór, Hui, LaG, Mag, NSa, San, Suc, Tol	0—1243, $\bar{x}$ = 782
<i>Porthidium nasutum</i>	No	No	Ant, Cho, Val	12—1011, $\bar{x}$ = 307
<i>Micrurus dumerilii</i> *	No	Si	Ant, Atl, Bol, Boy, Cal, Cau, Cesar, Cho, Cór, Cun, Hui, LaG, Mag, Met, Nar, NSa, Ris, San, Suc, Tol, Val,	2—2278, $\bar{x}$ = 815
<i>Micrurus mipartitus</i> *	No	Si	Ant, Boy, Cal, Cau, Ces, Cho, Cór, Cun, Hui, Mag, Met, Nar, NSa, Ris, San, Suc, Tol, Val,	11—2606, $\bar{x}$ = 1204

**Serpientes que muerden frecuentemente, pero rara vez causan envenenamientos graves o potencialmente mortales**

<i>Dryophylax gambotensis</i>	Si	Si	Atl, Bol, Ces, Cór, LaG, Mag, Suc	1—161, $\bar{x}$ = 34
<i>Helicops angulatus</i>	No	No	Ama, Caq, Cun, Gua, Guav, Met, Put, Vau, Vic	52—570, $\bar{x}$ = 237
<i>Leptodeira annulata</i> *	No	No	Ama, Ant, Atla, Bol, Boy, Cal, Caq, Cas, Cau, Ces, Cho, Cór, Cun, Hui, LaG, Mag, Met, San, NSa, Suc, Tol, Val, Vic	3—2130, $\bar{x}$ = 646
<i>Oxybelis fulgidus</i>	No	No	Ama, Bol, Cat, Mag, Met, Suc, Vau	3—484, $\bar{x}$ = 220
<i>Erythrolamprus bizona</i> *	No	Si	Ant, Boy, Cal, Cas, Cau, Ces, Cun, Hui, Mag, Met, NSa, San, Tol, Val	14—2566, $\bar{x}$ = 900
<i>Thamnodynastes pallidus</i>	No	No	Ama, Cas, Met, Put, Vic	75—437, $\bar{x}$ = 162
<i>Xenodon rabdocephalus</i>	No	No	Ant, Cal, Cau, Cho, LaG, San, Tol, Val	3—1778, $\bar{x}$ = 483

**Serpientes que muerden rara vez, pero que pueden causar envenenamientos graves y potencialmente mortales**

<i>Bothrocophias myersi</i>	Si	Si	Cau, Cho, Val	12—1275, $\bar{x}$ = 224
-----------------------------	----	----	---------------	--------------------------

<i>Bothrocophias myrringae</i>	Si	Si	Cun, Met	1757—2761, $\bar{x}$ = 2137
<i>Bothrocophias tulitoi</i>	Si	Si	Boy, Cas, Cun	1685—2694, $\bar{x}$ = 1969
<i>Bothrops punctatus</i>	No	Si	Ant, Cal Cau, Cho, Nar, Ris, Val	4—1578, $\bar{x}$ = 569
<i>Hydrophis platurus</i>	No	No	Cau, Cho, Nar	-50—0, $\bar{x}$ = -5
<i>Lachesis acrochorda</i>	No	Si	Ant, Boy, Cau, Cho, Nar, San, Val	2—1775, $\bar{x}$ = 655
<i>Lachesis muta</i>	No	No	Ama, Caq, Met, Put, Vau	24—1809, $\bar{x}$ = 352
<i>Micrurus helleri</i>	No	No	Ara, Caq, Cas, Cun, Met, Put, Vau	87—1338, $\bar{x}$ = 393
<i>Micrurus hemprichii*</i>	No	Si	Ama, Boy, Caq, Cas, Met, Vic	67—770, $\bar{x}$ = 311
<i>Micrurus lemniscatus*</i>	No	No	Ama, Gua	79—125, $\bar{x}$ = 84
<i>Micrurus obscurus</i>	No	No	Ama, Caq, Gua, Guav, Met, Put, Vau, Vic	79—616, $\bar{x}$ = 243
<i>Micrurus surinamensis</i>	No	No	Ama, Caq, Cun, Guav, Met, Vau, Vic	52—537, $\bar{x}$ = 292
<b>Serpientes que muerden rara vez y que no han causado envenenamientos significativos ni mordeduras documentadas</b>				
<i>Bothrocophias campbelli</i>	No	No	Cho, Nar, Val	32—1650, $\bar{x}$ = 428
<i>Bothrocophias colombianus</i>	Si	Si	Cho, Cau, Ris	211—2506, $\bar{x}$ = 1530
<i>Bothrocophias hyoprora</i>	No	No	Ama, Caq, Guav, Nar, Put, Vau	64—1202, $\bar{x}$ = 234
<i>Bothrops bilineatus</i>	No	No	Ama, Caq, Vau,	80—265, $\bar{x}$ = 105
<i>Bothrops oligobalius</i>	No	No	Ama, Caq, Guav, Vau	81—274, $\bar{x}$ = 151
<i>Bothrops pulcher</i>	No	No	Caq, Put	274—1725, $\bar{x}$ = 872
<i>Bothrops taeniatus</i>	No	No	Ama, Cun, Gua, Met, Vau, Vic	78—533, $\bar{x}$ = 155
<i>Bothrops venezuelensis</i>	No	No	Boy, Cas	151—1785, $\bar{x}$ = 1052

<i>Micrurus ancoralis</i>	No	Si	Ant, Cal, Cho, Ris, Tol, Val,	21—707, $\bar{x}$ = 98
<i>Micrurus camilae</i>	Si	Si	Ant, Cór, San, Suc,	30—1381, $\bar{x}$ = 178
<i>Micrurus clarki</i>	No	No	Cau, Cho, Val	2—865, $\bar{x}$ = 257
<i>Micrurus dissoleucus</i>	No	No	Atl, Bol, Ces, Cór, LaG, Mag, NSa, Suc,	5—1297, $\bar{x}$ = 124
<i>Micrurus filiformis</i>	No	No	Ama, Caq, Cas, Gua, Guav, Met, Vau, Vic	68—438, $\bar{x}$ = 205
<i>Micrurus isozonus</i>	No	No	Ara, Cas, Met, Vic	4—429, $\bar{x}$ = 276
<i>Micrurus langsdorffi</i>	No	No	Ama, Caq, Gua, Guav, Met, Put, Vau,	81—637, $\bar{x}$ = 179
<i>Micrurus medemi</i>	Si	Si	Cun, Met	229—1599, $\bar{x}$ = 490
<i>Micrurus multiscutatus</i>	No	Si	Cau, Cho, Ris, Val	67—2506, $\bar{x}$ = 425
<i>Micrurus narduccii</i>	No	No	Ama, Caq, Gua, Put, Vau	75—283, $\bar{x}$ = 140
<i>Micrurus nattereri</i>	No	No	Gua, Vau	85—229, $\bar{x}$ = 166
<i>Micrurus nigrocinctus</i>	No	No	Ant	6—32, $\bar{x}$ = 18
<i>Micrurus oligoanellatus</i>	Si	Si	Cau	1442
<i>Micrurus ornatissimus</i>	No	No	Ama, Vau	82—115, $\bar{x}$ = 93
<i>Micrurus psyches</i>	No	No	Ara, Met	156—452, $\bar{x}$ = 299
<i>Micrurus remotus</i>	No	No	Gua, Vau	83—233, $\bar{x}$ = 128
<i>Micrurus renjifo</i>	Si	Si	Vic	115
<i>Micrurus sangilensis</i>	Si	Si	Boy, Cas, San	993—2420, $\bar{x}$ = 1660
<i>Micrurus scutiventris</i>	No	No	Ama	79—126, $\bar{x}$ = 114
<i>Micrurus spurrelli</i>	Si	Si	Cho	41—71, $\bar{x}$ = 51

<i>Micrurus tikuna</i>	No	No	Ama	78—81, $\bar{x}$ = 79
<b>Otras serpientes potencialmente importantes desde el punto de vista médico que no han causado mordeduras documentadas</b>				
<i>Erythrolamprus aesculapii</i>	No	No	Ama, Caq, Guav, Put, Vau	88—327, $\bar{x}$ = 169
<i>Leptophis ahaetulla*</i>	No	No	Ant, Cas, Ces Cun, Hui, Met, San, Tol,	42—2171, $\bar{x}$ = 746

Departamentos de Colombia. Ama: Amazonas. Ant: Antioquia. Arc: Archipiélago de San Andrés, Providencia and Santa Catalina. Arau: Arauca. Bol: Bolívar. Boy: Boyacá. Cal: Caldas. Caq: Caquetá. Cas: Casanare. Cau: Cauca. Ces: Cesar. Cho: Chocó. Cór: Córdoba. Cun: Cundinamarca. Gua: Guainía. Guav: Guaviare. Hui: Huila. LaG: La Guajira. Mag: Magdalena. Met: Meta. Nar: Nariño. NSa: Norte de Santander. Put: Putumayo. Qui: Quindío. Ris: Risaralda. San: Santander. Suc: Sucre. Tol: Tolima. Val: Valle del Cauca. Vau: Vaupés. Vic: Vichada. Complejos de especies. \* = complejo de especies.

Los diez departamentos de Colombia con mayor riqueza de serpientes de importancia médica son Amazonas, Vichada, Vaupés, Chocó, Cauca, Caquetá, Antioquia, Cundinamarca y Valle del Cauca, presentando entre 15 a 22 especies (Figura 3A). Todos estos departamentos abarcan las ecoregiones más diversas, así como las áreas topográficas más complejas de Colombia y del norte de Suramérica. Sin embargo, la mayoría de los registros se concentran en departamentos como Antioquia, Meta y Santander, ya que son las divisiones político-administrativas de Colombia que históricamente han recibido mayores esfuerzos de muestreo [1].

Cuando se analizó la riqueza de serpientes dividiendo entre especies de elápidos y vipéridos, la tendencia general observada fue constante, la mayor riqueza de especies venenosas se agrupa en áreas topográficamente complejas y regiones ecológicamente diversas. Sin embargo, la mayor riqueza de especies de vipéridos se encuentra la región transandina de Colombia (Chocó, Valle del Cauca, Boyacá, Antioquia), mientras que, para los elápidos, su riqueza concentró principalmente en la región cisandina (Meta, Amazonas, Vichada, Vaupés, Caquetá; Figura 3B). Esto sugiere patrones biogeográficos complejos de expansión y diversificación en los linajes de estas serpientes venenosas (ver Capítulos 2 y 3). Antioquia, Arauca y Meta son los departamentos que agrupan la mayoría de los registros geográficos conocidos de vipéridos, mientras que para las especies de elápidos, Santander, Cundinamarca y Valle del Cauca son los departamentos que albergan la mayoría de los registros geográficos conocidos (Figura 3C).

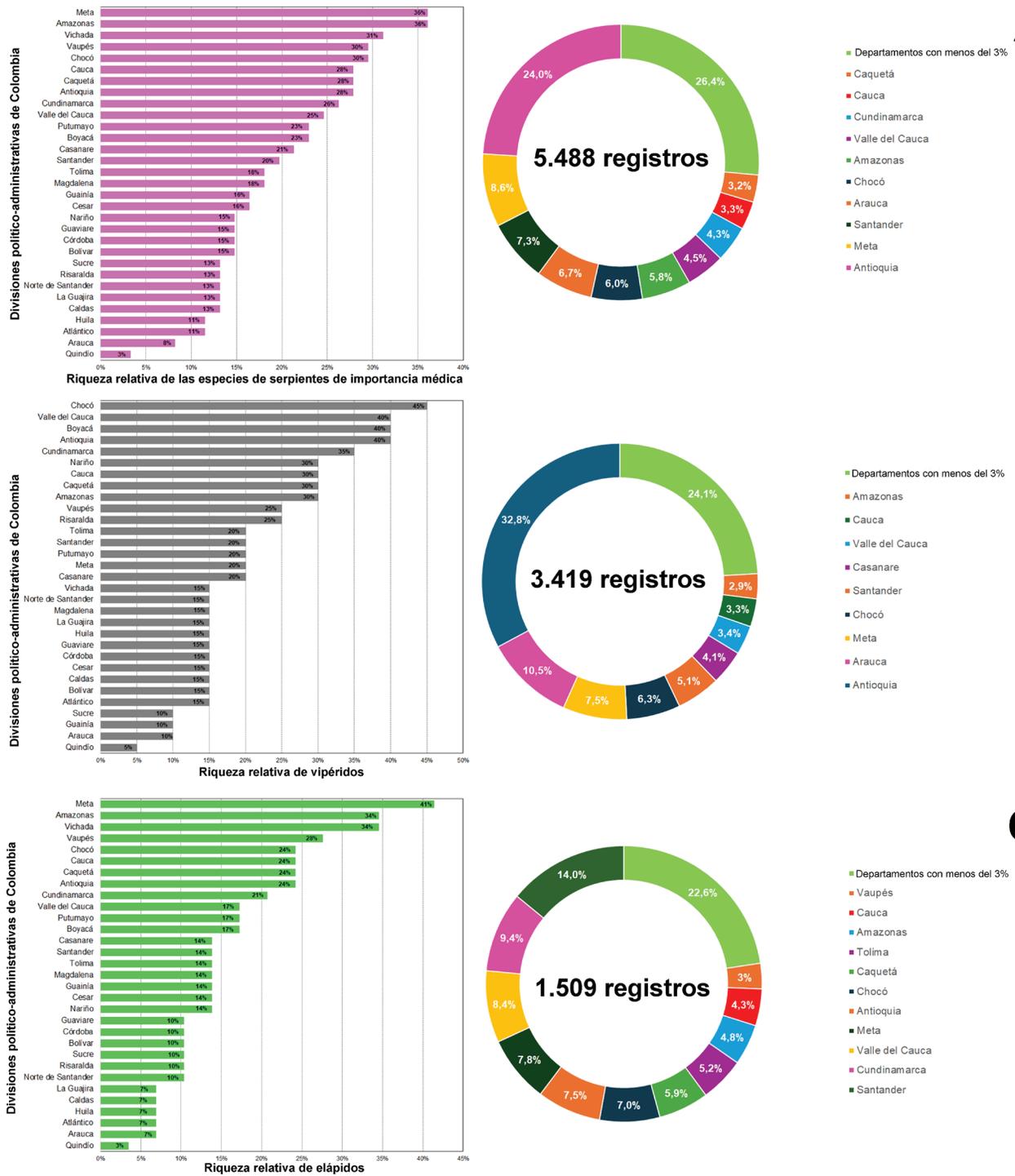


Figura 3. Riqueza y registros de especies de serpientes de importancia médica en Colombia.

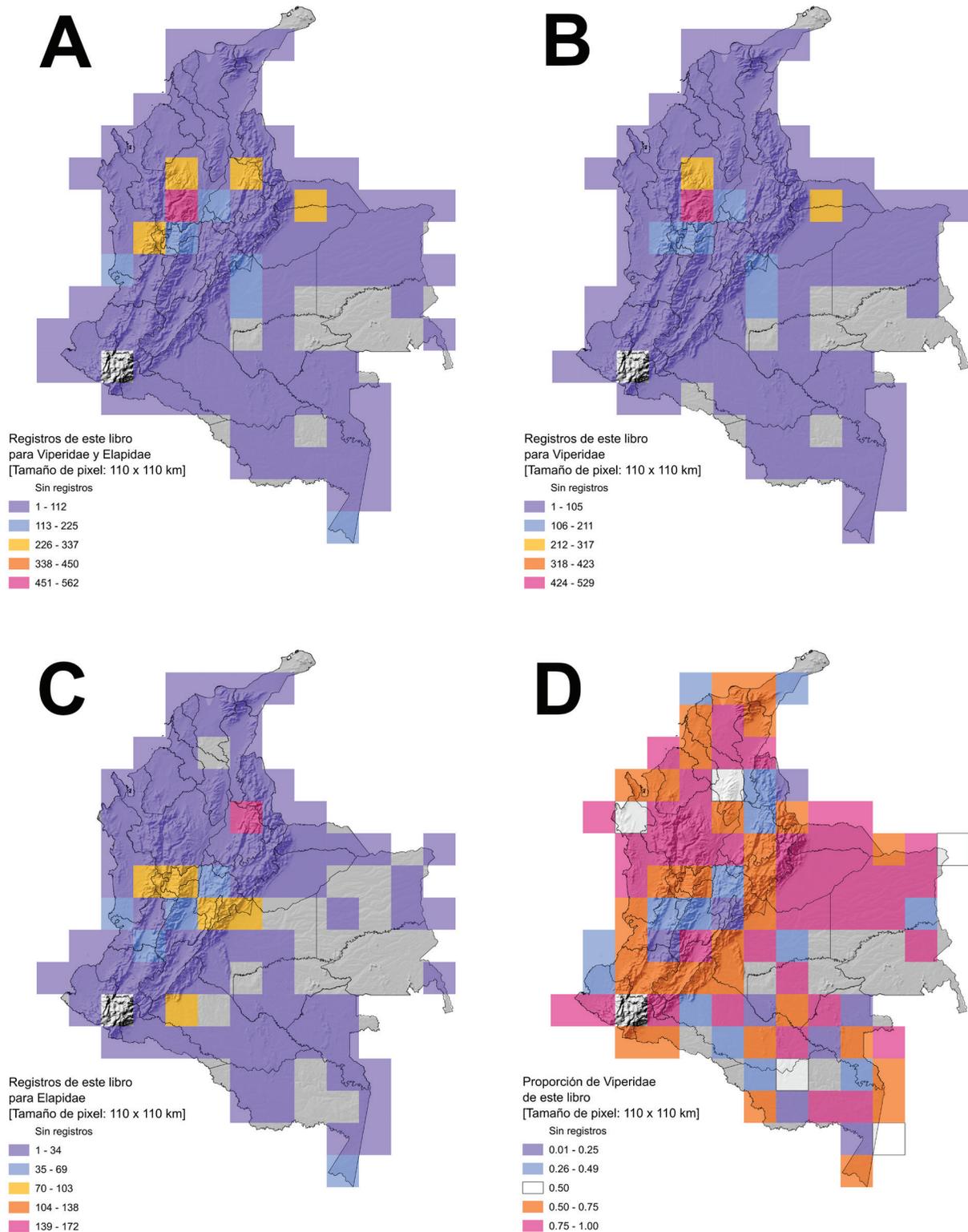
Dado que las divisiones político-administrativas no restringen la distribución biológica de las especies, ni tampoco son un enfoque adecuado para estimar la representatividad geográfica de las especies de serpientes de importancia médica, dividimos el país en cuadrículas/píxeles de 1,0 grados geográficos (110 x 110 km; sistema WGS84) para analizar la distribución. Este enfoque permite realizar comparaciones con estudios previos, como el de Lynch et al. [1], así como con futuras investigaciones (Figura 4).

Independientemente del grupo taxonómico (vipéridos o elápidos), la mayoría de los registros disponibles provienen de la región transandina de Colombia, resaltando la notable disparidad histórica en el esfuerzo de muestreo para comprender y documentar las especies de serpientes de importancia médica en el país (Figura 4A-C). Además, esta disparidad se exagera cuando se comparan entre la proporción de registros de vipéridos y elápidos, lo que demuestra que los elápidos han sido históricamente submuestreados (Figura 4D).

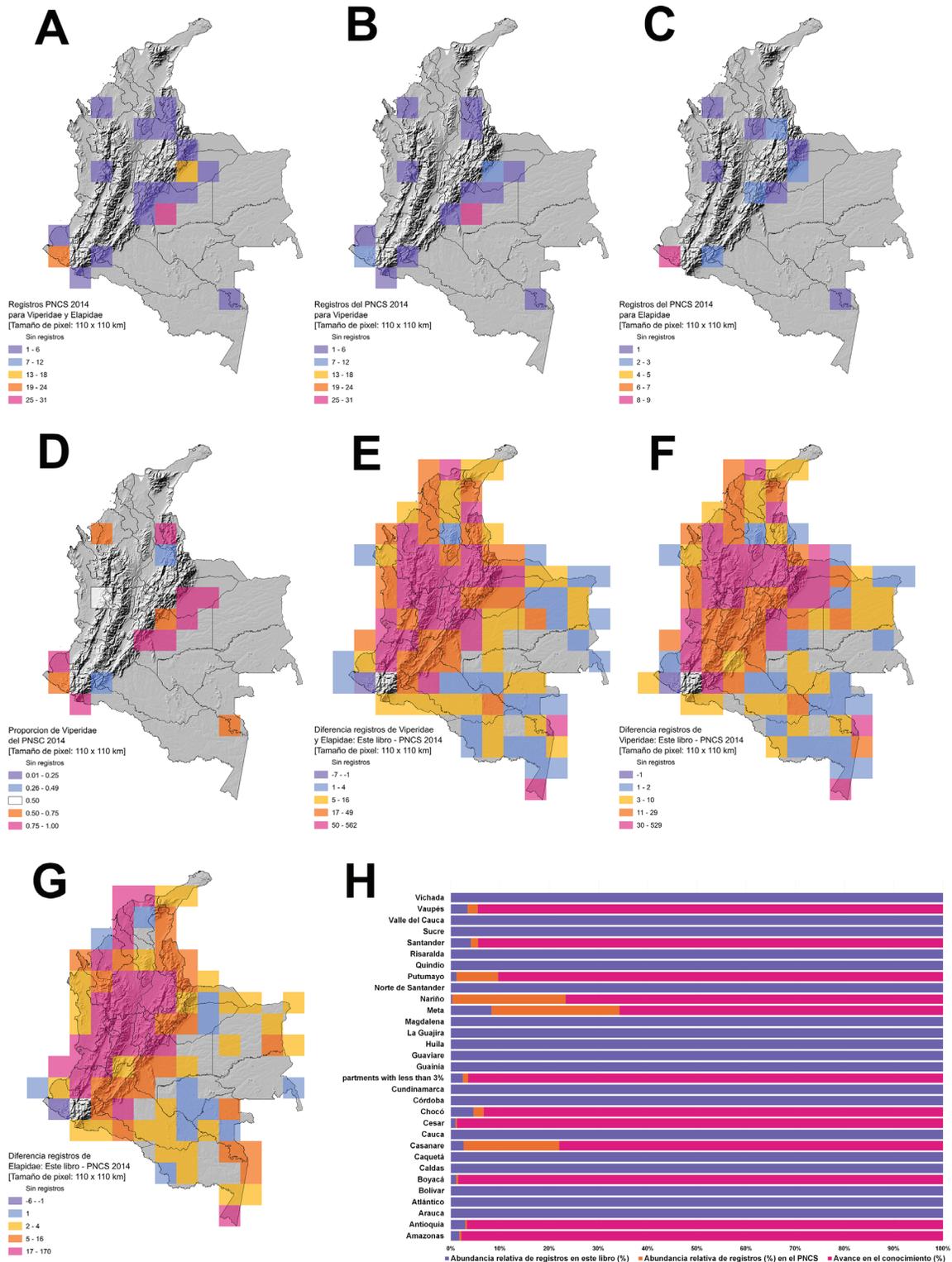
El mayor número de registros históricos de serpientes venenosas de las familias Viperidae y Elapidae se concentra en el departamento de Antioquia. Este departamento también muestra el promedio anual más alto de reportes de mordeduras de serpientes para el período 2010-2020 (ver Capítulo 9), lo que indica que es el único departamento que cuenta con la información más robusta sobre dos de las variables más importantes para entender el ofidismo como un evento epidemiológico [65]. En contraste, el resto del territorio nacional exhibe un notable submuestreo, con menos de 112 registros de serpientes de importancia médica por píxel (110 km x 110 km; ver Figura 4A). Esto representa un problema crítico para comprender la diversidad total de serpientes de importancia médica involucradas en el conflicto entre humanos y serpientes, así como su incidencia en eventos de mordeduras de serpientes.

Este vacío de conocimiento profundiza las limitaciones para comprender las causas de los encuentros negativos entre humanos y serpientes, así como para identificar las especies involucradas y formular e implementar estrategias para prevenir el envenenamiento y conservar las serpientes del país. Por esta razón, recomendamos intensificar el muestreo de serpientes de importancia médica en el corto y mediano plazo, enfocándose en regiones como el sur de los Andes colombianos, las regiones del Pacífico, Caribe (especialmente en la Alta Guajira), Orinoquia y Amazonia. Sin embargo, diez años después de la primera evaluación de Lynch et al. [1] quienes estimaron la representatividad geográfica de las especies de serpientes de importancia médica en el país (Figura 5A-C), los investigadores e instituciones que abogan por la investigación y conservación de serpientes mostraron avances significativos en el conocimiento de las distribuciones de las especies venenosas colombianas (Figura 5E-G). En promedio, se han incrementado 91 nuevos registros geográficos por departamento, proporcionando los primeros registros oficiales para 19 de los 32 departamentos de Colombia, logrando una cobertura significativa del 87% del territorio nacional con al menos un registro de distribución (Figura 5D-H). Para obtener información más precisa y complementaria, consulte: <https://ofidismo.ins.gov.co>.





**Figura 4.** Esfuerzo de muestreo por píxel de 1,0 grado geográfico (110 x 110 km; WGS84) en Colombia durante el periodo 2010-2024. (A) Representatividad de las especies de vipéridos y elápidos. (B) Representatividad de las vipéridos. (C) Representatividad de los elápidos. (D) Proporción de vipéridos/vipéridos+elápidos por píxel.



**Figura 5.** Comparaciones entre los registros reportados en este libro y los de Lynch et al.[1]. (A-C) Esfuerzo de muestreo por pixel de 1,0 grado geográfico (110 x 110 km; WGS84) reportado por Lynch et al. [1] para especies de serpientes venenosas, vipéridos y elápidos, respectivamente. (D) Proporción de vipéridos/vipéridos+elápidos por pixel según Lynch et al. [1]. (E-G) Avance en el conocimiento por pixel para especies de serpientes venenosas, vipéridos y elápidos, respectivamente. (H) Comparaciones por unidad política entre los registros reportados en este libro y los de Lynch et al. [1], mostrando el avance en el conocimiento de la distribución geográfica de las serpientes venenosas de Colombia.

## 2.3 Especies venenosas fuera de la lista

### **Especies dudosas y problemáticas**

*Bothriechis schlegelii*.— Arteaga et al. [16] recientemente publicaron la revisión de complejo de especies *B. schlegelii* (p. ej., *B. schlegelii* and *B. supraciliaris*), dividiéndolo en 10 especies, de las cuales cinco especies fueron descritas como nuevas para la ciencia. A pesar de nuestro reconocimiento de que *B. schlegelii* es un complejo de especies, en este trabajo nos abstenemos de utilizar su taxonomía debido a múltiples inconsistencias en la delimitación y el diagnóstico de las especies. Uno de los problemas más significativos en la propuesta de estos autores, es que ninguno de los linajes que ellos reconocieron como especies tiene un fuerte respaldo estadístico en su árbol filogenético (valores de probabilidad posterior: nodo colombiano <75%-94%; intranodo colombiano <50% pp). Además, las distancias genéticas entre algunos de los linajes estrechamente relacionados propuestos como nuevas especies tienen distancias genéticas por debajo del límite del 4%, umbral que estos mismos autores propusieron como criterio de delimitación de especies.

En su publicación, los límites morfológicos entre linajes estrechamente relacionados, así como sus distribuciones no son claros, los caracteres morfológicos son ambiguos, siendo débiles para distinguir entre las nuevas especies y *B. schlegelii sensu stricto* (ver Tabla 2 en Arteaga et al. [16] incluyendo caracteres diagnósticos como los siguientes: interoculolabiales, condición de la escama cantal, condición de la escama gular, loreal en contacto con preocular). Aunque Arteaga et al. [16] (ver material suplementario 1 en Arteaga et al. [16]) examinaron 45 caracteres con base en 400 especímenes, casi el 40% de su matriz morfológica corresponde a datos faltantes (es decir que, su tamaño de muestra real es ~160 especímenes, por lo tanto, una porción considerable de estos caracteres no se examinó para todos los especímenes). Los caracteres morfométricos y merísticos fueron pobremente descritos, ya que solo se presentaron rangos, sin especificar las medidas de tendencia central y la presencia de valores atípicos. Asimismo, la mayoría de estos caracteres requieren un análisis morfométrico para determinar adecuadamente el tamaño y las proporciones relativas entre las escamas de la cabeza y su capacidad diagnóstica. Además, el uso de caracteres diagnósticos que dependen del tamaño de la muestra (p. ej., loreal en contacto con preocular) provoca sesgos significativos en la delimitación de las especies, así como dudas sobre sus distribuciones geográficas (p. ej., entre *B. khwargi* y *B. klebbai*).

El patrón de color no es adecuado como carácter diagnóstico en el complejo de especies *B. schlegelii*, ya que es ampliamente conocido que tiene varios sesgos y limitaciones, como los cambios ontogenéticos [26], y la variabilidad intrapoblacional policromática [25,26,39]. De hecho, Arteaga et al. [16] son conscientes de ello porque en la mayoría de sus figuras y descripciones de las poblaciones colombianas de *B. schlegelii* mostraron claramente su variabilidad ontogenética y policromática. A pesar de ello, insistieron en el uso de estos patrones de color como caracteres diagnósticos, aun cuando su capacidad diagnóstica es baja o nula.

Para Colombia, Arteaga et al. [16] reconocen seis especies: *B. khwargi*, *B. klebbai*, *B. rahimi*, *B. rasikusumorum*, *B. schlegelii* and *B. torvus*. Recientemente, Reyes-Velasco [149] criticó estos cambios taxonómicos realizados por Arteaga et al. [16], indicando que la evidencia genética y morfológica no respaldan la distinción entre estas especies. Reyes-Velasco argumenta que la división excesiva de especies realizada por Arteaga et al. con base en variación genética dentro del complejo de especies *B. schlegelii* conllevó a una inflación taxonómica, ya que esta variación refleja diferencias clinales en lugar de límites entre especies.

Reyes-Velasco [149] concluye que las nuevas especies propuestas por Arteaga et al. [16] dentro del complejo *B. schlegelii* pueden representar variantes geográficas o subespecies en lugar de especies distintas. Como se ha mostrado anteriormente, la evaluación de Reyes-Velasco apoya nuestras conclusiones y respalda la decisión de reconocer solo tres especies válidas dentro del complejo *B. schlegelii*: *B. nigroads-persus*, *B. schlegelii* y *B. supraciliaris*. Los taxones restantes propuestos por Arteaga et al. [16], como *B. khwargi*, *B. klebbai*, *B. rahimi*, *B. rasikusumorum* y *B. torvus*, no resistieron un análisis más riguroso, por lo cual deben ser sinonimizados con *B. schlegelii*. Este resultado tiene importantes implicaciones para los esfuerzos de conservación en Colombia y subraya la necesidad de tener cautela al realizar cambios taxonómicos basados únicamente en el ADN mitocondrial. Además, generar cambios taxonómicos inestables en una especie de importancia médica como *B. schlegelii*, debido a su importante incidencia en los accidentes ofídicos en Colombia (ver Capítulos 5 y 9), pueden ocasionar serias confusiones en la literatura que emplea la nomenclatura taxonómica como sustento para el desarrollo de sus paradigmas (p. ej., médicas y bioquímicas).

Por lo tanto, recomendamos que las futuras publicaciones que traten sobre el complejo *B. schlegelii* se refieran a él como sugerimos (*B. schlegelii*), y que describan con rigor el origen geográfico de los especímenes reportados (p. ej., ubicación exacta, coordenadas). De esta manera, cuando los linajes dentro de este complejo de especies estén debidamente delimitados, los datos ya publicados podrían vincularse con los linajes o especies correspondientes.

*Bothrops ayerbei* y *B. rombeatus*.— Folleco-Fernández [76] intentó dar claridad taxonómica al complejo de especies *Bothrops asper* de las laderas occidentales de la Cordillera Occidental de Colombia, proponiendo a *Bothrops ayerbei* y *B. rombeatus* como nuevos miembros de este complejo. Sin embargo, las descripciones carecieron del rigor necesario para aclarar los límites entre estas especies propuestas, así como entre los especímenes de la localidad tipo (Obispo, Darién, Panamá). Las descripciones de los rasgos morfológicos de los especímenes fueron vagas, el análisis morfológico se realizó de manera incorrecta y no se realizó ningún análisis filogenético. Por lo tanto, la delimitación para cualquiera de las especies es difícil de sostener, y las decisiones taxonómicas tomadas por este autor carecen de un soporte robusto.

Además, no hubo designación de un espécimen tipo ni una descripción formal del nuevo taxón por García-Piedrahita [17]. Como le señala Ramírez y Solari [77], *B. rhombeatus* constituye un *nomen dubium* debido a la falta de material tipo, también por su problemática historia que dificulta su correcta asignación taxonómica debido a la falta de datos cruciales sobre su distribución geográficas, lo que a su vez impide comprender si existe un posible hibridación entre *Bothrops ayerbeii* y *B. rombeatus*. Adicionalmente, de acuerdo con Ramírez y Solari [77] *Bothrops ayerbeii* constituye un nombre no disponible siguiendo las reglas del actual Código Internacional de Nomenclatura Zoológica, ya que el código no acepta la publicación de nuevos taxones en revistas electrónicas antes de 2011.

Folleco-Fernández [76] no expuso de forma robusta y adecuada los caracteres diagnósticos que permiten distinguir sin lugar a dudas entre estos taxones como especies válidas. A pesar de esto, algunos investigadores tomando estas especies como válidas, han utilizado marcadores moleculares de poblaciones asignadas como *B. ayerbeii* y *B. rhombeatus* para estudiar la variación en la composición de sus venenos, así como para retar la capacidad neutralizante de los antiofídicos disponibles en el país; todo esto, sin antes realizar una delimitación taxonómica adecuada o una revisión de los especímenes considerado en sus estudios [36,78,79]. Por otro lado, las secuencias de estos marcadores moleculares no están disponibles en las bases de datos genéticos de libre consulta (p. ej., GenBank, EMBL). De hecho, la única investigación que ha analizado las relaciones entre las tres especies colombianas del complejo *B. asper* encontró una relación parafilética entre estas poblaciones [80]. Por lo tanto, sugerimos que, en investigaciones futuras, se incluya una metodología de muestreo más amplia y exhaustiva, considerando un mayor número de individuos de diversos hábitats y empleando un enfoque taxonómico integrador que conjugue más una línea de evidencia que permitan una clara delimitación de estas especies.

Complejo de especies *Micrurus hemprichii*.— Históricamente, *Micrurus hemprichii*, al igual que muchas de las corales suramericanas, ha sufrido varios cambios nomenclaturales desde su descripción original. Bernarde et al. [81] proporcionan un resumen histórico completo de los actos nomenclaturales relacionados con *M. hemprichii*. Peters y Orejas-Miranda [15] indican que existen dos subespecies válidas, *M. h. hemprichii* and *M. h. ortonii* Schmidt [82], ambas distribuidas en Colombia. *Micrurus h. hemprichii* se extiende desde las sabanas colombo-venezolanas de la región de la Orinoquia hasta las selvas tropicales de Guayana, mientras que *M. h. ortonii* se distribuye a través de las laderas amazónicas de Colombia, Ecuador, Perú y Pará en Brasil. Feitosa et al. [83] en una presentación de conferencia que no fue revisada por pares, propuso elevar ambas de subespecies a especies. Valencia et al. [84] siguieron esta propuesta y, basándose en la afinidad morfológica, afirman que las poblaciones ecuatorianas pueden asignarse a la definición de *M. ortonii*, no obstante, no realizaron una evaluación taxonómica sobre la cual sustenten su decisión.

Actualmente, no se cuenta con una evaluación taxonómica completa que distinga claramente las subespecies de *Micrurus hemprichii* o las po-

blaciones a lo largo de toda su distribución geográfica conocida. Además, las propuestas anteriores no han incluido poblaciones colombianas, a pesar de que el espécimen tipo de *M. h. hemprichii* proviene de una localidad desconocida de la región de la Orinoquia; tampoco se han incluido especímenes de la localidad tipo de *M. h. ortonii* de la vertiente oriental de los Andes en Pebas, Loreto, Perú. Por lo tanto, recomendamos que en futuras publicaciones que aborden el complejo *Micrurus hemprichii* se refieran a él como sugerimos (*Micrurus hemprichii*), a la espera de un estudio riguroso que ayude a dilucidar este complejo de especies.

No obstante, Ayerbe-González et al. [85], sin realizar una adecuada delimitación taxonómica o revisión de los especímenes involucrados, reportaron el primer caso de envenenamiento por mordedura *M. ortonii* (= *Micrurus hemprichii*) en Colombia. Los casos se presentaron en dos localidades de la región cisandina del país. El primer caso ocurrió en la vertiente oriental de la Cordillera Oriental en el área urbana del municipio de Pajarito, Boyacá. El segundo caso se presentó en el área urbana del municipio de Cartagena del Chairá, Caquetá, en una vereda ubicada en la llanura inundable del río Caguán. Ambos pacientes fueron mujeres con mordidas en los pies, presentando síntomas como dolor intenso en la extremidad afectada, que irradió a la zona lumbar en el primer caso. En el segundo caso, el dolor se irradió a la rodilla durante la primera hora del envenenamiento, llegando a la zona lumbar después de tres horas. Después de 24 horas de ocurrido el envenenamiento, el paciente del primer caso presentaba claros síntomas de envenenamiento neurotóxicos: leve facies de Rosenfeld, ptosis palpebral (caída del párpado superior), bradilalia (lentitud en el habla) y dolor intenso persistente con hiperalgesia (sensibilidad aumentada al dolor) e hiperestesia (sensibilidad aumentada a los estímulos sensoriales). En cambio, en el segundo caso, la paciente no presentó síntomas neurotóxicos y fue dada de alta tras unas horas de observación, recetándosele paracetamol y cefalexina.

Complejo de especies *Leptodeira annulata*.— Las especies del género *Leptodeira* presentan amplia distribución en América. Este género está compuesto por 16 especies nominales que habitan principalmente en los bosques secos de tierras bajas, bosques premontanos y bosques de galería en la mayoría de los hábitats naturales y perturbados de las tierras bajas tropicales, distribuidos desde el sur de América del Norte hasta el norte de Argentina [29,86–88]. La gran similitud en el patrón de color y los comportamientos antipredatorios (p. ej., postura corporal en forma de S, cabeza expandida posterolateralmente simulando una forma triangular) de las especies de *Leptodeira* hace que estas serpientes sean comúnmente confundidas con especies del género *Bothrops* en las regiones tropicales. Todas las especies son nocturnas, con hábitos semiarbóreos, frecuentemente observadas cerca de arroyos de movimiento lento o agua estancada. Estas serpientes tienen hábitos alimentarios generalistas, consumen principalmente ranas y lagartijas pequeñas, con frecuencia huevos y renacuajos de anuros, serpientes, y ocasionalmente, consumen pájaros pequeños y peces [89–92].

A lo largo de toda la distribución de las especies de *Leptodeira*, históricamente el estatus taxonómico de sus poblaciones ha sido controversial, y las poblaciones colombianas no son la excepción. Según Duellman [86] en Colombia existen dos especies representantes del género *Leptodeira*: *Leptodeira annulata* con tres subespecies *L. a. annulata*, *L. a. ashmeadi*, *L. a. ashmeadi+rhombifera*; y *L. septentrionalis* con única subespecie *L. s. ornata*. Los caracteres diagnósticos que permiten la identificación de estas dos especies de *Leptodeira* se encuentran en su morfología hemipenial, y las diferencias entre subespecies se basan en el patrón de color y algunos conteos de escamas (p. ej., reducciones de escamas dorsales). Duellman [86] indica que estas especies exhiben distribuciones alopátricas en las que las poblaciones de *Leptodeira annulata* habitan las tierras bajas de los ecosistemas cisandinos, mientras que *L. septentrionalis* se encuentra en las tierras bajas de los ecosistemas transandinos en Colombia.

Daza et al. [93] puso a prueba la hipótesis propuesta por Duellman [83] usando evidencia molecular, encontrado parafilia entre *L. annulata* y *L. septentrionalis*, y evidenció que las distancia genéticas no funcionan como un criterio de delimitación entre estas especies. Sin embargo, estos autores no proporcionaron una evaluación integral de las poblaciones colombianas de *Leptodeira* porque enfocaron su muestreo solo en unas pocas localidades andinas (Antioquia, Caldas, Meta [piedemonte]). Posteriormente, Barrio-Amorós [94] proporcionó una reevaluación taxonómica integral, en la que realizó cambios nomenclaturales. Este autor afirmó que las poblaciones distribuidas en Colombia deben ser elevadas al nivel de especies, como *L. annulata*, *L. ornata*, y *L. ashmeadi*. Sin embargo, su propuesta careció de rigor y precisión; además, describió de forma desprolija cuáles fueron los métodos y conjuntos de datos utilizados. La propuesta de Barrio-Amorós [94] creó inestabilidad taxonómica debido a que las decisiones taxonómicas que realizó fueron infundadas y basadas en descripciones superficiales. Por lo tanto, la mayoría de sus conclusiones y decisiones deben revisarse cuidadosamente y usarse de manera conservadora.

Torres-Carvajal et al. [88] aportaron estabilidad taxonómica después de la propuesta de Barrio-Amorós [94], al realizar una revisión exhaustiva y bien sustentada de las poblaciones de serpientes *Leptodeira* del oeste de Ecuador a partir de evidencia molecular y morfológica. Además, incluyeron los datos moleculares de las poblaciones colombianas utilizadas previamente por Daza et al. [93], pero no realizaron evaluaciones morfológicas o hemipeniales de estas últimas. Estos autores presentaron un árbol de máxima verosimilitud que recuperó con fuerte apoyo estadístico el complejo *L. annulata/septentrionalis* reportado por Daza et al. [93], para las poblaciones colombianas.

Además, dentro de los nodos más profundos de su topología, recuperaron algunos linajes con soporte estadístico fuerte y moderado. Entre estos linajes, Torres-Carvajal et al. [88] tomaron las siguientes decisiones taxonómicas: (1) con base en evidencia molecular y morfológica describieron una nueva especie (*Leptodeira misinawui*) de una población previamente considerada como *Leptodeira s. larcorum* [86], ubicada entre alti-

tudes altas y moderadas (950–2.734 msnm) en los Andes suroccidentales ecuatorianos; (2) con base únicamente en evidencia molecular de poblaciones ecuatorianas, elevaron a *Leptodeira s. ornata* al nivel de especie (*Leptodeira ornata*) indicando que esta especie se distribuye desde oeste del Ecuador, a través del suroccidente de Colombia hasta el centro y este de Panamá, así como la vertiente montañosa del Darién; (3) con base únicamente en evidencia molecular de las mismas poblaciones previamente consideradas por Daza et al. [93] estos autores elevaron a *Leptodeira a. ashmeadii* al nivel de especie (*Leptodeira ashmeadii*).

Costa et al. [95] reevaluaron la sistemática de *Leptodeira* ampliando y mejorando el muestreo molecular y morfológico, proporcionando una nueva propuesta para el complejo polifilético de especies de *Leptodeira* para varias regiones de Suramérica. Estos autores propusieron cuatro especies distribuidas en Colombia: *Leptodeira annulata*, *L. approximans*, *L. ashmeadii* y *L. ornata*, coincidiendo parcialmente con los actos taxonómicos de Torres-Carvajal et al. [88] que reconocen a *Leptodeira larcorum* y *Leptodeira ornata* como especies, esta última distribuida desde el oeste de Ecuador, a través de la ecorregión del Pacífico colombiano hasta el este de Panamá.

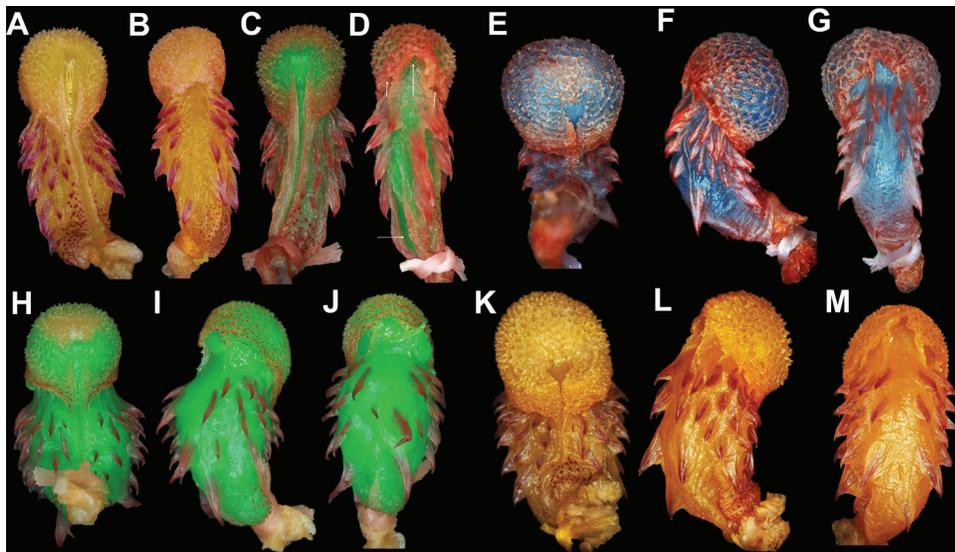
No obstante, Costa et al. [95] indican que de acuerdo a los resultados de su topología *L. ornata* está compuesta por tres linajes diferentes (*L. ornata* 1 distribuida en Colombia, sur de Panamá [la localidad tipo de *L. ornata* es el Istmo del Darién]; *L. ornata* 2 distribuida en Costa Rica y norte de Panamá; y *L. ornata* 3 distribuida en Ecuador y Perú).

Costa et al. [95] concluyen que las poblaciones descritas morfológicamente por Duellman [86] se distribuyen en la región del Darién en Panamá (incluida la localidad tipo de *L. ornata*) la región del Chocó, valles interandinos del Magdalena y Cauca en Colombia. Sin embargo, estos autores no contrastaron con evidencia molecular o morfológica entre las poblaciones de *L. ornata* de los valles interandinos de Colombia y la región del Chocó; por lo tanto, restringieron la distribución de *L. ornata* a la ecorregión del Pacífico de Colombia y el sur de Panamá. A pesar de esto, Costa et al. [95] en su redefinición de *L. ornata* (ver apéndice S2 en Costa et al. [95]) describen la distribución más antigua propuesta por Duellman [86] para *L. s. ornata* que abarca la mayor parte de la región transandina a pesar que varios caracteres diagnósticos empleados para distinguir entre *L. ornata* y *L. ashmeadii* se superponen fuertemente entre estas poblaciones (p. ej., patrón de color de la superficie dorsal de la cabeza, recuentos de escamas dorsales, número de escamas supralabiales). Por lo tanto, la distinción morfológica de estas dos poblaciones sigue siendo incierta y aguarda más estudios.

De manera similar, Costa et al. [95] propusieron un arreglo taxonómico para el grupo de especies *Leptodeira annulata ashmeadii/bakeri*, apoyando los resultados previos de Daza et al. [93]. La redefinición de Costa et al. [94] de *L. ashmeadii* ubica a esta especie tanto en la costa caribe colombo-venezolana como en la región cisandina de Colombia.

Sin embargo, la distinción morfológica dentro de la población colombiana sigue siendo incierta y requiere estudios adicionales. En particular, porque la morfología hemipenial de las especies del género *Leptodeira* propuesta por Costa et al. [95] tanto para las poblaciones trans como cisandina no presenta diferencias significativas entre sí (Figura 4; ver también el apéndice S2 en Costa et al. [95]). Además, varios caracteres diagnósticos empleados por estos autores para distinguir entre *L. ornata* y *L. ashmeadii* se superponen fuertemente.

Un estudio exhaustivo en curso de la morfología hemipenial del género *Leptodeira*, con especial interés en las poblaciones colombianas (Angarita-Sierra, datos no publicados), muestra que la arquitectura hemipenial de *Leptodeira ashmeadii* exhibe diferencias morfológicas conspicuas que no coinciden la propuesta de Costa et al. [95] (Figura 6 A-D versus H-I), mientras que otras poblaciones aparentemente sí encajan en lo descrito por estos autores (Figura 6 A-B versus C-D). De manera similar, la morfología hemipenial de las poblaciones colombianas transandinas (incluyendo el occidente de Colombia) no coincide con la arquitectura hemipenial de *L. septentrionalis* (*sensu stricto*) descrita por Duellman [86], y tampoco con la descrita para *Leptodeira ornata* por Torres-Carvajal et al. [88]. Además, la arquitectura hemipenial de las poblaciones colombianas transandinas de *Leptodeira ornata* propuesta por Costa et al. [95] mostró una marcada variabilidad entre linajes hermanos, así como dentro de las poblaciones de este linaje distribuidas en Colombia (Figura 6E-G versus K-M).



**Figura 6.** Morfología hemipenial de algunas poblaciones del complejo de especies *Leptodeira annulata* de las regiones cis y transandinas de Colombia. *Sensu* Costa et al. [95]. (A-B): *L. ashmeadii* (TAS 689) Finca El porvenir, Vereda La Colombina, Paz de Ariporo, Casanare. (C-D): *L. ashmeadii* (JDL 30721) Finca El Vogal, Vereda Las Flores de Jaime Botero, El Retén, Magdalena. (E-G): *L. ornata* (JDL 29306) Tumaco, Nariño. (H-J): *L. ashmeadii* (JDL 30754) hacienda La María, El Retén, Magdalena. (K-M): *L. ornata* (JDL 29872) Vereda Santa Paola, San Martín, Cesar.

A pesar de los enormes esfuerzos por desentrañar la taxonomía y las relaciones de filogenéticas del género *Leptodeira*, así como los significativos avances realizados por varios investigadores (incluyendo los linajes fuertemente sustentados que encontraron), aún persisten varios problemas taxonómicos por resolver, haciendo que la controversia en la delimitación y distribución de las especies del género *Leptodeira* persista. Particularmente, esta controversia continua a una escala geográfica fina, en

la cual los límites entre especies son difusos. Se requieren más estudios con un muestreo molecular más amplio, así como una revisión detallada de la morfología hemipenial dentro de las poblaciones colombianas. Por lo tanto, considerando las dificultades para determinar los límites en la distribución, así como la intrincada delimitación taxonómica entre las especies propuestas para Colombia, y el limitado conocimiento sobre la variación del veneno y la frecuencia de los accidentes ofídicos causadas por estas serpientes, para los propósitos de esta publicación, hemos decidido tratar a todos los miembros del género *Leptodeira* en Colombia bajo una sola entidad, *Leptodeira annulata*. Esperamos que la evidencia proporcionada en futuros estudios ayude a aclarar el estado de las poblaciones colombianas de este género.

Complejo de especies *Leptophis ahaetulla*.— El género neotropical *Leptophis* comprende un total de 19 especies de serpientes distribuidas desde América Central hasta el noreste de Uruguay y Argentina, de las cuales cuatro especies habitan en Colombia [29]. Las especies de este género son generalmente diurnas y arbóreas, comúnmente vistas en pequeños arbustos y árboles, caracterizándose por su apariencia colorida [96]. Se alimentan principalmente de ranas, lagartijas y aves jóvenes [97]. Cuando estas serpientes se ven amenazadas, muestran un comportamiento histriónico y agresivo abriendo la boca tanto como pueden, y siguiendo los movimientos del objeto que las amenaza [97].

Actualmente, entre las nueve especies de *Leptophis* reconocidas para Colombia, tres no presentan conflictos taxonómicos, están bien delimitadas y soportadas por evidencia morfológica y molecular que permite distinguirlas entre sí (*L. cupreus*, *L. depressirostris*, y *L. riveti*). Sin embargo, dentro del complejo de especies *Leptophis ahaetulla* se han detectado diferencias significativas en sus poblaciones a lo largo de su amplia distribución desde Centroamérica hasta el noreste de Uruguay. Actualmente el complejo de especies *Leptophis ahaetulla* incluye 11 especies, seis de las cuales fueron reconocidas formalmente en territorio colombiano (*L. ahaetulla sensu stricto*, *L. bocourti*, *L. coeruleodorsus*, *L. nigromarginatus*, *L. occidentalis*, y *L. uroscopicus*) [15,42, 101,102,150].

Recientemente, se han realizado dos grandes esfuerzos para comprender las relaciones filogenéticas y ordenar la taxonomía del complejo de especies *L. ahaetulla*. El primero, es el estudio filogenético de Torres-Carvajal y Terán [101] en cual incluyeron seis de las 12 especies del complejo. Sin embargo, se debe considerar que las hipótesis de las relaciones dentro del grupo de especies de *L. ahaetulla* propuesta por Torres-Carvajal y Terán [101] se evaluaron con un muestreo taxonómico y geográfico limitado (este estudio no incorporó ningún espécimen colombiano) y tienen muchos nodos poco sustentados dentro de su topología (incluido el nodo que abarca todo el grupo de especies). Por lo tanto, es muy probable que en análisis futuros las relaciones entre especies cambien cuando se amplíe el muestreo incorporando más especies o regiones genómicas. Aun así, este estudio arrojó resultados interesantes como la polifilia de al menos tres especies (*L. ahaetulla*, *L. nigromarginatus* and *L. occidentalis*),

sugiriendo que es necesario invertir mayores esfuerzos para esclarecer las relaciones filogenéticas y el estatus taxonómico del grupo.

La segunda iniciativa importante para consolidar la taxonomía actual del complejo de especies *L. ahaetulla* fue la revisión realizada por Albuquerque y Fernandes [150], quienes exploraron la morfología externa y hemipenial. Esta investigación establece seis especies como integrantes del complejo *L. ahaetulla* en Colombia. Esta investigación analizó 71 especímenes colombianos de cuatro especies (*L. ahaetulla*, *L. nigromarginatus*, *L. occidentalis*, y *L. urostictus*). Así mismo, el reconocimiento de *L. bocourti* en territorio colombiano se basó en la sinonimización de la subespecie *Leptophis occidentalis insularis* presente en la isla Gorgona (departamento del Cauca) con *L. bocourti* descrita por Oliver [150]. No obstante, debe resaltarse que los especímenes tipo de *L. o insularis* no fueron examinados por Albuquerque y Fernandes [150]. El reconocimiento de *L. coeruleodorsus* se realiza con base en un espécimen recolectado por William W. Lamar e ilustrado en Campbell y Lamar [26] obtenido en Villavicencio, Meta [150].

Aunque la revisión de Albuquerque y Fernandes [150] fue crucial para establecer la nomenclatura actual del complejo de especies *L. ahaetulla*, aún quedan muchos problemas por resolver, entre ellos, la adecuada descripción de los límites de la distribución entre las especies a escala nacional. Otros ejemplos son la incertidumbre en torno al patrón de distribución de *L. occidentalis*, el cual presenta un vacío entre el bosque seco tropical de Guayaquil (Ecuador) y la región norte del Pacífico colombiano; y la ausencia de indicios sobre la existencia de poblaciones continentales de *L. bocourti*. Considerando estos problemas biogeográficos, así como los intereses epidemiológicos de este libro, preferimos tratar a todas las especies del complejo como *L. ahaetulla*.

*Oxybelis aeneus* y *O. fulgidus*.— El género *Oxybelis* está compuesto por diez especies opistoglifas (colmillos en la parte posterior de la maxila) originarias de las regiones subtropicales y tropicales de América, a menudo asociadas con comportamientos defensivos y agresivos. Actualmente en Colombia se reconocen tres especies [29]. En este trabajo, nos centramos únicamente en los grupos de especies *Oxybelis aeneus* y *O. fulgidus* que se consideran importantes desde el punto de vista médico porque tienen reportes de accidentes ofídicos (en socioecosistemas brasileños) o tienen el potencial de causar envenenamientos debido a su comportamiento.

*Oxybelis aeneus* es una serpiente estrictamente diurna con hábitos arbóreos y una estrategia de alimentación de emboscada. Se alimenta principalmente de lagartijas (del género *Anolis* sp.) y ocasionalmente de ranas. Sin embargo, también se han reportado aves, pequeños mamíferos, insectos y peces como parte de su dieta [104,105]. De manera similar, *Oxybelis fulgidus* es estrictamente diurna y pasa la mayor parte del tiempo en árboles o arbustos [106]. Esta especie está asociada a bosques y vegetación secundaria, a veces, se la puede encontrar alimentándose en el suelo [105]. Su dieta parece ser más variada en comparación con *O. aeneus*, compuesta principalmente de lagartijas y aves en proporciones similares [107–111].

Históricamente, *Oxybelis aeneus* ha sido considerada como una única especie en su amplio rango de distribución, extendiéndose desde el sur de Arizona (EE.UU) pasando por Centro y Suramérica hasta el sureste de Brasil. Sin embargo, estudios recientes han aclarado la compleja taxonomía de esta serpiente conocida comúnmente como bejuquilla [112,113]. Según el análisis filogenético molecular realizado por Jadin et al. [113,114] dentro del complejo *O. aeneus*, existen cuatro linajes claramente diferenciados en Norte y Centroamérica. Además, las poblaciones de *O. aeneus* del norte de Suramérica podrían representar más de un linaje, así como varias especies no descritas. Por ejemplo, *Oxybelis vittatus* ha sido resucitada recientemente, y se espera que su distribución sea confirmada para la región Pacífica colombiana [29,113]. Sin embargo, las poblaciones colombianas no han sido incluidas en los análisis moleculares y carecen de estudios morfológicos exhaustivos. Por lo tanto, estas poblaciones no han podido ser asignadas con claridad en alguno de los taxones recientemente descritos o resucitados. Debido a la falta de nueva evidencia que pueda ayudar a comprender el complejo de especies de *O. aeneus* que habita en Colombia, consideramos todas las poblaciones colombianas bajo el nombre de *Oxybelis aeneus*.

Las poblaciones colombianas de *Oxybelis fulgidus* presentan problemas taxonómicos similares a los del complejo de especies *O. aeneus* [112], y carecen de nuevas líneas de evidencia que nos permitan realizar análisis de delimitación de especies para develar su carácter críptico. Por lo tanto, consideramos todas las poblaciones colombianas bajo el nombre *Oxybelis fulgidus*.

### **Localidades incorrectas o problemáticas, y determinaciones taxonómicas dudosas**

Debido a la compleja topografía colombiana, así como a la carencia de conocimiento preciso sobre las distribuciones geográficas a escala fina de las serpientes venenosas del país, históricamente se han reportado numerosos registros de distribución con una alta incertidumbre. Con el tiempo, estos registros se han considerado como distribuciones «válidas» o probables, sin que ningún investigador haya suministrado evidencia que sustente su validez. De manera similar, los límites geográficos entre ecoregiones, en las que puede haber o no zonas de hibridación entre especies ampliamente distribuidas (p. ej., *Bothrops asper* y *B. atrox*) representan zonas con registros de distribución dudosos y desconcertantes, ya en que en su mayoría los registros son el resultado de determinaciones taxonómicas dudosas.

Anteriormente, Campbell y Lamar [26] señalaron algunas de estas áreas en Colombia, indicando que debían realizarse más estudios para dilucidar la distribución adecuada de las especies venenosas que allí habitan. Nuestra revisión detectó nuevas localidades problemáticas y con determinaciones dudosas para varias especies venenosas del país (ver <https://ofidismo.ins.gov.co>). Asimismo, confirmamos que la mayoría de las áreas señaladas por Campbell y Lamar [26] con registros controversiales, continúan a la espera de una revisión apropiada. Desde las observaciones



de Campbell y Lamar [26] pocos estudios han abordado estas incertidumbres [35]. En consecuencia, sugerimos que, debido a la falta de una revisión adecuada de estos registros, se los debe utilizar con cuidado en futuros estudios que busquen modelar la distribución de especies, sus nichos ecológicos, o establecer los rasgos ecológicos para luego ser empleados como caracteres diagnósticos en la delimitación de especies, o en modelos que estimen el riesgo de ocurrencia de un accidente ofídico. A continuación, proporcionamos una breve descripción de las principales localidades problemáticas o equivocadas de varias especies venenosas en Colombia.

Complejo de especies *Bothrops asper-atrox*.— Campbell y Lamar [26] indican que la confusión en torno a las distribuciones de *Bothrops asper* y *B. atrox* surgió desde que Garman en 1883 [115] reconoció a *B. asper* y *B. atrox* como especies, confundiendo estas especies entre sí, así como con otros congéneres. En Colombia, el área de controversia abarca las estribaciones y tierras altas de las vertientes central y norte oriental de la Cordillera Oriental en los municipios de Choachí, Fómeque, Ubalá, Quetame, Guayabetal, San Antonio del Tequendama, Tena (Cundinamarca), Paya, Pajarito, San Luis de Garagoa (Boyacá), Catatumbo, Pamplona, Sardinata y Toledo (Norte de Santander). De igual forma, existen varias localidades problemáticas con relación a sus rangos altitudinales. Tanto *B. asper* como *B. atrox*, se distribuyen principalmente en las tierras bajas dentro de sus rangos distribución conocidos (<1.000 m sobre el nivel del mar [en adelante msnm]).

Sin embargo, tanto *B. asper* como *B. atrox* tienen registros que exceden su rango altitudinal máximo conocido (Tabla 1). Se pueden encontrar registros problemáticos de *Bothrops asper* sobre los 2.200 msnm en municipios como Santa Rosa de Osos, San Roque, Yarumal (Antioquia), San Lorenzo (Magdalena) y Calima (Valle del Cauca). Se han reportado registros altitudinales dudosos de *Bothrops atrox* en Quetame (Cundinamarca) y Pamplona (Norte de Santander). Estos registros podrían ser el resultado de una identificación errónea, debido a la confusión con especies similares (p. ej., especies de *Bothrocophias*), o ser especies no descritas. Recientemente, algunos estudios han proporcionado evidencia que indican que poblaciones colombianas tanto *B. asper* como *B. atrox* son polifiléticas y ocultan linajes de especies no descritas (ver Capítulo 3). No obstante, deben realizarse esfuerzos adicionales para desenredar estos problemas taxonómicos y así poder establecer los límites de sus distribuciones con precisión.

*Bothrocophias colombianus*.— Las enigmáticas víboras de foseta del género *Bothrocophias*, conocidas comúnmente como cabeza de sapo u hoja podrida, son unos de los vipéridos suramericanos de importancia médica menos conocidos. Estas serpientes habitan ecosistemas aislados y de difícil acceso en Suramérica y están poco representadas en las colecciones biológicas [116]. En particular, la distribución geográfica conocida de *B. colombianus* está restringida a la selva tropical hiperhúmeda del Chocó en los departamentos de Chocó, Cauca y Risaralda. Sin embargo,

existe una localidad problemática en Yarumal, departamento de Antioquia. Es probable que se trate de un caso de identificación errónea de la especie, ya que este registro está demasiado lejos de la distribución geográfica históricamente conocida. El espécimen que sustenta este registro no fue revisado; se encuentra en la colección de reptiles del Museo de La Salle (Bogotá) bajo el número de catálogo MLS 1832. El registro geográfico se recuperó del «Sistema de Información Biológica Colombiano» (SiB Colombia).

*Crotalus durissus*.— La serpiente de cascabel suramericana, a lo largo de su rango de distribución geográfica conocido, ocupa principalmente tierras bajas <1.000 msnm (Tabla 1). No obstante, en algunas localidades como, San Lorenzo, ubicada sobre vertiente occidental de la Sierra Nevada de Santa Marta, departamento de Magdalena, existen registros confirmados que amplían de forma notable su distribución altitudinal, alcanzando los 1.700 msnm. Por otro lado, existen dos registros de tierras altas que están fuera del rango histórico de distribución conocido para esta especie. Uno en la vereda El Centro, Villa de Leyva, departamento de Boyacá (IAvH 4849); el segundo en Fusagasugá, departamento de Cundinamarca (1.729 msnm; colección CRODUR00021 INSZ). Sin embargo, ambos registros probablemente sean resultado de actividades humanas que causaron una translocación desde el área de distribución original a la localidad reportada.

*Hydrophis platurus*.— La serpiente marina de vientre amarillo es la única serpiente marina presente en Colombia, y probablemente en todo el hemisferio occidental. Hernández-Camacho et al. [117] afirman que hay poblaciones colombianas de *H. platurus* presentes en cuatro localidades de la costa Caribe [Ciénaga de la Virgen (Bolívar); entre Punta San Bernardo y el archipiélago de San Bernardo (Sucre); sureste de la isla Fuerte (Córdoba); y cerca de la desembocadura del Canal del Dique en la Bahía de Cartagena (Bolívar)]. Sin embargo, estos autores no proporcionaron números de colección de los especímenes, números de colectores o vouchers que respalden sus hallazgos, ni proporcionaron fotografías o ninguna evidencia documental de los nuevos registros. De hecho, no proporcionaron ninguna información sobre el origen de los registros o cómo los obtuvieron. En contraste, estos autores ofrecen un análisis especulativo de tres posibles hipótesis explicativas sobre la expansión de la distribución de *H. platurus* en el mar Caribe. No obstante, este análisis no está respaldado por evidencia que vincule directamente estas explicaciones con la expansión en la distribución de *H. platurus*.

Actualmente, la controversia sobre la expansión de la distribución de *H. platurus* en el mar Caribe continúa, ya que comunicaciones informales de pescadores y biólogos marinos indican que *H. platurus* podría estar presente en algunas localidades de la costa caribeña colombiana, pero aún no se ha proporcionado evidencia que sustente estos reportes. Por lo tanto, se debe realizar una revisión exhaustiva de los especímenes albergados en colecciones biológicas y muestreos de campo para determinar si la distribución de esta especie ha alcanzado el mar Caribe.

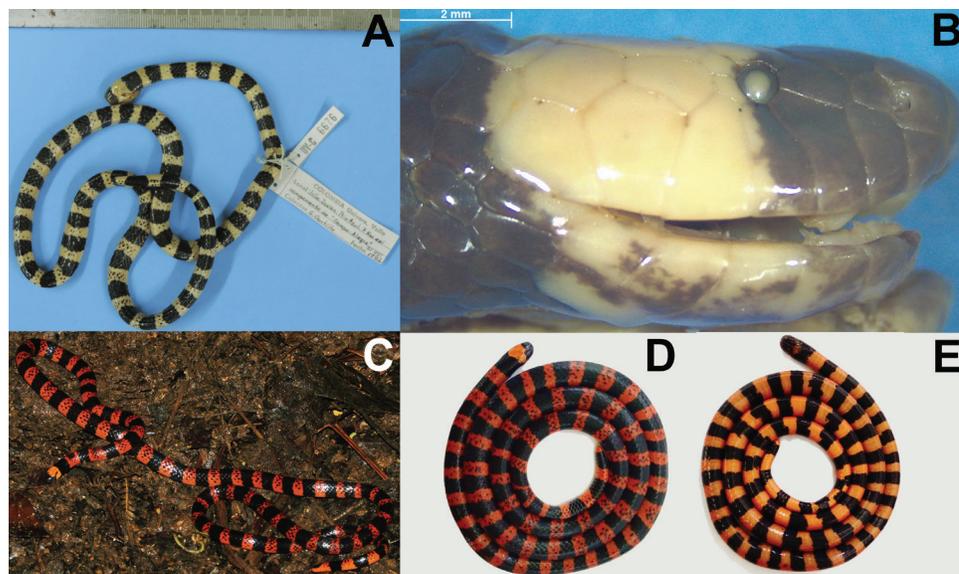
La ruta más probable de translocación es a través del agua de lastre de los barcos. El agua de lastre es una de las principales vías para la introducción de especies marinas no autóctonas [117,118]. Debido al continuo tráfico marítimo entre el mar Caribe y el océano Pacífico a través del Canal de Panamá, es posible que *H. platurus* haya ampliado su rango de distribución hacia algunas localidades de la costa caribeña colombiana utilizando el agua de lastre; siendo esta una posible explicación para los casos ofidismo reportados informalmente en esta región. No obstante, se requieren estudios rigurosos que aporten información confiable sobre el patrón epidemiológico de este evento de mordedura de serpiente, así como para probar la hipótesis del agua de lastre de los barcos como posible medio de translocación (ver Capítulo 9).

*Micrurus dumerilii*.— Esta serpiente coral está restringida a la región transandina de Colombia. Sin embargo, existen dos registros fuera de su rango de distribución histórico conocido. Uno es de la isla de San Andrés (Archipiélago de San Andrés, Providencia y Santa Catalina), ubicada a unos 230 kilómetros al este del continente de América Central y 750 kilómetros al norte del continente colombiano. El segundo es en El Encanto, departamento de Amazonas. Sin embargo, ambos registros probablemente son resultado de una determinación taxonómica dudosa, debido a la confusión con congéneres similares (p. ej., *Micrurus tikuna* para el registro amazónico).

*Micrurus isozonus*.— Esta especie está ampliamente distribuida en las tierras bajas cisandinas del norte de Sudamérica, en el Escudo Guayanés y cuenca del Orinoco, así como en la región más septentrional de la cuenca del río Amazonas [117]. Recientemente, se documentó un registro controvertido de *M. isozonus* en la región del Caribe colombiano. Tavares-Feitosa et al. [119] reportaron un espécimen albergado en el Museo de Historia Natural de París, el cual fue recolectado en Cartagena, Bolívar, tierras bajas del Caribe. Este inesperado registro se encuentra aproximadamente a 700 km en línea recta del registro más cercano, en el noroeste de Venezuela. Sin embargo, no hay más registros de esta especie en el Caribe colombiano, una de las regiones mejor inventariadas del país. Al revisar el catálogo en línea del museo, la información disponible indica que el espécimen es de procedencia desconocida. Considerando que no hay evidencia de que este espécimen provenga de Cartagena, este registro no será incluido en este libro.

*Micrurus multifasciatus*.— Esta serpiente coral bicolor se encuentra en la parte baja de Centroamérica, desde Nicaragua hasta Panamá, habitando bosques húmedos y lluviosos de tierras bajas, bosques húmedos subtropicales y bosques húmedos montanos bajos [26]. Castro-Herrera y Vargas-Salinas [120] reportaron a *Micrurus multifasciatus* para el occidente de Colombia, en el Valle del Darién, Río Azul, a 7 km del campamento «Campo Alegre» (UVC 6676), extendiendo su rango de distribución geográfica en aproximadamente 419 km (en línea recta) desde su localidad más austral conocida en Panamá (Centroamérica). Tras revisar este espécimen, notamos que corresponde a un ejemplar de *M. multiscutatus*, una especie de serpiente endémica de Colombia y restringida a la región del Pacífico,

muy similar en coloración y morfología con *M. multifasciatus*, por cual es fácil de confundirlas (Figura 7). Por lo tanto, aunque se espera que *M. multifasciatus* se distribuya en Colombia en la ecorregión del Chocó, aún no existen registros confirmados de esta especie.



**Figura 7.** *M. multiscutatus*. (A-B). Ejemplar de *M. multiscutatus* del occidente de Colombia en el Valle del Darién, Río Azul, a 7 km del campamento «Campo Alegre» (UVC 6676). Fotos por: Carlos Andrés Linares. (C) *M. multiscutatus* en vida, y (D-E) recién eutanasiado de la localidad tipo: El Tambo, Cauca, Colombia. Fotos por: Luis Vera-Páez.

*Micrurus nigrocinctus*.— Esta especie ampliamente distribuida se encuentra desde el suroeste de México hasta el noroeste de Colombia, para la cual ya se ha demostrado una diversidad profundamente críptica [121]. Un registro controversial de *M. nigrocinctus* en la isla de Providencia, en el Caribe colombiano, se basó en un espécimen recolectado por C.H. Townsend en 1884, pero se perdió en 1921 durante un envío del Museo Nacional de los Estados Unidos (Washington, EE.UU.) al Museo de Zoología Comparada (Cambridge, EE.UU.) [122–124]. La serpiente no ha sido registrada en la isla de Providencia desde finales del siglo XIX, por lo que existe cierta duda sobre si la localidad del espécimen perdido era correcta. En el peor de los casos, si la serpiente existió en Providencia, ahora está extinta.

*Micrurus putumayensis*.— Actualmente, existen algunas listas de especies de serpientes que incluyen a *Micrurus putumayensis* entre las serpientes coral de Colombia (i.e., Reptile database [29]), pero parece que esto se debió a un efecto de «teléfono roto» en la interpretación de la información a lo largo del tiempo. Campbell y Lamar [26] reportan por primera vez a *M. putumayensis* en Colombia basándose en la lista de serpientes colombianas reportada por Medem [21]. Sin embargo, Medem [21] indica que no hay registros de *M. putumayensis* en Colombia, pero sugiere que es probable que algunos especímenes y localidades de serpientes similares a *M. steindachneri* (= *Elaps fassli* Werner 1927) podrían haber sido confundidos con *M. putumayensis* por Werner [125]. La localidad tipo de *M. putumayensis* es Puerto Socorro (¿Perú?) a 270 km al noreste de Iquitos. No obstante, tras buscar esta localidad en gaceteros geográficos digitales (Geonames, Google Earth), así como en los mapas oficiales de Colombia y

Perú, esta localidad es desconocida. Por lo tanto, a partir de la evidencia disponible, concluimos que la distribución de la especie *M. putumayensis* está fuera de Colombia, y posiblemente, restringida a Brasil y Perú.

*Porthidium lansbergii-nasutum* complex.— En Colombia, *P. nasutum* y *P. lansbergii* son especies estrechamente relacionadas, caracterizadas por rasgos morfológicos crípticos, como los es su rostro protognato u «hocico de cerdo». *Porthidium nasutum* se distribuye a lo largo de la ecorregión biogeográfica del Chocó hasta la ecorregión del Chocó-Darién, mientras que *P. lansbergii* también se distribuye en los bosques secos del Pacífico, Istmo de Panamá y el Caribe colombiano, así como en la región del Chocó-Darién, extendiéndose hacia los bosques húmedos de Urabá y los bosques siempre verdes y xerofíticos del Valle del Magdalena (ver Capítulo 3). *Porthidium nasutum* y *P. lansbergii* son simpátricas en la región del Chocó-Darién, por lo que, en localidades como Apartadó, Carepa, Urrao, Segovia (Antioquia), la identificación errónea debido a la confusión entre estas especies es común.

Tanto *P. nasutum* como *P. lansbergii* tienen registros que exceden su rango altitudinal máximo conocido (Tabla 1). Se pueden encontrar registros problemáticos de *P. nasutum* por encima de los 1.500 msnm en municipios como Urrao (Antioquia), y de *P. lansbergii* en localidades como Amalfi, Guatapé (Antioquia), Cimitarra, Betulia (Santander) y Ocaña (Norte de Santander), con un rango altitudinal entre 1.674-1.823 msnm. Todos estos registros requieren una revisión detallada que permita determinar si corresponden a especies de *Porthidium* o son identificaciones erróneas.

Históricamente, la presencia de *P. lansbergii* en la ecorregión de la Orinoquía se ha basado en reportes anecdóticos e informales que no cuentan con evidencia que los sustente; por lo tanto, se han considerado como especulativos o espurios. En este libro (ver Capítulo 3), confirmamos el primer registro de *P. lansbergii* en la ecorregión de la Orinoquía. Una hembra adulta (INSV-SR-00288) de Yopal (Casanare) fue encontrada por el departamento de bomberos durante actividades de rescate en las estribaciones de la zona periurbana de la ciudad de Yopal el 24 de julio de 2021; el ejemplar fue entregado a la Colección de Animales Venenosos Vivos del Instituto Nacional de Salud (INSV). Los análisis realizados con base en marcadores moleculares, así como la reconstrucción filogenética, anidan este espécimen dentro del linaje del Caribe, mostrando una baja distancia genética frente a los especímenes de las poblaciones provenientes de la Costa Caribe colombiana (ver Capítulo 3).

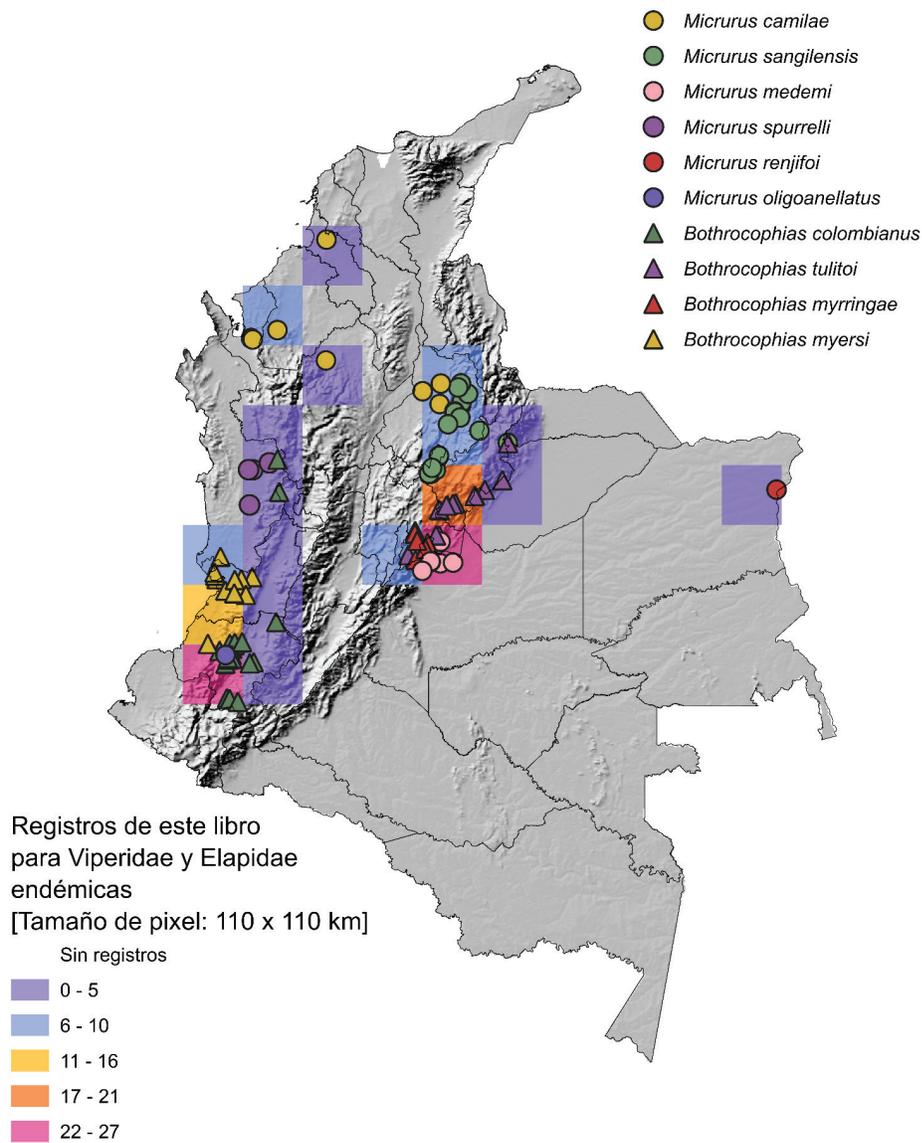
### **3. Endemismo y especies de serpientes venenosas poco conocidas en Colombia**

La mayoría de las serpientes venenosas de Colombia son por naturaleza crípticas, raramente vistas en la naturaleza, y aparentemente con bajas densidades poblacionales. Por lo tanto, su endemismo o rangos de distribución acotados pueden ser un artefacto de nuestro entendimiento fragmentado, o podría reflejar su verdadera naturaleza. Sin embargo, a pesar

de los grandes esfuerzos de numerosos investigadores que han realizado trabajo de campo en sus hábitats de difícil acceso o detección, así como búsquedas exhaustivas de especímenes no catalogados o perdidos en el tiempo entre los gabinetes de las colecciones biológicas, varias especies de serpientes venenosas colombianas siguen estando pobremente documentadas y cuentan con muy pocos especímenes en las colecciones del país y el mundo. Estas circunstancias limitan fuertemente nuestra comprensión sobre los aspectos esenciales de su biología, así como sobre su interacción con las comunidades humanas. Sumado a esto, su carácter críptico las ha convertido en seres enigmáticos, casi al punto de volverse legendarias entre los herpetólogos, quienes se jactan de poder haber visto una de estas serpientes en sus vidas.



Del total de las 49 especies de serpientes venenosas presentes en Colombia, 16 especies tienen diez o menos registros o localidades conocidas (Figura 8), lo que representa entre 0,2-0,02% del total de registros disponibles para las serpientes venenosas del país (~5.488 registros, ver <https://ofidismo.ins.gov.co>), Eso las convierte en las serpientes venenosas más enigmáticas de Colombia (Tabla 2). Algunas de estas especies se destacan. Por ejemplo, *Micrurus oligoanellatus* y *M. renjifo* son conocidas por sus localidades tipo y están representadas solo por los ejemplares de sus series tipo; de hecho, no se conoce ningún dato sobre su historia natural. *Micrurus spurrelli* es conocida por cinco registros, incluido el espécimen tipo; no hay fotos en vida de esta especie y no se conoce ningún dato esencial de su historia natural. Desde su descripción por Boulenger en 1914, su distribución conocida se restringe a cuatro localidades de la selva chocoana en Colombia [25]. *Micrurus psyches* tiene una distribución controversial. Campbell y Lamar [26] indican que esta especie está ausente en Colombia, sugiriendo que los registros de *M. psyches* en la región de la Orinoquía son cuestionables y que estos especímenes podrían representar potencialmente una especie no descrita de coral bicolor que ha sido confundida con *M. psyches*. Sin embargo, algunos especímenes alojados en la colección de reptiles del INS coinciden con los caracteres diagnósticos descritos por Roze [126]. No obstante, debido al pequeño tamaño de la muestra, la evidencia que proporcionan es insuficiente para probar cualquiera de las hipótesis anteriormente propuestas. Por lo tanto, para este trabajo, hemos decidido tratarlos como *M. psyches*, esperando que futuras evidencias ayuden a aclarar el estatus de las poblaciones colombianas.



**Figura 8.** Distribución de especies de serpientes venenosas endémicas en Colombia.

**Tabla 2.** Especies de serpientes venenosas poco conocidas, con registros únicos o restringidos geográficamente.

<b>Criterio</b>	<b>Especies</b>	<b>Distribución geográfica</b>
Especies con un único registro o localidad	<i>Micrurus oligoanellatus</i>	Cauca: El Tambo (Localidad tipo).
	<i>Micrurus renjifo</i>	Vichada: Puerto Carreño, río Tomo cerca de la unión con el río Orinoco (Localidad tipo).
Especies con entre dos a cinco registros o localidades	<i>Micrurus nattereri</i>	Guainía: Caño Raya. Vaupés: Yavaraté Monfort, Pamopetá, Canoti.
	<i>Bothrops pulcher</i>	Caquetá: Florencia; San Vicente del Caguán, PNN Cordillera de los Picachos.
	<i>Micrurus psyches</i>	Arauca: Arauquita. Meta: Villavicencio, Parte superior del Caño El Buque.
	<i>Micrurus remotus</i>	Guainía: río Negro. Meta: La Macarena, Piñalito, Cabaña Paujiles. Vaupés: Mitú.
	<i>Micrurus multiscutatus</i>	Cauca: El Tambo (Localidad tipo). Valle del Cauca: Valle de Darién, Río Azul, 7 km del campamento «Campo Alegre».
	<i>Micrurus spurrelli</i>	Chocó: Condoto, Peña Lisa (Localidad tipo); El Carmen de Atrato; Quibdó, Pacurita.
Especie con entre seis a diez registros o localidades	<i>Micrurus tikuna</i>	Amazonas: Leticia, vía Leticia-Tarapacá km 7.
	<i>Bothrocophias campbelli</i>	Chocó: Istmina, Andagoyá. Nariño: Barbacoas, Ñambí, Reserva Natural Río Ñambí, Vereda el Barro, corregimiento de Altaquer. Valle del Cauca: Buenaventura, Bajo Calima.
	<i>Micrurus clarki</i>	Cauca: Guapi. Chocó: Condoto; Istmina, Andagoya, alto río San Juan; Riosucio, PNN Los Katíos. Valle del Cauca: Dagua, La Elsa, vía Cali-Buenaventura.
	<i>Bothrocophias myrringae</i>	Cundinamarca: Choachí, Palo Alto; Fómeque, Vereda de Coasavistá; El Calvario; La Calera, Vereda Mundo Nuevo (Localidad tipo); Guayabetal.
	<i>Micrurus nigrocinctus</i>	Antioquia: Carepa; Necoclí; Turbo, río Currulao.
	<i>Hydrophis platurus</i>	Cauca: Guapi, PNN Isla de Gorgona. Chocó: Bajo Baudó, Cabo corrientes; Juradó, Cabo Marzo; Nuquí, Morros de Jurubida. Nariño: Tumaco.
	<i>Micrurus scutiventris</i>	Amazonas: Leticia, Leticia; La Chorrera.
	<i>Bothrops taeniatus</i>	Amazonas: Leticia, PNN Amacayacu, Río Amacayacu; Puerto Rastrojo, río Mirití-Paraná. Cundinamarca: Medina. Guainía: Puerto Colombia, Macanal, Garagon. Vaupés: Pacoa; Taraira, Estación biológica Caparú. Vichada: Cumaribo.

Las especies de serpientes venenosas con distribución restringida a Colombia, también conocidas como especies endémicas, representan el 4,9% (10 especies) del total de especies de serpientes de importancia médica en el país (Figura 8). Excepto por *Micrurus medemi*, *M. sangilensis*, *Bothrocophias myrringae* y *B. tulitoi*, todas las especies endémicas tienen en común que habitan en hábitats aislados y de difícil acceso, o en áreas peligrosas para los investigadores debido al conflicto armado colombiano. Por lo tanto, cualquier dato o información recopilada sobre estas especies, ya sea de una fuente robusta o anecdótica, representa un avance muy importante en su conocimiento.

Actualmente, plataformas de redes sociales como Facebook, YouTube, Instagram, Twitter, iNaturalist, blogs y wikis han contribuido a obtener información y conocimiento sobre estas enigmáticas serpientes venenosas de manera rentable y rápida, en comparación con el alto costo y esfuerzo invertido en expediciones tradicionales que exploran hábitats no visitados, crípticos o de difícil acceso [3]. Las iniciativas de ciencia ciudadana basadas en observadores de las comunidades locales pueden contribuir significativamente a la comprensión de especies de serpientes venenosas poco conocidas (p. ej., la expansión del rango geográfico de *Micrurus ancoralis*) [3,125,126]. Sin embargo, es necesario tener en cuenta los sesgos asociados con la precipitación, la densidad de la población de los observadores locales, y la penetración de internet cuando se utilizan este tipo de datos [3].

Además, aunque los registros de serpientes obtenidos de redes sociales pueden ser útiles para determinar ubicaciones geográficas, la identificación taxonómica de las especies podría presentar varias deficiencias. La identificación se vuelve complicada cuando no se observan los caracteres diagnósticos. Por ejemplo, las publicaciones en redes sociales a menudo solo muestran rasgos externos llamativos, en lugar de caracteres diagnósticos detallados o internos, como la escutelación o la morfología hemipenial [3]. Por lo tanto, recomendamos ser cautelosos y conservadores al utilizar registros de redes sociales basados en observaciones humanas como el indicador principal para establecer distribuciones geográficas o evaluar nichos ecológicos.

#### **4. Estado de conservación de las especies de serpientes de importancia médica en Colombia**

Como se mencionó anteriormente, mayoritariamente los estudios previos sobre serpientes se han centrado en temas de salud pública, evaluaciones taxonómicas, listas de especies y descripciones. Solo hasta el 2007 surgió en Colombia la primera iniciativa que propuso a las serpientes como objeto de conservación relevante para el país. Esta iniciativa de conservación fue liderada por el Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible de Colombia (MADS o Minambiente), el Instituto Nacional de Salud de Colombia (INS), la Corporación Autónoma Regional del Centro de Antioquia (CORANTIOQUIA) y el Instituto de Ciencias Naturales de la Universidad Nacional de Colombia (ICN). Esta iniciativa generó un taller llamado «Primer simposio nacional de investigación sobre biología y con-

*servación de serpientes*», el cual reunió a la mayoría de los académicos, actores interesados, entidades gubernamentales relacionadas con la vida silvestre y el patrimonio ambiental, y neófitos interesados por la conservación de las serpientes.

En 2008, se organizó un primer borrador (no revisado por pares) del programa de conservación de serpientes de Colombia como un informe que resumía los principales hallazgos y conclusiones de este taller [129]. Este informe fue el insumo inicial para las investigaciones futuras, iniciativas y planes de conservación en redes sociales enfocadas en la conservación de serpientes en Colombia. En 2012, Lynch [6] proporcionó la primera evaluación general de las amenazas potenciales que enfrentan las poblaciones de serpientes en Colombia, indicando que la pérdida de hábitat, la matanza deliberada por humanos, la mortalidad por atropello, el tráfico ilegal y la investigación científica son los motores de cambio que potencialmente amenazan a las serpientes presente en el país.

Con base en este trabajo, así como en el informe previo de conservación de serpientes en Colombia, y gracias a un proyecto de investigación apoyado por un convenio de cooperación entre Minambiente, INS e ICN, Lynch et al. [1] en 2014 presentaron y actualizaron del programa nacional para la conservación de serpientes presentes en Colombia, (en adelante PNCS), el cual contó con la revisión por pares. En 2016, el PNCS fue adoptado por Minambiente como la directriz de política nacional para la conservación de serpientes en Colombia. Esta política pública señaló que, actualmente, las tres principales amenazas para la conservación de serpientes en Colombia son: la pérdida de hábitat, la matanza deliberada por humanos y la mortalidad por atropellamiento vial.

En 2015, se llevó a cabo la primera evaluación del estado de conservación de las especies de serpientes en Colombia. Esta evaluación fue liderada por el grupo de especialistas en reptiles de la UICN (Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza) y el Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt (IAvH) [130]. Esta evaluación se llevó a cabo con base en el conocimiento y juicio de expertos (~20 expertos nacionales en reptiles), así como siguiendo los criterios y lineamientos de la UICN para evaluar si un taxón pertenece a alguna de las categorías de la lista Roja de especies amenazadas [131]. Como resultado, se categorizó diez especies de serpientes colombianas, tres de ellas venenosas, asignadas a dos categorías de amenaza: *Micrurus medemi* (En Peligro), *M. sangilensis* (Vulnerable) y *Bothrocophias campbelli* (Vulnerable). Esta evaluación ha sido el principal insumo para las resoluciones de políticas públicas que indican y regulan el estado de conservación de las especies de serpientes en el país [132].

Para las serpientes colombianas, además del conocimiento y juicio de los expertos, el principal criterio empleado para determinar si una especie se clasifica en una categoría de amenaza de la UICN fue el rango geográfico [31]. Esto, debido principalmente a la escasez de información sobre criterios como la reducción del tamaño poblacional, el tamaño poblacio-

nal pequeño y su declive, y análisis cuantitativos sobre la probabilidad de extinción en la naturaleza. El criterio de rango geográfico considera dos métricas principales: la extensión de presencia (EOO) y el área de ocupación (AOO), que deben estar vinculadas al menos a dos de tres condiciones: (1) distribución severamente fragmentada o número de localidades; (2) disminución continua del EOO o AOO (observada, estimada, inferida o proyectada), y fluctuaciones extremas en el EOO, AOO, o en el número de localidades o subpoblaciones, y número de individuos adultos [131].

Por lo tanto, *Micrurus medemi* fue categorizado como En Peligro [133] debido a la fragmentación severa de sus localidades y un EOO <5.000 km<sup>2</sup> en continuo declive, así como su AOO; mientras que *Micrurus sangilensis* y *Bothrocophias campbelli* fueron categorizadas como Vulnerables debido a la fragmentación severa de sus hábitats y un EOO <20.000 km<sup>2</sup> con pérdida continua de la calidad de su hábitat.

Siguiendo este criterio, la lista de especies venenosas amenazadas de Colombia debe ampliarse para incluir al menos cinco de las 16 especies venenosas poco conocidas mencionadas en la Tabla 2, así como tres especies endémicas (Figura 8). Por ejemplo, especies como *Micrurus oligoanellatus*, *M. renjifo* y *M. spurrelli* cumplen con los criterios de En Peligro Crítico al tener un EOO <100 km<sup>2</sup> en declive continuo y pérdida en la calidad sus hábitats; *Bothrocophias colombianus*, *B. myrringae* y *Micrurus camilae* cumplen con los criterios de la categoría En Peligro al tener un EOO <5.000 km<sup>2</sup> con pérdida continua de la calidad de sus hábitats. Además, *B. tulitoi* cumple con los criterios de la categoría Vulnerable debido a la fragmentación severa de sus localidades y un EOO <20.000 km<sup>2</sup> en declive continuo con pérdida de calidad de sus hábitats. Por lo tanto, también debe incluirse.

Es urgente una evaluación actualizada de las especies venenosas amenazadas de Colombia, ya que algunas de las especies de serpientes venenosas con amplia distribución en el país están enfrentando amenazas significativas. Este es el caso de *Crotalus durissus*, que además de enfrentar las principales amenazas como la pérdida de hábitat y la matanza deliberada por humanos, está sujeta a un fuerte tráfico ilegal en Colombia. Esta especie se utiliza en todo el país en prácticas mágico-religiosas, así como en la medicina tradicional para tratar el cáncer, la disfunción eréctil y como potenciador sexual.

Por lo tanto, las poblaciones de *C. durissus* están bajo una presión constante y significativa debido al tráfico descontrolado. No obstante, esta especie carece de una evaluación de conservación integral que ayude a abordar acciones y estrategias para revertir, mitigar o detener sus amenazas. Actualmente, *C. durissus* está incluida en el apéndice III de CITES (Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres), lo que le otorga protección legal para el comercio o tráfico cuando los especímenes o sus partes se exportan desde Colombia. Sin embargo, dentro del territorio colombiano, no existen leyes o normativas específicas que protejan a sus poblaciones más allá de las

normativas ambientales que establece los requisitos para las licencias de uso comercial de la vida silvestre (Ley 84 de 1989; Ley 611 de 2000; decreto 4688 de 2005; decreto 1076 de 2015; decreto 1272 de 2016; resolución 1263 de 2006; resolución 1909 de 2017).

Diez años después de la publicación del PNCS, el país sigue lejos de lograr la misión, objetivos y el alcance propuestos en esta política pública de conservación. Esto demuestra que los esfuerzos invertidos no fueron suficientes y debemos reforzarlos. A pesar de que las serpientes cuentan con el mayor número de estudios herpetológicos sobre la diversidad de reptiles no aviares en Colombia [134], hay pocos estudios que aborden sus principales amenazas [135–141]. Sin embargo, el mayor avance en la implementación del PNCS se logró en la estrategia I: *Aumento del nivel de conocimiento sobre las serpientes presentes en Colombia*; y en la estrategia IV: *Implementar y desarrollar actividades de biomedicina y bioprospección con venenos de serpientes colombianas*. Actualmente, el país ha obtenido un gran conocimiento sobre las serpientes colombianas, tanto en su biología general como aplicada, lo que ha proporcionado el mérito y la motivación suficiente para escribir y editar un libro como el que estás leyendo ahora.

No obstante, las estrategias del PNCS enfocadas en la educación ambiental y conservación (estrategia II), así como la recuperación y restauración de los hábitats naturales de las serpientes (estrategia III), han sido implementadas de manera deficiente o no se han implementado. De manera similar, las líneas de acción que abogan por el fortalecimiento legal, administrativo y financiero para la investigación biológica sobre la conservación de serpientes nunca se implementaron. Así, las prioridades de conservación propuestas hace diez años siguen vigentes y sin implementarse adecuadamente, por lo que la pérdida de hábitat, la matanza deliberada de serpientes por humanos, los atropellos viales y el tráfico ilegal continúan siendo las principales amenazas para las poblaciones de serpientes en Colombia.

A pesar de la falta de implementación del PNCS, la publicación de esta política pública de conservación a lo largo de los años ha contribuido a aumentar el número de grupos de académicos, investigadores, cuidadores de zoológicos y el público en general a participar en la investigación y conservación de serpientes. También ha motivado el desarrollo de iniciativas sólidas orientadas a cambiar las percepciones negativas de los colombianos hacia las serpientes. Por ejemplo, una creciente comunidad en Facebook enfocada en la investigación y defensa de la conservación de serpientes ha dado lugar espontáneamente a una robusta red (> 1,5 millones de miembros) que aporta información importante sobre la distribución geográfica de las serpientes, apreciables observaciones de historia natural de varias especies de serpientes, conocimiento sobre las condiciones de los encuentros entre serpientes y humanos en áreas rurales y periurbanas, promoviendo la educación y comprensión sobre la biología de las serpientes venenosas y no venenosas de Colombia [51].

Para abordar las principales amenazas para las poblaciones de serpientes en Colombia, recomendamos promover la implementación de las líneas de acción del PNCS, así como iniciativas que se centren en estudios etnozoológicos, sociales y psicológicos sobre las actitudes humanas hacia las serpientes, junto con acciones educativas enfocadas a atender los encuentros entre serpientes y humanos en áreas silvestres o rurales. Comprender los factores que provocan las experiencias negativas durante estos encuentros, ayudará a desarrollar estrategias que promuevan la conservación de serpientes, así como la reducción de la incidencia de accidentes ofídicos.

#### 4.1 Dos caras de la misma moneda: Conservación y ofidismo

La biología de la conservación y el ofidismo (como enfermedad tropical desatendida) tienen fuertes convergencias en la forma en que estas disciplinas abordan sus propios paradigmas. Por ejemplo, ambas disciplinas comparten al menos ocho factores o metas: amenazas, vulnerabilidad, riesgo, comportamiento, actitud, prevención, mitigación y localización (Figura 9). Además, ambas disciplinas abordan sus preguntas de investigación y planes de acción de manera similar. Por lo tanto, proponemos que las acciones basadas en un enfoque interdisciplinario que integre el conocimiento, los valores y las técnicas utilizadas por ambas disciplinas podrían reducir los principales problemas para la conservación de las serpientes, así como reducción significativa en la incidencia de los accidentes ofídicos. La unión de estas disciplinas ayudará a construir estrategias explícitas, comunicables, evaluables y con una fuerte aplicabilidad.



**Figura 9.** Los ocho factores o metas comunes que se evalúan y valoran en la investigación sobre conservación y ofidismo.

Esta conjunción entre la biología de la conservación y el estudio del ofidismo puede enmarcarse en dos enfoques integrales de las ciencias de la salud, conocidos como OneHealth y EcoHealth [143,144]. Estas propuestas plantean un marco conceptual que podría catalizar la biología de la conservación y el estudio del ofidismo como un enfoque interdisciplinario. El enfoque OneHealth se centra en la interfaz entre los humanos y los animales domésticos en contextos sociales y ecológicos específicos, pero puede extenderse a los animales silvestres que comparten hábitats rurales y periurbanas, como lo hacen las serpientes. Por otro lado, el enfoque EcoHealth [143,144] considera los vínculos estrechos entre los ecosistemas, la sociedad y la salud, incorporando múltiples tipos de conocimientos de las ciencias naturales, sociales y humanistas, con la participación de actores a muchos niveles dentro de un marco de investigación participativa [144]. EcoHealth tiene un alcance más amplio en comparación con OneHealth, que se enfoca específicamente en la interfaz de salud entre humanos y animales. El enfoque de EcoHealth busca lograr una comprensión integral de la salud y el bienestar que abarque tanto las humanidades como las ciencias naturales, sociales y de la salud [145].

Debido a las causas multifactoriales tanto del declive de las poblaciones de serpientes como de la incidencia de los accidentes ofídicos, perspectivas holísticas como las aquí mencionadas podrían permitir una mejor comprensión y ayudar a construir líneas de acción más robustas. Actualmente en Colombia, no existen iniciativas para la conservación de serpientes o la prevención de los accidentes ofídicos que hayan utilizado los enfoques de OneHealth o EcoHealth, pero el interés en estos enfoques está creciendo. A pesar del amplio alcance del PNCS, que incluye un enfoque interdisciplinario, su baja implementación en las líneas de acción, ha limitado los logros y perspectivas para abordar la conservación de serpientes y el ofidismo. Por lo tanto, se espera que en un futuro próximo la integración de la biología de la conservación y el estudio del ofidismo pueda ocurrir bajo estos marcos conceptuales.

## **5. Perspectivas futuras**

Colombia ocupa un lugar especial en el mundo debido a su ubicación geopolítica, su importancia ecológica e histórica como país tropical y, su papel evolutivo como vía de intercambio para los elementos biológicos de América del Sur y del Norte, lo que facilitó la gran inmigración y emigración de linajes de serpientes. Además, la convergencia de tres de las ecorregiones terrestres más diversas del planeta—los Andes, el Chocó y la Amazonía—ha promovido la evolución de una asombrosa riqueza de especies, con múltiples patrones de diversificación y linajes observados en un área relativamente limitada (ver Capítulos 2 y 3). Como resultado, Colombia es uno de los 25 puntos críticos de biodiversidad más importantes a nivel mundial [146], por lo cual ha sido clasificado como un país megadiverso.

En consecuencia, el país presenta desafíos significativos para la investigación sobre serpientes y la reducción de los accidentes ofídicos.

En particular, Colombia enfrenta fuertes limitaciones relacionadas con la pobreza, la inseguridad alimentaria, el acceso limitado a la asistencia médica en áreas rurales, el conflicto armado, la escasa implementación de políticas ambientales, la baja inversión estatal y privada en investigación científica y tecnológica que aborde las necesidades no satisfechas de la población general.

Por lo tanto, para lograr una alta cobertura en el muestreo de los ensamblajes de serpientes colombianas, y así obtener la comprensión necesaria para abordar el ofidismo como una enfermedad tropical desatendida, se requiere un enfoque interdisciplinario que permita abordar los ocho factores descritos anteriormente, lo cuales subyacen a la relación entre los humanos y serpientes (Figura 9).

Este enfoque interdisciplinario debe abordar el cómo podemos transformar nuestra relación con la naturaleza y nuestras prácticas de producción y consumo, con base en acciones colectivas con la participación de todos los miembros de la sociedad colombiana. Las directrices para llevar a cabo esta tarea se acuñaron hace diez años en la misión, los objetivos y el alcance propuestos en el PNCS. En particular, es urgente reforzar la educación ambiental y de conservación (estrategia II), así como la recuperación y restauración de los hábitats naturales de las serpientes (estrategia III) para reducir las amenazas a las poblaciones de serpientes en Colombia, así como para mitigar y atender adecuadamente los accidentes ofídicos en el país (ver Capítulo 9).

En particular, la investigación presentada en este capítulo destaca la necesidad urgente de establecer un programa de subvenciones para la investigación que apoye el trabajo de campo y estudios en diversas disciplinas, con el objetivo de mejorar nuestro conocimiento sobre las especies de serpientes de importancia médica. Asimismo, es imperativo formar más investigadores que aborden los desafíos asociados a ganar conocimiento en torno a las especies de serpientes venenosas y no venenosas. Los estudios taxonómicos y las descripciones de especies en un país megadiverso como Colombia desempeñan un papel fundamental en la conservación de nuestro patrimonio natural, contribuyendo al creciente énfasis de cuidar los ecosistemas que nos sostienen. Fomentar estas actividades también nos permitirá explorar y ampliar nuestra comprensión de cómo las serpientes pueden contribuir al desarrollo de nuevos medicamentos y mercados basados en sus venenos, así como en comprender los servicios ecosistémicos que proporcionan a nuestra sociedad (ver Capítulos 6 y 10).

## Apéndice A: Materiales y métodos

### *Revisión de las líneas de evidencia disponibles*

Para lograr el objetivo de proporcionar un tratamiento taxonómico y criterios que ayuden a asignar las especies de serpientes problemáticas a una entidad taxonómica basada en la evidencia disponible, empleamos tres enfoques. En primer lugar, seguimos la metodología PRISMA [147] para recuperar de Google académico y Web of Science artículos sobre revisiones taxonómicas o sistemáticas, así como descripciones de especies de las serpientes venenosas distribuidas en Colombia según el sitio web Reptile database [29]. En segundo lugar, consultamos, en la medida de lo posible, las referencias relacionadas con taxones incluidas en el sitio web Reptile database [29]. En tercer lugar, en los casos en los que teníamos conocimiento de que algún investigador estaba trabajando actualmente en revisiones taxonómicas o sistemáticas de serpientes de importancia médica en Colombia, indagamos sobre su opinión como experto para incorporarla al tratamiento taxonómico propuesto [148].

### *Métodos de búsqueda para la identificación de estudios: Búsquedas electrónicas*

Realizamos búsquedas mensuales desde abril de 2021 hasta junio de 2024 en los siguientes repositorios electrónicos y motores de búsqueda web: MEDLINE, Scielo, Scopus, Google Scholar y Pubmed. Las estrategias de búsqueda contenían las siguientes palabras clave que fueron combinados de diferentes maneras utilizando los conectores booleanos AND y OR: venenos de serpientes, *Bothrops*, *Crotalus*, *Bothriechis*, *Porthidium*, *Lachesis*, *Micrurus*, *Xenodon*, *Leptophis*, *Erythrolamprus*, *Oxybelis*, *Helicops*, *Bothrocophias*, *Thamnodynastes*, *Leptodeira*, *Philodryas*, taxonomía, distribución, neotrópicos, morfología, delimitación de especies, taxonomía integrativa.

### *Búsqueda de otros recursos*

Revisamos los estudios citados relevantes al revisar los informes identificados por las búsquedas electrónicas, así como las listas de referencias de cualquier revisión directamente relevante identificada. No aplicamos restricciones de idioma o fecha e incluimos estudios independientemente del tipo de publicación (p. ej., resumen de conferencia, entrada en registros de ensayos, artículo de revista, libro).

### *Contraste entre líneas de evidencia y propuestas taxonómicas previas*

Identificamos 2.234 publicaciones con potencial de inclusión. De estas, identificamos un total de 320 artículos que fueron objeto de revisión de títulos y resúmenes, de estos, 36 estudios fueron duplicados y 40 no cumplían con los criterios de la búsqueda, por cual todos estos fueron excluidos. En total 244 artículos fueron incluidos.

Tomamos como línea base el tratamiento taxonómico propuesto por Campbell y Lamar [26] para las serpientes de importancia médica en Colombia. Luego, contrastamos las nuevas evidencias disponibles en revisiones taxonómicas o sistemáticas (posteriores a 2004), que fueron recuperada de las búsquedas mencionadas anteriormente, y lo comparamos frente a lo propuesto por Campbell y Lamar; y finalmente, tomamos una decisión taxonómica.

## References

1. Lynch, J.D.; Angarita-Sierra, T.; Ruiz, F.J. *Programa nacional para la conservación de las serpientes presentes en Colombia*; Universidad Nacional de Colombia, Instituto Nacional de Salud, Ministerio de Medio ambiente y Desarrollo: Bogotá, **2014**; ISBN 9789588901183.
2. Bravo-Vega, C.; Renjifo-Ibañez, C.; Santos-Vega, M.; Nuñez, L.J.L.; Angarita-Sierra, T.; Cordovez, J.M. Estimating real snakebite incidence in Colombia by using mathematical modelling and statistical inference. *bioRxiv* **2021**, 2021.12.09.472006, doi:10.1101/2021.12.09.472006.
3. Angarita-Sierra, T.; Montañón-Londoño, L.F.; Bravo-Vega, C.A. ID please: Evaluating the utility of Facebook as a source of data for snake research and conservation. *An. Acad. Bras. Cienc.* **2022**, *94*, doi:10.1590/0001-3765202220211043.
4. Ospina-Sarria, J.J.; Angarita-Sierra, T. A New Species of *Pristimantis* (Anura: Strabomantidae) from the Eastern Slope of the Cordillera Oriental, Arauca, Colombia. *Herpetologica* **2020**, *76*, 83–92.
5. Angarita-Sierra, T.; Cubides-Cubillos, S.D.; Hurtado-Gómez, J.P. Hidden in the highs: Two new species of the enigmatic toadheaded pitvipers of the genus *Bothrocophias*. *Vertebr. Zool.* **2022**, *72*, doi:10.3897/vz.72.e87313.
6. Lynch, J.D. El contexto de las serpientes de Colombia con un análisis de las amenazas en contra de su conservación. *Rev. la Acad. Colomb. Ciencias Exactas, Físicas y Nat.* **2012**, *36*, 435–449.
7. Pinto-Sánchez, N.R.; Calderón-Espinosa, M.L.; Miralles, A.; Crawford, A.J.; Ramírez-Pinilla, M.P. Molecular phylogenetics and biogeography of the Neotropical skink genus *Mabuya* Fitzinger (Squamata: Scincidae) with emphasis on Colombian populations. *Mol. Phylogenet. Evol.* **2015**, *93*, 188–211, doi:10.1016/j.ympev.2015.07.016.
8. Lozano, J.T. Sobre las serpientes. *Sem. del Nuevo Reino Granada* **1808**, 117–182.
9. Universidad Jorge Tadeo Lozano *Jorge Tadeo Lozano: Estudios científicos*; **2021**.
10. Cañas-Dávila, C.A. Capítulo 12. Aspectos históricos de la ofidiología Colombiana. In *Serpientes venenosas: lecciones aprendidas desde Colombia*; Cañas-Dávila, C.A., Castro-Herrera, F., Castaño-Valencia, R., Eds.; Fundación Valle de Lili: Santiago de Cali, **2016**; pp. 213–240 ISBN 9789585721722.
11. Calvete, J.J. Snake venomomics at the crossroads between ecological and clinical toxinology. *Biochem. (Lond)*. **2019**, *41*, 28–33, doi:10.1042/bio04106028.
12. Bektimirov, T.; Furesz, J.; Hardegree, M.C.; Hollan, S.R.; Mirchamsy, H.; Netter, R.; Oya, A.; Reichert, L.E.; Sjodin, L.; Pang-chu, T. *WHO expert committee on biological standardization*; **1987**; ISBN 9789241210133.
13. Bhaumik, S.; Jagadesh, S.; Lassi, Z. Quality of WHO guidelines on snakebite: the neglect continues. *BMJ Glob. Heal.* **2018**, *3*, doi:10.1136/bmjgh-2018-000783.
14. McDiarmid, R.; Campbell, J.A.; Touré, T. *Snake Species of the World: A Taxonomic and Geographic Reference, Volume 1*; Herpetologists' League: Washington, **1999**.

15. Peters, J.; Orejas-Miranda, B. Catalogue of the neotropical Squamata Snakes. *United States Natl. Museum Bull.* **1970**, 297, 1–347.
16. Arteaga, A.; Pyron, R.A.; Batista, A.; Vieira, J.; Pelayo, E.M.; Smith, E.N.; Barrio, C.L.; Koch, C.; Agne, S.; Valencia, J.H.; et al. Systematic revision of the Eyelash Palm-Pitviper *Bothriechis schlegelii* (Serpentes, Viperidae), with the description of five new species and revalidation of three. *Evol. Syst.* **2024**, 8, 15–64, doi:10.3897/evolsyst.8.114527.
17. Garcia Piedrahita, E. *Ofidios venenosos del Cauca: Métodos emperico y racionales empleados contra los accidentes producidos por la mordedura de esos reptiles*; Librería e Imprenta de la Vda. de Ch. Bouret.: Cali, **1896**.
18. Amaral, A. Studies of Neotropical Ophidia. VII An interesting collection of snakes from west Colombia. *Mem. Inst. Butantan* **1927**, 1, 44–47.
19. Amaral, A. Studies of neotropical Ophidia. XI Snakes from The Santa Marta Region, Colombia. *Mem. Inst. Butantan* **1928**, 2, 7–8.
20. Nicéforo-María Los ofidios de Colombia. *Rev. la Acad. Colomb. Ciencias Exactas Físicas y Nat.* **1942**, 89–101.
21. Medem, F. El desarrollo de la herpetología en Colombia. *Rev. la Acad. Colomb. Ciencias Exactas Fis. y Nat.* **1968**, 13, 149–200.
22. Ángel, R. *Serpientes de Colombia*; **1982**; Vol. 36; ISBN 64001000072288.
23. Cadle, J. On Colombian Snakes. *Herpetologica* **1992**, 48, 134–143.
24. Sánchez, C.H.; Castaño-Moreno, O.; Cárdenas, G. Diversidad de reptiles de Colombia. In *Diversidad Biótica I, Clima, Centros de concentración de especies, Fauna, Reptiles Arácnidos, Himenópteros*; Rangel-Ch, O.J., Ed.; Instituto de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Colombia: Bogotá D.C, **1995**; pp. 227–325.
25. Campbell, J.A.; Lamar, W.W. *The Venomous Reptiles of Latin America*; Campbell, J.A., Lamar, W.W., Eds.; Comstock Pub. Associates, **1989**; ISBN 9780801420597.
26. Campbell, J.A.; Lamar, W.W. *The venomous reptiles of the western hemisphere (Vol. 1)*; Comstock Publishing: New York, **2004**; ISBN 978-0801441417.
27. Cañas-Dávila, C.A.; Castro-Herrera, F.; Castaño-Valencia, R. *Serpientes venenosas: lecciones aprendidas desde Colombia*; Fundación Valle de Lili: Santiago de Cali, **2016**; ISBN 9789585721722.
28. Ayerbe González, S.A. *SERPIENTES | Accidentes & Soluciones*; Ayerbe doc serpientes: Popayán, **2021**; ISBN 9789584924872.
29. Uetz, P.; Freed, P.; Hošek, J. The Reptile Database Available online: <https://reptile-database.reptarium.cz/> (accessed on Jan 23, **2021**).
30. da Silva-Jr, N.J.; Buononato, M.A.; Godoy-Pires, M.; Tavares-Feitosa, D. Chapter 4 New world coralsnakes: an overview. In *Advances in Coralsnake Biology: with Emphasis on South America*; da Silva-Jr, N.J., Porras, L.W., Aird, S.D., da Costa Prudente, A., Eds.; Eagle Mountain Publishing: Eagle Mountain, **2021**; pp. 115–140 ISBN 9780972015462.
31. WHO Management of snakebites (WHO 2nd Ed) 2016. **2016**.
32. Pineda, D. *Accidentes por animales venenosos*; Pineda, D., Hernández, C.A., Eds.; Instituto Nacional de Salud: Bogotá, **2002**; ISBN 9581301305.
33. Otero-Patiño, R. Snake bites in Colombia. In *Clinical Toxinology in Australia, Europe, and Americas*; Gopalakrishnakone, P., V, C.-W.,

- AS, S., VT, D., Eds.; Springer Science: Adelaide, **2018**; pp. 3–50 ISBN 9789401774383.
34. Naomi, S.-I. Proposal of an integrated framework of biological taxonomy: a phylogenetic taxonomy, with the method of using names with standard endings in clade nomenclature. *Bionomina* **2014**, *7*, 1–44, doi:10.11646/bionomina.7.1.1.
  35. Hurtado-Gómez, J.P.; Vargas-Ramírez, M.; Ruiz Gómez, F.J.; Fouquet, A.; Fritz, U. Multilocus phylogeny clarifies relationships and diversity within the *Micrurus lemniscatus*. *Salamandra* **2021**, *57*, 229–239.
  36. Mora-Obando, D.; Salazar-Valenzuela, D.; Pla, D.; Lomonte, B.; Guerrero-Vargas, J.A.; Ayerbe, S.; Gibbs, H.L.; Calvete, J.J. Venom variation in *Bothrops asper* lineages from North-Western South America. *J. Proteomics* **2020**, *229*, 103945, doi:10.1016/j.jprot.2020.103945.
  37. Passos, P.; Fernandes, D.S. Variation and taxonomic status of the aquatic coral snake *Micrurus surinamensis* (Cuvier, 1817) (Serpentes: Elapidae). *Zootaxa* **2005**, *1–14*, doi:10.11646/zootaxa.953.1.1.
  38. Feitosa, D.T.; Da Silva, N.J.; Pires, M.G.; Zaher, H.; Prudente, A.L.D.C. A new species of monadal coral snake of the genus *Micrurus* (Serpentes, Elapidae) from Western Amazon. *Zootaxa* **2015**, *3974*, 538–554, doi:10.11646/zootaxa.3974.4.5.
  39. Köhler *Reptiles of Central America*; Köhler, E., Ed.; Herpeton, Verlag: Offenbach, **2003**; ISBN 3-936180-02-4.
  40. Cadle, J.E.; Myers, C.W. Systematics of Snakes referred to *Dipsas variegata* in Panama and Western South America, with revalidation of Two species and Notes on defensive behaviors in the Dipsadini (Colubridae). *Am. Museum Novit.* **2003**, *3409*, 1–47, doi:10.1206/0003-0082(2003)409<0001:sosrtd>2.0.co;2.
  41. Myers, C.W.; McDowell, S.B. New taxa and cryptic species of Neotropical snakes (Xenodontinae), with commentary on Hemipnes as generic and specific characters. *Am. Museum Novit.* **2014**, 1–112.
  42. De Albuquerque, N.R.; Passos, P.; Gotte, S.W. *Leptophis santamartensis* (Serpentes, Colubridae), a junior synonym of *Leptophis ahaetulla* occidentalis. *J. Herpetol.* **2012**, *46*, 248–252, doi:10.1670/10-263.
  43. Passos, P.; Lynch, J.D. Revision of *Atractus* (Serpentes: Dipsadidae) from middle and upper Magdalena drainage of Colombia. *Herpetol. Monogr.* **2010**, *24*, 149–173, doi:10.1655/09-041.1.
  44. Auerbach, P.S. The Venomous Reptiles of the Western Hemisphere. *Wilderness Environ. Med.* **2005**, *16*, e13–e13, doi:10.1580/1080-6032(2005)16[e13a:br]2.0.co;2.
  45. Roze, J. *Coral Snakes of the Americas: Biology, identification, and Venoms*; Krieger Publishing Company, **1996**; ISBN 0894648470.
  46. Bailey, J.R.; Thomas, R.A.; Silva-Jr, N.J. da A revision of the South American snake genus *Thamnodynastes* Wagler, 1830 (Serpentes, Colubridae, Tachymenini). I. Two new species of *Thamnodynastes* from Central Brazil and adjacent areas, with a redefinition of and neotype designation for *Thamnodynastes pallidus* p. *Phyllomedusa J. Herpetol.* **2005**, *4*, 83–101.
  47. Silva, J.J. Los *Micrurus* de la Amazonia Colombiana . Biología y toxicología experimental de sus venenos. *Colomb. Amaz.* **2016**, *7*, 1–77.
  48. Nogueira, C.C.; Argôlo, A.J.S.; Arzamendia, V.; Azevedo, J.A.; Barbo, F.E.; Bérnils, R.S.; Bolochio, B.E.; Borges-Martins, M.; Brasil-Godinho,

- M.; Braz, H.; et al. Atlas of Brazilian Snakes: Verified Point-Localities Maps to Mitigate the Wallacean Shortfall in a Megadiverse Snake Fauna. *South Am. J. Herpetol.* **2020**, *14*, 1, doi:10.2994/sajh-d-19-00120.1.
49. Wüster, W.; Thomson, S.A.; O'Shea, M.; Kaiser, H. Confronting taxonomic vandalism in biology: Conscientious community self-organization can preserve nomenclatural stability. *Biol. J. Linn. Soc.* **2021**, *133*, 645–670, doi:10.1093/biolinnean/blab009.
  50. Kaiser, H.; Crother, B.I.; Kelly, C.M.R.; Luiselli, L.; Marko'shea; Hideshota; Passos, P.; Schleip, W.D.; Wüster, W. Best practices: In the 21st century, taxonomic decisions in herpetology are acceptable only when supported by a body of evidence and published via peer review. *Herpetol. Rev.* **2013**, *44*, 8–23.
  51. Angarita-Sierra, T.; Montaña-Londoño, L.F.; Bravo-Vega, C.A. ID please: Evaluating the utility of Facebook as a source of data for snake research and conservation. *An. Acad. Bras. Cienc.* **2022**, *94*, 1–25, doi:10.1590/0001-3765202220211043.
  52. Hoser, R. A review of the South American snake genera *Leptodeira* and *Imantodes* including three new genera and two new subgenera (Serpentes: Dipsadidae: Imantodini). *Australas. J. Herpetol.* **2012**, 40–47.
  53. Hoser, R. A new genus of pitviper (Serpentes: Viperidae) from South America. *Australas. J. Herpetol. Journa* **2012**, 25–27.
  54. Habib, A.G.; Kuznik, A.; Hamza, M.; Abdullahi, M.I.; Chedi, B.A.; Chippaux, J.-P.; Warrell, D.A. Snakebite is Under Appreciated: Appraisal of Burden from West Africa. *PLoS Negl. Trop. Dis.* **2015**, *9*, 1–8, doi:10.1371/journal.pntd.0004088.
  55. Chippaux, J.P.; Williams, V.; White, J. Snake venom variability: methods of study, results and interpretation. *Toxicon* **1991**, *29*, 1279–1303, doi:10.1016/0041-0101(91)90116-9.
  56. Bravo-Vega, C.A.; Cordovez, J.M.; Renjifo-Ibáñez, C.; Santos-Vega, M.; Sasa, M. Estimating snakebite incidence from mathematical models: A test in Costa Rica. *PLoS Negl. Trop. Dis.* **2019**, *13*, e0007914, doi:10.1371/journal.pntd.0007914.
  57. Tan, K.Y.; Tan, C.H.; Chanhom, L.; Tan, N.H. Comparative venom gland transcriptomics of *Naja kaouthia* (monocled cobra) from Malaysia and Thailand: Elucidating geographical venom variation and insights into sequence novelty. *PeerJ* **2017**, *2017*, doi:10.7717/peerj.3142.
  58. Sevilla-Sánchez, M.J.; Mora-Obando, D.; Calderón, J.J.; Guerrero-Vargas, J.A.; Ayerbe-González, S. Accidente ofídico en el departamento de Nariño, Colombia: análisis retrospectivo, 2008-2017. *Biomedica* **2019**, *39*, 715–736, doi:10.7705/biomedica.4830.
  59. De Queiroz, K. Toward an integrated system of clade names. *Syst. Biol.* **2007**, *56*, 956–974, doi:10.1080/10635150701656378.
  60. Wolff, J.; Krebs, C.J. Hypothesis testing and scientific method revised. *Acta Zool. Sin.* **2008**, *54*, 383–386.
  61. Mayden, R. A hierarchy of species concepts: the denouement in the saga of the species problem. In *Species: The Units of Diversity*; Claridge, M., Dawah, H. Wilson, M., Eds.; Chapman and Hall: London, **1997**; pp. 381–423.
  62. Naomi, S.I. On the integrated frameworks of species concepts: Mayden's hierarchy of species concepts and de Queiroz's unified concept

- of species. *J. Zool. Syst. Evol. Res.* **2011**, *49*, 177–184, doi:10.1111/j.1439-0469.2011.00618.x.
63. Sites Jr, J.; Myers, E.; Ruane, S. Species delimitation and integrative taxonomy: Challenges and opportunities in snake systematics. In *Advances in Coralsnake Biology: with Emphasis on South America*; da Silva Jr, N., Porras, L., Aird, S., da Costa Prudente, A.L., Eds.; PUC Goiás, Eagle Mountain Publishing: Goiás, **2021**; pp. 1–36 ISBN 9780972015462.
  64. Bravo-Vega, C.I.; Santos-Vega, M.I.; Manuel Cordovez, J.I. Disentangling snakebite dynamics in Colombia: How does rainfall and temperature drive snakebite temporal patterns? *PLoS Negl. Trop. Dis.* **2022**, *16*, e0010270, doi:10.1371/JOURNAL.PNTD.0010270.
  65. Pesantes, O. A Method for Preparing the Hemipenis of Preserved Snakes. *J. Herpetol.* **1994**, *28*, 93–95.
  66. Carrasco, P.A.; Mattoni, C.I.; Leynaud, G.C.; Scrocchi, G.J. Morphology, phylogeny and taxonomy of South American bothropoid pitvipers (Serpentes, Viperidae). *Zool. Scr.* **2012**, *41*, 109–124, doi:10.1111/j.1463-6409.2011.00511.x.
  67. Porto, M.; de Oliveira, M.A.; Pissinatti, L.; Rodrigues, R.L.; Rojas-Moscoso, J.A.; Cogo, J.C.; Metzke, K.; Antunes, E.; Nahoum, C.; Mónica, F.Z.; et al. The Evolutionary Implications of Hemipenial Morphology of Rattlesnake *Crotalus durissus terrificus* (Laurent, 1768) (Serpentes: Viperidae: Crotalinae). *PLoS One* **2013**, *8*, doi:10.1371/journal.pone.0066903.
  68. Fenwick, A.M.; Gutberlet, R.L.; Evans, J.A.; Parkinson, C.L. Morphological and molecular evidence for phylogeny and classification of South American pitvipers, genera *Bothrops*, *Bothriopsis*, and *Bothrocophias* (serpentes: Viperidae). *Zool. J. Linn. Soc.* **2009**, *156*, 617–640, doi:10.1111/j.1096-3642.2008.00495.x.
  69. Barbo, F.E.; Gasparini, J.L.; Almeida, A.P.; Zaher, H.; Grazziotin, F.G.; Gusmão, R.B.; Ferrarini, J.M.G.; Sawaya, R.J. Another new and threatened species of lancehead genus *Bothrops* (Serpentes, Viperidae) from Ilha dos Franceses, Southeastern Brazil. *Zootaxa* **2016**, *4097*, 511–529, doi:10.11646/zootaxa.4105.5.7.
  70. Timms, J.; Chaparro, J.C.; Venegas, P.J.; Salazar-Valenzuela, D.; Scrocchi, G.; Cuevas, J.; Leynaud, G.; Carrasco, P.A. A new species of pitviper of the genus *Bothrops* (Serpentes: Viperidae: Crotalinae) from the Central Andes of South America. *Zootaxa* **2019**, *4656*, 99–120, doi:10.11646/zootaxa.4656.1.4.
  71. Carrasco, P.A.; Grazziotin, F.G.; Cruz Farfán, R.S.; Koch, C.; Antonio Ochoa, J.; Scrocchi, G.J.; Leynaud, G.C.; Chaparro, J.C. A new species of *Bothrops* (Serpentes: Viperidae: Crotalinae) from Pampas del Heath, southeastern Peru, with comments on the systematics of the *Bothrops neuwiedi* species group. *Zootaxa* **2019**, *4565*, 301–344, doi:10.11646/zootaxa.4565.3.1.
  72. Dal Vechio, F.; Prates, I.; Grazziotin, F.G.; Graboski, R.; Rodrigues, M.T. Molecular and phenotypic data reveal a new Amazonian species of pitvipers (Serpentes: Viperidae: *Bothrops*). *J. Nat. Hist.* **2020**, *54*, 2415–2437, doi:10.1080/00222933.2020.1845835.
  73. Fujita, M.K.; Leaché, A.D.; Burbrink, F.T.; McGuire, J.A.; Moritz, C. Coalescent-based species delimitation in an integrative taxonomy. *Trends Ecol. Evol.* **2012**, *27*, 480–488, doi:10.1016/j.tree.2012.04.012.

74. Struck, T.H.; Feder, J.L.; Bendiksbj, M.; Birkeland, S.; Cerca, J.; Gusev, V.I.; Kistenich, S.; Larsson, K.H.; Liow, L.H.; Nowak, M.D.; et al. Finding Evolutionary Processes Hidden in Cryptic Species. *Trends Ecol. Evol.* **2018**, *33*, 153–163, doi:10.1016/j.tree.2017.11.007.
75. Mones, A. Nomen dubium vs. nomen vanum. *J. Vertebr. Paleontol.* **1989**, *9*, 232–234, doi:10.1080/02724634.1989.10011757.
76. Folleco-Fernández, A.J. Taxonomía del complejo *Bothrops asper* (Serpentes: Viperidæ) en el sudoeste de Colombia. Revalidación de la especie *Bothrops rhombeatus* (García 1896) y descripción de una nueva especie. *Revisita Noved. Colombiana* **2010**, *10*, 33–70.
77. Ramírez-Chaves, H.E.; Solari, S. *Bothrops ayerbei* folleco-fernández, 2010 y *Bothrops rhomboatus* García, 1896 (serpentes: Viperidae) son un nombre no disponible y un Nomen Dubium, respectivamente. *Bol. Cient. del Cent. Museos* **2014**, *18*, 138–141.
78. Mora-Obandoid, D.; Plaid, D.; Lomonteid, B.; Guerrero-Vargasid, J.A.; Ayerbe, S.; Calveteid, J.J. Antivenomics and in vivo preclinical efficacy of six Latin American antivenoms towards south-western Colombian *Bothrops asper* lineage venoms. *PLoS Negl. Trop. Dis.* **2021**, *15*, e0009073, doi:10.1371/JOURNAL.PNTD.0009073.
79. Mora-Obando, D.; Guerrero-Vargas, J.A.; Prieto-Sánchez, R.; Beltrán, J.; Rucavado, A.; Sasa, M.; Gutiérrez, J.M.; Ayerbe, S.; Lomonte, B. Proteomic and functional profiling of the venom of *Bothrops ayerbei* from Cauca, Colombia, reveals striking interspecific variation with *Bothrops asper* venom. *J. Proteomics* **2014**, *96*, 159–172, doi:10.1016/j.jprot.2013.11.005.
80. Salazar-Valenzuela, D.; Kuch, U.; Torres-Carvajal, O.; Valencia, J.H.; Gibbs, H.L. Divergence of tropical pitvipers promoted by independent colonization events of dry montane Andean habitats. *J. Biogeogr.* **2019**, *46*, 1826–1840, doi:10.1111/jbi.13661.
81. Bernarde, P.S.; Turci, L.C.B.; Abegg, A.D.; Franco, F.L. A remarkable new species of coral snake of the *Micrurus hemprichii* species group from the Brazilian amazon. *Salamandra* **2018**, *54*, 249–258.
82. Schmidt, K.P. Hemprich's Coral snake, *Micrurus hemprichii*. *Fieldiana Zool.* **1953**, *34*, 165–170.
83. Feitosa, D.; Prudente, A.L.D.C.; da Silva-Jr, N.J.; Pires, M.G. Análise taxonômica do complexo *Micrurus hemprichii* (Jan, 1858) (Serpentes, Elapidae). In Proceedings of the IX Congresso Latinoamericano de herpetologia, Curitiba, 2011; p. 23.
84. Valencia, J.; Garzón-Tello, K.; Barragán-Paladines, M. *Serpientes Venenosas del Ecuador*; Fundación Herpetológica Gustavo Orcés: Quito, **2016**; ISBN 9789942216632.
85. Ayerbe-González, S.; Condiza-Benavides, G.E.; Sevilla-Sánchez, M.J. Primer registro de accidentes ofídicos por mordedura de *Micrurus ortoni* y *Micrurus hemprichii* (Serpentes: Elapidae) en Colombia y Perú. *Biomédica* **2021**, *41*, 631–642.
86. Duellman, W.E. A monographic study of the colubrid snake genus *Leptodeira*. Bulletin of american museum natural history. *Bull. Am. museum Nat. Hist.* **1958**, *114*, 1–152.
87. Daza, J.M.; Smith, E.N.; Paez, V.P.; Parkinson, C.L. The origen and diversificación of the widespread genus *Leptodeira* (Serpentes:Colubri-

- dae). *Molecular Phylogenetics Evol.* **2009**, 53, 653–667, doi:<https://doi.org/10.1016/j.ympev.2009.07.022>.
88. Torres-Carvajal, O.; Sánchez-Nivicela, J.C.; Posse, V.; Celi, E.; Koch, C. A new species of cat-eyed snake (Serpentes: Dipsadinae: Leptodeirini) from the Andes of southern Ecuador. *Zootaxa* **2020**, 4895, 357–380, doi:10.11646/zootaxa.4895.3.3.
  89. Mendoza, I. Defensive behavior in *Leptodeira annulata ashmeadii* (Hallowell, 1845). *Herpetotropicos* **2008**, 5, 67.
  90. Lopes, D.; Nomura, F. *Leptodeira annulata* ( Banded Cat-eyed snake ). Diet. *Herpetol. Rev.* **2014**, 45, 145.
  91. Costa, W.P.; de Andrade, F.S. Predation behaviour of *Leptodeira annulata* Linnaeus, 1758 (Serpentes: Dipsadidae) on *Physalaemus cuvieri* fitzinger, 1826 (Anura, Leptodactylidae). *Herpetol. Notes* **2020**, 13, 457–459.
  92. Yáñez, G.; Chuquimarca, E. Dieta de *Leptodeira* (Colubridae: Serpentes) (Fitzinger 1843) en Ecuador y notas ecológicas de una población de *L. septentrionalis larcorum* (Kennicott 1859) en Zapotillo-Loja, Ecuador, Universidad Central Del Ecuador, **2020**.
  93. Daza, J.M.; Smith, E.N.; Páez, V.P.; Parkinson, C.L. Complex evolution in the Neotropics: The origin and diversification of the widespread genus *Leptodeira* (Serpentes: Colubridae). *Mol. Phylogenet. Evol.* **2009**, 53, 653–667, doi:10.1016/j.ympev.2009.07.022.
  94. Barrio-Amorós, C.L. On the taxonomy of snakes in the genus *Leptodeira*, with an emphasis on Costa Rican species. *Reptil. Amphib.* **2019**, 26, 1–15, doi:10.17161/RANDA.V26I1.14321.
  95. Costa, J.C.L.; Graboski, R.; Graziotin, F.G.; Zaher, H.; Rodrigues, M.T.; Prudente, A.L. da C. Reassessing the systematics of *Leptodeira* (Serpentes, Dipsadidae) with emphasis in the South American species. *Zool. Scr.* **2022**, 51, 415–433, doi:<https://doi.org/10.1111/zsc.12534>.
  96. de Albuquerque, N.R.; Galatti, U.; Di-Bernardo, M. Diet and feeding behaviour of the Neotropical parrot snake (*Leptophis ahaetulla*) in northern Brazil. <https://doi.org/10.1080/00222930701400954> **2010**, 41, 1237–1243, doi:10.1080/00222930701400954.
  97. Clegg, J.R. *Leptophis ahaetulla marginatus* (Southern green parrot snake): Behaviour. *Herpetol. Bull.* **2015**, 26–27.
  98. Sánchez, M.N.; Teibler, G.P.; López, C.A.; Mackessy, S.P.; Peichoto, M.E. Assessment of the potential toxicological hazard of the Green Parrot Snake (*Leptophis ahaetulla marginatus*): Characterization of its venom and venom-delivery system. *Toxicon* **2018**, 148, 202–212, doi:10.1016/j.toxicon.2018.04.027.
  99. de Albuquerque, N.R. New records of *Leptophis ahaetulla ahaetulla* (Serpentes, Colubridae) for Venezuela, Colombia and the placement of *L. a. copei* into the synonymy of *L. a. ahaetulla*. *Biota Neotrop.* **2009**, 9, 293–296, doi:10.1590/s1676-06032009000400035.
  100. Albuquerque, N.R. De Revisão Taxonômica das subespécies de *Leptophis ahaetulla* (Linnaeus, 1758) (Serpentes, Colubridae), Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, **2008**.
  101. Torres-Carvajal, O.; Terán, C. Molecular phylogeny of Neotropical Parrot Snakes (Serpentes: Colubrinae: *Leptophis*) supports underestimated species richness. *Mol. Phylogenet. Evol.* **2021**, 164, 107267, doi:10.1016/j.ympev.2021.107267.

102. Oliver, J.A. A check list of the snakes of the genus *Leptophis*, with descriptions of new forms. *Occas. Pap. Museum Zool. Univ. Michigan* **1942**, 1942, 1–19.
103. Ottley, J.R.; Packheiser, J.N.; Yang, C.M.; Henderson, R.W.; Mountains, R.; Beardsley, E. Reproduction and Feeding in *Eridiphas slevini* (Serpentes: Colubridae). *Herpetol. Rev.* **1982**, *13*, 8–9.
104. Mesquita, P.C.M.D.; Borges-Nojosa, D.M.; Passos, D.C.; Bezerra, C.H. Activity patterns of the Brown Vine snake *Oxybelis aeneus* (Wagler, 1824) (Serpentes, Colubridae) in the Brazilian semiarid. *Anim. Biol.* **2012**, *62*, 289–299, doi:10.1163/157075611X618228.
105. Goldberg, S.R. *Oxybelis aeneus* (Brown vine snake). Reproduction. *Oxybelis aeneus* (Bejuquilla café). Reproducción. *Herpetol. Rev.* **2005**, *36*, 70.
106. Almeida, L. de S.; da Silva, A.W.O.; Trevine, V.C. Two new records of predation by *Oxybelis fulgidus* (Squamata: Colubridae) in the northern region of Brazil. *Herpetol. Notes* **2020**, *13*, 283–289.
107. Toro-orozco, W. Del; Montanarin, A.; Ramalho, E.E.; Kaefer, I.L. Predation by the green vinesnake *Oxybelis fulgidus* on the diving lizard *Uranoscodon superciliosus*. *Herpetol. Notes* **2021**, *14*, 591–592.
108. Ramalho, W.P.; Batista, V.G.; Lozi, L.R.P. Anfíbios e répteis do médio rio Aporé, estados de Mato Grosso do Sul e Goiás, Brasil. *Neotrop. Biol. Conserv.* **2014**, *9*, 147–160, doi:10.4013/nbc.2014.93.04.
109. Pinheiro Miranda, J.; Lopes Costa, J.C.; Micheletto Scarpa, F.; Rocha, C.F.D. Predation on *Columbina squammata* (Aves: Columbidae) by the Green Vine Snake *Oxybelis fulgidus* (Serpentes: Colubridae) at the Lençóis Maranhenses National Park, Maranhão, Brazil. *Herpetol. Notes* **2013**, *6*, 187–188.
110. Norris, J.L.; Burt, E.H. *Oxybelis fulgidus* (Green Vine Snake or Bejuquillo). Feeding. *Herpetol. Rev.* **1998**, *29*, 243.
111. Roveri Scartozzoni, R.; Da Graça Salomão, M.; De Almeida-Santos, S.M. Natural History of the Vine Snake *Oxybelis fulgidus* (Serpentes, Colubridae) From Brazil. *South Am. J. Herpetol.* **2009**, *4*, 81–89, doi:10.2994/057.004.0111.
112. Jadin, R.C.; Jowers, M.J.; Orlofske, S.A.; Duellman, W.E.; Blair, C.; Murphy, J.C. A new vine snake (Reptilia, Colubridae, *Oxybelis*) from Peru and redescription of *O. acuminatus*. *Evol. Syst.* **2021**, *5*, 1–12, doi:10.3897/evolsyst.5.60626.
113. Jadin, R.C.; Blair, C.; Orlofske, S.A.; Jowers, M.J.; Rivas, G.A.; Vitt, L.J.; Ray, J.M.; Smith, E.N.; Murphy, J.C. Not withering on the evolutionary vine: systematic revision of the Brown Vine Snake (Reptilia: Squamata: *Oxybelis*) from its northern distribution. *Org. Divers. Evol.* **2020**, *20*, 723–746, doi:10.1007/s13127-020-00461-0.
114. Jadin, R.C.; Blair, C.; Jowers, M.J.; Carmona, A.; Murphy, J.C. Hiding in the lianas of the tree of life: Molecular phylogenetics and species delimitation reveal considerable cryptic diversity of New World Vine Snakes. *Mol. Phylogenet. Evol.* **2019**, *134*, 61–65, doi:10.1016/j.ympev.2019.01.022.
115. Garman, S. The reptiles and batrachians of North America. *Mem. Museum Comp. Zoölogy* **1883**, *8*, 184.
116. Angarita-Sierra, T.; Cubides-Cubillos, S.D.; Hurtado-Gómez, J.P. Hidden in the highs: Two new species of the enigmatic toadheaded pi-

- tvipers of the genus *Bothrocophias*. *Vertebr. Zool.* **2022**, 72, 971–996, doi:10.3897/vz.72.e87313.
117. Hernández-Camacho, J.I.; Alvarez-León, R.; Renjifo-Rey, J.M. Pelagic sea snake *Pelamis Platurus* (Linnaeus, 1766) (Reptilia: Serpentes: Hydrophidae) is found on the Caribbean Coast of Colombia. *Mem. la Fund. La Salle Ciencias Nat.* **2006**, 164, 7–16.
  118. Briski, E.; Gollasch, S.; David, M.; Linley, R.D.; Casas-Monroy, O.; Rajakaruna, H.; Bailey, S.A. Combining Ballast Water Exchange and Treatment to maximize prevention of species introductions to freshwater Ecosystems. *Environ. Sci. Technol.* **2015**, 49, 9566–9573, doi:10.1021/ACS.EST.5B01795/SUPPL\_FILE/ES5B01795\_SI\_001.PDF.
  119. Tavares Feitosa, D.; Godoy-Pires, M.; da Costa Prudente, A.; da Silva Jr., N. Distribution extension in Colombia and new records for Brazil of *Micrurus isozonus* (Cope, 1860) (Squamata, Serpentes, Elapidae). *Check List* **2013**, 9, 1108–1112.
  120. Castro-Herrera, F.; Vargas-Salinas, F. Anfibios y reptiles en el departamento del Valle del Cauca, Colombia. *Biota Colomb.* **2008**, 9, 251–277.
  121. Jowers, M.J.; Smart, U.; Sánchez-Ramírez, S.; Murphy, J.C.; Gómez, A.; Bosque, R.J.; Sarker, G.C.; Noonan, B.P.; Faria, J.F.; Harris, D.J.; et al. Unveiling underestimated species diversity within the Central American Coralsnake, a medically important complex of venomous taxa. *Sci. Rep.* **2023**, 13, 1–12, doi:10.1038/s41598-023-37734-5.
  122. Dunn, E. The amphibians and reptiles of the Caribbean islands of San Andres and Providencia. *Caldasia* **1945**, 3, 363–365.
  123. Dunn, E.; Saxe, H. Results of the Catherwood-Chaplin West Indies Expedition. Part V. Amphibians and Reptiles of San Andrés and Providencia. *Proc. Acad. Nat. Sci. Philadelphia* **1948**, 141–165.
  124. McNish, T. *La fauna del Archipiélago de San Andrés, Providencia y Santa Catalina, Colombia, Sudamérica*; M&B Producciones y Servicios Ltda: Bogotá, **2011**; ISBN 978-958-99518-1-1.
  125. Werner, F. Ueber Reptilien und Batrachier aus Ecuador und Neu-Guinea. *Verhandlungen der Kais. Zool. Gesellschaft Wien* **1901**, 51, 593–614.
  126. Roze, J. Notes on taxonomy of venomous coral snakes (Elapidae) of South America. *Bull. Maryl. Herpetol. Soc.* **1994**, 30, 177–1985.
  127. Maritz, R.A.; Maritz, B. Sharing for science: High-resolution trophic interactions revealed rapidly by social media. *PeerJ* **2020**, 2020, doi:10.7717/peerj.9485.
  128. Barrera-ocampo, F.; Renjifo, J.M. Occurrence of Anchor Coralsnake, *Micrurus ancoralis* (Jan, 1872) (Squamata: Elapidae) confirmed in the Magdalena River Valley of Colombia, with novel citizen science distribution records. *Anartia* **2024**, 38, 11–22.
  129. CORANTIOQUIA *Programa nacional para la conservación de serpientes en Colombia*; **2008**.
  130. Morales-Betancourt, M.; Lasso, C.A.; Paez, V.P.; Bock, B.C. *Libro rojo de reptiles de Colombia*; Morales-Betancourt, M., Lasso, C.A., Paez, V.P., Bock, B.C., Eds.; Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, Universidad de Antioquia: Bogotá, **2015**; ISBN 9789588889795.
  131. IUCN *Summary of the five criteria use to evaluate if a taxon in an IUCN red list threatened category*; **2012**.

132. MADS [Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible] *Resolución No. 0126 de 2024*; Colombia, **2024**; p. 69.
133. Caicedo-Portilla, J.R.; Lynch, J.D. *Micrurus medemi*. In *Libro rojo de reptiles de Colombia (2015)*.; Orales-Betancourt, M.A., Lasso, C.A., Páez, V.P., Bock, B.C., Eds.; Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt (IAvH), Universidad de Antioquia: Bogotá, **2015**; pp. 98–100 ISBN 978-958-888-979-5.
134. Urbina-Cardona, N.; Acosta, L.S.; Camacho-Rozo, C.P.; Peña, A.R.A.; Arenas-Rodríguez, A.; Albarracín-Caro, J.F.; Moreno-Cabal, A.M.; Novoa-Salamanca, N.M.; Camacho-Durán, M.J.; Echeverry, N.G.; et al. Scientific production on herpetology in Colombia: perspectives from research topics towards biological conservation. *Caldasia* **2023**, *45*, 1–20, doi:10.15446/caldasia.v45n1.97216.
135. Angarita-Sierra, T. Demographic analysis of snake killing as a conservation threat: study case for a population of *Ninia atrata*, Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá, **2017**.
136. Rincón-Aranguri, M.; Toro-Cardona, F.A.; Galeano, S.P.; Roa-Fuentes, L.; Urbina-Cardona, N. Functional diversity of snakes is explained by the landscape composition at multiple areas of influence. *Ecol. Evol.* **2023**, *13*, e10352, doi:10.1002/ece3.10352.
137. López-Herrera, D.F.; León-Yusti, M.; Guevara-Molina, S.C.; Vargas-Salinas, F. Reptiles in biological corridors and roadkills in Barbas-Bremen, Quindío, Colombia. *Rev. la Acad. Colomb. Ciencias Exactas, Fis. y Nat.* **2016**, *40*, 484–493, doi:10.18257/raccefyn.334.
138. Vera-Pérez, L.E.; Zúñiga-Baos, J.A.; Ayerbe-González, S. *Reptiles del Parque Nacional Natural Munchique, Colombia*; 2018;
139. Zúñiga-Baos, J.A.; Vera-Pérez, L.E. Mortalidad de serpientes en la vía El valle de Toledo-Toledo, Antioquia –Colombia. *Rev. Colomb. Cienc. Anim. - RECIA* **2020**, *12*, 745, doi:10.24188/recia.v12.n1.2020.745.
140. Zúñiga-Baos, J.A. Mortalidad de serpientes en el área urbana del municipio Neira, Caldas, Colombia. *Rev. Colomb. Cienc. Anim. - RECIA* **2023**, *15*, e968, doi:10.24188/recia.v15.n1.2023.968.
141. Muñoz-Avila, J.A.; Bedoya-Cañon, M.A.; Díaz-Pérez, C.N.; Vargas-Salinas, F. Roadkills give us information about the reproductive biology of the snake *Boa constrictor* (Linnaeus 1758). *Herpetol. Notes* **2014**, *7*, 761–762.
142. Zinsstag, J.; Waltner-Toews, D.; Tanner, M. Theoretical issues of one health. In *One Health. The Theory and Practice of Integrated Health Approaches*; Zinsstag, J., Schelling, E., Waltner-Toews, D., Whitaker, M., Tanner, M., Eds.; CABI: Croydon, **2015**; pp. 16–25 ISBN 9781780643410.
143. Machalaba, C.C.; Daszak, P.; Karesh, W.B.; Shrivastava, P. Future Earth and EcoHealth: A New Paradigm Toward Global Sustainability and Health. *Ecohealth* **2015**, *12*, 553–554, doi:10.1007/s10393-015-1076-6.
144. Gutiérrez, J.M. Snakebite envenoming from an Ecohealth perspective. *Toxicon X* **2020**, *7*, doi:10.1016/j.toxcx.2020.100043.
145. Harrison, S.; Kivuti-Bitok, L.; Macmillan, A.; Priest, P. EcoHealth and One Health: A theory-focused review in response to calls for convergence. *Environ. Int.* **2019**, *132*, 105058, doi:10.1016/j.envint.2019.105058.
146. Martínez-López, O. La taxonomía integral y su importancia para la conservación. *Cienc. Conserv.* **2015**, *6*, 54–65.

147. Page, M.J.; McKenzie, J.E.; Bossuyt, P.M.; Boutron, I.; Hoffmann, T.C.; Mulrow, C.D.; Shamseer, L.; Tetzlaff, J.M.; Akl, E.A.; Brennan, S.E.; et al. The PRISMA 2020 statement: An updated guideline for reporting systematic reviews. *BMJ* **2021**, *372*, 1–9, doi:10.1136/bmj.n71.
148. Rowe, G.; Wright, G. Expert opinions in forecasting: The role of the Delphi Technique. In *Principles of Forecasting*; Armstrong, J., Ed.; Kluwer Academic: Boston, **2001**; pp. 125–144.
149. Reyes-Velasco, J. A revision of recent taxonomic changes to the eyelash palm pitviper (Serpentes, Viperidae, *Bothriechis schlegelii*). *Herpetozoa* **2024**, *37*, 1–14, doi:10.3897/herpetozoa
150. de Albuquerque N.R.; Fernandes D.S. Taxonomic revision of the parrot snake *Leptophis ahaetulla* (Serpentes, Colubridae). *Zootaxa*. **2022**, *5153*(1):1-69. doi: 10.11646/zootaxa.5153.1.1.



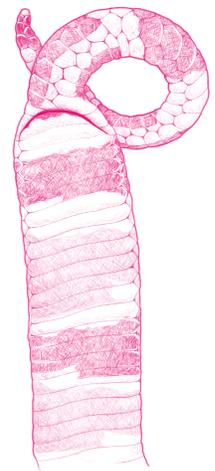
# Capítulo 2

## Linajes, variabilidad del veneno y señales de advertencia en las serpientes coral del Nuevo Mundo

Juan David Bayona-Serrano, Chris Akcali, Juan Pablo Hurtado-Gómez, Teddy Angarita-Sierra

**Resumen:** Las serpientes coral del género *Micrurus* son el grupo de elápidos más diverso de América. Sus potentes venenos neurotóxicos han sido ampliamente estudiados, y varias de sus toxinas, particularmente las que presentan actividad neurotóxica, han sido caracterizadas. No obstante, el conocimiento en torno a la composición y variabilidad de las toxinas de sus venenos es aún fragmentario y pobremente conocido para la mayoría de las especies del género. En este capítulo analizamos la información disponible sobre los venenos de las serpientes coral, mostrando que, a la fecha, no se comprende con claridad los factores que impulsan su variabilidad inter e intraespecífica. En consecuencia, para futuros estudios se recomienda tomar una amplia muestra de venenos del mayor número de especies posible y cobertura geográfica, con miras a incrementar la representatividad, así como la detección de compuestos y propiedades únicas. Las corales también son conocidas por su patrón de anillos de colores brillantes, los cuales por más de 100 años se ha asumido que funcionan como señales de advertencia de su toxicidad y peligro (aposematismo), para las aves y mamíferos que las predan. Sin embargo, trabajos recientes sugieren que la hipótesis del aposematismo presenta serios problemas y limitaciones a lo hora de explicar con robustez el patrón de coloración de estas serpientes. Aquí discutimos la evidencia a favor y en contra de esta hipótesis desde la perspectiva de un herpetólogo de campo, considerando hipótesis alternativas acerca de la función defensiva de los patrones de anillos de colores brillantes de estas serpientes.

**Palabras clave:** Elapidae, Toxinas de tres dedos, Veneno, Evolución, Aposematismo.



Citación: Bayona-Serrano JD; Akcali C; Hurtado-Gómez JP; Angarita-Sierra T. Capítulo 2. Linajes, variabilidad del veneno y señales de advertencia en las serpientes coral del Nuevo Mundo. En: *Mordeduras, venenos y serpientes venenosas de Colombia*; Angarita-Sierra, T., Ruiz-Gómez, F.J, Eds.; Instituto Nacional de Salud: Bogotá D.C., Colombia, 2024; pp. 91-124. doi:10.33610/766309uzpmic



Copyright: © 2024 por los autores. Publicación de acceso abierto bajo los términos y condiciones de licenciamiento Creative Commons Atribución (CC BY-NC-ND 4.0) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Ilustraciones por:  
Oscar A. Ramírez Ruiz

## 1. Introducción

La familia Elapidae es un grupo diverso de serpientes venenosas, con aproximadamente 390 especies, las cuales en su mayoría se distribuyen en los trópicos [1–4]. En América, la familia está representada por un clado monofilético que contiene las serpientes coral (géneros *Micruroides* y *Micrurus*) y la especie marina *Hydrophis platurus* [1–4]. Las serpientes coral comprenden cerca de 90 especies y se distribuyen desde Estados Unidos hasta Argentina, estando ausentes en Chile y la mayoría de las islas del Caribe [1,2].

El género *Micruroides* es el linaje de serpientes coral distribuido más al norte del continente americano, siendo *M. euryxanthus* la única especie reconocida para el género y con una distribución restringida a México y los Estados Unidos de América [1,2]. El género *Micrurus* es el más diverso de la familia Elapidae [1,2]; la mayoría de sus especies se encuentran en América del Sur, siendo Brasil y Colombia los países con la mayor diversidad de especies de *Micrurus* (~ 30 especies cada uno) [1,2,5].

Las corales son ampliamente reconocidas por ser altamente venenosas, así como por sus patrones de anillos de colores brillantes. En general, sus anillos presentan tres colores que normalmente incluyen un color claro (blanco o amarillo), un color brillante (rojo o naranja) y un color contrastante (negro o vino tinto muy oscuro). No obstante, algunas especies pueden presentar patrones de color atípicos, o anillos incompletos [5–8]. De forma general, se reconocen cuatro tipos de disposición de anillos entre las serpientes de coral del género *Micrurus*, que se correlacionan con los linajes en su árbol filogenético [2,5,6]. Las disposiciones de los anillos descritas a continuación corresponden al patrón de coloración del cuerpo (dorso y vientre) de las serpientes coral, las cuales pueden variar, presentarse o no, en las superficies dorsales de la cabeza y cola (Figura 1).

1. *Bicolor*: anillos en el cuerpo dispuestos en dos colores, alternando el negro con un color claro o brillante (blanco o amarillo). La cabeza y la cola en estas especies normalmente tienen anillos negros dispuestos entre un color brillante (rojo o naranja).
2. *Mónadas*: anillos en el cuerpo de tres colores, con un anillo negro entre los anillos de colores brillantes (rojo, amarillo o naranja), y separados de estos por anillos de colores claros. La cabeza y la cola en estas especies normalmente tienen anillos de color claro y negro. El nombre de este patrón de color hace referencia a la cantidad de anillos negros (uno) entre los de colores brillantes. Este patrón de color ha evolucionado de forma independiente en *Micruroides*, un clado monofilético de *Micrurus* (Figura 2).
3. *Tríadas*: anillos en el cuerpo dispuestos en tres colores, con tres anillos negros, separados por anillos de colores claros, que se encuentran juntos entre los anillos brillantes. La disposición de los anillos de la cabeza y la cola varía, pero normalmente es similar a la del cuerpo. El nombre de este patrón de coloración hace referencia al número de anillos negros (tres) entre los de colores brillantes. Este patrón de color ocurre de forma independiente en los linajes sudamericano, así como en dos especies centroamericanas.

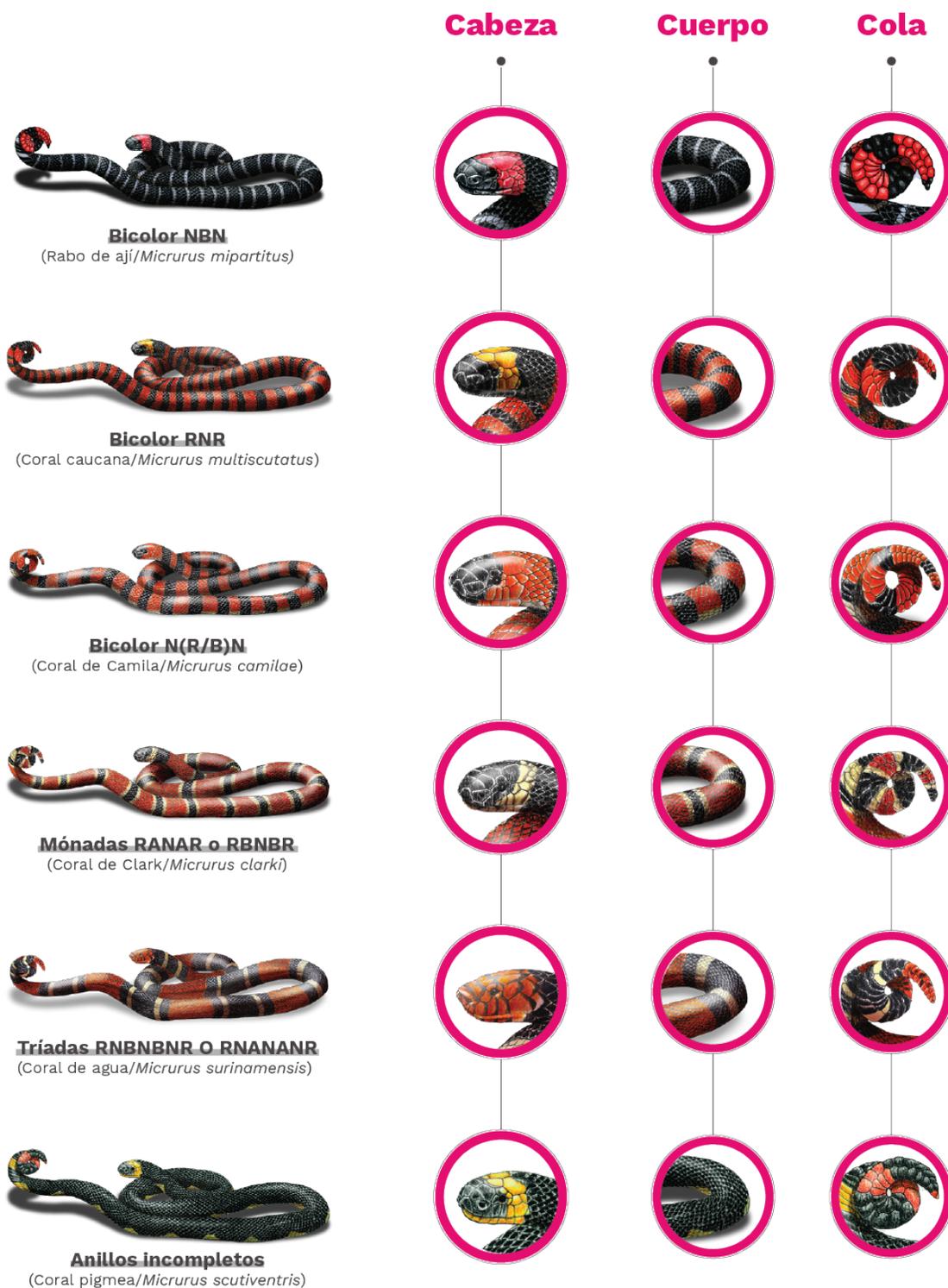
4. *Anillos incompletos*: este patrón es casi idéntico al patrón bicolor, pero presenta anillos claros a lo largo del cuerpo, que se acortan hacia el dorso con formas ovoides y normalmente no están completos; la coloración dorsal es principalmente negra. Este patrón ocurre en un grupo de especies conocidas como serpientes de coral pigmeas, que anteriormente estaban agrupadas en un género diferente, *Leptomicrurus*.

El veneno de las serpientes coral es principalmente neurotóxico, induce un bloqueo neuromuscular que provoca la muerte de su presa por paro respiratorio [9]. Estos venenos exhiben una heterogeneidad moderada en su composición en comparación con los venenos de vipéridos y colúbridos. Sin embargo, contienen una amplia gama de toxinas que varían entre 4 y 24 familias de toxinas por especies [2,4,5,9,10]. Las fosfolipasas  $A_2$  (PLA<sub>2</sub>) y las toxinas de tres dedos (3FTx) son los principales componentes de estos venenos. Principalmente, las PLA<sub>2</sub> median la neurotoxicidad presináptica, mientras que las 3FTx se asocian principalmente a efectos tóxicos postsinápticos [2]. Una de estas familias de toxinas suele ser dominante sobre la otra en casi todas las especies de serpientes coralinas, y esto crea una dicotomía fenotípica entre las especies [2,9,11].

Se ha sugerido que la dominancia de estas dos proteínas responde a un gradiente geográfico latitudinal, en la cual las corales del género *Micrurus* del hemisferio Norte tienen venenos dominados por PLA<sub>2</sub>, mientras que en las especies distribuidas en el hemisferio Sur predominan las 3FTx [9,11]. Esta hipótesis ha sido objeto de debate reciente, dado que algunos estudios han proporcionado evidencia contradictoria [2,12]. Asimismo, como mostraremos en este capítulo, el patrón geográfico de la relación PLA<sub>2</sub>/3FTx se desdibuja cuando se enfrenta a un mayor muestreo poblacional y al aumento de la riqueza de especies en los análisis. Sin embargo, no se ha propuesto una hipótesis evolutiva alternativa para explicar la dicotomía fenotípica observada.

Las relaciones filogenéticas del género *Micrurus* han sido discutidas en varios estudios [3,6,13-16], pero los avances en su comprensión son lentos debido a los desafíos asociados con la alta diversidad del grupo y la naturaleza críptica de la mayoría de las especies [6,14,15]. En general, la mayor parte de los estudios sugieren que las serpientes coral de mónadas forman un grupo monofilético, al igual que las serpientes sudamericanas de triadas y bicolor en conjunto [13-15]. En contraste, las serpientes de coral pigmeas (corales de anillos incompletos), así como las especies centroamericanas de triadas (p. ej., *M. elegans*) aún no cuentan con consenso sobre su relación filogenética y monofilia, principalmente debido a la escasez de muestras y baja resolución genética [15,17].

En este capítulo, proponemos una hipótesis filogenética para las serpientes coral del género *Micrurus* utilizando secuencias publicadas, contrastando si la composición del veneno está asociada con patrones filogenéticos y geográficos. También revisamos la evidencia a favor y en contra de la antigua hipótesis de que los patrones de color de las serpientes coral funcionan como señales de advertencia, discutiendo las explicaciones alternativas para la función de los patrones de coloración en estas serpientes.



**Figura 1.** Patrones generales de la coloración corporal en las serpientes coral colombianas. Bicolor NBN (*Micrurus mipartitus*): Patrón bicolor con anillos alternados negros y blancos. Bicolor RNR (*Micrurus multiscutatus*): Patrón bicolor con anillos alternados rojos y negros. Bicolor N(R/B)N (*Micrurus camilae*): Patrón bicolor con alternancia de anillos rojos y negros en el dorso, y anillos blancos y negros en la región ventrolateral. Mónadas RANAR o RBNBR: Patrón mónadas con anillos rojos separados de los negros, alternando con anillos blancos o amarillos. Triadas RNANANR o RBNBNR (*Micrurus surinamensis*): Patrón de triadas con anillos rojos alternando con anillos blancos o amarillos. Anillos incompletos (*Micrurus scutiventris*): Anillos claros incompletos a lo largo del cuerpo, que se estrechan hacia el dorso y normalmente no son completos; la coloración dorsal es principalmente negra. Acrónimos (en español): NBN: Negro/Blanco/Negro. RNR: Rojo/negro/Rojo. N(R/B)N: Negro/mitad rojo y mitad blanco/Negro. RANAR: Rojo/Amarillo/Negro/Amarillo/Rojo. RBNBR: Rojo/Blanco/Negro/Blanco/Rojo. RBNBNR: Rojo/Negro/Blanco/Negro/Blanco/Negro/Rojo. RNANANR: Rojo/Negro/Amarillo/Negro/Amarillo/Negro/Rojo.

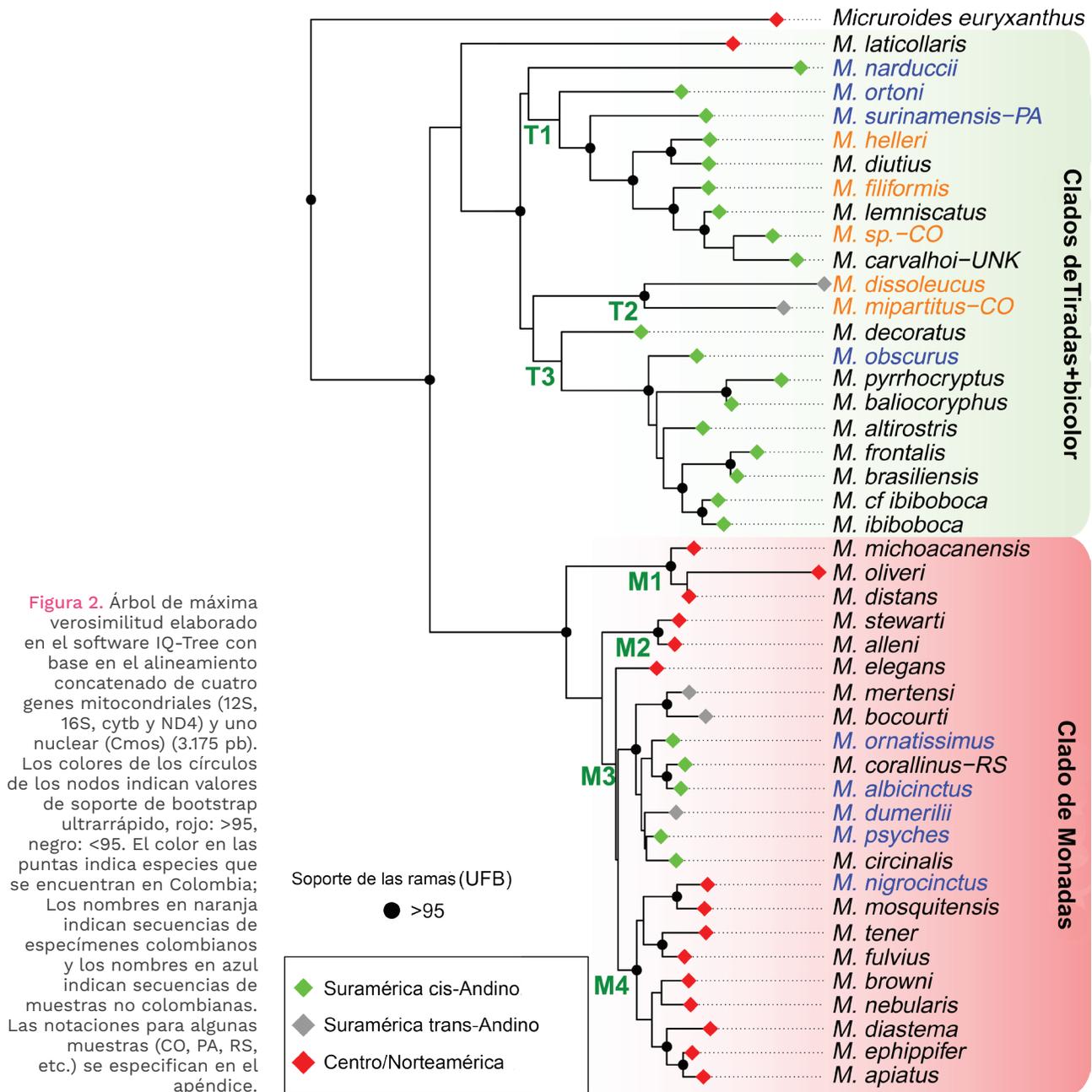
## 2. Relaciones filogenéticas de las serpientes de coral del género *Micrurus* del Nuevo Mundo

Nuestro árbol filogenético de máxima verosimilitud recuperó las serpientes coral del Nuevo Mundo (*Micruroides* + *Micrurus*) y el género *Micrurus* como linajes monofiléticos con un alto soporte (Figura 2). Dentro de *Micrurus* se recuperaron dos clados principales altamente soportados estadísticamente. El primero incluye todas las especies de mónadas más *M. elegans*, una de las especies centroamericanas con tríadas. El segundo clado contiene todas las especies suramericanas de tríadas, más *M. mipartitus* la única especie bicolor, y *M. narducci*, la única especie de anillos incompletos en el análisis (antiguamente asignada al género *Leptomicrurus*) [8].

Dentro del segundo clado que contiene las especies tríadas, se pueden reconocer tres subclados. Un primer subclado con alto soporte que contiene las especies del complejo *M. lemniscatus* (*M. diutius*, *M. carvalhoi*, *M. filiformis*, *M. helleri* y *M. lemniscatus*), *M. surinamensis* y *M. ortonii* (clado T1, Figura 2), el cual es el clado hermano de *M. narducci*, este último con bajo soporte. Un segundo subclado con alto soporte que incluye a *M. dissoleucus* y *M. mipartitus* (clado T2, Figura 2). Finalmente, un tercer clado débilmente sustentado que incluye especies del grupo *M. frontalis* (*M. altirostris*, *M. baliocoryphus*, *M. brasiliensis*, *M. frontalis*, *M. ibiboboca*, *M. cf. ibiboboca* y *M. pyrrhocryptus*), más *M. decoratus* y *M. obscurus* (clado T3, Figura 2).

De forma similar, dentro del clado que contiene todas las especies de mónadas, se recuperaron un total de cuatro subclados principales con un alto soporte estadístico. El primer subclado contiene las serpientes coral del complejo *M. distans* (*M. distans*, *M. michoacanensis* y *M. oliveiri*; clado M1, Figura 2). El segundo subclado contiene a *M. stewarti* y *M. alleni* (clado M2), más dos especies centroamericanas. El tercer subclado agrupa todas las corales de mónadas suramericanas (*M. albicinctus*, *M. bocourti*, *M. circinalis*, *M. corallinus*, *M. dumerilii*, *M. mertensi*, *M. ornatisimus* y *M. psyches*; clado M3, Figura 2). Finalmente, el cuarto subclado contiene las especies restantes de Centro y Norte América (clado M4, Figura 2). En nuestro árbol filogenético, 14 de las 46 especies muestreadas se encuentran en Colombia, y seis de estas secuencias se derivaron de especímenes colombianos (Figura 2).

En general, nuestra hipótesis filogenética se alinea con las revisiones e hipótesis filogenéticas más recientes de las serpientes coral, encontrando como monofiléticos el clado de corales de mónadas, y los clados de tríadas y bicolor formando también un clado monofilético [14-17,16-23]. Las relaciones de *Micrurus narducci*, el único representante del género previamente reconocido como *Leptomicrurus*, continúa ambigua y sin consenso entre los estudios previos. Por ejemplo, en nuestro árbol evolutivo *M. narducci* se agrupa dentro del clado de las corales de tríadas, mientras que, en estudios previos, así como en la más reciente revisión presentada por Jowers et al. [14], esta especie es el clado hermano de las corales de tríadas [20,21,23].



La hipótesis filogenética presentada aquí (Figura 2) representa la propuesta filogenética más grande para las serpientes de coral del Nuevo Mundo del género *Micrurus*, incluye 44 (más dos taxones no clasificados, *Micrurus. sp.* y *M. cf. ibiboboca*) de las 83 especies actualmente reconocidas en el género (53%) [1]. Este muestreo y contexto filogenético, sugiere que existen algunos patrones biogeográficos subyacentes.

El clado principal que agrupa las especies de triadas + bicolor + anillos incompletos está compuesto casi exclusivamente por especies suramericanas (Figura 2), excepto por la especie basal, *M. laticollaris*, que se distribuye en México [24,25]. Sin embargo, la posición de *M. laticollaris*

presenta un bajo soporte, por lo cual es probable que su posición cambie en futuros estudios que cuenten con un muestreo más amplio y provean mayor evidencia. Dentro del grupo suramericano, todas las especies están estrictamente distribuidas en la región cisandina (hacia el Este de los Andes, Figura 3), excepto por dos taxones que forman un clado altamente soportado, *M. dissoleucus* y *M. mipartitus*, ambas distribuidas en la región transandina (Oeste de los Andes, Figura 3) [24,25]. Esto sugiere que este clado se diversificó en la región cisandina y muy probablemente colonizó la región transandina una sola vez.

Por otro lado, el clado bicolor agrupa taxones de todo el continente americano, pero está constituido principalmente por especies distribuidas en Centroamérica (Figura 2). Dentro de este clado, hay un linaje que agrupa a todas las especies suramericanas, sugiriendo un único evento de colonización en Suramérica para este clado (Figura 2). Sin embargo, algunas especies del clado monadal también ingresan al norte de Suramérica, como *M. nigrocinctus* y *M. clarki* [24,25]. A pesar de que algunas de las relaciones internas del clado de corales de mónadas no cuenta con un alto soporte, la topología recuperada sugiere que al menos ocurrieron dos eventos de colonización que cruzan los Andes, en ambas direcciones cis a transandina, y viceversa (Figura 2).

Aunque es ampliamente conocido en la literatura que el clado de mónadas está compuesto principalmente por especies centroamericanas, y el clado de triadas por especies suramericanas/cisandinas [24,25], ningún estudio previo ha demostrado o discutido los patrones biogeográficos de diversificación dentro de *Micrurus* basándose en un contexto filogenético. Además, el hecho de que los clados principales tengan la mayor representación de su diversidad agrupada en regiones específicas (p. ej., Centro o Suramérica), ha llevado a algunos autores (p. ej., Lomonte et al., [9]) a sugerir una variación latitudinal aparente en la composición del veneno dentro del género *Micrurus*. Esta hipótesis se analiza con más detalle en la siguiente sección.

### **3. Diversidad composicional entre los venenos de *Micrurus***

Recopilamos datos de la literatura de 34 proteomas pertenecientes a 28 especies de *Micrurus* (Tabla 1). *Micrurus corallinus*, *M. mipartitus*, *M. helleri* y *M. surinamensis* tenían dos proteomas publicados, y *M. carvalhoi* tenía tres proteomas publicados. Solo seis de los proteomas disponibles provinieron de especímenes colombianos (*M. dumerilii*, *M. mipartitus*-CO, *M. sangilensis*, *M. helleri*-CO, *M. medemi* y *Micrurus. sp.*-CO).

Con base en los 34 proteomas, se reportó un total de veinticuatro familias de proteínas en los venenos de *Micrurus*, de las cuales las PLA<sub>2</sub> y 3FTx fueron los componentes dominantes del veneno en todos los proteomas, como se ha encontrado previamente en múltiples estudios [26]. Se identificaron quince clases de proteínas similares a toxinas en los proteomas de *M. carvalhoi*-UNK y *M. pyrrhocryptus*, siendo este último

el proteoma con la mayor riqueza de toxinas entre todos los proteomas del clado de triadas. Se identificaron 12 toxinas en los proteomas de *M. corallinus*-RJ y *M. paraensis*, que fueron los más diversos entre todos los proteomas del clado de mónadas (Tabla 1). En general, los venenos dominados por PLA<sub>2</sub> fueron más comunes en el clado de mónadas, mientras que los venenos dominados por 3FTx fueron más comunes dentro del clado de triadas (Figuras 3 y 4).

Al comparar los proteomas de los venenos disponibles para las serpientes coral del género *Micrurus* que contaban con muestras para múltiples poblaciones o individuos, se observa notables variaciones intraespecíficas tanto en la presencia como en la abundancia relativa de las toxinas en especies como *M. carvalhoi*, *M. corallinus*, *M. helleri*, *M. mipartitus* y *M. surinamensis* (Tabla 1). En estas especies, observamos que la toxina dominante, ya sea 3FTx o PLA<sub>2</sub>, varía entre los individuos a lo largo de su distribución geográfica, sin mostrar un patrón claro (Figura 2). Por otro lado, las diferencias en la abundancia relativa de 3FTx y PLA<sub>2</sub> (|%3FTx-%PLA<sub>2</sub>|) fueron más pronunciadas en el clado de triadas + bicolor (~44%), que en el clado de mónadas (~29%; Tabla 1). Esto indica que los proteomas del clado triadal + bicolor tienden a exhibir fenotipos más extremos, favoreciendo un marcado dominio de PLA<sub>2</sub> o 3FTx, mientras que las especies de mónadas poseen proporciones de PLA<sub>2</sub> o 3FTx más equilibradas. Además, el género *Micruroides* muestra una mayor proporción de 3FTx, lo que sugiere que la aparición de venenos dominados por PLA<sub>2</sub> podría ser un fenotipo derivado en las serpientes coral.

Varios estudios han sugerido una dicotomía composicional en el veneno de las serpientes coral del género *Micrurus*, en la que la toxina dominante (ya sea PLA<sub>2</sub> o 3FTx) alterna entre especies a lo largo de un gradiente latitudinal [9,11]. Sin embargo, cuando ampliamos el muestreo composicional incluyendo un número significativamente mayor de especies (o poblaciones), y ubicamos geográficamente la variación de la composición del veneno en todo el rango de distribución del género *Micrurus*, esta dicotomía no fue evidente (Figura 3).

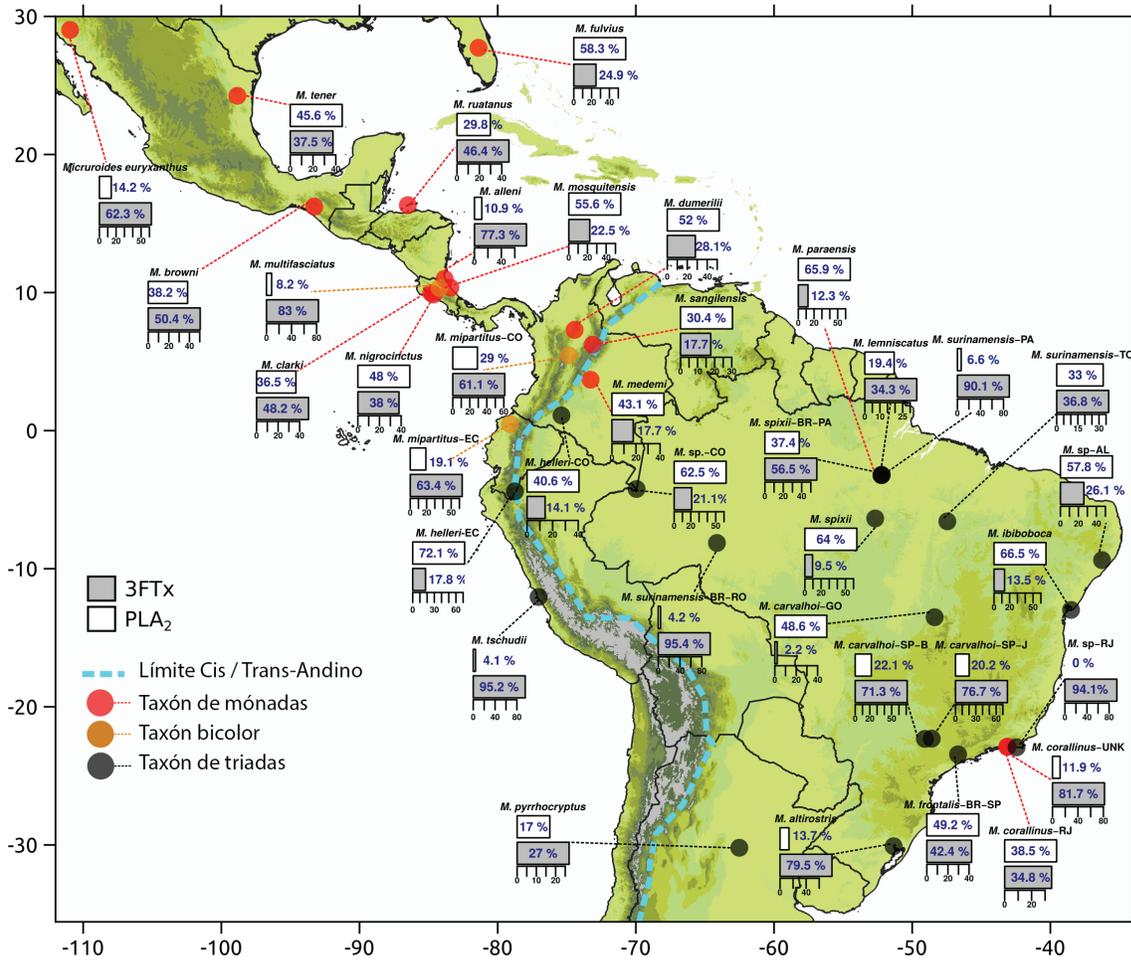
Por lo tanto, la ubicación geográfica latitudinal por sí sola parece ser un mal predictor del predominio de las toxinas de 3FTx o PLA<sub>2</sub> en los proteomas de los venenos de las serpientes coral. Sin embargo, algunas especies tienen niveles consistentemente más altos de 3FTx en comparación con las PLA<sub>2</sub> y viceversa. Esto podría explicarse por sus relaciones filogenéticas o convergencias ecológicas. Para evaluar si el predominio de 3FTx/PLA<sub>2</sub> está determinado o no por una señal filogenética, asignamos las proporciones de cada toxina del proteoma del veneno a la posición filogenética de cada especie (Figura 4). Como resultado, no observamos ningún patrón claro de predominio de 3FTx/PLA<sub>2</sub> en la filogenia de las serpientes coral. Tanto el clado triadal como el monadal tienen especies con proteomas de veneno dominados por 3FTx o PLA<sub>2</sub>. Sin embargo, la mayoría de las especies poseen una proporción equilibrada entre ambas toxinas, con proporciones medias de cada una. Este fenotipo equilibrado es el más común en ambos clados. Además, fenotipos extremos, en los que domina una toxina, han surgido en grupos específicos dentro de ambos clados, independiente de su origen geográfico.

**Tabla 1.** Composición del proteoma del veneno a partir de proteomas disponibles en la literatura. Los valores se muestran en porcentajes del espectro total para permitir comparaciones de composición entre especies. Las celdas rojas y naranjas indican proporciones más altas de cada toxina, y las celdas amarillas y verdes indican proporciones más bajas de cada toxina. Las especies se catalogan por su clado (mónadas, triadas/bicolor y el género *Micrurus*). Sólo se muestran las toxinas principales. SVMP: metaloproteinasas de veneno de serpiente, LAO: L-aminoácido oxidasa, Kun: inhibidores de tipo Kunitz, CTL: lectinas tipo C, SP: serino proteasas, Oha: Ohanina.

Especies	Clado	PLA2/3FTX delta	3FTX	PLA2	SVMP	LAO	Kun	CTL	SP	Oha	Toxinas menos
<i>Micrurus euryxanthus</i>	<i>Micruroides</i>	48,1	62,3	14,2							0
<i>Micrurus aleni</i>	Mónadas	66,4	77,3	10,9	1,2	3		1,8		0,2	1
<i>Micrurus browni</i>	Mónadas	12,2	50,4	38,2	1,4	0,4	4,2	1,1	0,3	0,2	2,9
<i>Micrurus clarki</i>	Mónadas	11,7	48,2	36,5	1,6	3,8	0,9	1,1	1		0,4
<i>Micrurus corallinus-RJ</i>	Mónadas	3,71	34,83	38,54	10,38	5,42	0,46				10,37
<i>Micrurus corallinus-UNK</i>	Mónadas	69,8	81,7	11,9	2,4	2,3		0,9	0,8		0
<i>Micrurus dumerilii</i>	Mónadas	23,9	28,1	52	1,8	3,1	9	1,1	1,9		0,4
<i>Micrurus fulvius</i>	Mónadas	33,4	24,9	58,3							0
<i>Micrurus mosquitensis</i>	Mónadas	33,1	22,5	55,6	2,6	2,8	9,8	1,3	0,5		1
<i>Micrurus nigrocinctus</i>	Mónadas	10	38	48	4,3	2,3		2,2	0,7	3,8	0,5
<i>Micrurus paraensis</i>	Mónadas	53,58	12,31	65,89	7,97	3,13	3,43	4,95			2,3
<i>Micrurus sangilensis</i>	Mónadas	12,71	17,69	30,4	11,81	9,17	2,97	6,27	5,79	2,27	13,63
<i>Micrurus tener</i>	Mónadas	8,1	37,5	45,6							0
<i>Micrurus altirostris</i>	Triadas + Bicolor	65,8	79,5	13,7	0,9	1,2	2,1	0,1			2,5
<i>Micrurus carvalhoi-GO</i>	Triadas + Bicolor	46,31	2,25	48,56	6,29	2,01	12,61	2,64	2,12	21,51	1,99
<i>Micrurus carvalhoi-SP-B</i>	Triadas + Bicolor	49,2	71,3	22,1	0,8	1,5	0,03				0,01
<i>Micrurus carvalhoi-SP-J</i>	Triadas + Bicolor	56,5	76,7	20,2	1,13	1,3	0,03				0,175
<i>Micrurus frontalis-BR-SP</i>	Triadas + Bicolor	6,8	42,4	49,2	0,96	0,4	1,3	0,06			
<i>Micrurus helleri-CO</i>	Triadas + Bicolor	26,53	14,1	40,63	13,1	8,64	2,2	0,58	5,24		15,52
<i>Micrurus helleri-EC</i>	Triadas + Bicolor	54,3	17,8	72,1		5,1	0,5				4,5

<i>Micrurus ibiboboca</i>	Triadas + Bicolor	53	13,5	66,5	2,5	2,8	9,4	0,8			3,4
<i>Micrurus lemniscatus</i>	Triadas + Bicolor	14,95	34,33	19,38	4,93	3,48	11,69	2,59	11,43	9,32	2,86
<i>Micrurus medemi</i>	Triadas + Bicolor	25,45	17,69	43,14	9,63	7,48	5,35	7,83	0,39		8,5
<i>Micrurus mipartitus-CO</i>	Triadas + Bicolor	32,1	61,1	29	1,6	4	1,9	1,1	1,3		0
<i>Micrurus mipartitus-EC</i>	Triadas + Bicolor	44,3	63,4	19,1	6	8,4					3,1
<i>Micrurus multifasciatus</i>	Triadas + Bicolor	74,8	83	8,2	3,6	3,2	1,9				0,3
<i>Micrurus pyrrhocryptus</i>	Triadas + Bicolor	10	27	17	12	5	5	7	7	2	10
<i>Micrurus ruatanus</i>	Triadas + Bicolor	16,6	46,4	29,8	2,7	3,4	10,6	2	1,2	0,4	0,5
<i>Micrurus sp-AL</i>	Triadas + Bicolor	31,7	26,1	57,8	1,8	2	5,6	2		0,38	3,006
<i>Micrurus sp-CO</i>	Triadas + Bicolor	41,4	21,1	62,5			5,9	0,5			0
<i>Micrurus spixii</i>	Triadas + Bicolor	54,56	9,48	64,04	6,57	4,78	0,74	7,37		3,73	3,27
<i>Micrurus spixii-BR-PA</i>	Triadas + Bicolor	19,1	56,5	37,4		5,1	1				
<i>Micrurus sp-RJ</i>	Triadas + Bicolor	94,1	94,1	0		0,07	0,98				0,97
<i>Micrurus surinamensis-BR-RO</i>	Triadas + Bicolor	91,2	95,4	4,2		0,4					
<i>Micrurus surinamensis-PA</i>	Triadas + Bicolor	83,54	90,1	6,56	0,11	0,19	2,55	0,32			0,19
<i>Micrurus surinamensis-TO</i>	Triadas + Bicolor	3,86	36,84	32,98	1,23	0,32	25,26	1,66			1,7
<i>Micrurus tschudii</i>	Triadas + Bicolor	91,1	95,2	4,1		0,7	1,6				0

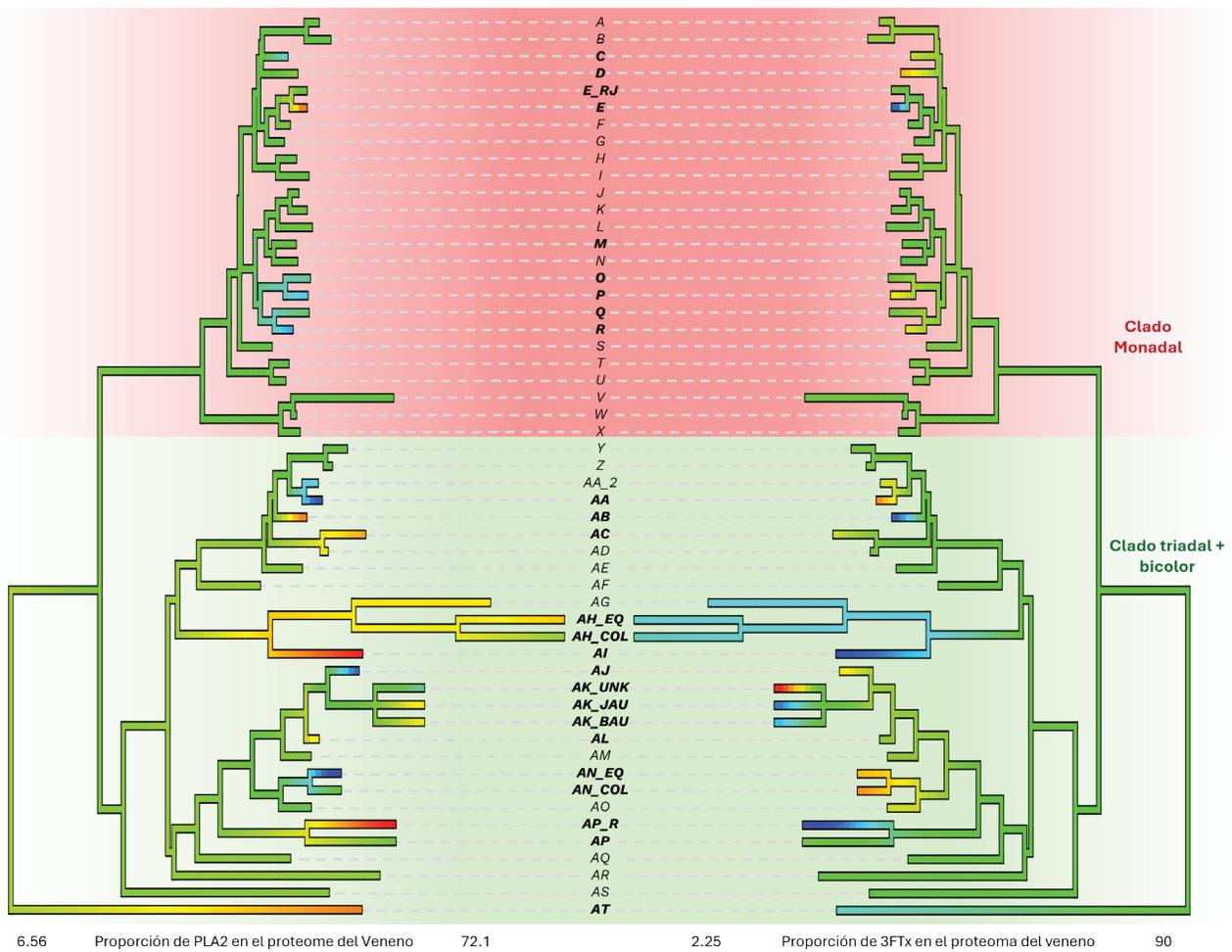
AL (Alagoas, Brasil), B (Baurú, Brasil), BR (Brasil), CO (Colombia), EC (Ecuador), GO (Goiás, Brasil), J (Jauú, Brasil), PA (Pará, Brasil), RJ (Rio de Janeiro, Brasil), RO (Roraima, Brasil), SP (São Paulo, Brasil), TO (Tocantins, Brasil), UNK (Ubicación exacta desconocida). M. sp.-CO: Un espécimen de *Micrurus* aff. *lemniscatus*, pero con una importante distancia genética de sus congéneres; ver Hurtado-Gómez [13] para más detalles.



**Figura 3.** Distribución geográfica de muestras de *Micrurus* con proteomas de veneno disponibles. Se muestran las proporciones de 3FTx y PLA<sub>2</sub> para cada muestra. Los patrones de color se indican mediante puntos coloreados encima de la ubicación geográfica de cada muestra. AL (Alagoas, Brasil), B (Baurú, Brasil), BR (Brasil), CO (Colombia), EC (Ecuador), GO (Goiás, Brasil), J (Jaú, Brasil), PA (Pará, Brasil), RJ (Rio de Janeiro, Brasil), RO (Roraima, Brasil), SP (São Paulo, Brasil), TO (Tocantins, Brasil), UNK (Ubicación exacta desconocida). *M. sp.-CO*: Un espécimen de *Micrurus aff. lemniscatus*, pero con una importante distancia genética de sus congéneres; ver Hurtado-Gómez et al. [13] para más detalles.

Esto podría indicar que factores ecológicos, quizás relacionados con la dieta, el uso de microhábitats, las características abióticas, el clima u otras variables ambientales podrían estar determinando la proporción y dominancia de las toxinas en los venenos de estas serpientes. Estudios ecológicos adicionales podrían ayudar a aclarar los orígenes evolutivos de la variación observada en los venenos de *Micrurus*. Además, un trabajo reciente reportó proporciones elevadas de metaloproteinasas de veneno de serpiente (SVMP) en dos especies corales colombianas [27]. Estas toxinas se asocian comúnmente con los venenos de víboras y están relacionadas con efectos locales (p. ej., sangrado, edema, necrosis) que normalmente no se observan en los envenenamientos de serpientes de coral [2,10,28]. Estos hallazgos son particularmente relevantes para el diagnóstico del envenenamiento por serpientes coral, dado que sus mordeduras pueden causar sangrado o manifestaciones locales similares a las observadas en vipéridos, las cuales podrían confundirse con otros tipos de envenenamiento (p. ej., botrópico; ver Capítulo 9), generando consecuencias clínicas adversas.

En resumen, la información proteómica disponible para los venenos de *Micrurus* revela que nuestro conocimiento de los factores que impulsan su variación composicional sigue siendo pobre. Por tal razón, es muy probable que en el futuro se descubra mucha variación composicional inter e intrapoblacional (p. ej., algunas serpientes de coral podrían tener proporciones de SVMP en sus venenos mayores de lo esperado). Para mejorar nuestra comprensión de la composición de los venenos de las serpientes coral y sus implicaciones médicas locales, es prioritario realizar estudios con un mayor tamaño de muestra y representatividad ecológica y taxonómica de estas serpientes (ver Capítulos 5, 6 y 9).



**Figura 4.** Distribución filogenética de las proporciones de 3FTx/PLA<sub>2</sub> en los proteomas del veneno de las serpientes coral. Las ramas terminales con el nombre en negrita corresponden a especies con datos proteómicos publicados. Todos los demás se estimaron utilizando la Función anc-ML del paquete *phytools* en R (ver Apéndice). Las ramas azules indican proporciones más altas de cada una de las toxinas (PLA<sub>2</sub> a la izquierda y 3FTx a la derecha). AL (Alagoas, Brasil), B (Baurú, Brasil), BR (Brasil), CO (Colombia), EC (Ecuador), GO (Goiás, Brasil), J (Jaú, Brasil), PA (Pará, Brasil), RJ (Rio de Janeiro, Brasil), RO (Roraima, Brasil), SP (São Paulo, Brasil), TO (To-cantins, Brasil), UNK (Ubicación exacta desconocida). *M. sp.-CO*: Un ejemplar de *Micrurus aff. lemniscatus* pero con una distancia genética significativa de sus congéneres ver Hurtado-Gómez et al. [13]. Los códigos para las especies son los siguientes: *M. psyches* (A), *M. circinalis* (B), *M. dumerilii* (C), *M. sangilensis* (D), *M. corallinus* (E), *M. albicinctus* (F), *M. ornatissimus* (G), *M. mertensi* (H), *M. bocourti* (I), *M. ehippifer* (J), *M. apiatus* (K), *M. diastema* (L), *M. borwni* (M), *M. nebularis* (N), *M. nigrocinctus* (O), *M. mosquitensis* (P), *M. tener* (Q), *M. fulvius* (R), *M. eleganselegans* (S), *M. stewarti* (T), *M. alleni* (U), *M. oliveni* (V), *M. distans* (W), *M. michoacanensis* (X), *M. frontalis* (Y), *M. brasiliensis* (Z), *M. ibiboboca* (AA), *M. altirostris* (AB), *M. pyrrhocryptus* (AC), *M. baliocoryphus* (AD), *M. obscurus* (AE), *M. decoratus* (AF), *M. dissoleucus* (AG), *M. mipartitus* (AH), *M. multifasciatus* (AI), *M. sp* (AJ), *M. carvalhoi* (AK), *M. lemniscatus* (AL), *M. filiformis* (AM), *M. helleri* (AN), *M. diutius* (AO), *M. surinamensis* (AP), *M. ortonii* (AQ), *M. narducci* (AR), *M. laticollaris* (AS), *M. Micruroides euryxanthus* (AT).

#### **4. Aposematismo y mimetismo en las serpientes coral**

Las serpientes coral suelen tener colores brillantes que desafían las expectativas teóricas que indican, que el camuflaje como estrategia de supervivencia, es el principal determinante de la coloración de los animales no-sociales. La función (es decir, el efecto seleccionado por la evolución que mantiene un rasgo particular) de estos colores inusuales ha sido objeto de investigación científica durante más de 150 años [18,30]. Durante mucho tiempo se ha asumido que la función de los patrones de color de las serpientes coral es aposemática, es decir, se supone que sus patrones de color sirven como señales de advertencia que anuncian su peligro a los depredadores [43,44]. También se ha asumido que las falsas serpientes coral tienen patrones de color similares con el fin de simular o asemejarse a las serpientes coral altamente venenosas, buscando protegerse al confundir a los depredadores que evitarían consumirlas al creer que son altamente peligrosas. Estas suposiciones están muy extendidas entre los biólogos, especialmente aquellos que se dedican a estudiar la ecología evolutiva de las serpientes de coral y falsas serpientes coral [29].

Un metaanálisis reciente ha demostrado que el aposematismo y el mimetismo en las serpientes coral están respaldados, en su mayoría, por estudios realizados a partir de 1980, a pesar de los vacíos o deficiencia en la evidencia presentada [30]. Sin embargo, un análisis reciente que realizó una revisión meticulosa de las bases teóricas y evidencia empírica del aposematismo y el mimetismo en las serpientes coral y las falsas serpientes coral, ha demostrado que estas ideas tienen serios problemas [31], sugiriendo que los supuestos sobre los que se fundamentan estas hipótesis merecen una reevaluación.

A la luz de esta falta de consenso, ofrecemos una perspectiva sobre esta controversia desde la visión de herpetólogos que realizan trabajo de campo. Destacamos algunos de los principales problemas no resueltos y posibles explicaciones alternas para las funciones de los patrones de color de las serpientes coral. A diferencia de la revisión realizada por Almeida et al. [29], adoptamos una perspectiva más crítica sobre trabajos anteriores y coincidimos con Mouy [31] en que existe la necesidad de centrarse más en explicaciones alternativas para las funciones de los patrones de color de las serpientes coral que en los supuestos tradicionales.

##### **4.1 Resumen de la evidencia a favor del aposematismo y el mimetismo en las serpientes coral**

Los defensores del aposematismo y el mimetismo como hipótesis explicativa de los patrones de coloración en las serpientes coral, consideran que las observaciones en que los depredadores evitan a las serpientes con patrones de color anillados y brillantes son evidencia a favor de estas hipótesis [29,30]. La aversión de los depredadores por estos patrones se ha inferido mediante experimentos de campo con presas artificiales. En estos experimentos se realizan en hábitats naturales en los que se colocan réplicas de serpientes con patrones de color de serpientes coral y patrones de colores de serpientes que no son corales, exponiéndolos a

los posibles depredadores [32-42]. Después de un período de tiempo, las réplicas son revisadas registrando la presencia de marcas de dientes o picos y se categorizan como atacadas o no. Posteriormente, estos datos son utilizados para inferir las tasas relativas de ataque, su intensidad y el grado de protección que brindan los patrones estudiados ante la depredación [32-42].

Estos experimentos se han llevado a cabo en varias regiones de América, demostrando a menudo que la frecuencia de marcas de dientes y picos en las réplicas con patrones de color de serpiente coral es mucho menor que en réplicas con patrones de color de serpiente sin estos patrones. Estos hechos se han interpretado como evidencia de que los patrones de color de las serpientes coral brindan protección contra la depredación de aves y mamíferos [32-38]. En Colombia aún no se han realizado estudios sobre los patrones de color de las serpientes de coral utilizando réplicas.

Experimentalmente, también se ha inferido la aversión en aves por los patrones de color de las serpientes coral. En Costa Rica se han realizado experimentos que utilizan aves silvestres criadas en cautiverio como los Barranqueros (*Eumomota superciliosa*) y Bichofués (*Pitangus sulphuratus*) en estados juveniles, exponiéndolos a réplicas hechas con «espigas» o «tarugos» de madera o plástico pintadas con patrones de colores de serpientes coral, ante los cuales las aves mostraron fuertes reacciones negativas [43,44]. Sin embargo, estas reacciones negativas no se observaron cuando a estas aves se les presentaron réplicas pintadas con un solo color, anillos con colores que no eran de serpiente coral, o listas con colores de serpiente coral. Como estas aves no habían tenido exposición previa a los patrones de color de las serpientes coral, las reacciones negativas observadas han sido ampliamente citadas como evidencia de una aversión innata hacia los patrones de color de las serpientes coral [45,46].

Asimismo, se ha sugerido que las correlaciones en los patrones de color entre las serpientes coral y las falsas serpientes coral respaldan las hipótesis aposematismo y el mimetismo. Se ha demostrado que los patrones de color de varias especies de serpientes de coral y serpientes coral falsas varían geográficamente en paralelo entre sí. Por ejemplo, *Erythrolamprus guentheri* en el sureste de Ecuador y Perú tiene patrones de color que se asemejan a *Micrurus langsdorffi* y *Micrurus steindachneri*, que tienen patrones de mánadas con anillos rojos y negros del mismo ancho separados por anillos blancos [45]. Sin embargo, en localidades del Perú donde coexiste con *Micrurus margaritiferus*, la cual tiene un patrón bicolor con anillos blancos moteados, algunos individuos de *E. guentheri* presentan este mismo patrón [45].

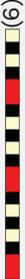
En Colombia, se han observado similitudes en el patrón de color de *Oxyrhopus vanidicus* con las serpientes coral locales (p. ej., *Micrurus hemprichii*) en la vertiente oriental de la Cordillera Oriental, así como sabanas de altillanura de la ecorregión de la Orinoquia (obs. pers. J.D. Lynch y Teddy Angarita-Sierra). No obstante, en el país, no se han realizado estudios que evalúen la posible correlación entre los patrones de coloración de co-

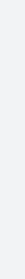
rales falsas y verdaderas. La alta diversidad en los patrones de color compartidos entre varias serpientes coral falsas y verdaderas en las regiones cisandina y transandina sugiere que sus patrones de color podrían estar asociados (Tabla 2). Bosque et al. [47] muestra que los patrones de color y las distribuciones geográficas de las especies de *Oxyrhopus* con bandas rojas y negras coincide con las distribuciones y riqueza de las serpientes coral en América del Sur que tienen los mismos patrones de color.

Se ha demostrado que la variación en los patrones de color de *Atractus latifrons* y *Erythrolamprus aesculapii* está asociada con las distribuciones de las especies locales de *Micrurus* [48], al igual que con los patrones de color de varias especies de *Micrurus* con patrón de triadas en Brasil [49]. Otro estudio que integra la distribución y datos filogenéticos mostró que la evolución de los patrones de color de las serpientes de coral y las falsas serpientes coral del Nuevo Mundo está correlacionada en el espacio y tiempo. Específicamente, la evolución de los patrones de color en las falsas corales ocurrió después de la llegada de las serpientes coral verdaderas al Nuevo Mundo [50].



**Tabla 2.** Serpientes de coral de Colombia con distribuciones cisandina y transandina y serpientes de coral falsas concurrentes que comparten patrones similares. Los tipos de patrones de color (siguiendo el esquema adaptado de Mouy [31]) se indican entre paréntesis.

Serpientes de coral	Tipo de patrón	Serpientes de coral falsas	Tipo de patrón
<b>Distribución Cisandina</b>			
<i>Micrurus hemprichii</i>	 (6)	<i>Oxyrhopus vanidicus</i>	 (6)
<i>Micrurus ortoni</i>	 (6)	<i>Rhinobothryum lentiginosum</i>	 (4)
<i>Micrurus surinamensis</i>	 (6)	<i>Hydrodynastes bicinctus</i>	 (5)
<i>Micrurus nattereri</i>	 (6)	<i>Hydrops triangularis</i>	 (3)
<i>Micrurus psyches</i>	 (1)	<i>Oxyrhopus melanogenys</i>	 (6)
<i>Micrurus langsdorffi</i>	 (4)	<i>Hydrops martii</i>	 (4)
<i>Micrurus narduccii</i>	 (4)	<i>Oxyrhopus petolarius</i>	 (2)
<i>Micrurus renjifo</i>	 (9)	<i>Oxyrhopus occipitalis</i> (juvenile)	 (1)
<i>Micrurus scutiventris</i>	 (9)	<i>Ninia atrata</i>	 (9)
<i>Micrurus medemi</i>	 (1)	<i>Ninia hudsoni</i>	 (9)
<i>Micrurus filiformis</i>	 (2)	<i>Oxyrhopus petolarius</i>	 (2)
<i>Micrurus helleri</i>	 (4)	<i>Atractus elaps</i>	 (5)
<i>Micrurus isozonus</i>	 (6)	<i>Atractus elaps</i>	 (6)
<i>Micrurus temniscatus</i>	 (6)	<i>Atractus latifrons</i>	 (7)
<i>Micrurus obscurus</i>	 (6)	<i>Erythrolamprus bizona</i>	 (5)
<i>Micrurus tikuna</i>	 (4)	<i>Erythrolamprus aesculapii</i>	 (5)
		<i>Atractus elaps</i>	 (5)
		<i>Anilius scytale</i>	 (6)
		<i>Erythrolamprus aesculapii</i>	 (7)
		<i>Oxyrhopus petolarius</i>	 (2)
		<i>Pseudoboa coronata</i>	 (5)
			 (8)

Distribución Transandina	
<i>Micrurus dumerilii</i>	 (4)  (6) <i>Atractus obesus</i>  (5) <i>Erythrolamprusizona</i>  (5) <i>Erythrolamprus pseudocoralis</i>  (4) <i>Erythrolamprus mimus</i>  (4) <i>Lampropeltis micropholis</i>  (5) <i>Oxyrhopus leucomelas</i>  (2) <i>Pseudoboa neuwiedii</i>  (8)  (4)  (4) <i>Scaphiodontophis annulatus</i> <i>Scaphiodontophis venustissimus</i>
<i>Micrurus camilae</i>	 (3) <i>Erythrolamprusizona</i>  (5) <i>Oxyrhopus petolaris</i>  (2) <i>Pseudoboa neuwiedii</i>  (8)
<i>Micrurus clarki</i>	 (4)
<i>Micrurus nigrocinctus</i>	 (4)  (8)
<i>Micrurus dissoleucus</i>	 (6) <i>Erythrolamprusizona</i>  (5) <i>Erythrolamprus pseudocoralis</i>  (4) <i>Pseudoboa neuwiedii</i>  (8)
<i>Micrurus mipartitus</i>	 (1) <i>Atractus erythromelas</i>  (2) <i>Atractus multicinctus</i>  (2) <i>Oxyrhopus leucomelas</i>  (1) <i>Urotheca euryzona</i>  (1)
<i>Micrurus multiscutatus</i>	 (2)
<i>Micrurus oligoanellatus</i>	 (2)
<i>Micrurus spurrelli</i>	 (2)
<i>Micrurus sangilensis</i>	 (4) <i>Erythrolamprusizona</i>  (5) <i>Erythrolamprus pseudocoralis</i>  (4) <i>Lampropeltis micropholis</i>  (5) <i>Oxyrhopus leucomelas</i>  (1) <i>Scaphiodontophis annulatus</i>  (4) <i>Scaphiodontophis venustissimus</i>  (4)

Patrón 1: Bicolor con anillos blancos y negros alternos; Patrón 2: Bicolor con anillos rojos y negros alternos; Patrón 3: Bicolor alternando rojo y negro dorsalmente y alternando blanco y negro ventrolateralmente; Patrón 4: Mónada con anillos rojos separados de los anillos negros; Patrón 5: Mónada con anillos rojos separados de los anillos blancos/amarillos; Patrón 6: Triada con anillos rojos separados por tres anillos blancos/amarillos; Patrón 7: Tétrada con anillos rojos separados por cuatro anillos negros y tres anillos blanco/amarillo; Patrón 8: Cuerpo rojo con collar nucal blanco/amarillo entre dos anillos negros; Patrón 9: Cuerpo negro con cuello nucal blanco/amarillo.

## 4.2 Controversias pendientes

Actualmente, carecemos de un marco robusto y unificado que permita definir criterios claros para determinar si los patrones de color de las serpientes coral tienen funciones aposemáticas y miméticas. En consecuencia, en la mayoría estudios se asumen a priori funciones aposemáticas y miméticas de los patrones de color de estas serpientes. Como se mostró anteriormente, aunque las hipótesis de aposematismo y mimetismo cuentan con soporte, mucha de la evidencia no coincide perfectamente con lo predicho por la teoría.

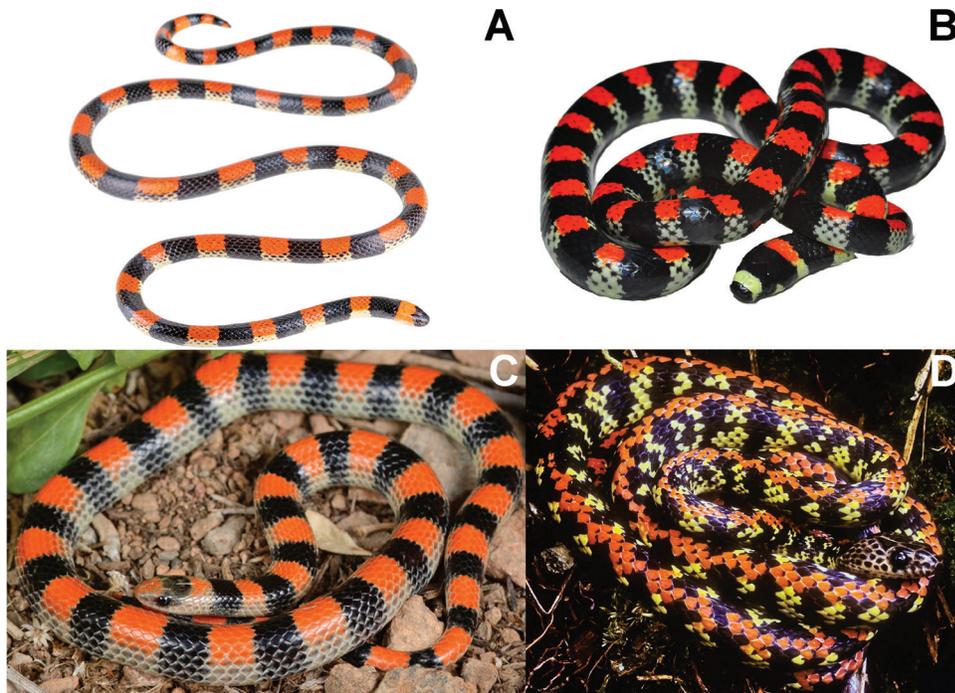
Los principales problemas con las hipótesis aposematismo y mimetismo en las serpientes coral verdaderas y falsas son las inconsistencias entre las características putativas de las especies prototípicas aposemáticas y miméticas [46], y los rasgos de vida y el comportamiento de estas serpientes [24]. Para que el aposematismo y el mimetismo sean defensas eficaces en las serpientes coral verdaderas y falsas sus patrones deben ser percibidos por sus depredadores (aves y mamíferos), es decir, los depredadores deben ser capaces de ver los colores siempre; y por su lado, las serpientes con estos patrones de advertencia deben poder defender eficazmente (es decir, no ser una presa fácil). Por lo tanto, las interacciones de estos depredadores con sus presas aposemáticas deberían ser lo suficientemente frecuentes para que la selección favorezca esta función de señalización y refuerce el aprendizaje en los depredadores con rapidez, haciéndoles entender que las serpientes con estos patrones de coloración no son presas fáciles o inofensivas [46]. Esto implica que las serpientes coral deberían habitar microhábitats o períodos de tiempo en los que estén frecuentemente expuestas a sus depredadores para advertir sobre su peligro. Si no se cumplen estas condiciones, el aposematismo como explicación para la coloración de advertencia se vuelve insustentable. Nuestras propias observaciones sugieren que estas condiciones no se cumplen por completo en las serpientes coral.

Hemos encontrado que estas serpientes no están frecuentemente activas o no son fácilmente observables cuando están activas en la superficie, ya que pasan gran parte de su tiempo en microhábitats que son inaccesibles para los mamíferos y aves depredadoras (p. e., debajo de objetos caídos o bajo tierra). También encontramos que la mayoría de las serpientes coral son altamente inofensivas y reacias a morder, lo cual es consistente con las observaciones realizadas por otros investigadores [6,11,51]. Esto podría contribuir, al menos en parte, a explicar la muy baja incidencia de accidentes ofídicos causados por mordeduras de serpientes coral en Colombia (<1%), así como en otros países de las Américas (ver Capítulo 9). Aunque algunas serpientes coral están activas durante el día, muchas lo están durante la noche o en condiciones crepusculares, cuando la percepción de sus patrones de color de advertencia por parte de los depredadores aviares está comprometida [6]. El primer comportamiento defensivo de las serpientes coral ante un predador es huir, esto se hace muy evidente cuando las encontramos por primera vez en el trabajo en campo; muchas realizan movimientos erráticos después de ser manipuladas. De manera que estos comportamientos no

serían los esperados en especies aposemáticas con una buena capacidad defensiva.

Otro problema grave con el aposematismo y el mimetismo como explicaciones de los patrones de color de las serpientes coral, es la frecuente aparición de falsas serpientes de coral en alopatría con serpientes coral, incluidas algunas especies miméticas que se encuentran muy lejos de la distribución de cualquier serpiente coral [52]. Se han propuesto varias explicaciones para la presencia de serpientes miméticas alopátricas [52]. Básicamente, se propone que las serpientes miméticas alopátricas no son realmente imitadores (p. ej. las funciones de los patrones de color de los imitadores alopátricos difieren en alopatría y simpatría con las serpientes coral) o que el mimetismo puede explicarse con hipótesis poco razonables (p. ej., aversión generalizada).

No hemos observado diferencias en el comportamiento defensivo ni en los patrones de actividad de las serpientes de coral falsas en simpatría o alopatría con las serpientes coral verdaderas que sugerirían alguna diferencia en la función defensiva de sus patrones de color. Tampoco conocemos ningún estudio que haya demostrado una aversión generalizada a los patrones de anillos con colores brillantes por parte de cualquier depredador, y mucho menos cómo dicha aversión podría programarse genéticamente (ver discusión en Mouy [31]). La existencia de serpientes coral alopátricas y serpientes coral falsas con los mismos patrones de color también es difícil de explicar mediante el aposematismo y el mimetismo. Quizás el caso más llamativo sea el de *Micrurus camilae* (endémica de Colombia), *Scolecophis atrocinctus* (Centroamérica: Guatemala, Honduras, El Salvador, Nicaragua, Costa Rica), *Siphlophis cervinus* (regiones trans y cisandinas de América del Sur tropical), *Lygophis elegantissimus* (endémica de Argentina) y *Sonora semiannulata* (Estados Unidos y México) [31].



**Figura 5.** Serpientes de coral geográficamente distantes y serpientes de coral falsas con un patrón de color similar (patrón 3 en la Figura 1). (A) *Micrurus camilae*, foto por José Viera | Proyecto ex situ. (B) *Scolecophis atrocinctus*, foto por Antonia Pachmann. (C) Foto *Sonora semiannulata*, foto por Ben Thesing. (D) *Siphlophis cervinus*, foto por William W. Lamar.

La amplia variación y polimorfismo en los patrones de color de las serpientes coral son difíciles de explicar bajo las hipótesis de aposematismo y mimetismo, ya que la diversidad en los patrones de color sólo aumentaría la dificultad para los depredadores de aprender o adquirir aversión a cualquier patrón de color en particular. Esto, sumado a la baja frecuencia con la que las depredadores de aves y mamíferos probablemente encuentren serpientes coral verdaderas o falsas, indica que la diversidad del patrón de color tiene una explicación alternativa.

La evolución de patrones de color altamente complejos también es difícil de explicar desde la perspectiva del aposematismo y el mimetismo. Es más parsimonioso suponer que la evolución favorecería patrones de color simples que facilitan el aprendizaje, así como la evolución del reconocimiento innato. Curiosamente, algunas de las serpientes de coral con colores más llamativos (p. ej., *Micrurus distans*, *Micrurus averyi*) y serpientes coral falsas (p. ej., *Drepanoides anomalus*, *Oxyrhopus occipitalis*) con quizás las señales más simples y fáciles de aprender, son principalmente nocturnas, lo que hace que sus señales sean menos visibles para los mamíferos y aves que las depredan.

Varios estudios no han encontrado ninguna evidencia que asocie la aversión de los predadores hacia los patrones de color de las serpientes coral. Por ejemplo, algunos estudios de presas artificiales que emplean réplicas de plastilina no han encontrado evidencia de reducción significativa entre el número de marcas de dientes y picos en las réplicas con patrones de color de corales en comparación con las réplicas sin este patrón [39-42]. Asimismo, coatíes (*Nasua narica*) expuestos a *Micrurus nigrocinctus* en un experimento de laboratorio no mostraron respuestas negativas ni aversión a los patrones de color de esta coral [53]. Un estudio reciente, en el que se monitorearon modelos de plastilina con diversos patrones de coloración de serpientes, incluidos los patrones de coloración de serpientes coral, utilizando cámaras trampa, mostró que la mayoría de los depredadores que dejaron marcas en las réplicas no eran depredadores vertebrados. Además, los pocos depredadores vertebrados que atacaron las réplicas no mostraron un comportamiento consistente con las observaciones de interacciones con presas naturales, lo que sugiere que las conclusiones de estudios previos que emplearon técnicas con presas artificiales deberían ser cuestionadas [54].

Aunque se ha documentado que las serpientes coral son presa de varios mamíferos y aves [55-58], ninguno de estos depredadores documentados probablemente sería un fuerte agente de selección de los patrones de color de las serpientes coral. Por ejemplo, algunos depredadores, como el ave *Herpetotheres cachinnans* (halcón risueño), pueden consumir cualquier serpiente, incluso aquellas con mejores comportamientos defensivos como las especies de los géneros *Bothrops* y *Crotalus* [59]. Otros depredadores que no se consideran especialistas en serpientes, como el *Buteo jamaicensis* (halcón de cola roja), también son capaces de consumir serpientes con buenos comportamientos defensivos, como las serpientes de cascabel del género *Crotalus* [60]. En la naturaleza, las observacio-

nes de depredación de serpientes coral por parte de aves y mamíferos son muy raras. No obstante, durante los últimos 100 años se ha asumido ampliamente que estos son los principales agentes de selección para el aposematismo y el mimetismo. Sin embargo, cuando se revisa la evidencia disponible detalladamente, al parecer estos organismos resultan ser poco significativos a la hora de explicar los patrones de coloración de las serpientes coral. En lugar de descartar estos hallazgos y observaciones como excepciones inocentes, la posibilidad de que los herpetólogos se hayan equivocado durante mucho tiempo acerca de la función de los patrones de color de las serpientes coral, merece una seria consideración.

### **4.3 Explicaciones alternativas al aposematismo y mimetismo en serpientes coral**

Se han propuesto varias hipótesis alternativas al aposematismo y mimetismo de las serpientes de coral, pero la mayoría no han sido citadas ampliamente ni examinadas críticamente. Una propuesta es que los patrones de color de las serpientes coral imitan a otros organismos, como los milpiés; o que las serpientes coral imitan a falsas corales levemente venenosas, como las especies del género *Erythrolamprus* [45,61]. Una relación mimética entre serpientes y milpiés parece poco plausible, dado que la mayoría de los depredadores vertebrados probablemente podrían distinguirlos fácilmente. Además, el parecido entre los milpiés y las serpientes con patrones de anillos de colores brillantes no es un fenómeno generalizado en las Américas. El supuesto que las serpientes coral imitan a las falsas coral es poco probable, dado que las serpientes coral pueden ser igual de inofensivas hacia los depredadores en el sentido de que son incapaces de dar una mordedura mortal de manera consistente (ver Capítulo 5). Además, las serpientes coral también se distribuyen en muchas áreas sin «modelos» levemente venenosos.

La hipótesis de la «fusión de parpadeo» (flicker-fusion) propone que los anillos de las serpientes ayudan a escapar de los depredadores formando un desenfoque de movimiento cuando la velocidad de transición de sus anillos excede la velocidad de fusión del parpadeo de los ojos de los depredadores. Esto puede hacer que las serpientes parezcan estacionarias mientras se mueven, lo que puede reducir el éxito de captura por parte de sus depredadores [62]. Aunque la hipótesis de la fusión del parpadeo parece plausible en el sentido de que podría proporcionar protección contra ciertos depredadores, no proporciona ninguna explicación para la complejidad de los patrones de coloración y los colores brillantes de las serpientes coral.

Otra alternativa es que los patrones de color cumplan una función protectora directa [63]. Aún no está claro cómo estos patrones de color podrían funcionar de esta manera contra los mamíferos y aves que las depredan. Mouy [64] propuso una hipótesis novedosa para explicar la evolución de los patrones de color de las serpientes coral: la «hipótesis de la ofiofagia». Esta propone que los anillos y colores de las serpientes coral verdaderas y falsas cumplen una función protectora directa contra

las serpientes ofiófagas(=serpientes que se alimentan de serpientes). En apoyo de esta idea, Mouy [64] sugirió que la presión depredadora sobre las serpientes en las Américas por parte de serpientes ofiófagas podría ser desproporcionadamente más alta en comparación con la ejercida por otros depredadores (p. ej., aves y mamíferos).

Posteriormente, Mouy realizó un análisis que consideró la posible asociación entre serpientes con dietas especializadas en vertebrados alargados y serpientes con anillos rojos. Este autor encontró evidencia que asocia la ofiofagia, la coloración roja y los patrones de anillos, sugiriendo que es plausible que la evolución de los patrones de color de las corales surge como estrategia defensiva contra la depredación por parte de serpientes. Un estudio reciente que utilizó un enfoque analítico diferente apoya las evidencias Mouy [64], también demuestra que existe una asociación entre la estrategia de búsqueda de alimento y las coloraciones contrastantes en serpientes de las familias Elapidae y Dipsadidae [65], lo que proporciona apoyo adicional a la hipótesis de la ofiofagia.

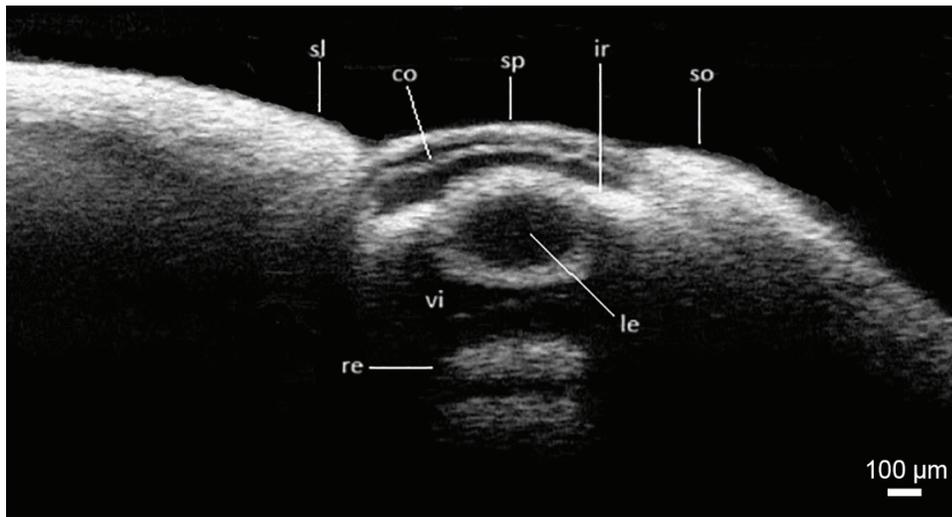
Mouy [66] también describió un posible mecanismo por el cual los patrones de color de las serpientes coral podrían frustrar la depredación por parte de serpientes ofiófagas. Propuso que los anillos interfieren con la capacidad de enfoque de las serpientes, dado que estos reptiles tienen lentes esféricos rígidos. Mouy, utilizó una serie de simulaciones para demostrar que las aberraciones esféricas generadas por lentes circulares pueden producir máximos de contraste locales que impedirían enfocar los anillos. Propuso, además, que la función del rojo en los patrones de color de las serpientes coral es restringir la visión de las serpientes en ambientes con poca luz, al forzar la utilización únicamente de los bastones (células fotorreceptoras), que proporcionan una visión menos precisa temporal y espacialmente.

Si se asumen estas funciones de los anillos y del color rojo, la diversidad y complejidad de los patrones de color de las serpientes coral se vuelven relativamente sencillas de explicar. Las serpientes con mucho rojo (p. ej., *Pseudoboa neuwiedii*, *Clelia clelia* juvenil, *Drepanoides anomalus* y *Oxyrhopus occipitalis*) probablemente serían presa de serpientes ofiófagas nocturnas que dependen en gran medida de la visión de bastones. Esto es consistente con nuestras observaciones en las que estas serpientes son exclusivamente nocturnas y se mueven relativamente rápido, lo que sería particularmente importante para evadir a los depredadores con una visión lenta basada en bastones vulnerables a la saturación (es decir, la limitación de los bastones para responder más allá de ciertos niveles de iluminación).

Estas serpientes también parecen evitar moverse en áreas abiertas bajo la luz de la luna, lo cual tiene sentido, dado que a mayores niveles de luz podrían reducir potencialmente la eficacia del rojo como defensa. Por el contrario, las serpientes con muchos anillos (p. ej., las corales de triadas) probablemente sean presa de serpientes ofiófagas con varios tipos de visión, ya que sus patrones proporcionarían protección, tanto a

través del efecto mancha que causan los anillos, como por el color rojo. De manera consistente con esto, muchas de las serpientes con patrones de tríadas (p. ej., *Micrurus elegans*) tienen patrones de actividad más variables y presentan menos rojo en altitudes elevadas (>1000 m sobre el nivel del mar), donde las temperaturas solo son propicias para la actividad diurna (C.K. Akcali, obs. pers.).

Para proporcionar ideas preliminares sobre si las serpientes coral serían vulnerables a las aberraciones esféricas, escaneamos el ojo de un espécimen de coral conocida comúnmente como rabo de ají (*Micrurus mipartitus*) utilizando un sistema de tomografía de coherencia óptica (Figura 6).



**Figura 6.** Tomografía de coherencia óptica B-scan promediada del ojo izquierdo de *Micrurus mipartitus* (Panamá, Bocas del Toro, Isla San Cristóbal; USNM 348250) a lo largo del eje dorsal-ventral. sl: escama supralabial; so: escama supraocular; sp: esclerótica; co: córnea; ir: iris; le: cristalino re: retina, vi: vítreo. Diámetro horizontal del lente: 1,38 mm; Diámetro del lente ecuatorial: 0,765 mm.

La imagen reveló que la superficie anterior del cristalino de *M. mipartitus* era subsférica como se ha observado en otras serpientes [67], lo que indica que los ojos de *M. mipartitus* serían de hecho vulnerables a experimentar aberraciones esféricas. No obstante, se necesitan estudios más detallados de la morfología ocular y los sistemas visuales de las serpientes coral verdaderas y falsas para determinar hasta qué punto los patrones de color de las serpientes de coral podrían resultar eficaces como defensa directa contra la depredación por serpientes ofiófagas.

Aunque se necesita mucho trabajo para evaluar la hipótesis ofiófaga y los posibles mecanismos sobre cómo los patrones de color de las serpientes de coral podrían proporcionar una función protectora, el poder explicativo del marco presentado por Mouy [64,66] es inmensamente mayor que el de todas las demás explicaciones para la evolución de los patrones de color de las serpientes coral propuestos hasta la fecha, incluidos el aposematismo y mimetismo. Este marco conceptual proporciona explicaciones convincentes sobre la diversidad y complejidad de los patrones de color de las serpientes coral y está libre de muchos de los problemas tradicionales del aposematismo y mimetismo.

También puede justificar varias curiosidades que no tienen explicación en otras alternativas, incluyendo: (1) ¿Por qué ciertos patrones de color,

como los anillos rojo y blanco, sin ningún anillo negro, nunca han evolucionado? (la función propuesta requiere anillos contrastantes, y el rojo y el blanco podrían no proporcionar suficiente contraste en la mayoría de las condiciones de iluminación); (2) ¿Por qué los anillos blancos/amarillos rara vez ocupan más del 50% del cuerpo, a diferencia de los anillos rojos? (el propósito exclusivo del blanco/amarillo es contrastar con el negro, mientras que el del rojo es apuntar a los bastones; por lo tanto, la función del rojo está desacoplada de la de los anillos negros a diferencia de los anillos blancos/amarillos); y (3) ¿Por qué las serpientes coral falsas muestran más irregularidades en los patrones que las serpientes coral verdaderas? y ¿por qué con mayor frecuencia las serpientes coral falsas han perdido los patrones de color en comparación con las verdaderas (una mayor variación en la fuerza de la ofiofagia como fuerza selectiva probablemente derivada de sus hábitos de búsqueda de alimento más diversos). Además, las claras predicciones propuestas por Mouy [66] son comprobables y permiten diagnosticar una función protectora directa de estos patrones de coloración.

Una última posibilidad es el supuesto que asume que los colores de las serpientes coral no tienen una única función, sino que realizan múltiples funciones; es decir, las explicaciones antes mencionadas sobre las funciones de los colores de las serpientes coral no son necesariamente excluyentes entre sí. Creemos que esto es poco parsimonioso dado que es improbable que la evolución y el mantenimiento de los colores de estas serpientes estén impulsados por varios factores. Como se definió anteriormente, la función de un rasgo es el efecto seleccionado por la evolución que mantiene un rasgo particular.

Los patrones de coloración en los animales pueden tener muchos efectos, como la coloración roja de las serpientes coral. Sin embargo, la función de la coloración roja es solo el efecto que selecciona, el rojo, que contribuye al aumento de esa coloración y que se mantiene a pesar de la selección en su contra. Aunque la coloración roja tiene varios efectos, es poco probable que tenga varias funciones. La coloración roja es un rasgo relativamente inusual y sería poco parsimonioso esperar que varios efectos aumenten su selección. En lugar de plantear el problema de determinar cuál es la función de los patrones de color de las serpientes coral, ya que es extremadamente complejo porque tienen muchas funciones, sugerimos que los biólogos e investigadores apasionados por este tema, se concentren en identificar el efecto principal de la selección de patrones de color de las serpientes coral.

#### **4.4 Conclusión**

El aposematismo y mimetismo son soluciones muy complejas para explicar el simple problema de evitar ser comido. Las soluciones que los organismos tienden a desarrollar en respuesta a este problema en la naturaleza tienden a ser bastante simples (p. ej., los mamíferos herbívoros desarrollan capacidades de huida más rápidas para dejar atrás a sus depredadores carnívoros, las serpientes desarrollan una mayor toxicidad del

veneno para incapacitar a sus presas más rápidamente y prevenir contraataques). Es probable que ocurra lo mismo con las serpientes con anillos rojos y negros. Desde hace más de 150 años se propuso por primera vez la posibilidad del aposematismo y mimetismo como explicación del patrón de coloración en las serpientes coral verdaderas y falsas, no obstante, a la fecha, no existe un solo estudio en que presente evidencia clara y sin lugar a dudas, que el patrón de coloración en las corales verdaderas y falsa obedecen directamente a fenómenos de aposematismo y mimetismo.

Nuestras propias observaciones de campo y otras observaciones publicadas indican que las serpientes coral verdaderas y falsas no cumplen con muchas de los supuestos y características de las especies prototípicas aposemáticas y miméticas, y la evidencia existente sobre el aposematismo y el mimetismo en las serpientes coral está lejos de ser convincente. En lugar de asumir una función aposemática para los patrones de color de las corales, alentamos que más investigadores dirijan sus esfuerzos a explorar soluciones alternativas más simples y con predicciones claras y comprobables para la función defensiva de los patrones de color de las serpientes coral.



## Apéndice: Materiales y Métodos

Los estudios se obtuvieron mediante búsquedas semanales desde enero de 2021 hasta marzo de 2024. Las búsquedas se realizaron de la siguiente manera:

1. Búsquedas semanales de Google Académico
2. Búsquedas semanales de Scielo;
3. Búsquedas semanales en Scopus.

Las búsquedas se realizaron utilizando las siguientes palabras clave en diferentes combinaciones utilizando los conectores booleanos AND OR: Snake venoms, *Micrurus*, *Leptomicrurus*, *Micruroides*, transcriptome, proteome, Evolution.

Se recuperaron datos genéticos de Genbank para cuatro marcadores mitocondriales (12s, 16s, cyt b y ND4) y un marcador nuclear (C-mos), para 44 especies de *Micrurus* (un espécimen por especie), más *Micruroides euryxanthus* (1 espécimen), y con *Ophiophagus hannah* y *Sinomicrurus macclellandi* como grupos externos (Tabla S1). Las secuencias para cada marcador genético se alinearon utilizando el algoritmo MUSCLE [68] implementado en GENEIOUS 9.1.8 [69] con los parámetros predeterminados.

En IQTree 2.2.0 [70], calculamos simultáneamente el mejor esquema de partición (por gen o codón) y modelos evolutivos (usando ModelFinder, [71]); el árbol de máxima probabilidad y soporte de nodos (utilizando 5000 réplicas de UltraFast Bootstrap, [72]). Para la anotación y el trazado de árboles, utilizamos los paquetes R ‘ape’ [73], ‘phangorn’ [74] y ‘phytools’ [75] con algunas ediciones posteriores realizadas con Inkscape 1.3 (www.inkscape.org).

**Tabla S1.** Números de acceso de Bionumbers y Genbank para las secuencias utilizadas en este documento.

Especies	Voucher	12S	16S	cyt b	ND4	Cmos
<i>Micrurus albicinctus</i>	MPEG19548				JF308714	
<i>Micrurus alleni</i>	ADM272		KX660164	KX660439	KX660567	KX660303
<i>Micrurus altirostris</i>	MCP5035				AF228431	
<i>Micrurus apiatus</i>	RH52446/M50	Z46454	Z46484	KU754325	KU754434	
<i>Micrurus baliocoryphus</i>	MZUSP10808				AF228433	
<i>Micrurus bocourti</i>	MECN2608				KP998031	
<i>Micrurus brasiliensis</i>	CEPB2301				AF228427	
<i>Micrurus browni</i>	M223			MG947754	MG947664	
<i>Micrurus carvalhoi</i>	CEPB2687				AF228438	
<i>Micrurus cf ibiboboca</i>	IVB1757				AF228436	

<i>Micrurus circinalis</i>	UWIZM2011.19.7	MK534131	MK534141	MK534160	MK534170	MK534151
<i>Micrurus corallinus</i>	USNM253597				JF308715	
<i>Micrurus decoratus</i>	IVB 2453				AF228441	
<i>Micrurus diastema</i>	M299			MG947767	MG947683	
<i>Micrurus dissoleucus</i>	UTAM673				JF308717	
<i>Micrurus distans</i>	M301			MG947768	MG947685	
<i>Micrurus diutius</i>	CAS231787	MK534136	MK534149	MK534168	K534178	MK534158
<i>Micrurus dumerilii</i>	MECN2881				KP998035	
<i>Micrurus elegans</i>	M48			MG947782	MG947710	
<i>Micrurus ephippifer</i>	M336				MG947697	
<i>Micrurus filiformis</i>	ICN11380	MW665121	MT862136		MW662060	MW662077
<i>Micrurus frontalis</i>	CEPB1587				AF228425	
<i>Micrurus fulvius</i>	Mitochondrion	GU045453	GU045453	GU045453	GU045453	
<i>Micrurus helleri</i>	AF4455	MW665123	MW672259	MW662069	MW662067	MW662081
<i>Micrurus ibiboboca</i>	YPX161	YPX161			YPX161	
<i>Micrurus laticollaris</i>	UTAM673				JF308717	
<i>Micrurus lemniscatus</i>	CAS257629	MK534136	MK534150	MK534169	MK534179	MK534159
<i>Micrurus mertensi</i>	CORBID114775				KP998037	
<i>Micrurus michoacanensis</i>	M331			MG947774	MG947693	
<i>Micrurus mipartitus</i>	CH5377/ USNM348250		MH140862	MH140283	EF137406	
<i>Micrurus mosquitensis</i>	M12			MG947741	MG947650	
<i>Micrurus narduccii</i>	WED54125			EF137412	EF137404	EF137420
<i>Micrurus nebularis</i>	M341			MG947778	MG947701	
<i>Micrurus nigrocinctus</i>	M120			MG947742	MG947651	
<i>Micrurus obscurus</i>	KU222205				JF308708	
<i>Micrurus oliveri</i>	M632				MG947722	
<i>Micrurus ornatissimus</i>	QCAZ2584				AF228442	

<i>Micrurus orton</i>	QCAZ2584					AF228442
<i>Micrurus psyches</i>	ROM28378					JF308713
<i>Micrurus pyrrhocryptus</i>	MZUSP10809					AF228434
<i>Micrurus sp</i>	CEPB2289					AF228439
<i>Micrurus stewarti</i>	CH5408		MH140870			KX090915
<i>Micrurus surinamensis</i>	CEPB8984	MN587874	MN587874	MN587874	MN587874	MN587874
<i>Micrurus tener</i>	M200			KU754314		KU754411
<i>Ophiophagus hannah</i>		NC_011394	NC_011394	NC_011394	NC_011394	KX694798
<i>Micruroides euryxanthus</i>				EF137416	EF137408	EF137423
<i>Sinomicrurus maccllellandi</i>		NC_054255	NC_054255	NC_054255	NC_054255	MG653595

El mapa se produjo con QGIS 3.34 [76] y se editó con Inkscape 1.3 (www.inkscape.org). Las muestras fueron nombradas según su especie, anotando individuos de diferentes poblaciones con un código abreviado al final del nombre de la muestra de la siguiente manera: AL (Alagoas, Brasil), B (Baurú, Brasil), BR (Brasil), CO (Colombia), EC/EQ (Ecuador), GO (Goiás, Brasil), J (Jaú, Brasil), PA (Pará, Brasil), RJ (Rio de Janeiro, Brasil), RO (Roraima, Brasil), SP (São Paulo, Brasil), TO (Tocantins, Brasil), UNK (Ubicación exacta desconocida).

Para determinar las relaciones entre las diferentes clases de toxinas venenosas, recuperamos datos proteómicos de toxinas relevantes de trabajos publicados con especies de serpientes coral [9,11,12,77–81]. Transformamos los datos obtenidos en porcentajes para obtener valores comparables de la proporción de cada clase de toxina. Luego realizamos un análisis de reconstrucción del estado ancestral utilizando los parámetros predeterminados de la función fastAnc implementada en el paquete Phytools [75] en el software R utilizando la filogenia recopilada aquí para estimar las longitudes de las ramas. Construimos un árbol usando la función contMap en Phytools para mostrar una variación continua en las proporciones de toxinas para cada nodo usando un gradiente de color.

El ojo izquierdo del espécimen de *Micrurus mipartitus* (Panamá, Bocas del To-ro, Isla San Cristóbal; USNM 348250) se escaneó utilizando un escáner de tomografía de coherencia óptica (OQ StrataScope, Lumedica Inc., Durham, NC, EE. UU.). Se tomaron un total de 30 exploraciones B del ojo a lo largo de los ejes dorsal-ventral y anteroposterior, y se promediaron ambos conjuntos de estas 30 exploraciones B. El diámetro ecuatorial de la lente se midió tomando el promedio de las mediciones de los dos escaneos B promediados utilizando calibradores electrónicos en el software Lumedica. El diámetro horizontal de las lentes del ojo izquierdo se midió utilizando calibradores digitales portátiles con la ayuda de un microscopio estereoscópico.

## Referencias

1. Uetz, P. The Original Descriptions of Reptiles. *Zootaxa* **2010**, 59–68, doi:10.11646/zootaxa.2334.1.3.
2. Mackessy, S.P. *Handbook of Venoms and Toxins of Reptiles.*; 1st ed.; CRC Press: Boca Raton, **2021**.
3. Zaher, H.; Murphy, R.W.; Arredondo, J.C.; Graboski, R.; Machado-Filho, P.R.; Mahlow, K.; Montingelli, G.G.; Quadros, A.B.; Orlov, N.L.; Wilkinson, M.; et al. *Large-Scale Molecular Phylogeny, Morphology, Divergence-Time Estimation, and the Fossil Record of Advanced Caenophidian Snakes (Squamata: Serpentes)*; *PloS ONE* **2019**; 14(5): e0217959. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0217959>.
4. Tanaka, G.D.; Furtado, M.D.F.D.; Portaro, F.C.V.; Sant'Anna, O.A.; Tambourgi, D. V. Diversity of *Micrurus* Snake Species Related to Their Venom Toxic Effects and the Prospective of Antivenom Neutralization. *PLoS Negl Trop Dis* **2010**, 4, e622, doi:10.1371/JOURNAL.PNTD.0000622.
5. Silva Jr., N.J. As Cobras-Corais Do Brasil: Biologia, Taxonomia, Venenos, Envenenamentos. **2016**, 415pp.
6. Roze, J.A. Coralsnakes of the Americas: Biology, Identification, and Venoms. *Coralsnakes of the Americas: biology, identification, and venoms*. Krieger Publishing Company: Malabar **1996**, 328pp.
7. Bucarety, F.; Capitani, E.M. De; Vieira, R.J.; Rodrigues, C.K.; Zannin, M.; Jr, N.J.D.S.; Casais-e-Silva, L.L.; Hyslop, S. Coral Snake Bites (*Micrurus* Spp.) in Brazil: A Review of Literature Reports. <https://doi.org/10.3109/15563650.2015.1135337> **2016**, 54, 222–234, doi:10.3109/15563650.2015.1135337.
8. Campbell, J.A.; Lamar, W.W.; Brodie, E.D.; others *The Venomous Reptiles of the Western Hemisphere*; Comstock Pub. Associates Ithaca [NY], **2004**; Vol. 1.
9. Lomonte, B.; Rey-Suárez, P.; Fernández, J.; Sasa, M.; Pla, D.; Vargas, N.; Bénard-Valle, M.; Sanz, L.; Corrêa-Netto, C.; Núñez, V.; et al. Venoms of *Micrurus* Coralsnakes: Evolutionary Trends in Compositional Patterns Emerging from Proteomic Analyses. *Toxicon* **2016**, 122, 7–25.
10. Bucarety, F.; De Capitani, E.M.; Vieira, R.J.; Rodrigues, C.K.; Zannin, M.; Da Silva, N.J.; Casais-E-Silva, L.L.; Hyslop, S. Coral Snake Bites (*Micrurus* spp.) in Brazil: A Review of Literature Reports. *Clin Toxicol (Phila)* **2016**, 54, 222–234, doi:10.3109/15563650.2015.1135337.
11. Sanz, L.; Pla, D.; Pérez, A.; Rodríguez, Y.; Zavaleta, A.; Salas, M.; Lomonte, B.; Calvete, J.J. Venomic Analysis of the Poorly Studied Desert Coral Snake, *Micrurus tschudii tschudii*, Supports the 3FTx/PLA<sub>2</sub> Dichotomy across *Micrurus* Venoms. *Toxins* 2016, Vol. 8, Page 178 **2016**, 8, 178, doi:10.3390/TOXINS8060178.
12. Sanz, L.; Quesada-Bernat, S.; Ramos, T.; Casais-e-Silva, L.L.; Corrêa-Netto, C.; Silva-Haad, J.J.; Sasa, M.; Lomonte, B.; Calvete, J.J. New Insights into the Phylogeographic Distribution of the 3FTx/PLA<sub>2</sub> Venom Dichotomy across Genus *Micrurus* in South America. *J Proteomics* **2019**, 200, 90–101, doi:10.1016/J.JPROT.2019.03.014.
13. Hurtado-Gómez, J.; Vargas-Ramírez, M.; Ruiz-Gómez, Fouquet, A.; Fritz, U. Multilocus phylogeny clarifies relationships and diversity within the *Micrurus lemniscatus* complex (Serpentes: Elapidae). *Salamandra* **2021**, 57, 229–239.

14. Jowers, M.J.; Smart, U.; Sánchez-Ramírez, S.; Murphy, J.C.; Gómez, A.; Bosque, R.J.; Sarker, G.C.; Noonan, B.P.; Faria, J.F.; Harris, D.J.; et al. Unveiling Underestimated Species Diversity within the Central American Coralsnake, a Medically Important Complex of Venomous Taxa. *Sci Rep* **2023**, *13*, doi:10.1038/S41598-023-37734-5.
15. Zaher, H.; Grazziotin, F.G.; Prudente, A.L. da C.; Quadros, A.B.A.; Trevine, V.C.; Silva, Jr., N.J. Origin and Evolution of Elapids and New World Coralsnakes. In *Advances in coralsnake biology: With emphasis on south america*; Silva, Jr., N.J., Porras, L.W., Aird, S.D., Prudente, A.L. da C., Eds.; Eagle Mountain Publishing: Goiás, **2021**; pp. 97–113.
16. Silva, Jr., N.J.; Buononato, Marcus, A.; Pires, M.G.; Feitosa, D.T. New World Coralsnakes: An Overview. In *Advances in coralsnake biology: With emphasis on south america*; Silva, Jr.N.J., Porras, L.W., Aird, S.D., Prudente, A.L. da C., Eds.; Eagle Mountain Publishing: Goiás, **2021**; pp. 115–139.
17. Reyes-Velasco, J.; Adams, R.H.; Boissinot, S.; Parkinson, C.L.; Campbell, J.A.; Castoe, T.A.; Smith, E.N. Genome-Wide SNPs Clarify Lineage Diversity Confused by Coloration in Coralsnakes of the *Micrurus diastema* Species Complex (Serpentes: Elapidae). *Mol Phylogenet Evol* **2020**, *147*, 106770, doi:10.1016/J.YMPEV.2020.106770.
18. Wallace, A.R. Mimicry and other protective resemblances among animals. Alfred Russel Wallace Classic Writings **1867**, *8*, 1–27.
19. Jowers, M.J.; Garcia Mudarra, J.L.; Charles, S.P.; Murphy, J.C. Phylogeography of West Indies Coralsnakes (*Micrurus*): Island Colonisation and Banding Patterns. *Zool Scr* **2019**, *48*, 263–276, doi:10.1111/ZSC.12346.
20. Nascimento, L.R.S.; Graboski, R.; Silva J.R., N.J.; Prudente, A.L.C. Integrative taxonomy of *Micrurus ibiboboca* (Merrem, 1820) (Serpentes, Elapidae) reveals three new species of coral snake. *Systematics and Biodiversity* **2024**, *22*(1). <https://doi.org/10.1080/14772000.2024.2315958>
21. Zaher, H.; Grazziotin, F.; Prudente, A.L.C.; Siva Jr, N.J. Origem e Evolução Dos Elapideos e Das Cobras-Corais Do Novo Mundo. *As Cobras-corais do Brasil* **2016**, *1*, 25–45.
22. Lee, M.S.Y.; Sanders, K.L.; King, B.; Palci, A. Diversification Rates and Phenotypic Evolution in Venomous Snakes (Elapidae). *R Soc Open Sci* **2015**, *3*, doi:10.1098/RSOS.150277.
23. Zaher, H.; Grazziotin, F.G.; Prudente, A.L. da C.; Quadros, A.B.A.; Trevine, V.C.; Silva, Jr., N.J. Origin and Evolution of Elapids and New World Coralsnakes. In *Advances in coralsnake biology: With emphasis on south america*; Silva, Jr., N.J., Porras, L.W., Aird, S.D., Prudente, A.L. da C., Eds.; Eagle Mountain Publishing: Goiás, 2021; pp. 97–113.
24. Roze, J.A. Coralsnakes of the Americas: Biology, Identification, and Venoms. *Coralsnakes of the Americas: biology, identification, and venoms*. **1996**.
25. Campbell, J.A.; Lamar, W.W.; Brodie, E.D.; others *The Venomous Reptiles of the Western Hemisphere*; Comstock Pub. Associates Ithaca [NY], **2004**; Vol. 2.
26. Lomonte, B.; Rey-Suárez, P.; Fernández, J.; Sasa, M.; Pla, D.; Vargas, N.; Bénard-Valle, M.; Sanz, L.; Corrêa-Netto, C.; Núñez, V.; et al. Venoms of *Micrurus* Coralsnakes: Evolutionary Trends in Compositional Patterns Emerging from Proteomic Analyses. *Toxicon* **2016**, *122*, 7–25, doi:10.1016/J.TOXICON.2016.09.008.

27. Rodríguez-Vargas, A.; Franco-Vásquez, A.M.; Bolívar-Barbosa, J.A.; Vega, N.; Reyes-Montaño, E.; Arreguín-Espinosa, R.; Carbajal-Saucedo, A.; Angarita-Sierra, T.; Ruiz-Gómez, F. Unveiling the Venom Composition of the Colombian Coralsnakes *Micrurus helleri*, *M. medemi*, and *M. sangilensis*. *Toxins (Basel)* **2023**, *15*, 622, doi:10.3390/toxins15110622.
28. Da Silva, N.Jr.; D. Aird, S. Prey Specificity, Comparative Lethality and Compositional Differences of Coral Snake Venoms. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology* **2001**, *128*, 425–456, doi:10.1016/S1532-0456(00)00215-5.
29. Almeida et al. In *Advances in Coralsnake Biology: With an Emphasis on South America*; Silva Jr., N.J., Porras, L.W., Aird, S.D., Prudente, A.L.C., Eds.; Eagle Mountain Publishing, LC: Eagle Mountain, USA, **2021**; pp. 291–314.
30. Sena II, A.T.; Ruane, S. Concepts and contentions of coral snake resemblance: Batesian mimicry and its alternatives. *Biological Journal of the Linnean Society* **2022**, *135*, 631–644, doi:10.1093/biolinnean/blab171.
31. Mouy, H. The function of red and banded patterns in snakes: A review of hypotheses and evidence, and of the appearance of a similar selective force outside of the Americas. *Biological Journal of the Linnean Society* **2024**, *142*, 351–374. doi:10.1093/biolinnean/blad151.
32. Brodie III, E.D. Differential avoidance of coral snake banded patterns by free-ranging avian predators in Costa Rica. *Evolution* **1993**, , doi:10.1111/j.1558-5646.1993.tb01212.x.
33. Brodie III, E.D.; Janzen, F.J. Experimental studies of coral snake mimicry: Generalized avoidance of ringed snake patterns by free-ranging avian predators. *Functional Ecology* **1995**, *9*, 188–190, doi:10.2307/2390563.
34. Hinman, K.E.; Throop, H.L.; Adams, K.L.; Dake, A.J.; McLauchlan, K.K.; McKone, M.J. Predation by free-ranging birds on partial coral snake mimics: The importance of ring width and color. *Evolution* **1997**, *51*, 1011–1014, doi:10.1111/j.1558-5646.1997.tb03684.x.
35. Pfennig, D.W.; Harcombe, W.R.; Pfennig, K.S. Frequency-dependent Batesian mimicry. *Nature* **2001**, *410*, 323, doi:10.1038/35066628.
36. Buasso, C.M.; Leynaud, G.C.; Cruz, F.B. Predation on snakes of Argentina: Effects of coloration and ring pattern on coral and false coralsnakes. *Studies on Neotropical Fauna and Environment* **2006**, *41*, 183–188, doi:10.1080/01650520600630725.
37. Pfennig, D.W.; Harper, G.R. Jr.; Brumo, A.F.; Harcombe, W.R.; Pfennig, K.S. Population differences in predation on Batesian mimics in allopatry with their model: Selection against mimics is strongest when they are common. *Behavioral Ecology and Sociobiology* **2007**, *61*, 505–511, doi:10.1007/s00265-006-0278-x.
38. Kikuchi, D.W.; Pfennig, D.W. Predator cognition permits imperfect coral snake mimicry. *The American Naturalist* **2010**, *176*, 830–834, doi:10.1086/657041.
39. Akcali, C.K.; Perez-Mendoza, H.A.; Kikuchi, D.W.; Pfennig, D.W. Multiple models generate a geographical mosaic of resemblance in a Batesian mimicry complex. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **2019**, *286*, 20191519, doi:10.1098/rspb.2019.1519.

40. Sanches, V.Q.A.; Gomes, C.A.B. Aposematic and cryptic snakes are equally attacked at occidental Amazonian Forest. *Herpetology Notes* **2019**, *12*, 1105–1111.
41. Banci, K.R.S.; Eterovic, A.; Marinho, P.S.; Marques, O.A.V. Being a bright snake: Testing aposematism and mimicry in a neotropical forest. *Biotropica* **2020**, *52*, 1229–1241, doi:10.1111/btp.12831.
42. Wilson, L.; Lonsdale, G.; Curlis, J.D.; Hunter, E.; Cox, C.L. Predator-based selection and the impact of edge sympatry on components of coral snake mimicry. *Evolutionary Ecology* **2022**, *36*, 135–149, doi:10.21203/rs.3.rs-493560/v1.
43. Smith, S. Innate recognition of coral snake pattern by a possible avian predator. *Science* **1975**, *187*, 759–760, doi:10.1126/science.187.4178.759.
44. Smith, S. Coral-snake pattern recognition and stimulus generalisation by naive great kiskadees (Aves: Tyrannidae). *Nature* **1977**, *265*, 535–536, doi:10.1038/265535a0.
45. Greene, H.W.; McDiarmid, R. Coral snake mimicry: does it occur? *Science* **1981**, *213*, 1207–1212, doi:10.1126/science.213.4513.1207.
46. Mappes, J.M.; Endler, J. The complex business of survival by aposematism. *Trends in Ecology & Evolution* **2005**, *20*, 598–603, doi:10.1016/j.tree.2005.07.011.
47. Bosque, R.J.; Noonan, B.P.; Colli, G.R. Geographical concordance and mimicry between harmless snakes (Colubridae: *Oxyrhopus*) and harmful models (Elapidae: *Micrurus*). *Global Ecology and Biogeography* **2016**, *25*, 218–226, doi:10.1111/geb.12401.
48. Almeida, P.C.; Feitosa, D.T.; Passos, P.; Prudente, A.L.C. Morphological variation and taxonomy of *Atractus latifrons* (Günther, 1868) (Serpentes: Dipsadidae). *Zootaxa* **2014**, *3860*, 64–80, doi:10.11646/zootaxa.3860.1.3.
49. Bosque, R.J.; Hyseni, C.; Santos, M.L.G.; Rangel, E.; Da Silva Dias, C.J.; Hearin, J.B.; Da Silva Jr., N.J.; Bicalho Domingos, F.M.C.; Colli, G.R.; Noonan, B.P. Müllerian mimicry and the coloration patterns of sympatric coralsnakes. *Biological Journal of the Linnean Society* **2022**, *135*, 645–651, doi:10.1093/biolinnean/blab155.
50. Davis Rabosky, A.R.; Cox, C.L.; Rabosky, D.L.; Title, P.O.; Holmes, I.A.; Feldman, A.; McGuire, J.A. Coralsnakes predict the evolution of mimicry across New World snakes. *Nature Communications* **2016**, *7*, 1–9, doi:10.1038/ncomms11484.
51. Strauch, M.A.; Souza, G.J.; Pereira, J.N.; Ramos, T.S.; Cesar, M.O.; Tomaz, M.A.; Monteiro-Machado, M.; Patrão-Neto, F.C.; Melo, P.A. True or false coral snake: is it worth the risk? A *Micrurus corallinus* case report. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases* **2018**, *24*, 10, doi:10.1186/s40409-018-0148-9.
52. Pfennig, D.W.; Mullen, S.P. Mimics without models: causes and consequences of allopatry in Batesian mimicry. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B* **2010**, *277*, 2577–2585, doi:10.1098/rspb.2010.0586.
53. Beckers, G.J.L., Leenders, T.A.A.M.; Strijbosch, H. Coral snake mimicry: live snakes not avoided by a mammalian predator. *Oecologia* **1996**, *106*, 461–463.
54. Muscat, E., de Toledo Moroti, M., Sazima, I., Toledo, L. F., & Rebouças, R. Are plasticine models efficient to test defensive colour-

- ration of snakes? *Herpetological Journal*, **2024**, 34(2), 75–83, doi:10.33256/34.2.7583
55. Smith, N.G. Avian predation of coralsnakes. *Copeia* **1969**, 2, 402–404, doi:10.2307/1442098.
  56. Brugger, K.E. Red-tailed hawk dies with coral snake in talons. *Copeia* **1989**, 2, 508–510, doi:10.2307/1445456.
  57. DuVal, E.H.; Greene, H.W.; Manno, K.L. Laughing falcon (*Herpetotheres cachinnans*) predation on coralsnakes (*Micrurus nigrocinctus*). *Biotropica* **2006**, 38, 566–568, doi:10.1111/j.1744-7429.2006.00162.x.
  58. Gómez-Martínez, M.J.; Gutierrez, A.; DeClerck, F. Four-eyed opossum (*Philander opossum*) predation on a coral snake (*Micrurus nigrocinctus*). *Mammalia* **2008**, 72, 350–351, doi:10.1515/MAMM.2008.031.
  59. Costa, H.C.; Lopes, L.E.; Marçal, B.F.; Zorzin, G. The reptile hunter's menu: A review of the prey species of Laughing Falcons, *Herpetotheres cachinnans* (Aves: Falconiformes). *North-Western Journal of Zoology* **2014**, 10, 445–453.
  60. Knight, R.L.; Erickson, A.W. High incidence of snakes in the diet of nestling red-tailed hawks. *Raptor Research* **1976**, 10, 108–111.
  61. Brodie III, E.D.; Moore, A. Experimental studies of coral snake mimicry: do snakes mimic millipedes? *Animal Behaviour* **1995**, 49, 534–536, doi:10.1006/anbe.1995.0072.
  62. Titcomb, G.C.; Kikuchi, D.W.; Pfennig, D.W. More than mimicry? Evaluating scope for flicker-fusion as a defensive strategy in coral snake mimics. *Current Zoology* **2014**, 60, 123–130, doi:10.1093/czoolo/60.1.123.
  63. Brattstrom, B.H. The coral snake 'mimic' problem and protective coloration. *Evolution* **1955**, 9, 217–219, doi:10.2307/2405591.
  64. Mouy, H. The function of red and banded patterns in snakes: The ophiophagy hypothesis. *Biological Journal of the Linnean Society* **2024**, 142, 452–467. doi:10.1093/biolinnean/blad153.
  65. Kojima, Y.; Ito, R.K.; Fukuyama, I.; Ohkubo, Y.; Durso, A.M. Foraging predicts the evolution of warning coloration and mimicry in snakes. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2024**, 121, e2318857121, doi:10.1073/pnas.2318857121.
  66. Mouy, H. The function of red and banded patterns in snakes: The eyes of the beholders. Also, the function of bands in fish. *Biological Journal of the Linnean Society* **2024**, 142, 452–46. doi:10.1093/biolinnean/blad154.
  67. Caprette, C. Conquering the cold shudder: the origin and evolution of snake eyes. PhD Thesis **2005**, The Ohio State University.
  68. Edgar, R.C. MUSCLE: Multiple Sequence Alignment with High Accuracy and High. *Nucleic Acids Res.* **2004**, 32, 1792–1797.
  69. Kearse, M.; Moir, R.; Wilson, A.; Stones-Havas, S.; Cheung, M.; Sturrock, S.; Buxton, S.; Cooper, A.; Markowitz, S.; Duran, C.; et al. Geneious Basic: An Integrated and Extendable Desktop Software Platform for the Organization and Analysis of Sequence Data. *Bioinformatics* **2012**, 28, 1647–1649.
  70. Minh, B.Q.; Schmidt, H.A.; Chernomor, O.; Schrempf, D.; Woodhams, M.D.; Von Haeseler, A.; Lanfear, R.; Teeling, E. IQ-TREE 2: New Models and Efficient Methods for Phylogenetic Inference in the Genomic Era. *Mol Biol Evol* **2020**, 37, 1530–1534, doi:10.1093/molbev/msaa015.
  71. Kalyaanamoorthy, S.; Minh, B.Q.; Wong Thomas K F and von Haeseler, A.; Jermiin, L.S. ModelFinder: Fast Model Selection for Accurate Phylogenetic. *Nat. Methods* **2017**, 14, 587–589.

72. Hoang, D.T.; Chernomor, O.; von Haeseler, A.; Minh, B.Q.; Vinh, L.S. UFBoot2: Improving the Ultrafast Bootstrap Approximation. *Mol. Biol. Evol.* **2018**, *35*, 518–522.
73. Paradis, E.; Schliep, K. Ape 5.0: An Environment for Modern Phylogenetics and Evolutionary in R. *Bioinformatics* **2019**, *35*, 526–528.
74. Schliep, K.P. Phangorn: Phylogenetic Analysis in R. *Bioinformatics* **2011**, *27*, 592–593.
75. Revell, L.J. Phytools: An R Package for Phylogenetic Comparative Biology (and Other Things). *Methods Ecol Evol* **2012**, *3*, 217–223, doi:10.1111/j.2041-210X.2011.00169.x.
76. QGIS Development Team QGIS Geographic Information System 2024.
77. Lippa, E.; Török, F.; Gómez, A.; Corrales, G.; Chacón, D.; Sasa, M.; Gutiérrez, J.M.; Lomonte, B.; Fernández, J. First Look into the Venom of Roatan Island's Critically Endangered Coral Snake *Micrurus ruatanus*: Proteomic Characterization, Toxicity, Immunorecognition and Neutralization by an Antivenom. *J Proteomics* **2019**, *198*, 177–185, doi:10.1016/J.JPROT.2019.01.007.
78. Bénard-Valle, M.; Neri-Castro, E.; Elizalde-Morales, N.; Olvera-Rodríguez, A.; Strickland, J.; Acosta, G.; Alagón, A. Protein Composition and Biochemical Characterization of Venom from Sonoran Coralsnakes (*Micruroides euryxanthus*). *Biochimie* **2021**, *182*, 206–216, doi:10.1016/J.BIOCHI.2021.01.003.
79. Olamendi-Portugal, T.; Batista, C.V.F.; Pedraza-Escalona, M.; Restano-Cassulini, R.; Zamudio, F.Z.; Benard-Valle, M.; Rafael de Roodt, A.; Possani, L.D. New Insights into the Proteomic Characterization of the Coral Snake *Micrurus pyrrhocryptus* Venom. *Toxicon* **2018**, *153*, 23–31, doi:10.1016/J.TOXICON.2018.08.003.
80. Sanz, L.; de Freitas-Lima, L.N.; Quesada-Bernat, S.; Graça-de-Souza, V.K.; Soares, A.M.; Calderón, L. de A.; Calvete, J.J.; Caldeira, C.A.S. Comparative Venomics of Brazilian Coralsnakes: *Micrurus frontalis*, *Micrurus spixii spixii*, and *Micrurus surinamensis*. *Toxicon* **2019**, *166*, 39–45, doi:10.1016/J.TOXICON.2019.05.001.
81. Hernández-Altamirano, J.A.; Salazar-Valenzuela, D.; Medina-Villamizar, E.J.; Quirola, D.R.; Patel, K.; Vaiyapuri, S.; Lomonte, B.; Almeida, J.R. First Insights into the Venom Composition of Two Ecuadorian Coralsnakes. *International Journal of Molecular Sciences* **2022**, *23*, 14686, doi:10.3390/IJMS232314686.

# Capítulo 3

## Asesinos por naturaleza: Revisión de los caminos evolutivos de las víboras colombianas

**Sergio D. Cubides-Cubillos, Mónica M. Saldarriaga-Córdoba, Jaime A. Pereañez, Teddy Angarita-Sierra**

**Resumen:** Históricamente, las víboras conocidas comúnmente como mapaná, cascabel, verrugoso y patoco, han recibido mucha atención debido a su importancia médica, así como a la notable diversidad de sus venenos, formas y anatomía (p. ej., fosetas loreales con detección infrarroja, cascabeles y toxinas letales). Cientos de artículos y libros han sido publicados sobre las víboras del hemisferio occidental, consolidado un amplio y robusto marco conceptual que ha permitido comprenderlas. Sin embargo, la mayoría de estas contribuciones se han centrado en especies que habitan las zonas templadas del continente o en países tropicales como Brasil, Costa Rica y México. Esta disparidad ha limitado nuestra comprensión de la diversidad y endemismos de las víboras que habitan en regiones geográficamente complejas de América tropical, como lo es Colombia. Las víboras colombianas cuentan con fascinantes historias evolutivas, así como una asombrosa diversidad morfológica e intrincados patrones de distribución geográfica, que aún aguardan por ser comprendidos a profundidad. Actualmente, el veneno de las víboras colombianas y sus diversas formas tienen una importancia científica considerable, convirtiéndose en sistemas modelo que permiten explorar los principios de la biología evolutiva, desde los genes, individuos y poblaciones, hasta contextos macroevolutivos. Con base en una revisión detallada de la información disponible, así como a partir de la generación de nueva evidencia, en este capítulo revisamos y discutimos los linajes evolutivos, venómica y actividades biológicas de los venenos de los vipéridos presentes en Colombia.

**Palabras clave:** Diversidad biológica, colmillos, serpientes venenosas, mordedura de serpiente, región neotropical.



Citación: Cubides-Cubillos, SD; Saldarriaga-Córdoba, MM; Pereañez, JA; Angarita-Sierra, T. Capítulo 3. Asesinos por naturaleza: Revisión de los caminos evolutivos de las víboras colombianas. En el libro: *Mordeduras, venenos y serpientes venenosas de Colombia*; Angarita-Sierra, T., Ruiz-Gómez, FJ, Eds.; Instituto Nacional de Salud: Bogotá DC, Colombia, 2024; pp . 125-178. doi:10.33610/145478txfjyn



Copyright: © 2024 por los autores. Publicación de acceso abierto bajo los términos y condiciones de licenciamiento Creative Commons Atribución (CC BY-NC-ND 4.0) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Ilustraciones por:  
Oscar A. Ramírez Ruiz

## 1. Depredadores de emboscada: Víboras alrededor del mundo

El veneno, es un rasgo biológico sorprendente que ha evolucionado de forma independiente en numerosos organismos en nuestro planeta. No obstante, este rasgo, que caracteriza algunos grupos de serpientes, culturalmente genera reacciones y actitudes encontradas, al evocar al mismo tiempo miedo, fascinación y respeto, haciendo que las serpientes sobresalgan sobre todas las especies del reino animal como un animal de poder [1]. Sin embargo, en todo el mundo, sólo un puñado de especies de serpientes posee un veneno con la potencia necesaria y un sofisticado mecanismo de administración que sea capaz de representar una amenaza real para la vida de sus presas, o personas (ver Capítulo 5). Aproximadamente, el 10% de todas las serpientes existentes actualmente pertenecen a la familia Viperidae, las cuales son comúnmente conocidas como víboras [2,3]. Esta familia se divide taxonómica y filogenéticamente en tres subfamilias: Azemiopinae (víboras de Fea), Crotalinae (víboras con foseta termorreceptora) y Viperinae («víboras verdaderas» o «víboras sin fosas»).

Actualmente, se reconocen alrededor de 383 especies de vipéridos, agrupadas en 37 géneros [4]. Trece de estos géneros se distribuyen en el neotrópico americano: *Agkistrodon* [5], *Atropoides* [6], *Bothriechis* [7], *Bothrocophias* [8], *Bothrops* [9], *Cerrophidion* [10], *Crotalus* [11], *Lachesis* [12], *Metlapilcoatlus* [13], *Mixcoatlus* [14], *Ophryacus* [15], *Porthidium* [16], *Sistrurus* [17]; 24 géneros se distribuyen a lo largo de los continentes asiático, europeo y africano: *Atheris* [18], *Azemiops* [19], *Bitis* [20], *Calloselasma* [21], *Causus* [22], *Cerastes* [11], *Craspedocephalus* [23], *Daboia* [20], *Deinagkistrodon* [24], *Echis* [25], *Eristicophis* [26], *Garthius* [27], *Gloydus* [28], *Hypnale* [29], *Macropviper* [30], *Montatheris* [31], *Montiviper* [32], *Ovophis* [33], *Proatheris* [31], *Protobothrops* [34], *Pseudocerastes* [35], *Trimeresurus* [36], *Tropidolaemus* [22], y *Vipera* [37].

Entre todas las serpientes venenosas, el sistema de administración de veneno de los vipéridos es el más especializado. Se caracteriza por la presencia de colmillos frontales, largos y tubulares (canal interno), ensamblados sobre un hueso maxilar móvil, y conductos que transportan el veneno [38] (ver Capítulo 5). Los colmillos desarrollados por los vipéridos representan uno de los rasgos funcionales más notables en la naturaleza, estando directamente relacionados con su historia de vida y estrategia de alimentación. Las víboras son principalmente depredadores de emboscada, siendo especies sedentarias que consumen principalmente presas de «sangre caliente» (endotermos) durante su edad adulta [38,39]. Como consecuencia de la evolución, su eficiente y sofisticado mecanismo de inoculación de venenos para la captura de presas, disuasión y defensa ante depredadores, las víboras son agentes biológicos de importancia médica debido a la elevada incidencia anual de mordeduras (accidentes ofídicos; ver Capítulo 9).

En estos cazadores de emboscada, la composición del veneno limita la selección de presas; de ahí que su dieta tenga notorias adaptaciones y especificidades. Por ejemplo, los venenos de las serpientes recién na-

cidas o juveniles exhiben una mayor letalidad ( $DL_{50}$ ) que la observada en los adultos [40], indicando que existen diferencias bioquímicas relacionadas con los cambios en la dieta y desarrollo de los individuos. De hecho, estudios proteómicos han revelado que la variación ontogenética en la composición del veneno es un indicador importante para comprender la dinámica y las actividades biológicas de las toxinas de dos las víboras colombianas con mayor importancia médica: *Bothrops atrox* [41] y *Bothrops asper* [42,43].

Para comprender cómo evolucionaron las estrategias de alimentación en las serpientes, desde el proceso mecánico para dominar la presa (constricción) hasta el uso de un arsenal químico (inyección de veneno), es imperativo comprender primero los numerosos procesos a través de los cuales la selección natural ha favorecido la armonía entre divergencia y adaptación [44]. Este equilibrio ha permitido el surgimiento de una gran heterogeneidad en la composición, función y acción de las toxinas de los venenos de las víboras. En este capítulo presentamos una breve descripción de los últimos 50 años de investigación sobre la historia evolutiva y natural de las especies de víboras que habitan los ecosistemas tropicales de Colombia, enfocándose en las especies de serpientes de mayor importancia médica.

## **2. Perspectivas evolutivas y geográficas de la colonización y diversificación de las víboras en el trópico suramericano**

El trabajo pionero realizado por William L. Burger [45], constituye uno de los grandes aportes en la comprensión de la sistemática y biología de las víboras suramericanas. Burger [45] aclaró la delimitación de varios grupos de víboras y generó la descripción de nuevos caracteres de uso taxonómico para la familia Viperidae. Su trabajo propuso la división del género *Bothrops* en cinco géneros morfológicamente divergentes: *Bothriechis*, *Bothriopsis*, *Bothrops*, *Ophryacus* y *Porthidium*. Hoy en día, la validez de *Bothriopsis* como un género divergente de *Bothrops* es controvertida, aunque históricamente algunos autores consideraron a *Bothriopsis* como un género válido, actualmente numerosos estudios filogenéticos han cuestionado su distinción del género *Bothrops*. No obstante, el trabajo de Burger [45] fue crucial porque desencadenó una serie de reordenamientos nomenclaturales que permitieron describir géneros derivados de *Porthidium*, como son los géneros *Atropoides* [6] y *Cerrophidion* [10].

Posteriormente, Avise [46] publicó uno de los estudios pioneros que examinaron hipótesis filogenéticas y filogeográficas de las víboras americanas, a partir del uso de marcadores moleculares. Avise, estudió las relaciones ancestrales que no se ven afectadas por la selección convergente mediante la evaluación de marcadores moleculares de origen mitocondrial, usándolos como evidencia independiente, y asumiendo que es poco probable que estos rasgos se vean influenciados por las mismas presiones selectivas que actúan sobre los rasgos morfológicos [47]. En consecuencia, a partir de 1990, las secuencias de ADN se han venido

utilizado para inferir las líneas de tiempo histórico en las que diferentes clados (=linajes) de vipéridos divergieron, ayudando a comprender la diversificación morfológica en un contexto biogeográfico [48]. Por lo tanto, estos estudios iniciales que examinaron el valor evolutivo de los genes mitocondriales, revelaron, por ejemplo, que genes como el citocromo *b* y NADH son predictores adecuados de las relaciones filogenéticas, en gran parte, debido a la evolución más lenta en comparación con los genes de las unidades ribosomales 12s y 16s [49].

Los trabajos de Parkinson et al. [50] y Gutberlet Jr., et al. [51] identificaron y sugirieron la existencia de dos grupos monofiléticos de víboras en América: un clado de especies norteamericanas que agrupa los géneros *Agkistrodon*, *Atropoides*, *Cerrophidion*, *Crotalus*, *Metlapilcoatlus*, *Ophryacus* y *Sistrurus*, y un segundo clado que agrupa a los demás géneros ubicados en la región Neotropical. Un primer análisis recuperó los vipéridos del continente americano como un grupo monofilético [50], pero sin una identificación adecuada de su grupo hermano, dejando dudas sobre cómo se dio la colonización de América del Norte y la divergencia posterior entre el norte templado y el sur tropical. Además, este estudio [50] advirtió que la especie reconocida en ese momento como *Porthidium hyoprora* correspondía a un linaje más estrechamente relacionado con el género *Bothrops* (coincidiendo con la primera descripción de *Bothrops hyoprora*) [52], que años más tarde sería la base para la descripción de un nuevo género denominado *Bothrocophias*. Actualmente, este nuevo grupo incluye otras especies que anteriormente también estuvieron agrupadas con el género *Bothrops*; como: *B. campbelli*, *B. hyoprora*, *B. microphthalmus*, y *B. myersi* [8].

En Colombia, la prominente elevación de las tres Cordilleras de los Andes jugó un papel fundamental en la cladogénesis de numerosas especies de víboras, como las especies del grupo *Bothrops*, un grupo en el que sus dos linajes principales están distribuidas alopátricamente [53]. Geológicamente, la Cordillera de los Andes alcanzó su elevación máxima de más del 40% hasta la era Neógena, lo que dio lugar a una formación montañosa significativa sólo durante el Mioceno tardío, y especialmente, durante el Plioceno, cuando el proceso orogénico se aceleró rápidamente [54]. Por lo tanto, se infiere que la división inicial entre los grupos interandinos de víboras en el norte de Suramérica se atribuye a un evento de dispersión desde el Caribe mesoamericano, que determinó la historia biogeografía de las especies en esta región.

Por consiguiente, los estudios moleculares de las víboras se han centrado principalmente en la región neotropical, procurando examinar varias hipótesis que podrían explicar la asombrosa diversidad de la subfamilia Crotalinae [55–57]. Las reconstrucciones filogenéticas, son la herramienta principal empleada para explicar las trayectorias evolutivas que dan origen a los diferentes tipos de plantas y animales que actualmente coexisten con los seres humanos. A través de estas hipótesis de relación histórica, se han postulado diferentes teorías que intentan explicar la diversidad de organismos durante escalas de tiempo geológicas (p. ej., durante los

importantes períodos como Plioceno y Mioceno), relacionando los hitos geológicos como la orogenia andina o el levantamiento del Istmo de Panamá, con las distribuciones geográficas actuales de varias especies.

El levantamiento de los Andes en Suramérica es uno de los procesos geológicos más significativos en la evolución de numerosas especies de vertebrados [58,59]. Por ejemplo, algunos autores utilizaron el análisis de migración histórica en poblaciones de mapanás (*B. asper*) para examinar sus recientes eventos de diversificación en Suramérica [60]. Salazar et al. [60] emplearon esta aproximación, incluyendo además, un análisis de múltiples procesos demográficos de divergencia que no son factibles de inferir utilizando únicamente métodos basados en la reconstrucción de árboles filogenéticos [61,62].

De hecho, las especies de mapanás han demostrado que el impacto de la diversidad del hábitat está correlacionado con la variabilidad fenotípica, un fenómeno biológico inherente a las diferentes especies del género *Bothrops* [63,64]. Además, la ausencia de otros potenciales competidores/adversarios al inicio de la dispersión de la especie ancestral sobre las distintas regiones del norte de Suramérica, puede haber contribuido a la propagación de las mapanás en la mayoría de las regiones geográficas de Colombia. No obstante, es imperativo resaltar que ciertos géneros como *Porthidium* (*P. nasutum* y *P. lansbergii*) y *Lachesis* (*L. acrochorda* y *L. muta*) exhiben convergencia geográfica con *B. asper* y *B. atrox* en algunas ecoregiones y localidades. Sin embargo, las especies de *Porthidium* también exhiben una distribución amplia en la zona occidental y suroccidental del Pacífico colombiano [65], así como en toda la región del Caribe [66], lo que las convierte en especies simpátricas con *B. asper*.

Actualmente, los métodos bioinformáticos han permitido el análisis de extensos conjuntos de datos (datos genómicos), permitiendo la evaluación de intrincados procesos históricos de dispersión con una alta resolución [67-69]. Los análisis genómicos han demostrado ser especialmente útiles debido a la exactitud y precisión con la que se estiman los diferentes parámetros a nivel genético [70-72]. Asimismo, las incertidumbres sistemáticas en ciertos estudios de víboras durante la última década sugieren que es necesario el uso de la taxonomía integrativa. Esta herramienta usa varias líneas de evidencia de forma conjugada pero independiente, entre, por ejemplo, características morfológicas, comportamentales, análisis de divergencia genética, filogenias moleculares y coalescentes, para la delimitación de especies y comprensión de eventos de aislamiento geográfico y otros procesos ecológicos [73-75].

## **2.1 Comprendiendo cómo los eventos de diversificación afectan la diversidad de las especies de víboras colombianas**

Se han propuesto numerosas hipótesis sobre la diversificación de las serpientes neotropicales, incluida la especiación alopátrica y el desplazamiento ecológico a través de cadenas montañosas, ríos que actuaron como barreras precigóticas o la fragmentación del hábitat causada por

el cambio climático durante el Pleistoceno [58,76]. La deriva continental de Suramérica y el levantamiento de los Andes dieron como resultado la dinámica evolutiva que sustenta la base de la diversidad en numerosas ecorregiones del Neotrópico [77–79]. Estos fenómenos orogénicos han planteado numerosas interrogantes sobre, cómo y cuántos grupos taxonómicos colonizaron la región Andina; cómo estos grupos ancestrales consiguieron diferenciarse para habitar miles de años más tarde las tierras bajas y el piedemonte de la Cordillera Oriental de Colombia, una vez que los Andes alcanzaron sus elevaciones actuales [80]. Por lo tanto, es importante entender cómo la diversidad de las víboras suramericanas está relacionada con el intercambio biótico entre Norte y Centro América a lo largo del período Terciario, especialmente después de la aparición del Istmo de Panamá [81].

La mayoría de los eventos de especiación en las regiones tropicales están influenciados por el aislamiento inducido por la alteración del paisaje (p. ej., vicarianza) el cual está intrínsecamente ligado a una gama más amplia de procesos biológicos y geológicos [60]. A pesar de esto, las hipótesis filogeográficas actuales propuestas para la mayoría de las especies de víboras suramericanas no han considerado la influencia de los procesos demográficos [55,57,60,82]. De hecho, al examinar los patrones filogeográficos de distintas especies con rangos superpuestos o parcialmente superpuestos, puede revelar como eventos comunes pueden tener un impacto similar en los patrones evolutivos de numerosos taxones [83]. Sin embargo, lo anterior también sugiere inconsistencias entre taxones simpátricos debido a la formación de linajes, la variación en el tamaño efectivo de la población, la extinción, dispersión, o la baja sensibilidad ante eventos vicariantes [84–86].

En contraste, la explicación dada por procesos de especiación parapátrica a lo largo del eje vertical montañoso de los Andes, podría explicar las adaptaciones específicas en algunas especies que presentan características asociadas con gradientes ecológicos [87]. En consecuencia, la capacidad de algunas especies de expandirse hacia nuevos nichos ecológicos que aparecieron durante un tiempo específico pudo jugar un rol fundamental en la diversificación de las víboras interandinas pertenecientes a los géneros *Bothrops*, *Bothrocophias*, *Bothriechis*, *Lachesis* y *Porthidium*.

Por lo tanto, se ha sugerido que la rápida divergencia de especies de vipéridos a partir de un ancestro común (con fosetas termosensibles), representa un hito evolutivo importante que permitió la diversificación exitosa de esta familia de serpientes [3]. Así, desde un punto de vista ecológico, estos linajes consiguieron colonizar diversos ambientes y hábitats, que van desde bosques tropicales de tierras bajas en Centroamérica, la selva húmeda tropical del Amazonas, logrando alcanzar las áreas abiertas al sur de los Andes y la Patagonia [2,55]. Sin embargo, la taxonomía, historia natural y relaciones filogenéticas de numerosas especies en Suramérica aún son pobremente conocidas [2,28,57,88]. Esto ocasiona que varios grupos de víboras muestran patrones aparentemente endémicos (p. ej., *Bothrocophias colombianus*); o se consideran complejos de especies que

requieren una reevaluación taxonómica y una mejor resolución de sus patrones filogenéticos (ver Capítulo 1).

Uno de los desafíos importantes que enfrenta la herpetología en Colombia es el número limitado de marcadores moleculares que se han examinado, así como el bajo número de individuos o poblaciones analizadas en varias especies de vipéridos. Además, el conocimiento limitado sobre las tasas de evolución molecular de grupos de genes nucleares en serpientes, impide un examen filogeográfico e histórico exhaustivo de las víboras encontradas en el norte de Suramérica.

## 2.2 Una familia con diferentes complejos de especies

En Colombia, así como en todos los ecosistemas andinos, los factores ambientales más importantes que afectan la distribución de los siete géneros conocidos de víboras son la elevación y la complejidad orográfica. Estos factores se proponen como algunos de los principales impulsores de las complejas relaciones filogenéticas y alta diversidad venómica en varias especies de vipéridos. Por ejemplo, un grupo reducido de especies de víboras colombianas alcanzan elevaciones entre los 1.500 a 3.600 metros sobre el nivel del mar (en adelante msnm), siendo 1.500 msnm el límite superior para la mayoría de las especies de víboras que habitan en las tierras bajas; 3.600 msnm es el límite superior para las especies altoandinas (como *Bothrocophias tulitoi*, *B. myrringae*, *Bothriechis schlegelii* y ciertas poblaciones del complejo *B. atrox*) [2,75].

Dentro de las diversas regiones biogeográficas del norte de Suramérica, la proporción de especies venenosas puede oscilar entre el 9% y el 14% [89]. Por lo tanto, las zonas de distribución geográfica de la mayoría de las especies de víboras colombianas confluyen en la tierras bajas en las que se presenta una alta concentración de poblaciones humanas [90]. Como resultado, la dispersión de las víboras colombianas está asociada con áreas boscosas primarias, áreas boscosas secundarias, áreas destinadas a la agricultura a diferentes elevaciones, y cada vez más, con áreas urbanas (generalmente en expansión). En consecuencia, y debido a su amplio rango de distribución geográfica en Colombia, *B. asper* y *B. atrox* son las especies de serpientes venenosas de mayor importancia médica [64,91].

Históricamente, los géneros *Bothrops* y *Porthidium* han sido foco de un número significativo de revisiones y trabajos taxonómicos que han revelado una diversidad de linajes que no ha sido reconocida previamente a nivel de especie [63,92–97]. De hecho, durante las últimas dos décadas, algunas especies pertenecientes al género *Bothrops* han sido objeto de numerosos estudios filogenéticos y enfoques biogeográficos relacionados con su diversificación al norte de Suramérica [3,38,55,98,99]. Estas aproximaciones han revelado una intrincada delimitación taxonómica, principalmente, dentro del complejo de especies *Bothrops asper-atrox*.

En general, la mayoría de las investigaciones realizadas sobre las víboras presentes en Colombia indican que varias especies presentan una

diversidad críptica, ya que sus relaciones filogenéticas y biogeográficas exhiben claras diferencias entre sus poblaciones, mientras que sus caracteres morfológicos conocidos presentan una baja variabilidad. A estos grupos de serpientes se les denomina complejos de especies, una categoría que describe la complejidad en su delimitación taxonómica (ver Capítulo 1) [53,63,75, 92–95]. Esta dificultad para distinguir especies morfológicamente (especies crípticas), y que a veces pueden presentar linajes genéticamente divergentes, se ha convertido en uno de los puntos más discutidos en trabajos publicados en sistemática molecular y en procesos de definición de especies en la actualidad.

Uno de los objetivos de esta sección es describir algunas de las investigaciones pioneras sobre la sistemática, los venenos y la evolución de las víboras colombianas. Con base en los datos publicados durante las últimas tres décadas, creemos que es necesario aumentar los estudios filogeográficos para poder analizar con robustez la diversidad críptica de taxones ya reconocidos [48,83,94,96]. Esta información podría servir como una herramienta importante para determinar los esfuerzos de conservación destinados a mantener las poblaciones viables de linajes que aún están por descubrir [83].

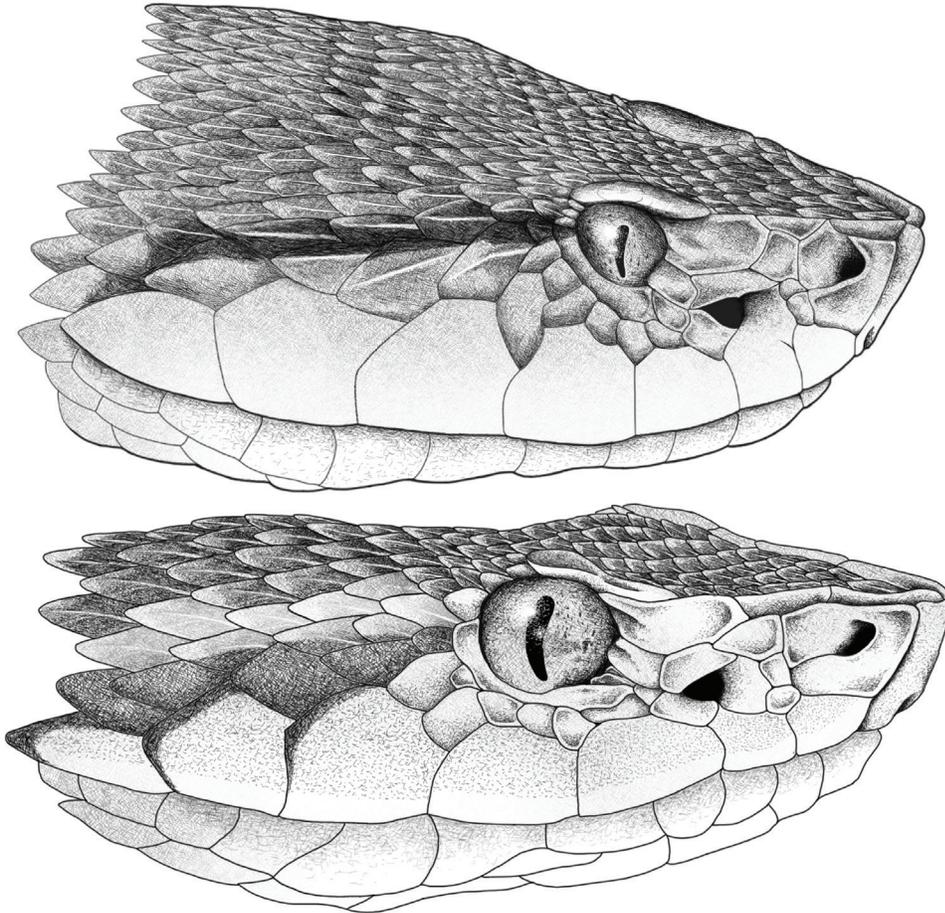
Con base en la revisión de los principales trabajos que consolidan el conocimiento de las serpientes neotropicales, a continuación, presentamos un análisis sistemático y descriptivo de los principales grupos y complejos de especies de víboras de importancia médica en Colombia. Esta breve reseña busca mostrar no sólo la complejidad filogenética de los dos grupos principales (*Bothrops* y *Porthidium*), sino también, informar sobre las especies y los linajes con vacíos de información genética y proteómica.

### **Las mapanás colombianas de mayor importancia médica: el complejo *Bothrops asper-atrox***

El género *Bothrops* exhibe una mayor divergencia genética en comparación con las otras víboras suramericanas. De hecho, las especies *Bothrops* exhiben linajes parafiléticos en relación con las especies encontradas en Centroamérica. La diversificación del género probablemente tuvo lugar en Suramérica [60]. Esta hipótesis sugiere que el ancestro común de todas las especies de *Bothrops* fue el primer vipérido que colonizó Suramérica en algún momento durante el Mioceno, hace unos 10 millones de años [63]. Como resultado, solo un linaje de especies de *Bothrops* (*B. asper*) se extendió por Centroamérica, desde Panamá hasta México. Sin embargo, existen registros de distribución geográfica de una segunda especie de *Bothrops* (*B. punctatus*) en la región oriental de Panamá.

Campbell y Lamar [2] sugirieron que las poblaciones colombianas de *B. asper* y *B. atrox* tienen distribuciones alopátricas. De hecho, *B. asper* (Figura 1 superior) se distribuye a lo largo de las regiones biogeográficas del Chocó y el Valle del Magdalena, así como a través de la región Caribe y valles interandinos de la macrocuenca Magdalena-Cauca [64,91]. Por su lado, *Bothrops atrox* (Figura 1 inferior) se encuentra en la región oriental de Colombia, sobre los grandes biomas de la Orinoquia y la Amazonia.

Esta distribución concuerda con la hipótesis de dispersión ancestral de *B. atrox*, que propone la preexistencia de poblaciones que habitaron los bosques ubicados al norte del Amazonas, que posteriormente colonizaron gradualmente las diferentes regiones que bordean el río Amazonas [97].



**Figura 1.** Ilustraciones de la cabeza del complejo *Bothrops asper - atrox*. (Superior) cabeza en vista lateral de *Bothrops asper* de Melgar, Tolima, Colombia (INSZ 138). (Inferior) Cabeza en vista lateral de *Bothrops atrox* de Puerto Carreño; Vichada (BOTATR00061). Ilustraciones por Oscar A. Ramírez Ruiz.

No obstante, existe la presencia de linajes relacionados con *B. asper* y *B. atrox* en regiones geográficas simpátricas de los Andes orientales y occidentales de Colombia, ubicadas en departamentos como Boyacá, Cundinamarca, y Norte de Santander. Varios estudios han demostrado que ambas especies muestran una diferenciación filogenética reciente relacionada con la diversidad de su hábitat y con gradientes altitudinales [53,60,92,97].

El estado taxonómico del complejo *B. asper-atrox* dentro de las poblaciones colombianas ha sido poco explorado desde una perspectiva genética, y actualmente no existe una delimitación clara entre los linajes de estas especies que permita evaluar algunas de las hipótesis taxonómicas previamente descritas con base en evidencia morfológica. En particular, las poblaciones de la vertiente oriental de la Cordillera Oriental representan un problema desafiante aún sin resolver. Por ejemplo, algunas poblaciones de *B. atrox* de montaña han sido históricamente reportadas como *Bothrops isabelae* [98] y *Bothrops colombiensis* [99]. *Bothrops isabelae* ini-

cialmente fue sinónimo de *B. atrox* en los años 90 [33,100], pero más tarde fue reconocida como especie en algunos de los trabajos pioneros sobre linajes de *Bothrops* suramericanos [92]. Análisis recientes [101] muestran a *B. isabellae* filogenéticamente cercana a *B. atrox*, y con una divergencia genética aparentemente baja. Aun así, y aunque algunos autores reconocen a *B. isabellae* como taxón válido, actualmente volvió a ser considerado sinónimo de *B. atrox* [55]. Además, Campbell y Lamar [2] consideran *B. colombiensis* como especie sinónima del complejo de especies formado por *B. asper* y *B. atrox* derivadas de poblaciones venezolanas.

Aclarar las relaciones filogenéticas entre las especies de *Bothrops* colombianas y las poblaciones de especies/linajes venezolanos nos permitirá comprender la dinámica de dispersión de estos taxones, proporcionando una alternativa al uso del concepto de especie unificada que ha sido ampliamente aplicado en análisis de complejos de especies con linajes geográficos altamente divergentes [102]. La complejidad para entender la sistemática del grupo *B. atrox* es un desafío previamente informado [63,88,103]. Algunos estudios sugieren que el linaje compuesto por las especies brasileras *B. leucurus* y *B. moojeni* es el grupo hermano de *B. atrox*; otros estudios indican que *B. atrox* tiene relaciones evolutivas más estrechas con *B. asper* y el linaje *B. isabellae* [6,94,101,104]. Sin embargo, el grupo de especies asociadas al complejo *B. atrox* distribuido entre Colombia y Brasil, requiere una revisión taxonómica detallada debido a que las hipótesis taxonómicas basadas en morfología no son concordantes con los linajes mitocondriales descritos, y además estos últimos, tampoco concuerdan con las especies taxonómicamente reconocidas [103].

Un ejemplo histórico de esta marcada complejidad taxonómica para las especies del género *Bothrops* en Colombia, fue la denominación de nuevas especies derivadas de *B. asper* propuestas por Folleco-Fernández [105]. Este autor reevaluó los límites taxonómicos dentro de *B. asper* para las poblaciones del suroeste de Colombia, proponiendo a *B. ayerbeii* y *B. rhombeatus* como nuevas especies derivadas de *B. asper*. Sin embargo, esta propuesta taxonómica presentó un abordaje desprolijo e inadecuado de la descripción de las características empleadas en la delimitación *B. ayerbeii* y *B. rhombeatus*. Además, los rasgos morfológicos y caracteres diagnósticos empleados son ambiguos [106], y la ausencia de un análisis filogenético impide el reconocimiento de estas poblaciones como unidades evolutivas independientes a nivel de especies (ver Capítulo 1). De hecho, en la descripción inicial realizada por García [107] no se asignó ningún ejemplar tipo ni se realizó la descripción de un nuevo taxón, convirtiendo a *B. rhombeatus* en un *nomen dubium* (ver Capítulo 1).

Otro punto importante mencionado por Ramírez-Chaves y Solari [106] es que Folleco-Fernández [105] no asignó un neotipo para *B. ayerbeii* y *B. rhombeatus*, así como tampoco proporcionó datos suficientes sobre las distribuciones geográficas y simpatria entre estas especies, lo que hace aún más difícil sustentar la validez de ambos taxones, o sus posibles hibridaciones. Aunque otros trabajos han incorporado marcadores moleculares para evaluar las relaciones filogenéticas entre de las especies *B. asper* y *B. atrox*

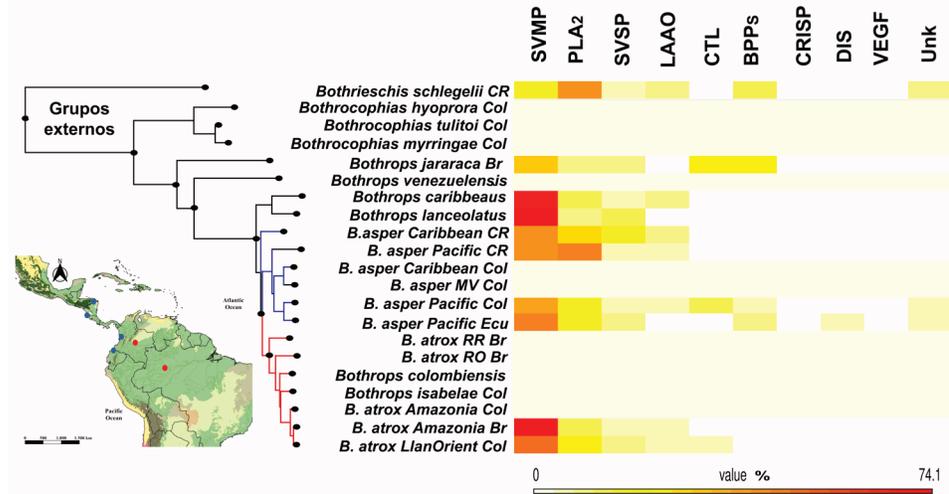
[53], actualmente no existen secuencias de DNA mitocondrial disponibles en los repositorios genéticos de datos abiertos que provean información sobre las especies *B. ayerbei* y *B. rhombeatus* propuestas por Folleco-Fernández [105]. Por lo tanto, consideramos que las poblaciones distribuidas en el suroeste de Colombia (departamentos de Cauca y Nariño) pueden ser considerados como linajes sinónimos de *Bothrops asper*, hasta que un nuevo estudio provea evidencias robustas a partir de tamaño de muestra adecuado y un abordaje riguroso empleando taxonomía integrativa [60,97].

Con el fin de evidenciar los vacíos de conocimiento sobre las relaciones históricas y la venómica de algunos linajes representativos dentro de las especies de víboras colombianas, presentamos como novedad un mapa de calor que asocia las relaciones filogenéticas de linajes del complejo *B. asper-atrox* y los proteomas publicados en las últimas dos décadas. Por lo tanto, la Figura 2 muestra el resultado de una filogenia molecular construida a partir de secuencias parciales de dos genes mitocondriales (Citocromo b y NDH4; ver Apéndice). La topología recuperada incluye terminales para diferentes poblaciones y linajes distribuidas en Colombia y Brasil, así como datos moleculares de las especies de *Bothrocophias* recientemente descritas para Colombia [75]. Utilizamos tres terminales que representan tres localidades geográficas en Brasil, incluyendo también dos terminales que representan a dos linajes actualmente sinonimizadas para la especie *B. atrox*. Utilizamos datos de ocho grupos de familias de proteínas/toxinas que han sido reportadas en estudios venómicos, y realizamos la asociación de los porcentajes de las principales toxinas principales con las hipótesis filogenéticas y su distribución geográfica.

Nuestros resultados muestran que las poblaciones colombianas de *B. asper* presentan tres linajes, geográficamente definidos y bien soportados, que divergen genéticamente entre 2,5% y 4% entre sí. De forma similar, *Bothrops atrox* presenta cuatro linajes definidos geográficamente, pero con distancias y relaciones filogenéticas que aún requieren una mejor resolución para ser considerados como linajes claramente diferenciados (poblaciones al oeste de la Cordillera Oriental - Cundinamarca vs. poblaciones al Este de la Cordillera Oriental - Meta, Vaupés y Caquetá). Además, los límites geográficos y taxonómicos con el linaje que históricamente tomó el nombre de *B. isabellae* siguen siendo un problema taxonómico por resolver. Por lo cual, consideramos que se requieren estudios futuros que ayuden a establecer con claridad si las poblaciones distribuidas en la vertiente oriental de la Cordillera Oriental, y en algunas localidades de Venezuela, corresponden a un linaje derivado *B. atrox* o pueden ser asignado al taxón históricamente conocido como *B. isabellae*.

Es importante señalar que los géneros hermano de *Bothrops* y *Bothrocophias* sólo tienen tres especies con datos genéticos y un único proteoma publicado (ver la sección 3 de este capítulo). Asimismo, no fueron incluidos en este análisis los proteomas de los linajes *B. ayerbei* y *B. rhombeatus* debido a la ausencia de datos genéticos disponibles. Finalmente, se señala aquí la ausencia de datos venómicos para dos linajes importantes dentro de *B. asper* (poblaciones de las regiones Caribe y Magdalena Medio).

**Figura 2.** Mapa de calor usando datos de proteomas para algunas víboras colombianas relacionadas al complejo *Bothrops asper-atrox*. Los datos proteómicos están graficados sobre una filogenia molecular que usa una matriz de genes concatenados construida a partir del método de Máxima Verosimilitud (ML) (secuencias parciales de MT-ND4 y MT-CYB, producidas por [3, 50, 53, 63, 75, 94, 96] y por Cubides-Cubillos et al. (datos aún no publicados). La inferencia filogenética recupera las especies y sus linajes más importantes (aquellos para los cuales hay información genética y proteómica disponible; ver información bibliográfica en la Sección 3). En la topología recuperada son señalados los nodos con soporte de bs > 90%. Informaciones abreviadas: linajes/poblaciones (Caribe y Pacífico CR: Costa Rica; Caribe y Pacífico Col: Colombia; Pacífico Ecu: Ecuador; MV Col: Valle del Magdalena, Colombia; RR Br: Región de Roraima de Brasil; RO Br: Región de Rondonia de Brasil; Amazonia Br: región amazónica de Brasil; Amazonia Col: región amazónica de Colombia; LlanOrient Col: región de la Orinoquia de Colombia. Nombres de familias de proteínas: SVMP: metaloproteínasa; PLA2: fosfolipasa A2; SVSP: serina proteínasa; LAAO: L-aminoácido oxidasa; CTL: lectina de tipo C/similar a lectina; BPP: péptido potenciador de bradiquinina; CRISP: proteína secretora rica en cisteína; Dis: Desintegrinas; VEGF: factor de crecimiento vascular del endotelio; Unk: nucleotidasa; factor de crecimiento nervioso, péptidos/o compuestos no peptídicos.



De todos los diversos linajes de *B. atrox* descritos previamente en análisis filogenéticos, solo dos cuentan con proteomas de al menos una de las poblaciones que lo conforman (Piedemonte llanero, departamento del Meta; y región norte de Brasil, estado de Amazonas). En consecuencia, se hacen evidentes los significativos vacíos de conocimiento en torno a la composición de los venenos del complejo *B. atrox*, indicando que se requiere invertir grandes esfuerzos por caracterizar sus poblaciones distribuidas a lo largo de la vertiente oriental de la Cordillera Oriental (departamento de Boyacá), piedemonte amazónico colombiano (departamentos de Caquetá, Putumayo), así como las tierras bajas amazónicas (departamentos de Guainía, Guaviare, Vaupés y Amazonas). Asimismo, a la fecha, no existe información sobre la composición de los venenos de las poblaciones de tierras altas de la vertiente oriental de la Cordillera Oriental identificadas como el linaje *B. isabelae*, las cuales representan un desafío para la comprensión de víboras de montaña del género *Bothrops*. Es posible suponer que la composición de los venenos de estas poblaciones varíe significativamente a la observada al interior de las poblaciones *B. atrox* de tierras bajas, como respuesta funcional y adaptativa a los gradientes ecológicos relacionados con la altitud; empleando dinámicas evolutivas específicas, como, por ejemplo, la duplicación de genes. No obstante, esta y otras posibles hipótesis, deben ser contrastadas en futuros estudios.

La potencia en la actividad hemorrágica de los diferentes tipos de metaloproteinasas presentes en el veneno de vipéridos (SVMP), es uno de los factores importantes en las actividades biológicas de los envenenamientos causados por las especies del género *Bothrops*. En general, su abundancia relativa está relacionada con síntomas como la hemorragia local y sistémica [43]. Nuestro análisis mostró que las especies/linajes con el mayor contenido de SVMP, se distribuyen tanto en regiones tropicales secas como húmedas. Además, la composición del veneno mostró una alta variabilidad dentro de linajes estrechamente relacionados, indicando una posible respuesta ecológica. Probablemente, la distribución y dispersión heterogénea de especies/linajes sea una posible causa de los efectos

sinérgicos entre diferentes tipos de SVMP. De hecho, la hemorragia, que también contribuye a la mionecrosis [108], es uno de los síntomas más documentados en los accidentes ofídicos de todos los miembros del grupo de especies *B. asper-atrox*.

Las PLA<sub>2</sub>, la segunda toxina más abundante en el veneno del complejo de especies *B. asper-atrox*, es responsable de la mionecrosis y está estrechamente relacionada con las funciones digestivas del veneno [109-110] (ver Capítulo 5). Esta toxina suele representar alrededor del 20-40% de la composición total del proteoma en las especies del complejo *B. asper-atrox*, pero muestra una variabilidad moderada. De hecho, la variabilidad en el porcentaje de PLA<sub>2</sub> no parece estar relacionada con un clado, región o clima específico. Sin embargo, debido a los grandes vacíos de información, en futuros estudios este patrón podría cambiar o estar asociado a variables ecológicas como la disponibilidad de presas, pérdida de hábitat, o la presión antropogénica.

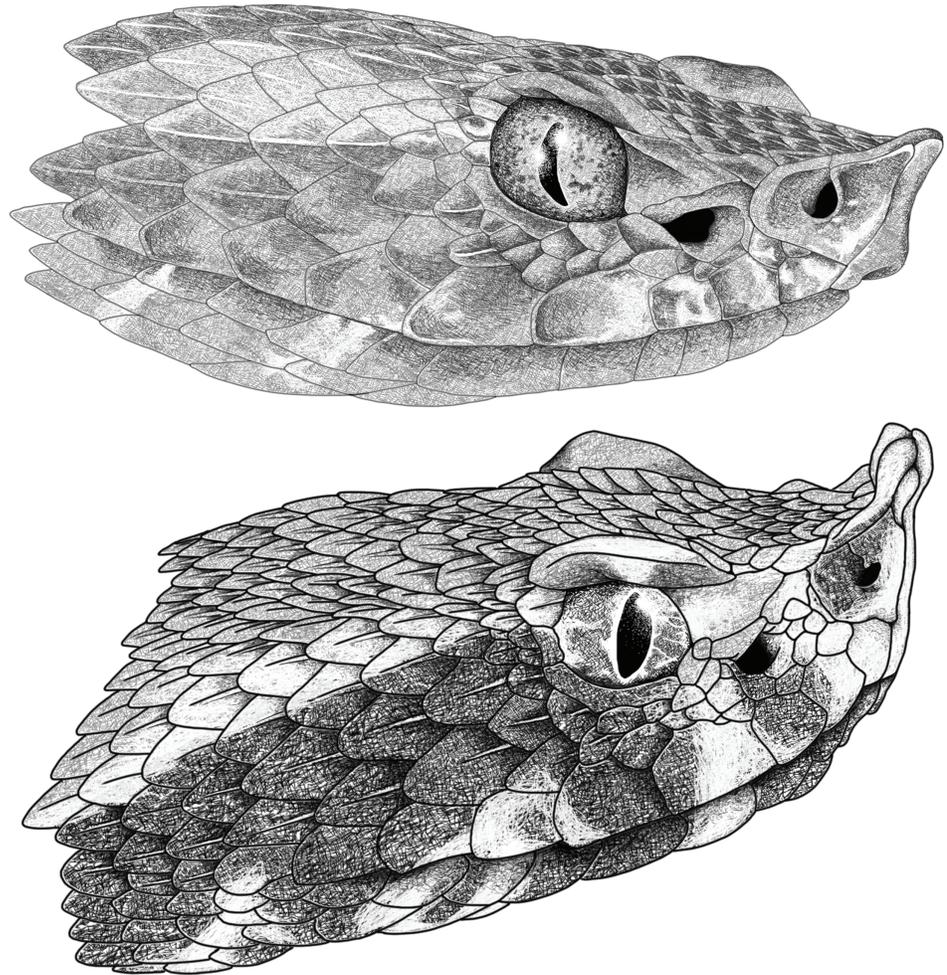
Las enzimas que imitan de manera incompleta la acción de la trombina, las serino proteasas (SVSP), constituyen el tercer grupo de toxinas más importante en los venenos de las especies del género *Bothrops* y ejercen múltiples acciones sobre la hemostasia y los sistemas cinina y cinina-callicreína en las presas de estas serpientes [111,112]. Este grupo de toxinas muestran poca variación dentro de las especies/linajes del complejo de especies *B. asper-atrox*, y aparentemente, no hay una relación clara con la topología recuperada de la filogenia molecular obtenida. De hecho, los reportes de accidentes ofídicos causados por vipéridos no informan sobre la variabilidad en síntomas como coagulopatías o inflamación debido a que estos son signos típicos del envenenamiento botrópico (ver Capítulo 9). Al parecer, evolutivamente esta es una característica intrínsecamente ligada a la acción sinérgica con otros componentes del veneno (ver Capítulo 5 y 9).

### **Patocos y Patoquillas : complejo de especies del género *Porthidium***

Las víboras conocidas en Colombia como, patocos o patoquillas, habitan en Centro y Suramérica en una amplia gama de hábitats tropicales. Se hipotetiza que su origen es Centroamericano, con una dispersión a lo largo de la costa del Pacífico durante la fase final del surgimiento del istmo de Panamá (hace 3,5 millones de años), e incluso después de su formación [63]. Esta dispersión podría relacionarse de manera positiva o negativa a la competencia interespecífica con otras especies de víboras como *B. asper*, la cual colonizó Suramérica antes del cierre del istmo de Panamá [2,53,63]. Las especies de *Porthidium* son serpientes terrestres de cuerpo corto que no superan los 100 cm de longitud [2,3,13,14,113].

Las especies de este género comparten patrones de coloración críptica y un *canthus rostralis* claramente pronunciado con una escama rostral proyectada hacia arriba (Figura 3). Estas adaptaciones en la forma de la cabeza y coloración son típicas de los depredadores de emboscada [2]. Desde la década de 1990, se han realizado revisiones de las relaciones

filogenéticas entre las diferentes especies del género empleando caracteres morfológicos y algunos datos moleculares [6,50,104].



**Figura 3.** Ilustraciones de la cabeza del complejo de especies *Porthidium lansbergii* -*nasutum*. (Superior): Cabeza en vista lateral de *Porthidium lansbergii* (INSV-SR-89) de Yondó, Antioquia, Colombia. (Inferior): Cabeza en vista lateral de *Porthidium nasutum* (QCAZR 15395) de Tundaloma Lodge, Durango, Ecuador. Ilustraciones por Oscar A. Ramírez Ruiz.

Actualmente, diversos estudios taxonómicos han revelado las relaciones evolutivas y sistemáticas entre las diferentes especies del género *Porthidium*, sustentando la validez taxonómica de nueve especies: *P. dunni*, *P. hespere*, *P. ophryomegas*, *P. volnicacum* y *P. yucatanicum* especies con una fuerte afinidad hacia las zonas áridas; y las especies *P. nasutum*, *P. porrasi*, *P. lansbergii*, y *P. arcossae* asociadas a bosques tropicales de tierras bajas [95]. La descripción de la especie Centroamérica *P. porrasi* [114], a partir de un análisis de las poblaciones adyacentes de *P. nasutum* de Costa Rica, dio inicio a la discusión sobre la diversidad filogenética dentro del género y la necesidad de analizar poblaciones distribuidas al norte de Suramérica [95].

En Colombia, *P. nasutum* [115] y *P. lansbergii* [116] son especies estrechamente relacionadas. *Porthidium nasutum* se distribuye desde México a través de los bosques húmedos centroamericanos, pasando por la ecorregión Chocó-Darién, la ecorregión biogeográfica chochoana, incluido el

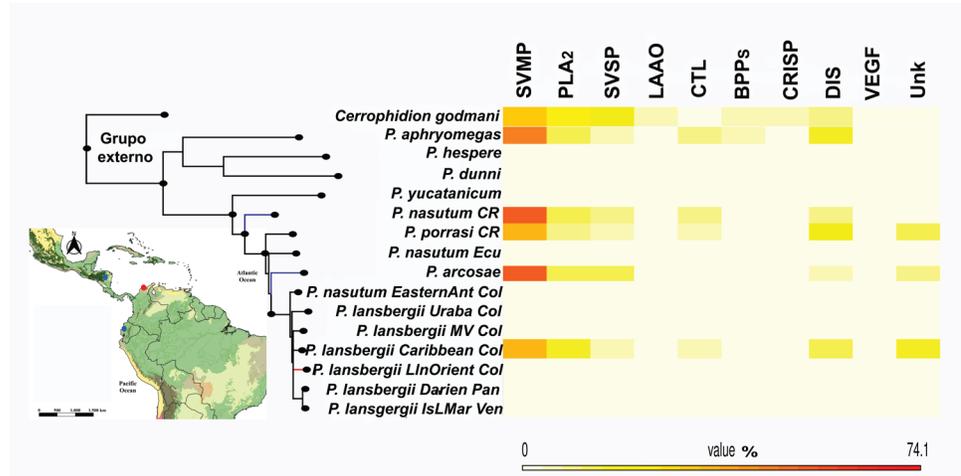
Ecuador [2]. Por otro lado, *P. lansbergii*, se distribuye en los bosques secos del Istmo-Pacífico de Panamá, alcanzando la región del Chocó-Darién y extendiéndose sobre los bosques húmedos de Urabá, así como en los bosques secos tropicales del Caribe colombiano y el norte de Venezuela. Su distribución también abarca los bosques secos, premontanos y montanos de la cuenca del río Magdalena [2,117].

La mayoría de los estudios filogenéticos previos de *P. nasutum* y *P. lansbergii* se realizaron con base en muestras moleculares pequeñas, o de un único individuo proveniente de poblaciones geográficamente aisladas [117,118]. La complejidad taxonómica observada en Panamá y en las diversas poblaciones colombianas sugiere una investigación a gran escala. Por ejemplo, Castoe et al. [95] muestran que *P. nasutum* es un clado parafilético conformado por dos linajes bien diferenciados genéticamente en Costa Rica y Ecuador.

De forma similar, nuestra filogenia muestra que *P. nasutum* presenta una diferenciación clara entre las poblaciones evaluadas recuperando tres linajes principales (Figura 4), de los cuales, el Clado 1 (Costa Rica) y el Clado 2 (Ecuador) coinciden con los resultados previos reportados por Castoe et al. [95], mientras que el Clado 3 agrupa poblaciones distribuidas al noreste de los Andes colombianos. Sin embargo, en nuestro análisis filogenético el linaje representado por las poblaciones del centro-oriental de Antioquia se anidó dentro del clado que agrupa todos los linajes *P. lansbergii*. Curiosamente, dos décadas atrás, Cisneros-Heredia y Yáñez-Muñoz [119] sugirieron que la población ecuatoriana (Clado 2) debería considerarse como una especie nueva, distinta de *P. nasutum* de Centroamérica. No obstante, nuestra filogenia no incluyó muestras de poblaciones chocoanas de *P. nasutum* (Región Pacífico en Colombia) y de *Porthidium lansbergii* de la cuenca alta del río Magdalena (departamento de Huila).

Por otro lado, nuestra filogenia molecular (Figura 4) muestra que *Porthidium lansbergii* exhibe una amplia diversificación a través de diversas ecorregiones que abarcan rangos de elevación desde el nivel del mar hasta los 1.200 msnm. Los linajes colombianos conforman un grupo parafilético: se distinguen las poblaciones del Darién-Panamá de aquellas ubicadas en la ecorregión del Caribe colombiano, la cuenca del río Magdalena, y las poblaciones al oriente de Venezuela. Además, algunas secuencias genéticas asociadas con las dos subespecies de *P. lansbergii* (*P. l. hutmanni* y *P. l. rozei*), se agruparon en un clado politómico, indicando que, a partir de los marcadores moleculares disponibles, no es posible comprender las relaciones evolutivas entre las poblaciones de la costa Caribe, el valle del río Magdalena y las poblaciones del norte de Venezuela. Este resultado es similar a lo reportado por De Arco-Rodríguez et al. [118] para las poblaciones del Caribe colombiano. Todo lo anterior sugiere, que es necesario invertir más esfuerzos para dilucidar las relaciones evolutivas entre el complejo de especies *Porthidium nasutum-lansbergii*, siendo necesario incluir a futuro muestras genéticas de las poblaciones del Pacífico colombiano y cuenca alta del río Magdalena.

**Figura 4.** Mapa de calor usando datos de proteomas para algunas víboras colombianas relacionadas al complejo *Porthidium nasutum-lansbergii*. Los datos proteómicos están graficados sobre una Filogenia molecular que usa una matriz de genes concatenados, construida a partir del método de Máxima Verosimilitud (ML) (secuencias parciales de MT-ND4 y MT-CYB, producidas por [95,114] y Cubides-Cubillos y colaboradores). La topología filogenética recupera las especies y sus linajes más importantes, y aquellos para los cuales hay información genética y proteómica disponible (ver información bibliográfica en la Sección 3). Adicionalmente se muestran los nodos con soporte  $bs > 90\%$ . Informaciones abreviadas: linajes/poblaciones (CR: Costa Rica; Ecu: Ecuador; EasternAnt-Col: Este del departamento de Antioquia, Colombia; Col Urabá: región de Urabá de Colombia; MV Col: Valle del río Magdalena, Colombia; Col Caribe: región caribeña de Colombia; Col LlanOrient: Región de la Orinoquia de Colombia; Darién Pan: Región del Darién de Panamá; IslMarg Ven: Isla Margarita de Venezuela). Nombres de familias de proteínas: SVMP: metaloproteínasa; PLA<sub>2</sub>: fosfolipasa A<sub>2</sub>; SVSP: serina proteínasa; LAAO: L-aminoácido oxidasa; CTL: lectina de tipo C/similar a lectina; BPP: péptido potenciador de bradiquinina; CRISP: proteína secretora rica en cisteína; Dis: Desintegrinas; VEGF: factor de crecimiento vascular del endotelio; Unk: nucleotidasa; factor de crecimiento nervioso, péptidos/o compuestos no peptídicos. Nombres de familias de proteínas: SVMP: metaloproteínasa; PLA<sub>2</sub>: fosfolipasa A<sub>2</sub>; SVSP: serina proteínasa; LAAO: L-aminoácido oxidasa; CTL: lectina de tipo C/similar a lectina; BPP: péptido potenciador de bradiquinina; CRISP: proteína secretora rica en cisteína; Dis: Desintegrinas; VEGF: factor de crecimiento vascular del endotelio; Unk: nucleotidasa; factor de crecimiento nervioso, péptidos/o compuestos no peptídicos.



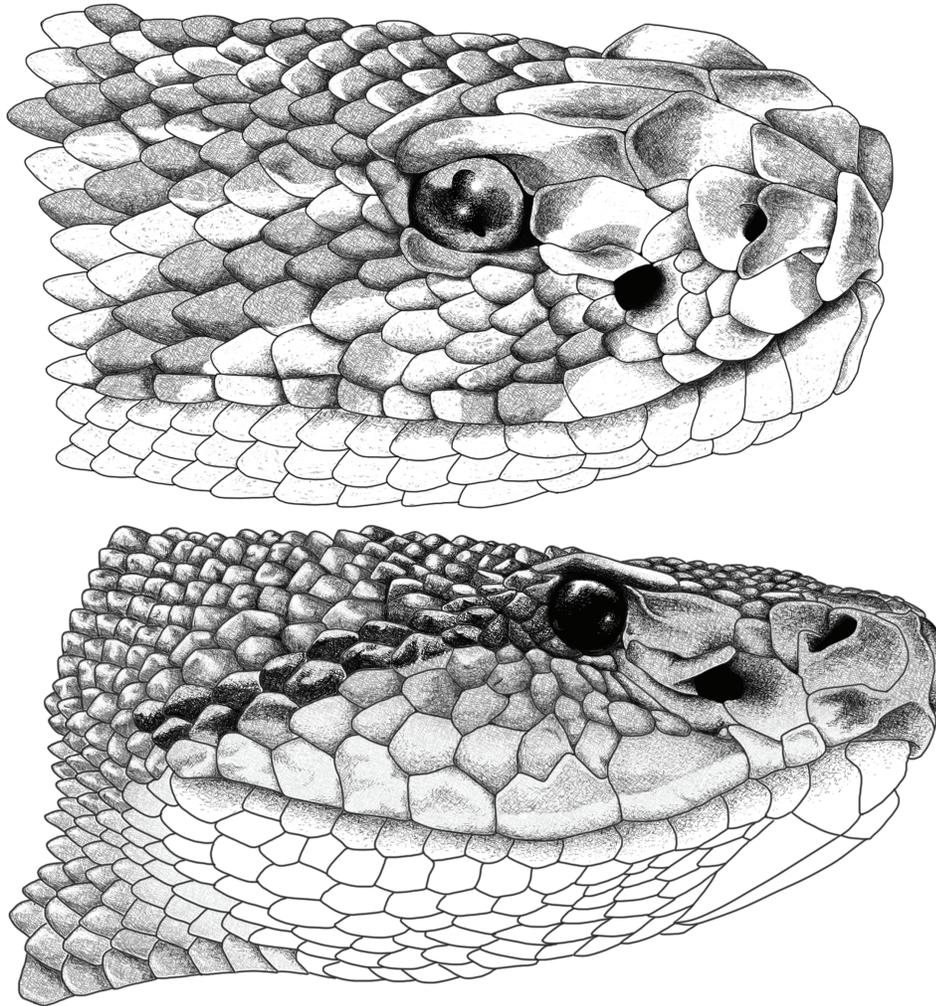
La composición del proteoma, o composición proteica del veneno, solo es conocida para unas pocas especies de del género *Porthidium*, a pesar de que todas son de importancia médica, y algunas como las especies presentes en Colombia, representan un porcentaje importante de la incidencia anual de los accidentes ofídicos reportados (ver Capítulo 9). Actualmente, solo una población de la especie *P. lansbergii* cuenta con una descripción proteómica de su veneno (Figura 3).

No obstante, el análisis de la relación de la filogenia molecular y los datos proteómicos para las especies de *Porthidium*, muestra que existen diferencias importantes entre los proteomas de estas dos especies hermanas. Sin embargo, debido al fragmentado conocimiento sobre la composición de sus venenos, no es posible proponer una explicación para la aparente variabilidad observada entre los linajes, ni sobre la concordancia entre linajes filogeográficos y ecorregiones. La variación en sus venenos se observa en las principales toxinas que lo componen: SVMP, PLA<sub>2</sub> y SVSP. Estas toxinas varían entre los clados y regiones geográficas divergentes. No obstante, hace falta un muestreo mucho más robusto y completo, que incluya la mayoría de las poblaciones/linajes de las especies distribuidas en Colombia, para poder comprender con claridad la variación en sus venenos. De hecho, es posible considerar que en las poblaciones de *P. nasutum* y *P. lansbergii* puedan existir diferentes procesos adaptativos que promueven aleatoriamente la explosión de diversos fenotipos en sus venenos, y que estos a su vez, se relacionen con la formación de linajes [188]. Estas hipótesis y especulaciones requieren estudios futuros que reduzcan significativamente la incertidumbre en torno a la evolución de los linajes de las especies del género *Porthidium* y su relación con la respuesta funcional de sus venenos.

### Víboras gigantes colombianas: La serpiente cascabel suramericana y el verrugoso

La serpiente cascabel sudamericana *Crotalus durissus* (*sensu lato*) es una especie que se destaca entre sus congéneres del género *Crotalus* por su amplia distribución geográfica, un número significativo de accidentes ofídicos reportados anualmente, y por los síntomas de sus envenenamientos, como la parálisis neuromuscular, rabdomiolisis, lesión renal aguda

y coagulopatía [120] (ver Capítulo 5 y 9). Investigaciones taxonómicas y sistemática, documentan la amplia diversidad de linajes/subespecies de la especie *C. durissus* [121]: *C. d. durissus* [11]; *C. d. cascavella* [9]; *C. d. collilineatus* [52]; *C. d. cumanensis* [122]; *C. d. marajoensis* [123]; *C. d. maricelae* [124]; *C. d. ruruima* [123]; *C. d. terrificus* [37]; and *C. d. trigonicus* [125]. Estos autores incluyen dos especies adicionales del norte de Suramérica, *Crotalus unicolor* [126] con una distribución geográfica restringida a Aruba, y *Crotalus vegrandis* [127] restringida a Venezuela, la cual previamente fue considerada como una subespecie de *C. durissus* (ver Figura 5 Superior).



**Figura 5.** Ilustraciones de cabezas de las víboras gigantes colombianas. (Superior) Cabeza en vista lateral de *Crotalus durissus* del municipio de El Paso, Cesar Colombia (INSZ 115). (Inferior) Cabeza en vista lateral de *Lachesis muta* de Mirití-Paraná, municipio de La Pedrera, Amazonas, Colombia (IAvH-R-8721). Ilustraciones por Óscar Ramírez.

En las últimas décadas se han comenzado a reconocer algunas subespecies como unidades taxonómicas operacionales o taxa a nivel de especies [128,129]. Recientemente, el linaje de *C. durissus* (incluido *C. vegrandis*) fue recuperado filogenéticamente como el grupo hermano de *C. simus* (Cascabel centroamericana) [121]. Esto sugiere que la diversidad críptica en este grupo parece estar dirigida por procesos de aislamiento geográfico. Sin embargo, la filogenia molecular publicada para el grupo *C. durissus* no contó con muestras de individuos de las regiones trasandina y cisandina de Colombia.

En Colombia, *Crotalus durissus* se distribuye en la región transandina del país sobre las tierras bajas de la región Caribe, extendiéndose hasta el valle del Magdalena. Asimismo, se distribuye en la región cisandina habitando en las altillanuras bien drenadas de la Orinoquia [2]. Se considera una especie de hábitos terrestres y habita predominantemente en zonas abiertas relativamente secas [130]. Esta serpiente de cascabel exhibe una notable flexibilidad ecológica permitiéndole estar activa, tanto dentro de los bosques como sobre sus bordes, siendo comúnmente encontrada en zonas abiertas y fuertemente antropizadas [130,131]. Aunque es una de las especies más venenosas de Colombia, a su vez, una de las más traficada ilegalmente [89], esta especie presenta profundos vacíos de conocimiento en torno a su historia natural, registros de ocurrencia y evaluación de su estado de conservación [64] (ver Capítulo 1). El patrón de distribución disyunto de sus poblaciones dentro de la región transandina, así como entre las poblaciones cis y transandinas, sugiere que es muy probable que *Crotalus durissus* esté compuesta por más de un linaje evolutivo que han divergido por aislamiento geográfico y ecológico. Recientemente, se encontró que existen diferencias intraespecíficas significativas en la composición y actividades biológicas del veneno de *Crotalus durissus* entre las poblaciones distribuidas en la cuenca media del río Magdalena, el piedemonte llanero y la costa caribe colombiana (ver Capítulo 5). Estos resultados sugieren que es plausible hipotetizar que *Crotalus durissus* es un complejo de especies con múltiples linajes evolutivos que han divergido por aislamiento geográfico y ecológico. No obstante, se espera que futuros estudios filogenéticos ayuden a resolver estas incógnitas al incluir muestras representativas de todas las poblaciones colombianas, así como poblaciones distribuidas en ecosistemas del Brasil.

Dentro de la familia Viperidae, las serpientes del género *Lachesis* [12], comúnmente en Colombia conocidas como «verrugosos», son las víboras más grandes conocidas a la fecha, llegando a medir más de 3,5 metros [2]. Las serpientes de este género son las únicas especies ovíparas entre todas las víboras de América [132]. El género *Lachesis* se divide entre linajes centroamericanos y suramericanos, con una divergencia estimada entre 6 y 18 millones de años. La divergencia dentro de las especies centroamericanas parece haber ocurrido entre 4 y 11 millones de años, probablemente debido al levantamiento de la Cordillera de Talamanca; sin embargo, la diferenciación entre linajes suramericanos se produjo sólo hace unos 800.000 a 300.000 años [48,133]. Particularmente, el surgimiento y estructuración de las tres cordilleras andinas en Colombia se ha propuesto como el mecanismo de aislamiento entre *L. muta* (restringida al Amazonas) y las especies de verrugosos centroamericanos (*L. melanocephala* y *L. stenophrys*), y *L. acrochorda*, la única especie de *Lachesis* que habita en la región transandina, distribuyéndose en los bosques húmedos del Pacífico suramericano, región del Darién en Panamá, y cuenca media del río Magdalena.

Publicaciones recientes que sintetizan el conocimiento disponible sobre las especies del género *Lachesis*, resaltan la rareza de los verrugosos co-

lombianos, indicando que sus registros conocidos son escasos, así como el número accidentes ofídicos registrados oficialmente [134] (ver Capítulo 1 y 9). De hecho, es sorprendente que anualmente se presente un bajo número de mordeduras ocasionados por estas especies, teniendo en cuenta su gran tamaño (> 3,5 metros [89]), así como su amplia distribución en el país, abarcando cuatro de las cinco ecorregiones colombianas.

Los aspectos mejor estudiados del género *Lachesis* son su sistemática y taxonomía. Estos estudios han incluido múltiples líneas de evidencia (ADN, morfología hemipenial, el patrón de color y el conteo de escamas) para establecer los parentescos evolutivos y la delimitación de especies dentro del género. A pesar de esto, las poblaciones colombianas de las dos especies distribuidas en el país están pobremente representadas en estos estudios, o no han sido incluidas [134].

Es importante resaltar que en Colombia las especies de verrugosos *L.acrochorda* (Figura 5 Inferior) y *L. muta*, tienen distribuciones alopátricas. *Lachesisacrochorda* se distribuye en el Pacífico colombiano, región del Urabá-Darién, y cuenca media del río Magdalena; mientras que las poblaciones de *L. muta* se distribuyen en las laderas orientales de la Cordillera Oriental y en la ecorregión amazónica [135].

El conocimiento sobre la composición y actividad biológica de los venenos de los verrugosos colombianos es muy limitado. La composición proteica del veneno de *L.acrochorda* se conoce en poblaciones de la costa del Pacífico y la cuenca media del río Magdalena en Colombia, lo que permite apreciar que la conformación del veneno de *Lachesis* es aparentemente muy conservadora en todas las especies del género [136,137]. Sin embargo, en el futuro se publicarán algunos estudios de sistemática molecular y nuevos análisis venómicos entre poblaciones de *L.acrochorda* del suroeste, noreste y costa pacífica de Colombia, que muestran una baja variabilidad entre linajes (A.M. Franco-Vásquez comunicación personal 2024). Actualmente, no se cuenta con caracterizaciones proteómicas de los venenos de *L. muta* de poblaciones colombianas. En general, los registros de distribución e información general de la biología de *L. muta* de las poblaciones colombianas es muy escasa o inexistente [138]. Por lo tanto, es prioritario caracterizar los venenos de los verrugosos de la Amazonía colombiana dada su importancia médica, así como evaluar la posible variabilidad en la composición y actividades biológicas de los venenos entre las poblaciones colombianas y brasileras.

### **Perspectivas sobre las víboras poco estudiadas en Colombia**

Los últimos 20 años de investigaciones herpetológicas nos han permitido esclarecer varios de los procesos biológicos importantes en las principales especies de víboras colombianas. Los vipéridos de los géneros *Bothrocophias* y *Bothriechis* representan uno de los grandes retos a ser abordados por los investigadores que emplean marcadores moleculares como herramientas para indagar las trayectorias evolutivas de estos grupos, y así ayudar a comprender sus morfologías crípticas y distribuciones

enigmáticas. La reciente descripción de dos nuevas especies de *Bothrocophias* para Colombia [75], señala la importancia de evaluar las poblaciones crípticas de algunas especies que históricamente presentan una amplia distribución geográfica en Suramérica (p. ej., *B. microphthalmus*).

De manera similar, la propuesta de nuevas especies de *Bothriechis* para Colombia abre un espacio para investigaciones más profundas sobre los venenos del grupo de víboras arborícolas más conspicuo en Colombia [139]. Sin embargo, estos esfuerzos se vieron obstaculizados debido a las significativas inconsistencias en la delimitación de especies dentro de las poblaciones colombianas, así como por la evidencia débil y los linajes no respaldados propuestos por Arteaga et al. [139] (ver Capítulo 1). Recientemente, Reyes-Velasco [222] revaluó la propuesta taxonómica de Arteaga et al. [139], demostrando que estos autores interpretaron incorrectamente sus resultados. Las diferencias genéticas que ellos interpretaron como límites entre especies, reflejan en su lugar variación clinal, no linajes independientes. Además, Reyes-Velasco concluye que dentro del complejo *B. schlegelii*, solo tres especies (*B. nigroadspersus*, *B. schlegelii* y *B. supraciliaris*) deben considerarse como válidas. El resto de los taxones propuestos Arteaga et al. [139], incluidos *B. khwargi*, *B. klebbai*, *B. rahimi*, *B. rasikusumorum* y *B. torvus*, no se sostienen bajo el análisis más riguroso presentado por Reyes-Velasco [222], y, por lo tanto, deben ser sinonimizadas con *B. schlegelii*. En consecuencia, coincidimos con las conclusiones de Reyes-Velasco [222] y recomendamos que las futuras publicaciones que traten con poblaciones colombianas de *Bothriechis schlegelii* se refieran a este como el complejo de especies *B. schlegelii* (ver Capítulo 1).

La Tabla 1 resume los marcadores moleculares disponibles para las diferentes especies de víboras que habitan en Colombia, con los cuales se han construido las principales filogenias publicadas actualmente, y constituyen nuestra comprensión actual de los caminos evolutivos de las víboras colombianas. No obstante, varios taxones y poblaciones de víboras en Colombia están pobremente representadas o no han sido incluidas en estos análisis [63, 92, 93, 101, 55]. Por tanto, el conocimiento y las relaciones evolutivas de las víboras colombianas es muy limitado.

*Bothrops asper* ha sido la única especie colombiana que cuenta con amplio análisis genético [53, 60], empleando genes como el citocromo b y NDH4. Esperamos que en los próximos años surjan los resultados de algunos proyectos en curso, que investigan las trayectorias evolutivas que explican la compleja historia filogenética de víboras colombianas como *B. atrox*, *P. nasutum*, *P. lansbergii* y *Crotalus durissus* (Cubides-Cubillos et al; Arias-Sosa et al. *en prensa*).

**Tabla 1.** Datos de marcadores moleculares publicados para víboras de Colombia y otros países de la región neotropical.

<b>Especies</b>	<b>Citocromo b</b>	<b>NDH4</b>	<b>Genes nucleares</b>	<b>Microsatélites</b>
<i>Bothriechis schlegelii</i>	+*	*	-	-
<i>Bothrocophias hyoprora</i>	+*	+*	-	-
<i>Bothrocophias tulitoi</i>	+	+	-	-
<i>Bothrocophias myrringae</i>	+	+	-	-
<i>Bothrocophias myersi</i>	-	-	-	-
<i>Bothrocophias colombianus</i>	-	-	-	-
<i>Bothrops asper</i>	+*	+*	*	-
<i>Linaje B. rhombeatus</i>	-	-	-	-
<i>Linaje B. ayerbeii</i>	-	-	-	-
<i>Bothrops atrox</i>	+*	+*	+*	*
<i>Bothrops bilineatus</i>	+*	+*	*	-
<i>Bothrops punctatus</i>	-	-	-	-
<i>Bothrops pulcher</i>	-	-	-	-
<i>Crotalus durissus</i>	+*	+*	+*	-
<i>Lachesis acrochorda</i>	+*	+*	-	-
<i>Lachesis muta</i>	+*	+*	-	-
<i>Porthidium lansbergii</i>	+*	+*	*	-
<i>Porthidium nasutum</i>	+*	+*	*	-

(+) Datos para especies colombianas. (\*) Datos de especies de otros países. (-) datos no publicados. Para la especie *P. lansbergii* y *P. nasutum*, los datos moleculares corresponden a investigaciones en curso desarrolladas por Cubides-Cubillos et al. en prensa. Los datos de *C. durissus* correspondiente a una revisión desarrollada por Mario Vargas y colaboradores; las otras secuencias fueron recuperadas en el portal del NCBI [3,50,53,63,75,95,96,104,114].

### 3. Actividades biológicas y proteómica de los venenos de víboras colombianas

Desde una perspectiva evolutiva, la selección de toxinas específicas en los venenos de las serpientes parece haber sido un proceso limitado, que conllevó fijar un número reducido de familias de proteínas en el tiempo [140]. De hecho, la restringida variedad de familias proteicas aparentemente promovió una rápida evolución de numerosas funciones biológicas para hacer frente a los requerimientos dietarios y estrategias de caza de estas serpientes [141]. Es por ello, que los venenos son considerados como

adaptaciones tróficas que facilitaron a las serpientes el poder capturar, someter y digerir a sus presas, respondiendo de forma específica al tipo de presa y su disponibilidad en el hábitat. Esto explica porque los venenos de las serpientes exhiben una variación significativa en su composición [142].

Es bien conocido que la composición del veneno de las serpientes presenta variaciones en todos los niveles taxonómicos (entre familias, géneros y especies), pero la comprensión de cómo son los mecanismos de acción aun es tema de investigación [143,144]. Para poder comprender los determinantes de esta variación se requiere realizar estudios enfocados en los procesos evolutivos de adaptación, coevolución, teniendo como marco de referencia hipótesis filogenéticas y ecológicas que expliquen su relacionamiento evolutivo [110,145,146,144]. El poder comprender como varía la composición en los venenos tiene un impacto transcendental en las ciencias aplicadas y biomédicas, ya que ayudará significativamente al desarrollo de nuevos medicamentos, así como al mejoramiento y eficacia de lo antiofídicos desarrollados para atender el envenenamiento [111,147] (ver Capítulo 6 y 10).

Varios países de Suramérica presentan una alta prevalencia de accidente ofídicos del género *Bothrops*, los cuales se asocian con envenenamientos graves y potencialmente mortales (ver Capítulo 9). Esto ha llevado a la estigmatización de las restantes especies de víboras, así como de serpientes no venenosas con apariencia similar. Esta estigmatización ha resultado en la matanza deliberada por parte de diversas comunidades humanas a múltiples especies de serpientes en todo el continente. Particularmente, existe un rechazo generalizado hacia las especies del género *Bothrops*. No obstante, este rechazo no es infundado, debido a su amplia distribución en diversas zonas ecológicas que confluyen con las principales áreas agrícolas, así como su alta capacidad para provocar envenenamientos, estas víboras se encuentran entre las serpientes venenosas más peligrosas de las regiones tropicales de Centro y Suramérica. Particularmente en Colombia, el envenenamiento botrópico representa el 62% del total de los casos anuales [111,148] (ver Capítulo 9).

Actualmente, el estudio de los venenos emplea un enfoque multidisciplinario, que utiliza tecnologías “ómicas” como la genómica, transcricional, proteómica y, más recientemente, la metabolómica, logrando una mejor comprensión de los componentes de los venenos, particularmente, aquellos con bajo peso molecular [149]. Estos campos de investigación han tenido un impacto significativo en la ciencia biomédica actual [150], al incorporar técnicas avanzadas en espectrometría de masas (MS) de alta resolución [151] y métodos de anotación de novo que emplean bases de datos que requieren cantidades mínimas de veneno [152]. Esto ha permitido la identificación de nuevas familias de toxinas, toxinas individuales, isoformas únicas y variantes de empalme, así como aminos, aminoácidos y alcaloides presentes en los venenos.

Más de cien especies de víboras neotropicales son reconocidas a nivel mundial [4]; y dada su amplia distribución, los envenenamientos causados

por estas especies constituyen un evento de importancia médica con un impacto significativo en la salud pública, al causar más de 2,7 millones de accidentes ofídicos al año [108]. No obstante, los venenos de las serpientes, al mismo tiempo, son una fuente de materia prima para la adquisición de nuevos compuestos moleculares [153], que facilitan los diversos avances biotecnológicos en biología molecular y biomedicina (ver Capítulo 10).

Chippaux et al. [154] allanó el camino para el estudio de los venenos de serpientes, demostrando que estas intrincadas secreciones varían en múltiples dimensiones y están afectadas por diversos factores intrínsecos y extrínsecos [144]. Actualmente, la venómica provee múltiples modelos útiles para la comprensión de la evolución de los genes [155,156]. En las siguientes secciones, presentamos una breve reseña sobre los estudios en venómica de las víboras colombianas. También discutimos los vacíos de conocimiento y perspectivas de investigación que consideramos deben abordarse en el futuro cercano.

### **3.1 La complejidad del veneno: más que un arma de caza**

El veneno de víbora contiene una mezcla compleja de proteínas y enzimas con diferentes actividades biológicas [157]. Su función principal es someter, predigerir y matar a la presa (ver Capítulo 5). El veneno como arma de cacería, permitió a las serpientes transitar del sometimiento mecánico de la presa (inmovilización y constricción del cuerpo) a un sometimiento químico (inoculación de veneno) [158]. Así, el sistema de inoculación de veneno se convirtió en una característica principal de las serpientes avanzadas [159], así como un rasgo muy distintivo para comprender la evolución y ecología de varias especies de serpientes [141].

Esta mezcla compleja de proteínas es producida por glándulas bucales especializadas que son homólogas a las glándulas salivales y de Duvernoy presentes en las serpientes de la superfamilia Colubroidea [157,160]. Estas toxinas se originaron a partir de eventos de duplicación de genes que codifican proteínas con funciones fisiológicas no tóxicas (cuyas proteínas resultantes son reclutadas por la glándula venenosa) pero que muestran una expresión selectiva en una estructura en particular [141,161].

Con el tiempo, las proteínas codificadas por las glándulas venenosas fueron sometidas a presiones selectivas que dieron como resultado su modificación estructural y funcional, e incluso, la supresión de su expresión en la glándula [161]. Sin embargo, aún no se comprende muy bien cuales fueron los mecanismos que conllevaron a los cambios en los componentes estructurales y de expresión proteica de los genes. Actualmente, conocemos parcialmente cómo se dio la duplicación de genes relacionados con el origen de las funciones originales de las diversas proteínas y toxinas. Por lo tanto, comprender el orden de estos eventos que explican el origen de cualquier proteína es un desafío aún por resolver [162].

Los venenos de serpientes presentan una gran variabilidad intraespecífica e interespecífica, en gran medida porque se trata de rasgos fun-

cionales ecológicos que evolucionan dinámicamente. Se han propuesto varios factores que influyen en su síntesis, como la estacionalidad, la distribución geográfica, variación ecológica entre poblaciones, así como la variabilidad en la dieta entre los sexos y durante el desarrollo ontogénico de los individuos [154,163,164]. Recientemente se ha sugerido que las actividades biológicas de algunos venenos son útiles a la hora de defenderse de los depredadores, entre los cuales el ser humano hace parte de esta interacción [165].

Por ejemplo, los venenos de tres linajes de cobras escupidoras tienen la capacidad de activar neuronas sensoriales en mamíferos, induciendo dolor [165]. De hecho, la divergencia de los clados de cobras escupidoras en África (6,7 millones de años) podría estar asociada con la evolución del bipedalismo y el desarrollo de cerebros más grandes en los homínidos [165], lo que sugiere que «escupir veneno» podría ser un mecanismo defensivo que evolucionó como respuesta a las interacciones negativas con homínidos antiguos (nuestros antepasados). En este sentido, las serpientes necesitaron producir grandes cantidades de veneno, lo que implícitamente haría difícil inferir si el veneno tiene un alto costo energético (en comparación con otros rasgos ecológicos). No obstante, esta premisa no se ha logrado poner a prueba, debido a la dificultad de establecer experimentalmente un diseño en el que se pueda controlar de forma adecuada el tamaño y tipo de presas, la modulación autónoma por parte de la serpiente en la producción, y propulsión de veneno, así como cuál es la toxicidad óptima de cada taxón para la generación de dolor o envenenamiento [166].

El accidente ofídico, es un evento circunstancial o provocado en el que una serpiente muerde a un humano [167]. Como resultado de este incidente, se genera una intoxicación debido a la inoculación de veneno dando lugar a un caso clínico considerado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como una de las enfermedades tropicales desatendidas más importantes (ver Capítulo 9). Desafortunadamente, los accidentes ofídicos ocurren con mayor frecuencia en los países en vía de desarrollo, representando casi el 95% del total de casos de accidentes ofídicos reportados en todo el mundo [168]. Además, dado que estos accidentes son frecuentes en las comunidades rurales de bajos ingresos y con escaso acceso a los servicios de salud, hacer frente a estos envenenamientos es desafiante, debido al bajo acceso a los antiofídicos y los altos costos en la movilidad de los accidentados [168,169] (ver Capítulo 6).

En perspectiva, los venenos son un rasgo que evoluciona rápidamente; se ha inferido que los factores ambientales pueden generar presiones adaptativas que modulan su variación funcional entre las especies. Al ser una característica adaptativa empleada tanto para alimentarse como para disuadir o defenderse de los posibles depredadores. Actualmente, el desarrollo de antiofídicos efectivos que neutralicen sus envenenamientos es un gran desafío, ya que estas terapias deben considerar la amplia variabilidad intraespecífica en la composición de los venenos. De hecho, investigaciones recientes que indagaron sobre la divergencia del contenido de crotamina en poblaciones *Crotalus durissus*, advierten sobre la

necesidad de desarrollar antiofídicos que logren neutralizar la amplia variabilidad de sus toxinas [170,171].

Uno de los principales sistemas diana de los venenos de algunas serpientes es el sistema nervioso de su presa o posible depredador [172]. La presencia de neurotoxinas en estos venenos se atribuye a su capacidad de alterar el funcionamiento normal en la transmisión de señales eléctricas del sistema nervioso central y/o periférico [173,174]. La alta especificidad y selectividad de las neurotoxinas de los venenos de las serpientes de cascabel se han utilizado ampliamente para estudiar la estructura y función de las neuronas del sistema nervioso central y elementos de su membrana celular implicados en la transmisión eléctrica de las señales [175]. Particularmente, estas toxinas se han empleado en estudios de patologías neurológicas que provocan enfermedades como el Parkinson y Alzheimer (ver Capítulo 10). Sin embargo, actualmente el efecto de estas toxinas en el sistema nervioso periférico y algunos órganos específicos ha sido pobremente explorado [172]. Se espera que, en el corto plazo, los investigadores sigan adquiriendo conocimientos sobre la administración dirigida de fármacos derivados de toxinas de serpientes empleadas para el tratamiento de diversas afecciones nerviosas, tumores y enfermedades neurodegenerativas. Mientras tanto, numerosas investigaciones persisten en la búsqueda e identificación nuevos péptidos derivados de los venenos de serpientes que ayuden a comprender la correlación entre la estructura y función, permitiendo el desarrollo de nuevas terapias biomédicas (ver Capítulo 10).

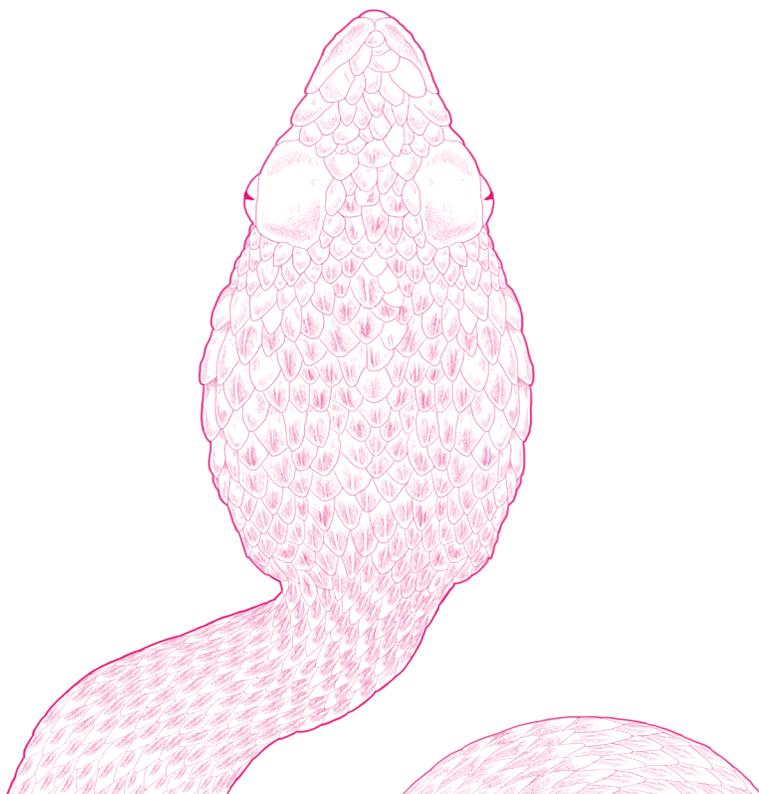
En Colombia, la colonización histórica de los vipéridos de nuevos nichos ecológicos en diferentes ecosistemas montañosos, de tierras bajas secas o tropicales húmedos, contribuyó de forma significativa a la diversificación fenotípica de sus venenos. Este proceso se ejemplifica en las poblaciones colombianas de *Crotalus durissus* en las que se observa una contrastante variación intraespecífica en la composición de sus venenos [171]. No obstante, aún se requiere mayores esfuerzos de investigación para comprender las relaciones entre la composición de los venenos, su contexto ecológico y su vínculo con las transformaciones del hábitat por actividades humanas. Para ello, se requiere el desarrollar un marco conceptual más robusto, que permita proponer hipótesis que expliquen la diferenciación o especificidad de los venenos en un contexto ecológico y evolutivo.

Comprender cómo han evolucionado estos venenos en relación con las interacciones interespecíficas con los humanos ayudaría a investigar el efecto antropogénico sobre las poblaciones naturales de víboras, así como a resolver algunas cuestiones relacionadas con la eficacia de los antivenenos. Nuestro propósito en este apartado fue explicar que los venenos de serpientes, antes de ser un componente biológico que desencadena un cuadro clínico complejo (ver Capítulo 9), son un arma letal de caza, modificada y seleccionada, a través del curso de la evolución de forma independiente en múltiples especies de serpientes. Este rasgo evolutivo les otorgó a las víboras uno de los más sofisticados medios para alimentarse y defenderse.

### 3.2. Estudios en proteómica en Colombia

A pesar de la gran diversidad de vipéridos en Colombia, sólo nueve especies (40%) han sido objeto de estudios proteómicos, contando con al menos una población caracterizada en todo su rango de distribución dentro del país (Tabla 2). Las proteínas presentes en estos venenos se clasifican entre siete a doce familias de proteínas. Generalmente, las toxinas de la familia PLA<sub>2</sub> son los componentes más abundantes identificados, seguidas por SVMP, SVSP y LAAO. Sin embargo, existen algunas excepciones. Por ejemplo, el veneno de *C. durissus* exhibe una concentración significativa de crotoxina (64,71%), siendo una toxina característica de las serpientes de cascabel suramericanas [170,176], pero con variación intraespecíficas entre las poblaciones colombianas. Por ejemplo, la crotamina es una toxina que solo se presenta en las poblaciones del Caribe colombiano [171].

Hasta ahora, los venenos de las especies del género *Bothrops* presentan las mayores proporciones de SVMP que PLA<sub>2</sub>. Este mismo patrón se observó en los venenos de *P. lansbergii*. y *L. acrochorda*. Por el contrario, el veneno de *Bothrocophias myersi* tiene un mayor porcentaje de PLA<sub>2</sub>, y sus toxinas se agrupan en 12 familias proteicas, convirtiéndolo en el veneno más complejo entre todos los vipéridos colombianos con proteomas conocidos. De forma similar, el veneno de *L. acrochorda* exhibe un perfil proteómico único al presentar elevadas proporciones de SVSP y BBP (35,1% y 25,5%), y un bajo porcentaje de PLA<sub>2</sub>. En contraste, el veneno de su especie hermana *L. muta* (verrugoso amazónico) tiene la mayor cantidad de LAAO (9,6%) entre todos los proteomas de los vipéridos Colombianos.



**Tabla 2 .** Proteomas conocidos de las especies de víperidos distribuidas en Colombia. Cada toxina se expresa en su proporción relativa (%).

Toxinas	<i>Bothrops atrox</i>	<i>Bothrops asper</i>	<i>Bothrops cyerbei</i> **	<i>Bothrops rhombeatus</i> **	<i>Bothrops punctatus</i>	<i>Porthidium lansbergii</i>	<i>Bothrocophias myersi</i>	<i>Lachesis acrochorda</i>	<i>Crotalus durissus</i>
SVMP	48,5	33,2	53,7	39,7	41,4	35,5	21,5	23,2	3,3
PLA <sub>2</sub>	24,1	31,3	0,7	23	9,3	16,2	54,1	2,3	0,58
SVSP	10,9	3,89	9,3	4,9	5,4	4,5	3,4	35,1	6,33
LAAO	4,7	3	3,3	2,1	3,1	3,6	1,10	9,6	3,16
Hya	*	*	*	*	*	*	0,01	*	*
crotoquina	*	*	*	*	*	*	*	*	64,71
CRISP	2,6	1,45	1,1	0,7	1,2	1,4	*	0,9	1,27
Dis	1,7	3,27	2,3	4	3,8	12,9	0,62	*	13,7
PLB	*	*	*	*	*	0,7	0,37	*	*
PDE	*	*	0,7	0,2	*	0,3	0,08	*	*
CTL	7,1	8,54	10,1	3,1	16,7	6,7	0,56	6,9	1,18
VEGF	*	*	*	*	1,7	2,2	*	0,6	*
NGF	*	*	0,1	*	*	*	0,07	*	*
PNP	*	*	*	*	*	*	*	*	*
BPP	0,3	*	8,3	7	*	*	*	21,5	*
PEP	*	*	8,7	*	10,7	*	9,1	*	*
Nuc	*	*	*	*	*	0,4	0,02	*	*
SVMPI	*	*	*	10	*	*	*	*	*
Crotamina	*	*	*	*	*	*	*	*	5,77

Abreviaturas: PLA<sub>2</sub>s : Fosfolipasa A<sub>2</sub> ; SVMP : metaloproteinasa; SVMPI : Inhibidoras de metaloproteinasa ;LAAO : L-aminoácido oxidasa; CTL: Lectina de tipo C/ similar a lectina; CRISP: Proteína secretora rica en cisteína; SVSP: Serina proteinasa; Nuc: nucleotidasa; PDE : fosfodiesterasa; Hya: Hialuronidasa; NGF: factor de crecimiento nervioso; PLB: Fosfolipasa B; PNP: péptidos y/o compuestos no proteicos; BPP: Péptido potenciador de bradicinina. \* Ausente en el proteoma. \*\* Especies dudosas del complejo de especies *Bothrops asper* (ver Capítulo 1 ) [118, 136,171,181,184,187,192,195].

Curiosamente, a pesar de que las de lectinas de tipo C han sido identificadas en todos los venenos de serpientes colombianas evaluadas, con porcentajes que oscilan entre 0,56% y 10,1%, en el veneno de *B. punctatus* esta toxina presenta un alto porcentaje en relación con sus congéneres (16,7%). De forma similar, el veneno de *P. lansbergii* exhibe las mayores concentraciones de desintegrinas, mientras que estas toxinas no fueron detectadas en el veneno de *L. acrochorda*. La ausencia o presencia de toxinas en los proteomas puede deberse a múltiples factores, no obstante, un factor común es las limitaciones inherentes a las técnicas empleadas para detectar compuestos con bajas concentraciones. No obstante, estudios rigurosos han logrado detectar toxinas a muy bajas concentraciones. Por ejemplo, en el veneno de *B. myersi*, se logró detectar una cantidad mínima (0,01%) la presencia de hialuronidasas las cuales funcionan como un factor de propagación de los venenos (ver Capítulo 5). En promedio, en la mayoría de las investigaciones se describieron ocho grupos de toxinas o familias proteicas, de las cuales las SVMP, PLA<sub>2</sub>s, SVSP, LAAO, CRISP, Dis, CTL y BPP están presentes en todos los proteomas, siendo la crotoxina y crotamina componentes exclusivos del género *Crotalus*.

El veneno de *Crotalus durissus* requiere especial atención por ser el único con actividad neurotóxica y miotoxinas a partir de toxinas de bajo peso molecular. El veneno de las cascabeles colombianas está compuesto por una proporción considerable de crotoxina (64,71%), responsable de inducir la parálisis flácida del diafragma. Sin embargo, otra toxina única de este veneno es la crotamina, un pequeño polipéptido básico con actividades miotóxicas y de penetración celular [177,178], el cual como ya lo indicamos anteriormente, varía geográficamente entre las poblaciones de esta especie [171,179].

### **3.3 Las actividades biológicas de las víboras colombianas**

En general, todas las actividades del veneno analizadas para las víboras colombianas se correlacionan con los signos y síntomas observados en los accidentes ofídicos reportados (ver Capítulo 9). No obstante, al revisar los valores reportados previamente sobre su actividad letal (LD<sub>50</sub> µg/ratón) se observa una notable variabilidad en las especies del género *Bothrops* (*B. atrox*, *B. asper*, Linaje *B. ayerbeii*, Linaje *B. rhombatus* y *B. punctatus*; Figura 6) que varía según en cada estudio: 81,4 (80,2–83,6) [42], 63 (rango 50–81 para varias ecorregiones de Colombia) [180], 50,1 (37,5–58,3) [181], 54,9 (36,0–83,8) [181] y 47 (36–61) [180]. Esto evidencia que existe una significativa variabilidad geográfica que no ha sido explicada o explorada previamente. Los venenos más letales entre las especies de *Bothrops* caracterizadas hasta ahora son los de *B. asper* y *B. punctatus*. No obstante, esto podría cambiar en la medida que aumente el muestreo y caracterización de los venenos de las poblaciones colombianas de las especies del género *Bothrops*. Entre todas las víboras del país, el veneno de *C. durissus* es el más letal con un promedio de 1 µg/ratón (0,02–2,5) [171,180]. La alta letalidad de esta especie se atribuye a la neurotoxicidad del veneno que rápidamente paraliza y causa asfixia a sus presas [182,183].

Saldarriaga et al. [42] llevaron a cabo uno de los estudios pioneros sobre la variabilidad ontogénica de los venenos de *B. asper* en Colombia. Este estudio permitió comprender cómo *B. asper* durante sus primeras etapas de vida, desarrollan venenos con fracciones dotadas de alta actividad hemorrágica, mientras que en la etapa adulta se producen mayoritariamente fracciones con actividad hemolítica. Además, en este estudio mostró que cuando se comparan los venenos de poblaciones de *B. asper* de Colombia y Costa Rica, existen divergencias específicas asociadas con variaciones en las actividades letales, hemorrágicas, edematogénicas, miotóxicas y hemolíticas.

De forma similar, en este estudio comparamos las actividades biológicas de las principales especies de víboras de importancia biológica de Colombia. Encontramos que dentro de los linajes de *B. asper* (*B. asper*, *B. ayerbei* y *B. rhombeatus* [184]) el veneno del linaje principal de *B. asper* (distribuido en toda la región del Caribe y el valle medio del río Magdalena) es significativamente más letal que los linajes de *B. ayerbei* y *B. rhombeatus* (Figura 6). El veneno de *Bothrops asper* resultó ser más hemorrágico que el veneno del linaje de *B. rhombeatus*, pero la dosis mínima hemorrágica del linaje *B. ayerbei* fue significativamente menor, mostrando su mayor capacidad para causar hemorragia.

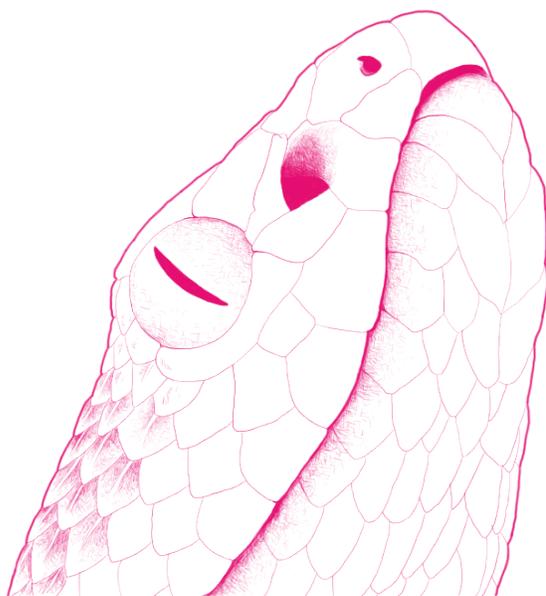
Por otro lado, el veneno del linaje *B. rhombeatus* mostró una mayor capacidad coagulante mientras que el veneno del linaje *B. ayerbei* exhibió la capacidad coagulante más baja. Además, a pesar del aislamiento geográfico entre las poblaciones de *B. asper* de la Isla de Gorgona (Océano Pacífico) y las poblaciones continentales del Valle del Cauca, las actividades biológicas de sus venenos mostraron actividades muy similares, con excepción de la actividad coagulante, la cual es mucho más baja en las poblaciones de la Isla Gorgona. Sin embargo, las actividades biológicas del veneno de estas dos poblaciones son significativamente diferentes en comparación con los venenos de las poblaciones distribuidas en la costa Caribe y en la cuenca del río Magdalena [185]. Se ha inferido que la divergencia de poblaciones dentro de algunos linajes de *B. asper* está fuertemente influenciada por la orografía de la cordillera de los Andes, así como por el cambio dinámico de sus ecosistemas que impulsa la especificidad de los diferentes nichos ecológicos [184]. De hecho, al comparar los proteomas y la diversidad genética de los linajes de *Bothrops asper*, se observa variación intraespecífica en cuatro de los componentes principales del veneno [53,60]: SVMP, SVSP, PLA<sub>2</sub> y CTL [184] (Figura 2).

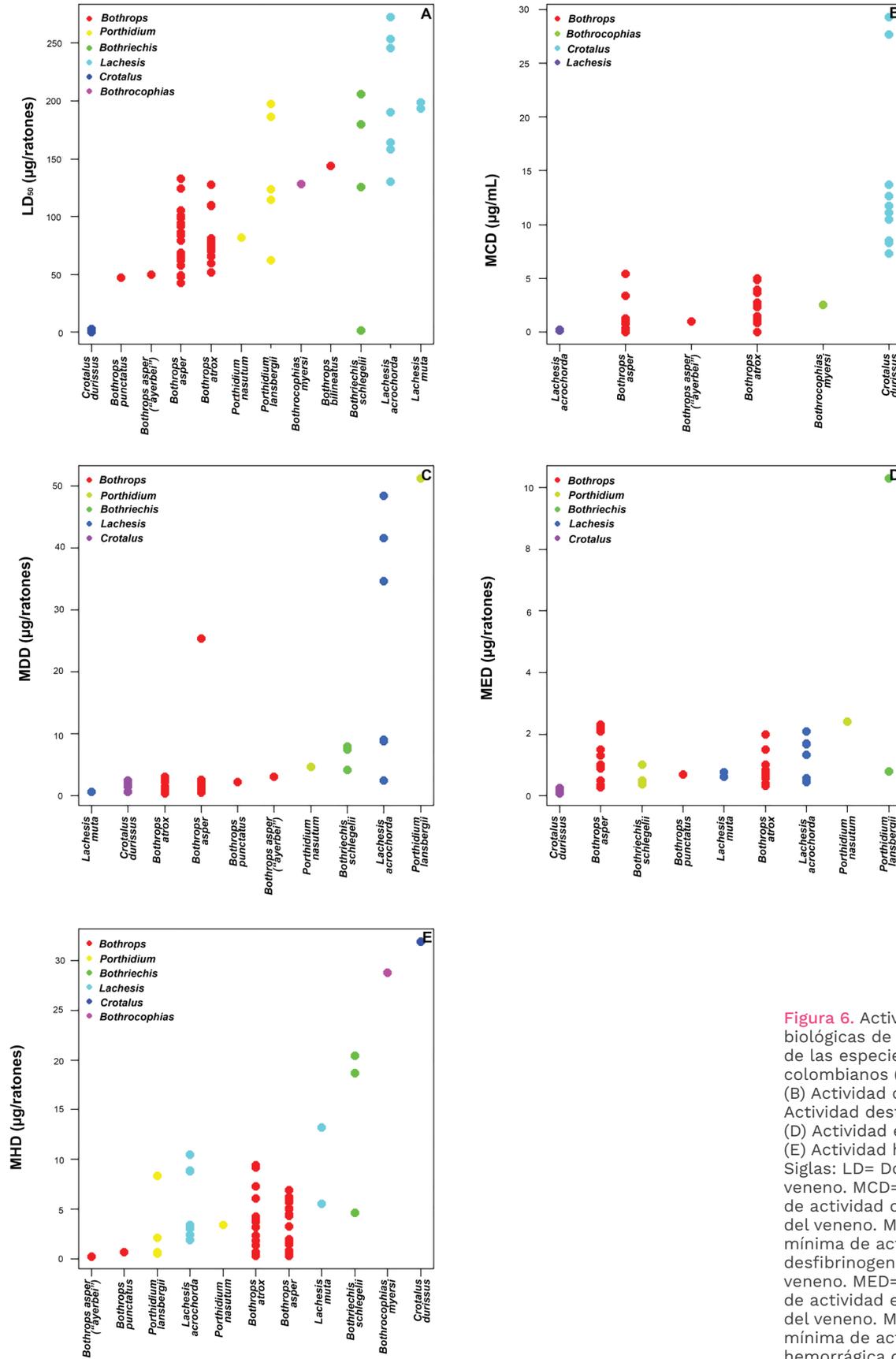
Existe controversia en torno a las actividades biológicas del veneno de varias poblaciones del complejo de especies *Bothriechis schlegelii*. Como los explicamos anteriormente, esta especie presenta una variación clinal entre sus poblaciones que posiblemente se relaciona con la variabilidad en las actividades biológicas de sus venenos (Figura 6A, C-E). Por ejemplo, las poblaciones colombianas del noroeste del Cordillera Central (departamento de Antioquia) [180,186] y las de la región suroeste Cordillera Occidental (departamento del Valle del Cauca) [187] no presentan actividad hemorrágica. Sin embargo, el veneno de estas poblaciones

muestra actividad coagulante y una alta capacidad de formación de edema similar a lo observado en las poblaciones de Costa Rica (*Bothriechis nigroadspersus*) [188]. Dada la importancia médica de esta especie y su amplia distribución sobre las franjas de producción agrícola de los andes colombianos, es prioritario realizar estudios que exploren de forma rigurosa los determinantes en la variabilidad de las actividades biológicas del complejo de especies *Bothriechis schlegelii*. Esto permitirá a los médicos tratantes de los envenenamientos generar diagnósticos más acertados, establecer de forma oportuna y adecuada la terapia, y anticipar las posibles complicaciones clínicas.

La actividad hemorrágica de los venenos de serpientes se atribuye a la actividad de los SVMP [189]. La mayoría de los venenos de víboras colombianas caracterizados hasta ahora tienen actividad hemorrágica. Sin embargo, su potencia es variable. Generalmente, las especies de *Bothrops* spp., *Porthidium* spp., *L. acrochorda* y *Bothrocophias* spp., son más hemorrágicas que el complejo de especies de *B. schlegelii*, mientras que *C. durissus* rara vez induce hemorragia local [190-193]; y el veneno de *Bothrocophias campbelli* induce hemorragias leves y trastornos de la coagulación [194].

*Porthidium lansbergii* y *P. nasutum* muestran una actividad citotóxica moderada y una letalidad baja cuando se prueban en ratones, pero ambas especies muestran una alta actividad hemorrágica [195]. Además, los venenos del complejo *Porthidium nasutum-lansbergii* en Colombia inducen trastornos hemostáticos que se relacionan con su actividad procoagulante demostrada *in vitro*, su actividad fibrinogenolítica demostrada *in vivo*, y la alteración de los tiempos de coagulación. Estos venenos se caracterizan por un consumo masivo de fibrinógeno que sólo puede recuperarse mediante la aplicación de antiofídicos [90,193,196].





**Figura 6.** Actividades biológicas de los venenos de las especies de vipéridos colombianos (A) Dosis letal. (B) Actividad coagulante. (C) Actividad desfibrinogenante. (D) Actividad edematizante. (E) Actividad hemorrágica. Siglas: LD= Dosis letal del veneno. MCD= Dosis mínima de actividad coagulante del veneno. MDD= Dosis mínima de actividad desfibrinogenante del veneno. MED= Dosis mínima de actividad edematizante del veneno. MHD= Dosis mínima de actividad hemorrágica del veneno.

Tabla 3. Actividades biológicas evaluadas las víboras colombianas

Especies	Letalidad	Hemorragico	Mitotoxicidad	Edemático	Coagulante	Hemolítico (actividad PLA <sub>2</sub> )	Desfibrinogenante	Neurotóxico
<i>Bothriechis schlegelii</i>	Evaluado	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	Ausente
<i>Bothrocophias myersi</i>	Evaluado	Presente	Presente	Presente	Presente	no evaluado	no evaluado	Ausente
<i>Bothrops asper</i>	Evaluado	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	Ausente
Linaje <i>B. ayerbei</i> *	Evaluado	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	Ausente
Linaje <i>B. rhombatus</i> *	Evaluado	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	Ausente
<i>Bothrops atrox</i>	Evaluado	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	Ausente
<i>Bothrops punctatus</i>	Evaluado	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	Ausente
<i>Crotalus durissus</i>	Evaluado	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente
<i>Lachesis acrochorda</i>	Evaluado	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	Ausente
<i>Lachesis muta</i>	Evaluado	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	Ausente
<i>Porthidium lansbergii</i>	Evaluado	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	Ausente
<i>Porthidium nasutum</i>	Evaluado	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	Ausente
<i>Bothrocophias campbelli</i>								
<i>Bothrocophias colombianus</i>								
<i>Bothrocophias hyoprora</i>								
<i>Bothrocophias myrringae</i>								
<i>Bothrocophias tullitoi</i>								
<i>Bothrops bilineatus</i>								
<i>Bothrops oligobalius</i>								
<i>Bothrops pulcher</i>								
<i>Bothrops taeniatus</i>								
<i>Bothrops venezuelensis</i>								

No evaluado

\* Especies dudosas en el complejo de especies *Bothrops asper* (ver Capítulo 1) [42,118,136,171,180-190,194].

### 3.4 Perspectivas de la investigación sobre antiofídicos

Los antiofídicos como terapia para la neutralización del envenenamiento causado por las mordeduras de serpientes se desarrollaron en el siglo XIX (ver Capítulo 6 y 7). A través del tiempo, esta terapia ha tenido grandes mejoras en la purificación y selección de inmunoglobulinas con alta capacidad neutralizante, estableciéndose como la terapia estándar y primordial para atender los accidentes botrópicos, así como los accidentes ofídicos en general alrededor del mundo [108,197]. Los antiofídicos se elaboran a partir de anticuerpos (inmunoglobulinas) o fragmentos de anticuerpos que se unen específicamente a las toxinas del veneno, neutralizándolas y permitiendo su eliminación del organismo.

La administración de los antiofídicos es vía intravenosa. Al entrar al torrente sanguíneo los anticuerpos o fragmentos de anticuerpos se unen a las toxinas del veneno impidiendo que continúen dañando los tejidos o interfiriendo con funciones fisiológicas vitales. Estas inmunoglobulinas son obtenidas y purificadas del plasma de grandes mamíferos (generalmente caballos), que han sido previamente inmunizados con dosis subletales de veneno de serpiente [198,199] (ver Capítulo 6). Los antiofídicos pueden ser monovalentes o polivalentes, dependiendo de si la inmunización de los caballos se realiza con veneno de una única especie, o con la mezcla de venenos de múltiples especies, respectivamente [200].

En algunos casos, esta terapia puede provocar reacciones adversas (p. ej., anafilaxia) [111], sin embargo, la incidencia y gravedad de estas reacciones asociadas con la administración de antiofídico se han reducido significativamente mediante la mejora técnica y tecnológica en la purificación de las inmunoglobulinas [201], lo que a su vez, ha aumentado la eficacia terapéutica de los antiofídicos para detener las manifestaciones sistémicas de la ofidiotoxicosis [202]. Sin embargo, la heterogeneidad del veneno entre especies podría explicar las diferencias en los síntomas clínicos de los accidentes ofídicos registrados en diferentes regiones geográficas del país [154]. No obstante, no se cuenta con estudios que asocien de forma robusta la variabilidad de los síntomas clínicos observados en los accidentes ofídicos con la variabilidad geográfica de las actividades biológicas de los venenos y proteomas de las especies causantes del accidente. Actualmente, el desarrollo de nuevos enfoques de inmunoterapia para hacer frente al envenenamiento por serpientes en todas las regiones tropicales del mundo representa un enorme desafío [111].

Por ejemplo, las pruebas preclínicas de neutralización del veneno de *C. durissus* utilizando el antiveneno del Instituto Nacional de Salud de Colombia (INS), empleadas para calcular la dosis efectiva media ( $DE_{50}$ ), muestran que se requiere más antiofídico para neutralizar el veneno de las poblaciones del Caribe (2,3 mg veneno/mL) que las de la cuenca media del Magdalena (1,4 mg veneno/mL), o la ecorregión de la Orinoquia (0,6 mg veneno/mL) [171]. Por lo tanto, existe la necesidad de utilizar la combinación de venenos de diferentes orígenes geográficos (=poblaciones/linajes) en la producción de antiofídicos. Asimismo, es importante priorizar la investigación del veneno de serpiente utilizando una combinación de

herramientas proteómicas, toxicológicas y bioquímicas funcionales [199]. De hecho, Calvete et al. [111] presentan un protocolo útil para investigar la inmunorreactividad antígeno-anticuerpo, abriendo una nueva puerta para el desarrollo de inmunoterapias que hacen frente a envenenamientos por venenos homólogos y heterólogos en diferentes especies de víboras.

Con base en la inmunorreactividad de las diversas toxinas frente a los antiofídicos, estos componentes tóxicos podrían agruparse en tres tipos de toxinas: completamente inmunodegradadas, parcialmente inmunodegradadas y no inmunodegradadas. Por tanto, los protocolos de inmunización deben mejorarse mediante el uso de mezclas de inmunógenos [111]. Este enfoque novedoso con un fundamento inmunológicamente sólido proporciona las bases para el desarrollo de antiofídicos mediante el uso de análisis inmunoquímicos y proteómicos para la neutralización de los venenos de las serpientes de importancia médica en una región en específico [111].

Un primer ejemplo de este tipo de nuevas terapias es el desarrollo de un antiofídico para el tratamiento de las mordeduras causadas por *Bothrops lanceolatus* (víbora endémica de la isla de Martinica en las Antillas Menores de Martinica). Este producto, Sanofi-Pasteur Bothrofav®, ha demostrado buena eficacia preclínica en la neutralización, previniendo oportunamente el desarrollo de los eventos sistémicos más graves [203,204].

La limitada disponibilidad de antivenenos en varios países de Centro y Suramérica como resultado de diferentes procesos sociales (sociales y ambientales; ver Capítulos 6) ha creado la necesidad y el desafío de mejorar la capacidad neutralizante de los antiofídicos disponibles. Para ello, se ha propuesto como alternativa el uso de inhibidores de pequeño tamaño molecular que contrarresten el efecto de las principales proteínas del veneno de serpiente que causan los síntomas clínicos. La investigación en este campo ha cobrado fuerza recientemente [144]. El efecto de estos inhibidores ha sido estudiado tanto *in vitro* como *in vivo*, obteniendo resultados prometedores para la inhibición de PLA<sub>2</sub>, SVMP y SVSP [205,206].

Investigadores del Instituto Clodomiro Picado dirigidos por el Dr. José María Gutiérrez realizaron estudios detallados a nivel proteómico de venenos de *Bothrops caribbaeus* y *B. lanceolatus* (especies incluidas dentro del complejo *B. atrox*), encontrando inmunorreactividad ante el antiofídico polivalente producido en Costa Rica para neutralizar el veneno de las serpientes de cascabel centroamericanas. Este antiofídico logró inmunodegradar el 80% de las proteínas y neutralizar las actividades letales de los venenos en estas dos especies [205]. Otras investigaciones reportan la importancia de comparar los proteomas entre especies con una historia natural similar, pero con incertidumbres taxonómicas o linajes no definidos dentro del complejo *Bothrops asper-atrox* [111,207,208]. Los hallazgos de los investigadores costarricenses aportan un importante avance en la comprensión de la actividad cruzada en los antiofídicos que contrarrestan los síntomas de envenenamiento causados por los vipéridos americanos.

En Colombia, se han realizado experimentos buscando opciones complementarias al tratamiento con antiofídicos. Recientemente, se han producido proteínas recombinantes para mejorar la inmunogenicidad de proteínas como el PLA<sub>2</sub> y las toxinas de tres dedos (3FTx), lo cual representa un avance novedoso para el futuro en el desarrollo los antiofídicos que neutraliza las toxinas de las serpientes del género *Micrurus* [209]. Asimismo, se han realizado experimentos utilizando moléculas purificadas de extractos de plantas para inhibir ciertas actividades biológicas de los venenos de serpientes [192,210,211], así como inhibidores sintéticos que han mostrado actividad inhibidora contra PLA<sub>2</sub> y SVMP [212], todos estos en pruebas preclínicas.

La incorporación gradual de técnicas cromatográficas y de espectrometría de masas para complementar las plataformas actuales recomendadas por la OMS en la evaluación de antivenenos, son ideales para establecer su validez clínica en un rango geográfico definido [213]. Además, cuando se combinan con ensayos de neutralización *in vivo*, los antiofídicos representan un buen complemento para evaluar la eficacia terapéutica de los antiofídico contra los mismos venenos utilizados en su producción [214].

Los antiofídicos polivalentes como el ICP (Costa Rica), INS (Colombia), PROBIOL (Colombia), UCV (Venezuela), BIOL (Argentina) y INS-PERÚ (Perú) pueden reconocer las principales familias de toxinas presentes en los venenos de *Bothrops asper* (SVMP, PLA<sub>2</sub>s, CRISP, SVSP, CTL); de estos el antiofídico del INS es la terapia más eficaz y segura [181]. Al realizar estudios comparativos entre los antiofídicos disponibles en Colombia, el antiofídico del INS muestra la capacidad de inmunoreconocimiento más efectiva, así como la mejor capacidad neutralizante de las actividades biológicas de los venenos de *Bothrops ssp.*, *Bothrocophias ssp.*, *Bothriechis spp.*, *Crotalus durissus*, *Lachesis ssp.*, y *Porthidium ssp.*, seguido por el antiofídico de Silanes (Bioclon) México [190]. En un estudio más reciente [185], se evaluaron venenos de *B. asper* de la Isla Gorgona y de las ecorregiones del Pacífico y occidente de Colombia, a partir de ensayos de inmunorreactividad utilizando antivenenos INS y Probiol. Los resultados obtenidos indican nuevamente que el antiveneno INS tuvo mayores títulos de anticuerpos y neutralización en comparación con el antiveneno Probiol, mostrando su mayor capacidad neutralizante para los venenos de *B. asper* de la población de la isla Gorgona.

Finalmente, es importante estudiar la variabilidad en la composición proteica de diferentes venenos de los vipéridos y desarrollar estudios que describan las correlaciones estructura-función de toxinas individuales que ayudarán a mejorar la comprensión de los venenos como adaptaciones tróficas y defensivas en diferentes especies [213]. Asimismo, es importante continuar buscando alternativas para el posible uso de las toxinas del veneno como compuestos activos para el desarrollo de nuevos medicamentos, no sin antes, profundizar en el estudio de la historia natural de los géneros vipéridos presente en Colombia (p. ej., distribución), que permita comprender cómo la destrucción de sus hábitats naturales y el cambio climático afecta la variabilidad de sus venenos y supervivencia en los ambientes naturales y alterados.

## Apéndice: Material y métodos

### *Análisis filogenéticos*

Los análisis filogenéticos se realizaron utilizando la estimación de máxima verosimilitud en el software IQ tree. [215]. Los modelos evolutivos se realizaron utilizando el buscador de modelos. [216]: TN+F+I: CYTB1\_ND41, TIM+F+R2: CYTB2, GTR+F+I+G4: CYTB3\_ND43, TN+F+R2: ND42. Los análisis se realizaron utilizando una matriz de 102 secuencias concatenadas para 51 terminales para el grupo *Bothrops atrox* y el género *Porthidium* distribuidos en Colombia, Brasil, Ecuador, Venezuela y Costa Rica. Se utilizaron 20 especies como grupo externo: *Gloydus halys*, *Sistrurus miliarius* y *S. catenatus*; *Crotalus horridus*, *C. ruber*, *C. atrox* y *C. durissus*; *Agkistrodon piscivorus* y *A. contortrix*; *Mixcoatlus melanurus*; *Ophryacus ondulatus*; *Cerrophidion godmani*; *Metlapilcoatlus (Atropoides) nummifer* y *M. mexicanus*; *Atropoides picadoi*, *Bothrocophias hyoprora*, *B. tulitoi*, *B. myrringae*; *Bothriechis nigroadspersus*; y *Bothrops jararaca*. Además, se utilizó el software phytools para realizar un análisis de relaciones a nivel filogenético [217], utilizando dos proteomas publicados para especies de víboras colombianas y algunos linajes/clados relacionados.

### Prueba de biológicas

Las pruebas biológicas de letalidad, coagulante, desfibrinogenante, hemorrágica y edemática fueron realizadas por el INS en cumplimiento de sus actividades de producción de sueros antiofídicos y alineados a la caracterización de venenos que indica la OMS en «Guidelines for the Production, Control and Regulation of Snake Antivenom Immunoglobulins; 2017». Todas las pruebas fueron realizadas en ratones de la cepa CD1 de 18-22 g acorde con los protocolos establecidos por el INS para el uso de animales de laboratorio.

*Dosis letal 50 (DL<sub>50</sub>)*.— Evaluamos la letalidad del veneno siguiendo los procedimientos y protocolos descritos por [200,218], así como el protocolo de producción MEN-R04.6022-011 del INS. La dosis letal media de un veneno se define como la cantidad de veneno que causa la muerte en el 50% de los ratones inoculados. Para determinar DL<sub>50</sub> se prepararon diferentes dosis de veneno en solución salina las cuales se les inyectó por vía intraperitoneal en grupos de cinco ratones. Después de 48 horas se registraron el número de muertes. Se empleó como grupo control cinco ratones a los que se les inyectó solución salina. Finalmente, la DL<sub>50</sub> se estimó usando métodos estadísticos, como Spearman-Kärber, función Probit u otros métodos no paramétricos [219].

*Dosis mínima coagulante (DMC)*.— Realizamos pruebas de coagulación in vitro siguiendo los procedimientos y protocolos descritos por [200,220], así como el protocolo de producción MEN-R04.6031-001 del INS. Definimos como actividad coagulante positiva la dosis mínima de veneno que indujo la coagulación en plasma humano citratado.

*Dosis mínima desfibrinogenante (DMD)*.— Realizamos pruebas de desfibrinogenación in vivo siguiendo el protocolo de producción MEN-R04.6022-046

del INS, así como los procedimientos y protocolos descritos por [200,220]. La dosis DMD corresponde a la dosis de veneno, que, administrada vía intravenosa en cinco ratones inyectados con una dilución de veneno, induce incoagulabilidad luego de 2 horas de tomada la muestra.

Dosis mínima edemática (DME).—Realizamos pruebas de edema in vivo siguiendo el protocolo de producción MEN-R04.6022-043 del INS, así como los procedimientos y protocolos descritos por [200] La DEM corresponde a la dosis de veneno que induce un edema del 30% en patas de ratón, posterior a la inyección y se cuantifica mediante pesaje de las patas y establecimiento de la diferencia en el aumento del edema. Para ello, se prepararon soluciones en diferentes concentraciones de veneno. Cada dilución es inyectada a cinco ratones en almohadilla plantar de la pata derecha, mientras que la pata izquierda se inocula solución salina estéril (0,85%). Una hora después de las inoculaciones, se realiza la eutanasia de los animales de manera ética [221]. Se cortan ambas patas (a nivel articulación tibiotarsiana) y se pesan.

Dosis mínima hemorrágica (DMH).— Realizamos pruebas hemorrágicas in vivo siguiendo el protocolo de producción MEN-R04.6022-049 del INS, así como los procedimientos y protocolos descritos por [200,220]. La dosis mínima hemorrágica se define como la cantidad de veneno capaz de inducir una lesión hemorrágica con un diámetro de 10 mm. Para determinar esto, se prepararon diferentes diluciones de veneno en solución salina con un volumen final de inyección de 50  $\mu$ L. Luego, cada dilución es inyectada a cinco ratones intradérmicamente en la piel ventral (rasurada) de los ratones. Finalmente, después de 2-3 horas, se realiza la eutanasia de los animales de manera ética [221]; se disecciona la piel y se mide el diámetro de la lesión hemorrágica resultante.

## Referencias

1. Cubides-Cubillos, S.D. Actitudes, Creencias y Prácticas Desarrolladas En Comunidades Rurales Del Urabá Antioqueño Con Relación a Las Serpientes y Su Mordedura. Trabajo presentado para optar al título de Magister en Educación – Línea de formación: pedagogía y diversidad cultural, Universidad de Antioquia: Medellín, Colombia, **2016**.
2. Campbell, J.A.; Lamar, W. *The Venomous Reptiles of the Western Hemisphere*; Cornell University Press, Ed; Comstock Publishing: Ithaca, New York, **2004**.
3. Alencar, L.R.V.; Quental, T.B.; Graziotin, F.G.; Alfaro, M.L.; Martins, M.; Venzon, M.; Zaher, H. Diversification in Vipers: Phylogenetic Relationships, Time of Divergence and Shifts in Speciation Rates. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **2016**, *105*, 50–62, doi:10.1016/j.ympev.2016.07.029.
4. Uetz, P.; Freed, P.; Aguilar, R.; Hošek, J. The Reptile Database. **2023**.
5. Palisot de Beauvois Memoir on Amphibia. Serpents. *Transactions of the American Philosophical Society* **1799**, *4*, 362–381.
6. Werman, S.D. Phylogenetic Relationships of Central and South American Pitvipers of the Genus *Bothrops* (Sensu Lato): Cladistic Analyses of Biochemical and Anatomical Characters. In *Biology of the Pitvipers*; J.A. Campbell, E.D. Brodie, Eds.; Selva: Texas, **1992**; pp. 21–40.
7. Peters, W. Über Die von Hrn. Dr. Hoffmann in Costa Rica Gesammelten Und an Das Königl. Zoologische Museum gesandten Schlangen **1859**, pp. 275–278.
8. Gutberlet, R.L.; Campbell, J.A. Generic Recognition for a Neglected Lineage of South American Pitvipers (Squamata: Viperidae: Crotalinae), with the Description of a New Species from the Colombian Chocó. *American Museum Novitates* **2001**, 1–15.
9. Wagler, J. Serpentina Brasiliensium Species Novae, Ou Histoire Naturelle Des Espèces Nouvelles de Serpens. *Jean de Spix, Animalia nova sive species novae* **1824**, *VII*, 1–75.
10. Campbell, J.A.; Lamar, W.W. Taxonomic Status of Miscellaneous Neotropical Viperids, with the Description of a New Genus. *Occasional Papers, Museum of Texas Tech University*. **1992**, *153*, 1–31.
11. Linnaeus, C. *Systema Naturæ per Regna Tria Naturæ, Secundum Classes, Ordines, Genera, Species. Cum Characteribus, Differentiis, Synonymis, Locis*; 10th ed.; **1758**; Vol. 1.
12. Daudin, F.M. Histoire Naturelle, Générale et Particulière, *Des Reptiles*; F. Dufart.; Paris, **1802**; Vol. 4.
13. Campbell, J.D.; Frost, R.; and Castoe, T.A. A new generic name for jumping pitvipers (Serpentes: Viperidae). *Revista Latinoamericana de Herpetología* **2019**, *2*, 52–53.
14. Jadin, R.C.; Gutberlet Jr, R.L.; Smith, E.N. Phylogeny, Evolutionary Morphology, and Hemipenis Descriptions of the Middle American Jumping Pitvipers (Serpentes: Crotalinae: *Atropoides*). *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research* **2010**, *48*, 360–365, doi:10.1111/j.1439-0469.2009.00559.x.
15. Cope, E.D. Catalogue of Batrachians and Reptiles [Batrachia and Reptilia] of Central America and Mexico. **1887**, *32*, 1–98.

16. Cope, E.D. "Ninth Contribution to the Herpetology of Tropical America." *Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia* **1871**, 23, 200–224.
17. Garman, S. The Reptiles and Batrachians of North America. *Memoirs of the Museum of Comparative Zoölogy*, Cambridge (Massachusetts) **1884**, 8, 34–185.
18. Cope, E.D. «Notes upon Some REPTILES of the Old World». *Proceedings of the Academy of Natural Science of Philadelphia*. **1862**, 14, 337–344.
19. Boulenger, G.A. "An Account of the Reptilia Obtained in Burma, North of Tenasserim, by Monsieur. L. Fea, of the Genoa Civic Museum." *Annali del Museo Civico di Storia Naturale di Genova* **1888**, 6, 593–604.
20. Gray, J.E. Monographic Synopsis of the Vipers, or the Family Viperidæ. *Zoological Miscellany*, London **1842**, 2, 68–71.
21. Cope, E.D. Catalogue of the Venomous Serpents in the Museum of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia, with Notes on the Families, Genera and Species. *Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia* **1860**, 11, 332–347.
22. Wagler, J.G. Natürliches System Der Amphibien, Mit Vorangehender Classification Der Säugetiere Und Vögel. *Ein Beitrag zur vergleichenden Zoologie* **1830**, 1–352.
23. Kuhl, K.; Van Hasselt, J.C. Uittreksel Uit de Brieven van Heeren Kuhl En van Hasselt, Aan de Heeren C.J. Temminck, Th. van Swinderen En W. de Haan. *Algemeene Konst. Letterbode* **1822**, 7, 99–104.
24. Gloyd, H.K. "A New Generic Name for the Hundred-Pace Viper." *Proceedings of the Biological Society of Washington* **1979**, 91, 963–964.
25. Merrem, B. Versuch Eines Systems Der Amphibien. *Tentamen Systematis Amphibiorum*. Marburg: J.C. Krieger **1820**, 191.
26. Alcock, A., F.F. "An Account of the Reptilia Collected by Dr. F. P. Maynard, Captain A. H. McMahon, C.I.E., and the Members of the Afghan-Baluch Boundary Commission of 1896." *Journal of the Asiatic Society of Bengal* **1897**, 65, 550–556.
27. Malhotra, A.; Thorpe, R.S. A Phylogeny of Four Mitochondrial Gene Regions Suggests a Revised Taxonomy for Asian Pitvipers (*Trimeresurus* and *Ovophis*). *Molecular Phylogenetics and Evolution* **2004**, 32, 83–100, doi:10.1016/j.ympev.2004.02.008.
28. Hoge, A.R.; Romano-Hoge, S.A.R. Poisonous Snakes of the World. Part 1: Check List of the Pitvipers, Viperioidea, Viperidae, Crotalinae. *Memorias do Instituto Butantan* **1981**, 42, 179–309.
29. Fitzinger, L. Systema Reptilium. Fasciculus Primus: Amblyglossae. *Vindobonae: Braumüller und Seidel* **1843**, 1–106.
30. Reuss, A.F. Sechs Europäische Giftschlangengattungen. *Zoologischer Anzeiger* **1927**, 75, 124–129.
31. Broadley, D.G. A Review of the Tribe Atherini (Serpentes: Viperidae), with Descriptions of Two New Genera. *African Journal of Herpetology* **1996**, 45, 40–48.
32. Nilson, G., T.B., A.C., O.N., J.U. & H.H.W. Taxonomic Position of the *Vipera xanthina* Complex. *Kaupia* **1999**, 8, 99–102.
33. McDiarmid, R.W., C.J.A., T.T. Snake Species of the World: A Taxonomic and Geographic Reference. *Herpetologists' League* **1999**, 1, 511.

34. Hoge A.R.; Romano-Hoge S.A.L. «Notes on Micro and Ultrastructure of 'Oberhäutschen' in Viperioidea. Viperioidea, Viperidae, Crotalinae». *Memorias do Instituto Butantan* **1983**, *44*, 81–118.
35. Boulenger, G.A. Catalogue of the Snakes in the British Museum (Natural History. Volume III., Containing the . Viperidæ. *London: Trustees of the British Museum (Natural History). (Taylor and Francis, printers)* **1896**, *3*, 772.
36. Lacepede, B.G.E.L. Memoire Sur Plusieurs Animaux de La Nouvelle Hollande Dont La Description n'a Pas Encore Ete Publiee. *Annales du Museum d'Histoire naturelle* **1804**, *4*, 184–211.
37. Laurenti, J. Specimen Medicus Exhibens Synopsin Reptilium. *J. Thoma* (Vienna) **1768**, 1–2.
38. Wüster, W.; Peppin, L.; Pook, C.E.; Walker, D.E. A Nesting of Vipers: Phylogeny and Historical Biogeography of the Viperidae (Squamata: Serpentes). *Molecular Phylogenetics and Evolution* **2008**, *49*, 445–459, doi:10.1016/j.ympev.2008.08.019.
39. Greene, H. The Ecological and Behavioral Context for Pitviper Evolution. In *Biology of the Pitvipers*; **1992**; pp. 107–117.
40. Mackessy, S. Venom Ontogeny in the Pacific Rattlesnakes *Crotalus viridis helleri* and *C. d. oreganus*. *Copeia* **1988**, *2*, 92–101.
41. Guércio, R.A.P.; Shevchenko, A.; Shevchenko, A.; López-Lozano, J.L.; Paba, J.; Sousa, M. V.; Ricart, C.A.O. Ontogenetic Variations in the Venom Proteome of the Amazonian Snake *Bothrops atrox*. *Proteome Science* **2006**, *4*, doi:10.1186/1477-5956-4-11.
42. Saldarriaga, M.M.; Otero, R.; Núñez, V.; Toro, M.F.; Díaz, A.; Gutiérrez, J.M. Ontogenetic Variability of *Bothrops atrox* and *Bothrops asper* Snake Venoms from Colombia. *Toxicon* **2003**, *42*, 405–411, doi:10.1016/S0041-0101(03)00171-5.
43. Alape-Girón, A.; Sanz, L.; Escolano, J.; Flores-Díaz, M.; Madrigal, M.; Sasa, M.; Calvete, J.J. Snake Venomics of the Lancehead Pitviper *Bothrops asper*. Geographic, Individual, and Ontogenetic Variations. *Journal of Proteome Research* **2008**, *7*, 3556–3571, doi:10.1021/pr800332p.
44. Kardong, K.; Kiene, T.; Bels, V. Evolution of Trophic Systems in Squamates. *Neth Journal Zoology* **1997**, *47*, 1–17.
45. Burger, W.L. Genera of Pitvipers (Serpentes: Crotalidae), University of Kansas: Lawrence, **1971**.
46. Avise, J.C. *Molecular Markers, Natural History and Evolution*; Springer US, **1994**.
47. Avise, J.C. *Phylogeography*; Harvard University Press, **2000**; ISBN 9780674268708.
48. Zamudio, K.R.; Greene, H.W.; Zamudio, K.R.; Greene, H.W. Phylogeography of the Bushmaster (*Lachesis muta*: Viperidae): Implications for Neotropical Biogeography. *Systematics and Conservation*; **1997**; Vol. 62.
49. Thorpe, R.S.; Mcgregor, D.P.; Cumming, A.M.; Jordan, W.C. DNA Evolution and Colonization Sequence of Island Lizards in Relation to Geological History: MtDNA RFLP, Cytochrome b, Cytochrome Oxidase, 12s RRNA Sequence, and RAPD Nuclear Analysis. *Evolution* (NY) **1994**, *48*, 230–240.

50. Parkinson, C.L. Molecular Systematics and Biogeographical History of Pitvipers as Determined by Mitochondrial Ribosomal DNA Sequences. *Copeia* **1999**, 576–586.
51. Gutberlet Jr, R.L.; Harvey, M.B. Phylogenetic Relationships of New World Pit Vipers as Inferred from Anatomical Evidence. In *Biology of the Vipers*; G.W. Schuett, M. Höggren, M.E. Douglas, H.W. Greene, Eds.; Eagle Mountain Publishing: Salta Lake City, **2002**; Vol. 1, pp. 51–68.
52. Amaral, A. Contribuicao ao conhecimento dos ofidios neotropicos XXXVI. Redescricao da espécie *Bothrops hyoprora* Amaral, **1935**. Mem. Inst. Butantan 26: 221-225.
53. Saldarriaga-Córdoba, M.; Parkinson, C.L.; Daza, J.M.; Wüster, W.; Sasa, M. Phylogeography of the Central American Lancehead *Bothrops asper* (Serpentes: Viperidae). *PLoS One* **2017**, *12*, e0187969, doi:10.1371/journal.pone.0187969.
54. Gregory-Wodzicki, K.M. Uplift History of the Central and Northern Andes: A Review. *Bulletin of the Geological Society of America* **2000**, *112*, 1091–1105, doi:10.1130/0016-7606(2000)112<1091:UHOTCA>2.3.CO;2.
55. Carrasco, P.A.; Mattoni, C.I.; Leynaud, G.C.; Scrocchi, G.J. Morphology, Phylogeny and Taxonomy of South American Bothropoid Pitvipers (Serpentes, Viperidae). *Zoologica Scripta* **2012**, *41*, 109–124, doi:10.1111/j.1463-6409.2011.00511.x.
56. Bagley, J.C.; Johnson, J.B. Phylogeography and Biogeography of the Lower Central American Neotropics: Diversification between Two Continents and between Two Seas. *Biological Reviews* **2014**, *89*, 767–790, doi:10.1111/brv.12076.
57. Carrasco, P.A.; Koch, C.; Graziotin, F.G.; Venegas, P.J.; Chaparro, J.C.; Scrocchi, G.J.; Salazar-Valenzuela, D.; Leynaud, G.C.; Mattoni, C.I. Total evidence Phylogeny and Evolutionary Morphology of New World Pitvipers (Serpentes: Viperidae: Crotalinae). *Cladistics* **2023**, *39*, 71–100, doi:10.1111/cla.12522.
58. Antonelli, A.; Quijada, A.; Crawford, A.J.; Bates, J.M. Molecular Studies and Phylogeography of Amazonian Tetrapods and Their Relation to Geological and Climatic Models Origin, Evolution, Genetics and Selective Drivers of Snake Venom Evolution. *View Project Population Genetics and Molecular Ecology of Ectothermic Vertebrates* **2010**.
59. Lagomarsino, L.P.; Condamine, F.L.; Antonelli, A.; Mulch, A.; Davis, C.C. The Abiotic and Biotic Drivers of Rapid Diversification in Andean Bellflowers (Campanulaceae). *New Phytologist* **2016**, *210*, 1430–1442, doi:10.1111/nph.13920.
60. Salazar-Valenzuela, D.; Kuch, U.; Torres-Carvajal, O.; Valencia, J.H.; Gibbs, H.L. Divergence of Tropical Pitvipers Promoted by Independent Colonization Events of Dry Montane Andean Habitats. *Journal of Biogeography* **2019**, *46*, 1826–1840, doi:10.1111/jbi.13661.
61. Solís-Lemus, C.; Ané, C. Inferring Phylogenetic Networks with Maximum Pseudolikelihood under Incomplete Lineage Sorting. *PLoS Genetics* **2016**, *12*, doi:10.1371/journal.pgen.1005896.
62. Sousa, V.; Hey, J. Understanding the Origin of Species with Genome-Scale Data: Modelling Gene Flow. *Nature Reviews Genetics* **2013**, *14*, 404–414, doi:10.1038/nrg3446.

63. Wüster, W.; Salomão, M.; Quijada–Mascareñas, J.A.; Thorpe, R.; BBBSP Origins and Evolution of the South American Pitviper Fauna: Evidence from Mitochondrial DNA Sequence Analysis. In *Proceedings of the Biology of the Vipers*; Campbell, J.A., Brodie, E.D., Schuett, G.W., Hoggren, M., Douglas, M.E., Greene, H.W., Eds.; Eagle Mountain Publishing: UT, USA, **2002**; pp. 111–128.
64. Díaz-Ricaurte, J.; Cubides-Cubillos, S.D.; Ferreto Fiorillo, B. *Bothrops asper* (Garman, 1884). *Catálogo de Anfibios y Reptiles de Colombia* **2018**, *4*, 4–22.
65. Cubides-Cubillos, S.D.; Loaiza-López, F.; Molina-Betancourt, J. *Porthidium nasutum* (Bocourt, 1868). *Catálogo de Anfibios y Reptiles de Colombia* **2021**, *7*, 64–73.
66. Molina-Betancourth, J.; Loaiza-López, F.; Cubides-Cubillos, S.D. *Porthidium lansbergii* (Schlegel, 1841). *Catálogo de Anfibios y Reptiles de Colombia* **2021**, *7*, 51–63.
67. Gutenkunst, R.N.; Hernandez, R.D.; Williamson, S.H.; Bustamante, C.D. Inferring the Joint Demographic History of Multiple Populations from Multidimensional SNP Frequency Data. *PLoS Genetics* **2009**, *5*, doi:10.1371/journal.pgen.1000695.
68. Pickrell, J.K.; Pritchard, J.K. Inference of Population Splits and Mixtures from Genome-Wide Allele Frequency Data. *PLoS Genetics* **2012**, *8*, doi:10.1371/journal.pgen.1002967.
69. Rittmeyer, E.N.; Austin, C.C. Combined Next-Generation Sequencing and Morphology Reveal Fine-Scale Speciation in Crocodile Skinks (Squamata: Scincidae: Tribolonotus). *Molecular Ecology* **2015**, *24*, 466–483, doi:10.1111/mec.13030.
70. Leaché, A.D.; Banbury, B.L.; Felsenstein, J.; De Oca, A.N.M.; Stamatakis, A. Short Tree, Long Tree, Right Tree, Wrong Tree: New Acquisition Bias Corrections for Inferring SNP Phylogenies. *Systematic Biology* **2015**, *64*, 1032–1047, doi:10.1093/sysbio/syv053.
71. McCormack, B.; Rycroft-Malone, J.; DeCorby, K.; Hutchinson, A.M.; Bucknall, T.; Kent, B.; Schultz, A.; Snelgrove-Clarke, E.; Stetler, C.; Titler, M.; et al. A Realist Review of Interventions and Strategies to Promote Evidence-Informed Healthcare: A Focus on Change Agency. *Implementation Science* **2013**, *8*, doi:10.1186/1748-5908-8-107.
72. Pyron, R.A.; Costa, G.C.; Patten, M.A.; Burbrink, F.T. Phylogenetic Niche Conservatism and the Evolutionary Basis of Ecological Speciation. *Biological Reviews* **2015**, *90*, 1248–1262, doi:10.1111/brv.12154.
73. Shanker, K.; Vijayakumar, S.P.; Ganeshaiyah, K.N. Unpacking the Species Conundrum: Philosophy, Practice and a Way Forward. *Journal of Genetics* **2017**, *96*, 413–430, doi:10.1007/s12041-017-0800-0.
74. Mallik, A.K.; Srikanthan, A.N.; Ganesh, S.R.; Vijayakumar, S.P.; Campbell, P.D.; Malhotra, A.; Shanker, K. Resolving Pitfalls in Pit Viper Systematics - A Multi-Criteria Approach to Species Delimitation in Pitvipers (Reptilia, Viperidae, *Craspedocephalus*) of Peninsular India Reveals Cryptic Diversity. *Vertebrate Zoology* **2021**, *71*, 577–619, doi:10.3897/vz.71.e66239.
75. Angarita-Sierra, T.; Cubides-Cubillos, S.D.; Hurtado-Gómez, J.P. Hidden in the Highs: Two New Species of the Enigmatic Toadheaded Pitvipers of the Genus *Bothrocophias*. *Vertebrate Zoology* **2022**, *72*, 971–996, doi:10.3897/vz.72.e87313.

76. Haffer, J. Speciation in Amazonian Forest Birds. *Science* **1969**, *165*, 131–137.
77. Fjelds, J. Geographical Patterns for Relict and Young Species of Birds in Africa and South America and Implications for Conservation Priorities; **1994**; Vol. 3.
78. Duellman, W.E. Global Distribution of Amphibians: Patterns, Conservation and Future Challenges. In *Patterns of distribution of amphibians: A global perspective*; Duellman, W.E., Ed.; John Hopkins University Press, **1999**; pp. 1–30.
79. Myers, N.; Mittermeier, R.A.; Mittermeier, C.G.; Da Fonseca, G.A.B.; Kent, J. *Biodiversity Hotspots for Conservation Priorities*; **2000**; Vol. 403.
80. Brumfield, R.T.; Edwards, S. V. Evolution into and out of the Andes: a bayesian analysis of historical diversification in *Thamnophilus antshrikes*. *Evolution* (NY) **2007**, *61*, 346–367, doi:10.1111/j.1558-5646.2007.00039.x.
81. Coates, A.; Obando, J. “The Geologic Evolution of the Central American Isthmus.” In *Evolution and Environment in Tropical America*; Jackson, J., Budd, A., Coates, A., Eds.; The University of Chicago Press: Chicago, **1996**; pp. 21–56.
82. Harvey, M.G.; Brumfield, R.T. Genomic Variation in a Widespread Neotropical Bird (*Xenops minutus*) Reveals Divergence, Population Expansion, and Gene Flow. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **2015**, *83*, 305–316.
83. Burbrink, F.T.; Castoe, T. Molecular Phylogeography of Snakes Rattlesnake Phylogeonomics and Morphology in MX: *Crotalus atrox* and *Crotalus scutulatus*. *View Project*; **2009**.
84. Mason-Gamer, R.J.; Kellogg, E.A. Testing for phylogenetic conflict among molecular data sets in the tribe Triticeae (Gramineae); **1996**; Vol. 45.
85. van Veller, M.G.P.; Zandee, M.; Kornet, D.J. Two Requirements for Obtaining Valid Common Patterns under Assumptions Zero, 1 and 2 in Vicariance Biogeography. *Cladistics* **1999**, *15*, 393–406.
86. Crisci, J. V.; Katinas, L.; Posadas, P. Historical Biogeography: An Introduction; Harvard University Press: Cambridge, **2003**.
87. Guarnizo, C.E.; Amézquita, A.; Bermingham, E. The Relative Roles of Vicariance versus Elevational Gradients in the Genetic Differentiation of the High Andean Tree Frog, *Dendropsophus labialis*. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **2009**, *50*, 84–92, doi:10.1016/j.ympev.2008.10.005.
88. Martins, M.; Marques, O.; Sazima, I. Ecological and Phylogenetic Correlates of Feeding Habits in Neotropical Pitvipers of the Genus *Bothrops*. In *Biology of the Vipers*; G.W. Schuett, M. Hoggren, M.E. Douglas, H.W. Greene, Eds.; Eagle Mountain Publishing, **2002**; pp. 307–328.
89. Lynch, J.D. El Contexto de Las Serpientes de Colombia Con Un Análisis de Las Amenazas En Contra de Su Conservación. *Revista de la academia colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales* **2012**, *36*, 435–449.
90. Cañas-Dávila, C.A.; Castro-Herrera, F.; Castaño-Valencia, R.S. Serpientes Venenosas: Lecciones Aprendidas Desde Colombia; Tobón

- García, G.J., Osorno Reyes, J., Cañas Dávila, C.A., Castro Herrera, F., Castaño Valencia, R.S., Eugenia Rebolled, V., Eds.; Fundación Valle del Lili: Cali, Colombia., **2016**; Vol. 1.
91. Quiñones-Betancourt, E.; Díaz-Ricaurte, Juan.; Angarita-Sierra, T.; Guevara- Molina, C.; Díaz-Morales, R. *Bothrops asper* (Linnaeus, 1758). *Catálogo de Anfibios y Reptiles de Colombia* **2018**, 4, 7–23.
  92. Salomão, M.G.; Wüster, W.; Thorpe, R.S. MtDNA Phylogeny of Neotropical Pitvipers of the Genus *Bothrops* (Squamata: Serpentes: Viperidae). *Kaupia (Darmstadt)* **1999**, 8, 127–134.
  93. Wuster, W.; Salomao, M.G.; Duckett, D.; Thorpe, R.S. Systematics of the *Bothrops atrox* Complex: New Insights from Multivariate Analysis and Mitochondrial DNA Sequence Information. *Symposia of the Zoological Society of London* **1997**, 70, 99–113.
  94. Castoe, T.A.; Parkinson, C.L. Bayesian Mixed Models and the Phylogeny of Pitvipers (Viperidae: Serpentes). *Molecular Phylogenetics and Evolution* **2006**, 39, 91–110, doi:10.1016/j.ympev.2005.12.014.
  95. Castoe, T.A.; Sasa, M.M.; Parkinson, C.L. Modeling Nucleotide Evolution at the Mesoscale: The Phylogeny of the Neotropical Pitvipers of the Porthidium Group (Viperidae: Crotalinae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* **2005**, 37, 881–898, doi:10.1016/j.ympev.2005.05.013.
  96. Parkinson, C.L.; Zamudio, K.R.; Greene, H.W. Phylogeography of the Pitviper Clade *Agkistrodon*: Historical Ecology, Species Status, and Conservation of Cantils. *Molecular Ecology* **2000**, 9, 411–420.
  97. Gibbs, H.L.; Sovic, M.; Amazonas, D.; Chalkidis, H.; Salazar-Valenzuela, D.; Moura-Da-Silva, A.M. Recent Lineage Diversification in a Venomous Snake through Dispersal across the Amazon River. *Biological Journal of the Linnean Society* **2018**, 123, 651–665, doi:10.1093/biolinnean/blx158.
  98. Sandner-Montilla, F. Una Nueva Especie de Genero *Bothrops* (Serpentes, Crotalidae, Bothropinae) de La Región de Guanare, Estado Portuguesa, Venezuela. *Memorias científica de ofidiología* **1979**, 4, 1–19.
  99. Hallowell, E. Descriptions of Reptiles from South America, Supposed to Be New. *Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia* **1845**, 2, 241–247.
  100. Markezich, A.L.; Taphorn, D.C. A Variational Analysis of Populations of *Bothrops* (Serpentes: Viperidae) from Western Venezuela. *Journal of Herpetology* **1993**, 27, 248–254.
  101. Fenwick, A.M.; Gutberlet Jr, R.L.; Evans, J.A.; Parkinson, C.L. Morphological and Molecular Evidence for Phylogeny and Classification of South American Pitvipers, Genera *Bothrops*, *Bothriopsis*, and *Bothrocophias* (Serpentes: Viperidae). *Zoological Journal of the Linnean Society* **2009**; 156(3):617 – 640. DOI:10.1111/j.1096-3642.2008.00495.x
  102. de Queiroz, K. “The General Lineage Concept of Species, Species Criteria, and the Process of Speciation.” In book: *Endless Forms: Species and Speciation* **1998**, 57–75.
  103. Nascimento, D. dos S. Filogenia Molecular de Serpentes Neotropicais Do Grupo *Bothrops atrox* (Linnaeus, 1758) (Viperidae: Crotalinae). Tese de doutorado; **2014**.
  104. Parkinson, C.L.; Campbell, J.A.; Chippindale, P. Multigene Phylogenetic Analyses of Pitviper Relationships, with Comments on Their Bio-

- geography. In *Biology of the Vipers*; G.W. Schuett, M. Höggren, H.W. Greene, Eds.; *Biological Sciences Press*, Traverse City, **2002**; pp. 3–110.
105. Folleco-Fernández, A.J. Taxonomía del complejo *Bothrops asper* (serpentes: viperidæ) en el sudoeste de Colombia. Revalidación de la especie *Bothrops rhombeatus* (García 1896) y descripción de una nueva especie. *Revista Novedades Colombianas* **2010**, *10*, 33–70.
  106. Ramírez-Chaves, H.E.; Solari, S. *Bothrops ayerbei* Folleco-Fernández, 2010 y *Bothrops rhomboatus* García, 1896 (Serpentes: Viperidae) Son Un Nombre No Disponible y Un Nomen Dubium, Respectivamente. *Boletín Científico Centro de Museos Museo de Historia Natural, Universidad del Caldas* **2104**, *18*, 138–141.
  107. Garcia, E. Los Ofidios Venenosos Del Cauca. Métodos Empíricos y Racionales Empleados Contra Los Accidentes Producidos Por La Mordedura de Esos Reptiles. *Calí: Librería Colombiana* **1896**, 102.
  108. Gutiérrez, J.M.; Calvete, J.J.; Habib, A.G.; Harrison, R.A.; Williams, D.J.; Warrell, D.A. Snakebite Envenoming. *Nature Reviews Disease Primers* **2017**, *3*, doi:10.1038/NRDP.2017.63.
  109. Gutiérrez, J.M. Comprendiendo Los Venenos de Serpientes: 50 Años de Investigaciones En América Latina; *Revista de Biología Tropical* **2002**; Vol. 50.
  110. Daltry, J.C.; Wüster, W.; Thorpe, R.S. Diet and Snake Venom Evolution. *Nature* **1996**, *379*, doi:10.1038/379537a0.
  111. Calvete, J.J.; Sanz, L.; Angulo, Y.; Lomonte, B.; Gutiérrez, J.M. Venoms, Venomics, Antivenomics. *FEBS Letters* **2009**, *583*, 1736–1743, doi:10.1016/j.febslet.2009.03.029.
  112. Gutiérrez, J.M.; Sanz, L.; Escolano, J.; Fernández, J.; Lomonte, B.; Angulo, Y.; Rucavado, A.; Warrell, D.A.; Calvete, J.J. Snake Venomics of the Lesser Antillean Pit Vipers *Bothrops caribbaeus* and *Bothrops lanceolatus*: Correlation with Toxicological Activities and Immunoreactivity of a Heterologous Antivenom. *Journal of Proteome Research* **2008**, *7*, 4396–4408, doi:10.1021/pr8003826.
  113. Savage, J.M. *The Amphibians and Reptiles of Costa Rica. A Herpetofauna between Two Continents, between Two Seas*; The University of Chicago: Chicago and London, **2002**.
  114. Lamar, W.; Sasa, Mahmood. A New Species of Hognose Pitviper, Genus *Porthidium*, from the Southwestern Pacific of Costa Rica (Serpentes: Viperidae). *Revista de Biología Tropical*. **2003**, *51*, 797–804.
  115. Bocourt, M.F. Descriptions de Quelques Crotaliens Nouveaux Appartenant au Genre *Bothrops*, Recueillis Dans Le Guatémala. *Annales des sciences naturelles., Paris* **1868**, 201–202.
  116. Schlegel, H. Description d'une Nouvelle Espèce Du Genre *Trigonocephale* (*Trigonocephalus lansbergii*). *Mag. Zool. Rept* **1841**, 1–3.
  117. Monteza-Moreno, C.M.; Ramos, C.; Martínez, V.; Sasa, M. On the identity of hog-nosed pit-vipers from western panama: a review of specimens of *Porthidium lansbergii* (Schlegel, 1841) in lower Central America. *Tecnociencia (Panama)* **2020**, *22*, 27–44, doi:10.48204/j.tecno.v22n2a2.
  118. De arco-Rodríguez, B.; Montealegre-Sánchez, L.; Solano-Redondo, L.; Castro-Herrera, F.; Ortega, J.G.; Castillo, A.; Vargas-Zapata, C.; Jiménez-Charris, E. Phylogeny and Toxicological Assessments of Two *Porthidium lansbergii lansbergii* Morphotypes from the Caribbean

- Region of Colombia. *Toxicon* **2019**, 166, 56–65, doi:10.1016/j.toxicon.2019.05.010.
119. Cisneros-Heredia, D.F.; Yáñez-Muñoz, M. Reptilia, Viperidae, Crotalinae, Porthidium Nasutum: Distribution Extension and Remarks on Its Range and Records. *Check List* **2005**, 1, 16–17, doi:10.15560/1.1.16.
  120. Warrell, D.A. Snakebites in Central and South America: Epidemiology, Clinical Features, and Clinical Management. In *Venomous Reptiles of the Western Hemisphere*; Campbell, J.A., Lamar, W.W., Comstock, Eds.; Cornell University: Ithaca, NY, 2004; Vol. 2, pp. 709–761.
  121. Reyes-Velasco, J.; Cox, C.L.; Jones, J.M.; Borja, M.; Campbell, J.A. how many species of rattlesnakes are there in the *Crotalus durissus* species group (Serpentes: Crotalidae); *Revista Latinoamericana de Herpetologia* **2022**, 5, 43–55, doi:10.22201/fc.25942158e.2022.1.330.
  122. Humboldt, A. Sur Deux Nouvelles Espèces de Crotles. In: Humboldt and Bonpland, 1813. *Recueil d'observations de zoologie*. **1811**, 2, 1–8.
  123. Hoge, A.R. Preliminary Account on Neotropical Crotalinae (Serpentes Viperidae). *Mem Inst Butantan* **1966**, 32, 137–184.
  124. García-Perez, J. Una Nueva Especie de Cascabel (Serpentes: Crotalidae) Para El Bolsón Árido de Lagunillas, Cordillera de Mérida, Venezuela. *Latin American scientific contribution to ecology* **1995**, 3, 7–12.
  125. Harris, H.S.JR.; Simmons, R.S. A New Subspecies of *Crotalus durissus* (Serpentes: Crotalidae) from the Rupununi Savanna of Southwestern Guyana. *Instituto Butantan* **1978**, 305–311.
  126. van Lidth de Jeude, T.W. On a Collection of Reptiles and Fishes from the West-Indies. *Notes from the Leyden Museum* **1887**, 9, 129–139.
  127. Klauber, Laurence. A New Species of Rattlesnake from Venezuela. *Transactions of the San Diego Society of Natural History* **1941**, 9, 333–336.
  128. Wallach, Van.; Williams, K.; Boundy, J. Snakes of the World: A Catalogue of Living and Extinct Species. *Taylor and Francis, CRC Press* **2014**, 1–1237.
  129. Zaher, H.; Murphy, R.W.; Arredondo, J.C.; Graboski, R.; Machado-Filho, P.R.; Mahlow, K.; Montingelli, G.G.; Quadros, A.B.; Orlov, N.L.; Wilkinson, M.; et al. Large-Scale Molecular Phylogeny, Morphology, Divergence-Time Estimation, and the Fossil Record of Advanced Caenophidian Snakes (Squamata: Serpentes). *PLoS One* **2019**, 14, e0216148, doi:10.1371/journal.pone.0216148.
  130. Sawaya, R.J.; M.O.A.V.& M.M. Composition and Natural History of a Cerrado Snake Assemblage at Itirapina, São Paulo State, Southeastern Brazil. *Biota Neotropica* **2008**, 8, 127–149.
  131. Hartmann, P.A. Ecology of a Snake Assemblage in the Atlantic Forest of Southeastern Brazil. *Papéis Avulsos de Zoologia* **2009**, 49, 343–360.
  132. McDiarmid, R.W.; Campbell, J.A.; Touré, T.A. *Snake Species of the World: A Taxonomic and Geographic Reference*; 1st ed.; *Herpetologists' League*, **1999**; Vol. 1.
  133. Fernandes, D.S.; Franco, F.L.; Fernandes, R. Systematic revision of the genus *Lachesis* Daudin, 1803 (Serpentes, Viperidae). *Herpetologica* **2004**, 60, 245–260, doi:10.1655/02-85.
  134. Cubides-Cubillos, Sergio.; Loaiza-López, F.; Molina-Betancourth, J.; Agudelo-Sánchez, W. *Lachesis acrochorda* (García, 1896). *Catálogo de Anfibios y Reptiles de Colombia* **2021**, 7, 39–50.

135. Barrio-Amorós, C.L.; Corrales, G.; Rodríguez, S.; Culebras, J.; Dwyer, Q.; Flores, D.A. The Bushmasters (*Lachesis* Spp.): Queens of the Rainforest. *Reptiles & Amphibians* **2020**, *27*, 358–381, doi:10.17161/randa.v27i3.14978.
136. Madrigal, M.; Sanz, L.; Flores-Díaz, M.; Sasa, M.; Núñez, V.; Alape-Girón, A.; Calvete, J.J. Snake Venomics across Genus *Lachesis*. Ontogenetic Changes in the Venom Composition of *Lachesis stenophrys* and Comparative Proteomics of the Venoms of Adult *Lachesis melanocephala* and *Lachesis acrochorda*. *Journal in Proteomics* **2012**, *77*, 280–297, doi:10.1016/j.jprot.2012.09.003.
137. Diniz-Sousa, R.; Moraes, J. do N.; Rodrigues-da-Silva, T.M.; Oliveira, C.S.; Caldeira, C.A. A Brief Review on the Natural History, Venomics and the Medical Importance of Bushmaster (*Lachesis*) Pit Viper Snakes. *Toxicon X* **2020**, *7*, 100053, doi:10.1016/j.toxcx.2020.100053.
138. Díaz-Ricaurte, Juan.; Guevara-Molina, C.; Cubides-Cubillos, Sergio. *Lachesis Muta* (Linnaeus 1766). *Catálogo de Anfibios y Reptiles de Colombia* **2017**, *3*, 20–24.
139. Arteaga, A.; Pyron, R.A.; Batista, A.; Vieira, J.; Meneses Pelayo, E.; Smith, E.N.; Barrio Amorós, C.L.; Koch, C.; Agne, S.; Valencia, J.H.; et al. Systematic Revision of the Eyelash Palm-Pitviper *Bothriechis schlegelii* (Serpentes, Viperidae), with the Description of Five New Species and Revalidation of Three. *Journal of Systematics and Evolution* **2024**, *8*, 15–64, doi:10.3897/evolsyst.8.114527.
140. Calvete, J.J.; Escolano, J.; Sanz, L. Snake Venomics of *Bitis* Species Reveals Large Intragenus Venom Toxin Composition Variation: Application to Taxonomy of Congeneric Taxa. *Journal of Proteome Research* **2007**, *6*, 2732–2745, doi:10.1021/pr0701714.
141. Fry, B.G. From Genome to “Venome”: Molecular Origin and Evolution of the Snake Venom Proteome Inferred from Phylogenetic Analysis of Toxin Sequences and Related Body Proteins. *Genome Research* **2005**, *15*, 403–420, doi:10.1101/gr.3228405.
142. Earl, S.T.H.; Birrell, G.W.; Wallis, T.P.; St Pierre, L.D.; Masci, P.P.; de Jersey, J.; Gorman, J.J.; Lavin, M.F. Post-Translational Modification Accounts for the Presence of Varied Forms of Nerve Growth Factor in Australian Elapid Snake Venoms. *Proteomics* **2006**, *6*, 6554–6565, doi:10.1002/pmic.200600263.
143. Chippaux, J. P.; Williams, V.; White, J.; Chippaux, J. P.; Williabis, V. State Toxinology Service, Adelaide Children’s Hospital; **1991**; Vol. 29.
144. Casewell, N.R.; Jackson, T.N.W.; Laustsen, A.H.; Sunagar, K. Causes and Consequences of Snake Venom Variation. *Trends in Pharmacological Sciences* **2020**, *41*, doi:10.1016/j.tips.2020.05.006.
145. Fry, B.G.; Wüster, W. Assembling an Arsenal: Origin and Evolution of the Snake Venom Proteome Inferred from Phylogenetic Analysis of Toxin Sequences. *Molecular Biology and Evolution* **2004**, *21*, 870–883, doi:10.1093/molbev/msh091.
146. Wüster, W.; Peppin, L.; Pook, C.E.; Walker, D.E. A Nesting of Vipers: Phylogeny and Historical Biogeography of the Viperidae (Squamata: Serpentes). *Molecular Phylogenetics and Evolution* **2008**, *49*, doi:10.1016/j.ympev.2008.08.019.
147. Fry, B.G.; Winkel, K.D.; Wickramaratna, J.C.; Hodgson, W.C.; Wüster, W. Effectiveness of Snake Antivenom: Species and Regional Venom

- Variation and Its Clinical Impact. *Journal of Toxicology: Toxin Reviews* **2003**, 22, 23–34, doi:10.1081/TXR-120019018.
148. Calvete, J.J.; Borges, A.; Segura, Á.; Flores-Díaz, M.; Alape-Girón, A.; Gutiérrez, J.M.; Díez, N.; De Sousa, L.; Kiriakos, D.; Sánchez, E.; et al. Snake Venomics and Antivenomics of *Bothrops colombiensis*, a Medically Important Pitviper of the *Bothrops atrox-asper* Complex Endemic to Venezuela: Contributing to Its Taxonomy and Snakebite Management. *Journal in Proteomics* **2009**, 72, 227–240, doi:10.1016/j.jprot.2009.01.005.
  149. Klupczynska, A.; Pawlak, M.; Kokot, Z.J.; Matysiak, J. Application of Metabolomic Tools for Studying Low Molecular-Weight Fraction of Animal Venoms and Poisons. *Toxins (Basel)* **2018**, 10, 306, <https://doi.org/10.3390/toxins10080306>
  150. Modahl, C.M.; Brahma, R.K.; Koh, C.Y.; Shioi, N.; Kini, R.M. Omics Technologies for Profiling Toxin Diversity and Evolution in Snake Venom: Impacts on the Discovery of Therapeutic and Diagnostic Agents. *Annual Review of Animal Bioscience* **2020**, 8, 91–116.
  151. Abd El-Aziz, T.M.; Soares, A.G.; Stockand, J.D. Advances in Venomics: Modern Separation Techniques and Mass Spectrometry. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences* **2020**, 1160.
  152. Walker, A.A.; Robinson, S.D.; Hamilton, B.F.; Undheim, E.A.B.; King, G.F. Deadly Proteomes: A Practical Guide to Proteotranscriptomics of Animal Venoms. *Proteomics* **2020**, 20, doi:10.1002/pmic.201900324.
  153. Damm, M.; Hempel, B.F.; Süssmuth, R.D. Old World Vipers—a Review about Snake Venom Proteomics of Viperinae and Their Variations. *Toxins* **2021**, 13.
  154. Chippaux, J.-P.; Williams, V.; White, J. Snake Venom Variability: Methods of Study, Results and Interpretation. *Toxicon* **1991**, 29, doi:10.1016/0041-0101(91)90116-9.
  155. Arbuckle, K. From Molecules to Macroevolution: Venom as a Model System for Evolutionary Biology across Levels of Life. *Toxicon X* **2020**, 6, doi:10.1016/j.toxcx.2020.100034.
  156. Zancolli, G.; Casewell, N.R. Venom Systems as Models for Studying the Origin and Regulation of Evolutionary Novelty. *Molecular Biology and Evolution* **2020**, 37, doi:10.1093/molbev/msaa133.
  157. Fry, B.G. *Venomous Reptiles and Their Toxins. Evolution, Pathophysiology, and Biodiscovery*; Oxford University Press, USA., Ed.; Oxford University Press: New York, NY, **2015**; Vol. 1.
  158. Mackessy, S.P.; Saviola, A.J. Understanding Biological Roles of Venoms Among the Caenophidia: The Importance of Rear-Fanged Snakes. *Integrative and Comparative Biology* **2016**, 56, 1004–1021, doi:10.1093/icb/icw110.
  159. Fry, B.G.; Scheib, H.; van der Weerd, L.; Young, B.; McNaughtan, J.; Ryan Ramjan, S.F.; Vidal, N.; Poelmann, R.E.; Norman, J.A. Evolution of an Arsenal: Structural and Functional Diversification of the Venom System in the Advanced Snakes (Caenophidia). *Molecular and Cellular Proteomics* **2008**, 7, 215–246, doi:10.1074/mcp.M700094-MCP200.
  160. Jackson, T.; Koludarov, I.; Ali, S.; Dobson, J.; Zdenek, C.; Dashevsky, D.; op den Brouw, B.; Masci, P.; Nouwens, A.; Josh, P.; et al. Rapid Radiations and the Race to Redundancy: An Investigation of the Evolution

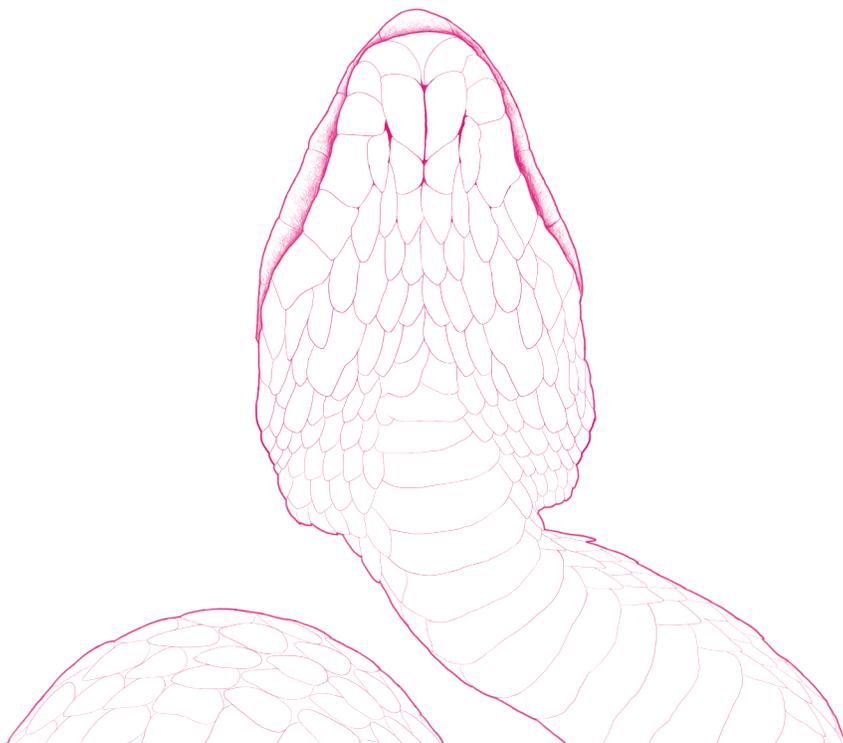
- of Australian Elapid Snake Venoms. *Toxins* **2016**, *8*, 309, doi:10.3390/toxins8110309.
161. Casewell, N.R.; Wüster, W.; Vonk, F.J.; Harrison, R.A.; Fry, B.G. Complex Cocktails: The Evolutionary Novelty of Venoms. *Trends in Ecology & Evolution* **2013**, *28*, 219–229, doi:10.1016/j.tree.2012.10.020.
162. Giorgianni, M.W.; Dowell, N.L.; Griffin, S.; Kassner, V.A.; Selegue, J.E.; Carroll, S.B. The Origin and Diversification of a Novel Protein Family in Venomous Snakes. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2020**, *117*, 10911–10920, doi:10.1073/pnas.1920011117.
163. Amorim, F.; Costa, T.; Baiwir, D.; De Pauw, E.; Quinton, L.; Sampaio, S. Proteopeptidomic, Functional and Immunoreactivity Characterization of *Bothrops moojeni* Snake Venom: Influence of Snake Gender on Venom Composition. *Toxins* **2018**, *10*, 177, doi:10.3390/toxins10050177.
164. Queiroz, G.P.; Pessoa, L.A.; Portaro, F.C.V.; Furtado, M. de F.D.; Tambourgi, D. V. Interspecific Variation in Venom Composition and Toxicity of Brazilian Snakes from *Bothrops* Genus. *Toxicon* **2008**, *52*, 842–851, doi:10.1016/j.toxicon.2008.10.002.
165. Kazandjian, T.D.; Petras, D.; Robinson, S.D.; van Thiel, J.; Greene, H.W.; Arbuckle, K.; Barlow, A.; Carter, D.A.; Wouters, R.M.; Whiteley, G.; et al. Convergent Evolution of Pain-Inducing Defensive Venom Components in Spitting Cobras. *Science* **2021**, *371*, 386–390, doi:10.1126/science.abb9303.
166. Barua, A.; Mikheyev, A.S. Toxin Expression in Snake Venom Evolves Rapidly with Constant Shifts in Evolutionary Rates. *Proceedings of the Royal Society: Biological Sciences* **2020**, *287*, 20200613, doi:10.1098/rspb.2020.0613.
167. Cubides-Cubillos, S.D.; Alarcón-Pérez, J.C. Accidente Ofídico En Antioquia, Colombia: Análisis Etnobiológico de Las Construcciones Culturales. *Revista Etnobiología* **2018**, *16*, 18–29.
168. Chippaux, J.-P. Snakebite Envenomation Turns Again into a Neglected Tropical Disease! *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases* **2017**, *23*, 38, doi:10.1186/s40409-017-0127-6.
169. Chippaux, J.-P. Epidemiology of Envenomations by Terrestrial Venomous Animals in Brazil Based on Case Reporting: From Obvious Facts to Contingencies. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases* **2015**, *21*, 13, doi:10.1186/s40409-015-0011-1.
170. Boldrini-França, J.; Corrêa-Netto, C.; Silva, M.M.S.; Rodrigues, R.S.; De La Torre, P.; Pérez, A.; Soares, A.M.; Zingali, R.B.; Nogueira, R.A.; Rodrigues, V.M.; et al. Snake Venomics and Antivenomics of *Crotalus durissus* Subspecies from Brazil: Assessment of Geographic Variation and Its Implication on Snakebite Management. *Journal in Proteomics* **2010**, *73*, 1758–1776, doi:10.1016/j.jprot.2010.06.001.
171. Rodríguez-Vargas, A.; Vega, N.; Reyes-Montaño, E.; Corzo, G.; Neri-Castro, E.; Clement, H.; Ruiz-Gómez, F. Intraspecific Differences in the Venom of *Crotalus durissus cumanensis* from Colombia. *Toxins* **2022**, *14*, doi:10.3390/toxins14080532.
172. Talukdar, A.; Maddhesiya, P.; Namsa, N.D.; Doley, R. Snake Venom Toxins Targeting the Central Nervous System. *Toxin Reviews* **2023**, *42*, 382–406, doi:10.1080/15569543.2022.2084418.

173. Lewis, R.; Gutmann, L. Snake Venoms and the Neuromuscular Junction. *Semin Neurol* **2004**, *24*, 175–179, doi:10.1055/s-2004-830904.
174. Rossetto, O.; Morbiato, L.; Caccin, P.; Rigoni, M.; Montecucco, C. Presynaptic Enzymatic Neurotoxins. *Journal Neurochem* **2006**, *97*, 1534–1545, doi:10.1111/j.1471-4159.2006.03965.x.
175. Gawade, S.P. Snake Venom Neurotoxins: Pharmacological Classification. *Journal of Toxicology: Toxin Reviews* **2004**, *23*, 37–96, doi:10.1081/TXR-120030647.
176. Calvete, J.J.; Sanz, L.; Cid, P.; De La Torre, P.; Flores-Díaz, M.; Dos Santos, M.C.; Borges, A.; Breimo, A.; Angulo, Y.; Lomonte, B.; et al. Snake Venomics of the Central American Rattlesnake *Crotalus simus* and the South American *Crotalus Durissus* Complex Points to Neurotoxicity as an Adaptive Paedomorphic Trend along *Crotalus* Dispersal in South America. *Journal of Proteome Research* **2010**, *9*, 528–544, doi:10.1021/pr9008749.
177. Batista da Cunha, D.; Pupo Silvestrini, A.V.; Gomes da Silva, A.C.; Maria de Paula Estevam, D.; Pollettini, F.L.; de Oliveira Navarro, J.; Alves, A.A.; Remédio Zeni Beretta, A.L.; Annichino Bizzacchi, J.M.; Pereira, L.C.; et al. Mechanistic Insights into Functional Characteristics of Native Cro-tamine. *Toxicon* **2018**, *146*, 1–12, doi:10.1016/j.toxicon.2018.03.007.
178. Rádis-Baptista, G.; Kerkis, I. Cro-tamine, a Small Basic Polypeptide Myo-toxin from Rattlesnake Venom with Cell-Penetrating Properties. *Curr Pharm Des* **2011**, *17*(38), 4351–4361, doi:10.2174/138161211798999429
179. Schenberg, S. Geographical Pattern of Cro-tamine Distribution in the Same Rattlesnake Subspecies. *Science* (1979) **1959**, *129*, 1361–1363.
180. Otero, R.; Osorio, R.G.; Valderrama, R.; Giraldo, C.A. Efectos farmacológicos y enzimáticos de los venenos de serpientes de Antioquia y Chocó (Colombia); *Toxicon* **1992**, *30* (5-6): 611-620, doi: [https://doi.org/10.1016/0041-0101\(92\)90855-Y](https://doi.org/10.1016/0041-0101(92)90855-Y)
181. Mora-Obando, D.; Plaid, D.; Lomonte, B.; Guerrero-Vargas, J.A.; Ayerbe, S.; Calvete, J.J. Antivenomics and in Vivo Preclinical Efficacy of Six Latin American Antivenoms towards Southwestern Colombian *Bothrops asper* Lineage Venoms. *PLOS Neglected Tropical Diseases* **2021**, *15*, 1–36, doi:10.1371/journal.pntd.0009073.
182. Arévalo-Páez, M.; Rada-Vargas, E.; Betancur-Hurtado, C.; Renjifo, J.M.; Renjifo-Ibáñez, C. Neuromuscular Effect of Venoms from Adults and Juveniles of *Crotalus durissus cumanensis* (Humboldt, 1811) from Guajira, Colombia. *Toxicon* **2017**, *139*, 41–44, doi:10.1016/j.toxicon.2017.09.016.
183. Pereañez, J.A.; Núñez, V.; Huancahuire-Vega, S.; Marangoni, S.; Ponce-Soto, L.A. Biochemical and Biological Characterization of a PLA2 from Crotoxin Complex of *Crotalus durissus cumanensis*. *Toxicon* **2009**, *53*, 534–542, doi:10.1016/j.toxicon.2009.01.021.
184. Mora-Obando, D.; Salazar-Valenzuela, D.; Pla, D.; Lomonte, B.; Guerrero-Vargas, J.A.; Ayerbe, S.; Gibbs, H.L.; Calvete, J.J. Venom Variation in *Bothrops asper* Lineages from North-Western South America. *Journal in Proteomics* **2020**, *229*, 103945, doi:10.1016/j.jprot.2020.103945.
185. Jiménez-Charris, E.; Montoya-Gómez, A.; Torres, J.K.; Gómez-Díaz, M.; Bolívar-García, W. First Functional and Proteomic Analysis of *Bothrops asper* Snake Venom from Gorgona Island - Colombia, and Its Comparative Characterization with Two Colombian Southwest Ecoregions. *Biochimie* **2022**, *194*, 19–27, doi:10.1016/j.biochi.2021.12.005.

186. Quintana, J.; Otero, R.; Nuñez, V.; Toro, F. Estudio de La Variabilidad En El Veneno de 2 Poblaciones de *Bothriechis schlegelii* Del Suroeste y Norte de Antioquia y Correlación Morfométrica. *Iatreia* **2000**, 1–107.
187. Montealegre-Sánchez, L.; Montoya-Gómez, A.; Jiménez-Charris, E. Individual Variations in the Protein Profiles and Functional Activities of the Eyelash Palm Pit-Viper (*Bothriechis schlegelii*) Venom from the Colombian Southwest Region. *Acta Tropica* **2021**, 223, 106113, doi:10.1016/j.actatropica.2021.106113.
188. Lomonte, B.; Escolano, J.; Fernández, J.; Sanz, L.; Angulo, Y.; Gutiérrez, J.M.; Calvete, J.J. Snake Venomics and Antivenomics of the Arbo-real Neotropical Pitvipers *Bothriechis lateralis* and *Bothriechis schlegelii*. *Journal of Proteome Research* **2008**, 7, 2445–2457, doi:10.1021/pr8000139.
189. Gutiérrez, J.; Escalante, T.; Rucavado, A.; Herrera, C. Hemorrhage Caused by Snake Venom Metalloproteinases: A Journey of Discovery and Understanding. *Toxins* **2016**, 8, 93, doi:10.3390/toxins8040093.
190. Otero, R.; Gutiérrez, J.; Beatriz Mesa, M.; Duque, E.; Rodríguez, O.; Luis Arango, J.; Gómez, F.; Toro, A.; Cano, F.; María Rodríguez, L.; et al. Complications of *Bothrops*, *Porthidium*, and *Bothriechis* Snakebites in Colombia. A Clinical and Epidemiological Study of 39 Cases Attended in a University Hospital. *Toxicon* **2002**, 40, 1107–1114, doi:10.1016/S0041-0101(02)00104-6.
191. Otero-Patiño, R. Snake Bites in Colombia. In: Vogel, CW., Seifert, S., Tambourgi, D. (eds) *Clinical Toxinology in Australia, Europe, and Americas*. *Toxinology*. Springer, Dordrecht; **2018**; pp. 3–50. [https://doi.org/10.1007/978-94-017-7438-3\\_41](https://doi.org/10.1007/978-94-017-7438-3_41)
192. Preciado, L.M.; Pereañez, J.A.; Comer, J. Potential of Matrix Metalloproteinase Inhibitors for the Treatment of Local Tissue Damage Induced by a Type P-I Snake Venom Metalloproteinase. *Toxins (Basel)* **2019**, 12, 8, doi:10.3390/toxins12010008.
193. Pereañez, J.A.; Preciado, L.M.; Fernández, J.; Camacho, E.; Lomonte, B.; Castro, F.; Cañas, C.A.; Galvis, C.; Castaño, S. Snake Venomics, Experimental Toxic Activities and Clinical Characteristics of Human Envenomation by *Bothrocophias myersi* (Serpentes: Viperidae) from Colombia. *Journal in Proteomics* **2020**, 220, doi:10.1016/j.jprot.2020.103758.
194. Sevilla-Sánchez, M.-J.; Guerrero-Vargas, J.A.; Ayerbe-González, S.; Calderón-Leytón, J.J.; Lomonte, B.; Mora-Obando, D. Toxinological Profile and Histopathological Alterations Induced by *Bothrocophias campbelli* Venom from Colombia. *Acta Tropica* **2024**, 250, 107094, doi:10.1016/j.actatropica.2023.107094.
195. Jiménez-Charris, E.; Montealegre-Sanchez, L.; Solano-Redondo, L.; Mora-Obando, D.; Camacho, E.; Castro-Herrera, F.; Fierro-Pérez, L.; Lomonte, B. Proteomic and Functional Analyses of the Venom of *Porthidium lansbergii lansbergii* (Lansberg's Hognose Viper) from the Atlantic Department of Colombia. *J Proteomics* **2015**, 114, 287–299, doi:10.1016/j.jprot.2014.11.016.
196. Otero-Patiño, R.; Segura, Á.; Herrera, M.; Angulo, Y.; León, G.; Gutiérrez, J.M.; Barona, J.; Estrada, S.; Pereañez, A.; Quintana, J.C.; et al. Comparative Study of the Efficacy and Safety of Two Polyvalent, Ca-

- prylic Acid Fractionated [IgG and F(Ab')<sub>2</sub>] Antivenoms, in *Bothrops asper* Bites in Colombia. *Toxicon* **2012**, *59*, 344–355, doi:10.1016/j.toxicon.2011.11.017.
197. Kalil, J.; Fan, H.W. Production and Utilization of Snake Antivenoms in South America. In; **2017**; pp. 81–101.
198. Bermúdez-Méndez, E.; Fuglsang-Madsen, A.; Føns, S.; Lomonte, B.; Gutiérrez, J.; Laustsen, A. Innovative Immunization Strategies for Antivenom Development. *Toxins* **2018**, *10*, 452, doi:10.3390/toxins10110452.
199. Gutiérrez, J.M.; León, G.; Burnouf, T. Antivenoms for the Treatment of Snakebite Envenomings: The Road Ahead. *Biologicals* **2011**, *39*, 129–142.
200. Theakston, R.D.G.; Reid, H.A. Development of Simple Standard Assay Procedures for the Characterization of Snake Venoms. *Bulletin of the World Health Organization* **1983**, *61*, 949–956.
201. Rojas, G.; Jiménez, J.M.; Gutiérrez, J.M. Caprylic Acid Fractionation of Hyperimmune Horse Plasma: Description of a Simple Procedure for Antivenom Production; *Toxicon* **1994**, *32*, 351–363, [https://doi.org/10.1016/0041-0101\(94\)90087-6](https://doi.org/10.1016/0041-0101(94)90087-6).
202. Laloo, D.G.; Theakston, R.D.G. Snake Antivenoms. *Journal of Toxicology: Clinical Toxicology* **2003**, *41*, 277–290, doi:10.1081/CLT-120021113.
203. Bogarín, G.; Romero, M.; Rojas, G.; Lutsch, C.; Casadamont, M.; Lang, J.; Otero, R.; Gutiérrez, J.M. Neutralization, by a Monospecific *Bothrops lanceolatus* Antivenom, of Toxic Activities Induced by Homologous and Heterologous *Bothrops* Snake Venoms. *Toxicon* **1999**, *37*, 551–557, doi:10.1016/S0041-0101(98)00193-7.
204. Bucher, B.; Canongel, D.; Thomas, L.; Tyburn, B. Clinical Indicators of Envenoming and Serum Levels of Venom Antigens Bitten by *Bothrops lanceolatus* in Martinique. *Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine*. **1997** (2):186–90. doi: 10.1016/s0035-9203(97)90219-4.
205. Gutiérrez, J.M.; Theakston, R.D.G.; Warrell, D.A. Confronting the Neglected Problem of Snake Bite Envenoming: The Need for a Global Partnership. *PLoS Medicine* **2006**, *3*, 0727–0731.
206. Layfield, H.J.; Williams, H.F.; Ravishankar, D.; Mehmi, A.; Sonavane, M.; Salim, A.; Vaiyapuri, R.; Lakshminarayanan, K.; Vallance, T.M.; Bicknell, A.B.; et al. Repurposing Cancer Drugs Batimastat and Marimastat to Inhibit the Activity of a Group I Metalloprotease from the Venom of the Western Diamondback Rattlesnake, *Crotalus Atrox*. *Toxins (Basel)* **2020**, *12*, 309, doi:10.3390/toxins12050309.
207. Calvete, J.J.; Pérez, A.; Lomonte, B.; Sánchez, E.E.; Sanz, L. Snake Venomics of *Crotalus tigris*: The Minimalist Toxin Arsenal of the Deadliest Neartic Rattlesnake Venom. Evolutionary Clues for Generating a Pan-Specific Antivenom against Crotalid Type II Venoms. *Journal of Proteome Research* **2012**, *11*, 1382–1390, doi:10.1021/pr201021d.
208. Calvete, J.J.; Fasoli, E.; Sanz, L.; Boschetti, E.; Righetti, P.G. Exploring the Venom Proteome of the Western Diamondback Rattlesnake, *Crotalus atrox*, via Snake Venomics and Combinatorial Peptide Ligand Library Approaches. *Journal of Proteome Research* **2009**, *8*, 3055–3067, doi:10.1021/pr900249q.
209. Romero-Giraldo, L.E.; Pulido, S.; Berrío, M.A.; Flórez, M.F.; Rey-Suárez, P.; Nuñez, V.; Pereañez, J.A. Heterologous Expression and Immuno-

- genic Potential of the Most Abundant Phospholipase A2 from Coral Snake *Micrurus dumerilii* to Develop Antivenoms. *Toxins* **2022**, *14*, 825, doi:10.3390/toxins14120825.
210. Carvalho, B.M.A.; Santos, J.D.L.; Xavier, B.M.; Almeida, J.R.; Resende, L.M.; Martins, W.; Marcussi, S.; Marangoni, S.; Stábeli, R.G.; Calderon, L.A.; et al. Snake Venom PLA<sub>2</sub>s Inhibitors Isolated from Brazilian Plants: Synthetic and Natural Molecules. *BioMed Research International* **2013**, *2013*, 1–8, doi:10.1155/2013/153045.
211. Gómez-Betancur, I.; Gogineni, V.; Salazar-Ospina, A.; León, F. Perspective on the Therapeutics of Anti-Snake Venom. *Molecules* **2019**, *24*, 3276, doi:10.3390/molecules24183276.
212. Quiroz, S.; Henao Castañeda, I.C.; Granados, J.; Patiño, A.C.; Preciado, L.M.; Pereañez, J.A. Inhibitory Effects of Varespladib, CP471474, and Their Potential Synergistic Activity on *Bothrops asper* and *Crotalus durissus cumanensis* Venoms. *Molecules* **2022**, *27*, 8588, doi:10.3390/molecules27238588.
213. Mora-Obando, D.; Lomonte, B.; Pla, D.; Guerrero-Vargas, J.A.; Ayerbe-González, S.; Gutiérrez, J.M.; Sasa, M.; Calvete, J.J. Half a Century of Research on *Bothrops asper* Venom Variation: Biological and Biomedical Implications. *Toxicon* **2023**, *221*, 106983, doi:10.1016/j.toxicon.2022.106983.
214. Calvete, J.J.; Rodríguez, Y.; Quesada-Bernat, S.; Pla, D. Toxin-Resolved Antivenomics-Guided Assessment of the Immunorecognition Landscape of Antivenoms. *Toxicon* **2018**, *148*, 107–122, doi:10.1016/j.toxicon.2018.04.015.
215. Nguyen, L.-T.; Schmidt, H.A.; von Haeseler, A.; Minh, B.Q. IQ-TREE: A Fast and Effective Stochastic Algorithm for Estimating Maximum-Likelihood Phylogenies. *Molecular Biology and Evolution* **2015**, *32*, 268–274, doi:10.1093/molbev/msu300.
216. Kalyaanamoorthy, S.; Minh, B.Q.; Wong, T.K.F.; von Haeseler, A.; Jermiin, L.S. ModelFinder: Fast Model Selection for Accurate Phylogenetic Estimates. *Nature Methods* **2017**, *14*, 587–589, doi:10.1038/nmeth.4285.
217. Revell, L.J. Phytools: An R Package for Phylogenetic Comparative Biology (and Other Things). *Methods in Ecology and Evolution* **2012**, *3*, 217–223, doi:10.1111/j.2041-210X.2011.00169.x.
218. Warrell, D.A. Snake Bite. *The Lancet* **2010**, *375*, 77–88.
219. Ramakrishnan, M.A. Determination of 50% Endpoint Titer Using a Simple Formula. *World Journal of Virology* **2016**, *5*, 85, doi:10.5501/wjv.v5.i2.85.
220. Sells, P.G. Animal Experimentation in Snake Venom Research and in Vitro Alternatives. *Toxicon* **2003**, *42*, 115–133.
221. Boivin, G.P.; Hickman, D.L.; Creamer-Hente, M.A.; Pritchett-Corning, K.R.; Bratcher, N.A. Review of CO<sub>2</sub> as a Euthanasia Agent for Laboratory Rats and Mice. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science* **2017**, *56*, 491–499.
222. Reyes-Velasco, J. A revision of recent taxonomic changes to the eyelash palm pitviper ( Serpentes, Viperidae, *Bothriechis schlegelii*). *Herpetozoa* **2024**, *37*, 1–14, doi:10.3897/herpetozoa.



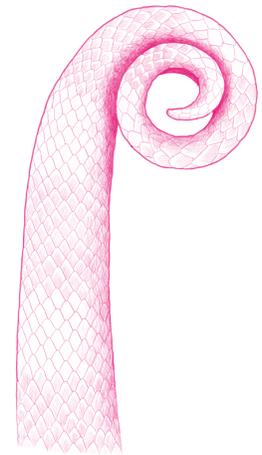
# Capítulo 4

## Un universo inexplorado: Venenos y toxinas de los colúbridos

Juan David Bayona-Serrano, Kristian Alberto Torres-Bonilla, Teddy Angarita-Sierra

**Resumen:** Entre los estudios toxicológicos de los venenos de serpientes existe un sesgo histórico hacia la comprensión de los venenos de las serpientes con colmillos frontales (vipéridos y elápidos), debido a que se consideran de mayor importancia médica. En consecuencia, se ha desatendido el estudio de los venenos y toxinas de las serpientes aglifas y con colmillos maxilares traseros (opistoglifas), haciendo que la mayoría de las especies de colúbridos carezcan de información sobre la composición o función de su veneno. Sin embargo, en las últimas dos décadas numerosos estudios han expuesto la increíble diversidad de toxinas y actividades biológicas de los venenos de los colúbridos. No obstante, estas investigaciones solo han revelado parcialmente su riqueza y variabilidad, convirtiéndolas en uno de los más interesantes y promisorios campos de investigación para la búsqueda de nuevos tipos de proteínas y funciones enzimáticas. En este capítulo resumimos la información disponible sobre las toxinas y venenos de los colúbridos colombianos, así como la información disponible sobre su epidemiología y su significado biológico. Además, contrastamos esa información con sus posibles aplicaciones, datos evolutivos y perspectivas futuras, con la esperanza de aumentar el interés de la comunidad científica por este asombroso grupo de serpientes «no-venenosas» y en su mayoría inofensivas.

**Palabras clave:** Colubridae, serpientes con colmillos traseros, veneno, enzimas proteolíticas, envenenamiento.



Citación: Bayona-Serrano JD.; Torres-Bonilla KA.; Angarita-Sierra T. Capítulo 4. Un universo inexplorado: Venenos y toxinas de los colúbridos. En el libro: *Mordeduras, venenos y serpientes venenosas de Colombia*; Angarita-Sierra, T., Ruiz-Gómez, FJ, Eds.; Instituto Nacional de Salud: Bogotá D.C., Colombia, 2024; pp. 179–216. doi:10.33610/696192ngczdp



Copyright: © 2024 por los autores. Publicación de acceso abierto bajo los términos y condiciones de licenciamiento Creative Commons Atribución (CC BY-NC-ND 4.0) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Ilustraciones por:  
Oscar A. Ramírez Ruiz

## 1. Introducción

Durante las últimas cuatro décadas, las toxinas encontradas en los venenos de las familias Viperidae y Elapidae (ver Capítulos 2 y 3) se han estudiado a fondo utilizando enfoques composicionales, funcionales y evolutivos debido a su importancia médica (ver Capítulos 8 y 9) [1–3]. Los venenos de vipéridos y elápidos han recibido una enorme atención debido a los envenenamientos graves y potencialmente mortales que pueden ocurrir cuando las poblaciones humanas transforman sus hábitats naturales, aumentando la probabilidad de accidentes o encuentros desafortunados entre humanos y serpientes (ver Capítulo 9) [1,4–7]. Estos estudios han revelado una increíble diversidad de funciones y estructuras proteicas que estaban ocultos dentro de los venenos de las serpientes; así como una gran cantidad de variación intraespecífica con bases ontogenéticas y geográficas [1]. Sin embargo, la mayor parte de su diversidad se encuentra dentro de un grupo de serpientes comúnmente conocido como colúbridos (Superfamilia Colubroidea *sensu* Zaher et al. [9]), las cuales han estado fuera del centro de atención de los estudios toxicológicos durante la mayor parte de la historia [8–11].

En Colombia, los colúbridos representan ~85% de las 340 especies de serpientes actualmente reconocidas y se distribuyen en ~60 géneros [8]. Estas serpientes poseen un amplio espectro de rasgos morfológicos y fisiológicos que las separan de las serpientes con colmillos frontales (vipéridos y elápidos) [12–14]. Los colúbridos están dotados de una glándula maxilar secretora, llamada glándula de Duvernoy, que es homóloga (similar en posición, estructura y origen evolutivo) a la glándula venenosa de víboras y elápidos [13–15]. Esta glándula produce toxinas y está conectada a los dientes de acuerdo a los dos tipos diferentes de dentición maxilar presentes en los colúbridos. El primer tipo de dentición, conocida como aglifa, consiste en filas de dientes indiferenciados en forma y tamaño relativo, sin la presencia de colmillos acanalados. El segundo tipo conocido como dentición opistoglifa, se caracteriza por la presencia de colmillos acanalados agrandados en la parte posterior de la maxila [13–17].

Estas características les otorgaron diferentes mecanismos para someter a la presa, incluida la constricción, la inoculación de veneno o una combinación de ambos mecanismos. Además, los colúbridos exhiben un amplio espectro de especializaciones ecológicas que les permiten adaptarse a una gran variedad de hábitats, dietas y comportamientos [12,18–24]. Si bien la mayoría de los colúbridos son terrestres o arbóreos y se alimentan principalmente de aves, mamíferos, anfibios u otros reptiles, algunas especies están especializadas para prosperar en ambientes acuáticos o semifosoriales, cambiando su presa preferida a peces e invertebrados [16,19,22,24–27].

Los colúbridos exhiben múltiples especializaciones ecológicas que van acompañadas de cambios igualmente diversos en la función de sus venenos. Algunas especies poseen venenos dominados por enzimas proteolíticas (enzimas que descomponen otras proteínas) similares a las que se

encuentran en las víboras; otras emulan el perfil neurotóxico común en elápidos; y algunos grupos incluso han perdido la glándula de Duvernoy por completo [1,11,15,16,28–33].

El sistema de inoculación de veneno de los colúbridos tiende a ser menos eficiente que el de los vipéridos y elápidos, principalmente porque su glándula de Duvernoy no posee la inserción de un músculo compresor que genere la presión necesaria para que el veneno consiga ser inyectado eficientemente en el tejido de sus presas [1,15,16]. La falta de un sistema eficiente de administración de veneno es una de las principales razones por las que estas serpientes se consideran menos relevantes desde el punto de vista médico. Por lo tanto, sus venenos han sido poco estudiados en comparación con sus contrapartes de las familias Viperidae y Elapidae [10,11,34]. Este sesgo médico transformó a estas especies en un grupo desatendido dentro de las ciencias toxicológicas a nivel mundial, y las especies colombianas no son la excepción.

Aunque varios colúbridos poseen veneno, solo un pequeño número de géneros distribuidos en Colombia han sido reportados como causantes de envenenamiento severo o leve en humanos [35]. Sin embargo, los accidentes con algunas especies pueden estar lejos de ser inofensivos y han sido subestimados en los estudios epidemiológicos realizados en el país [17,36] (ver Capítulo 9). Además, debido a la escasez de información sobre el número real de accidentes anuales que involucran colúbridos, el conocimiento en torno a sus actividades biológicas y la composición de sus venenos es muy pobre, lo que profundiza aún más el sesgo de conocimiento ya existente [10].

Este sesgo no solo se debe a la importancia médica relativamente baja que se les otorga, sino también a varios factores que hacen que la investigación de los venenos de colúbridos sea una tarea ardua. Por ejemplo, la dificultad de mantener de manera eficiente a estas serpientes en cautiverio y extraer veneno con fines de investigación, los bajos rendimientos del veneno, la escasa posibilidad de encontrar especies con colmillos traseros que produzcan veneno, la baja toxicidad en humanos y en modelos murinos, el alto índice de especificidad de sus toxinas y la lenta propagación de su veneno cuando se inyectan en los tejidos, son algunas de las principales razones que hacen que los estudios de los venenos de las especies de colúbridos avancen con lentitud [37–41].

La mayoría de los colúbridos colombianos carecen de datos sobre la composición, los efectos farmacológicos o la función biológica de su veneno o secreciones orales. Afortunadamente, estudios recientes realizados con especies colombianas y no colombianas han revelado parcialmente la enorme diversidad de toxinas presentes en este grupo de serpientes [11,32–34,42]. En varios venenos de especies de colúbridos se han reportado mezclas complejas de proteínas con innumerables actividades enzimáticas y no enzimáticas, similares a las observadas en los venenos de víboras y elápidos. Esto convierte a los colúbridos en una promisoría e interesante fuente de nuevas toxinas no descritas anteriormente.

Estudios funcionales han revelado que algunos venenos de colúbridos muestran potencias similares a las de las víboras. Las mordeduras de estas especies de colúbridos pueden incluso inducir manifestaciones clínicas graves que podrían incapacitar al paciente [17,36,51,43–51]. En este capítulo revisaremos la información disponible sobre la composición, función y manifestaciones clínicas del veneno de los colúbridos distribuidos en Colombia, enfocándonos en el potencial sin explotar que tiene este grupo y el futuro de los estudios toxicológicos en el panorama colombiano.

## **2. El veneno de los «colúbridos»**

La mayor parte de la diversidad de serpientes en Colombia está contenida dentro de un solo grupo de especies opistoglifas y aglifas (ver Capítulo 1) conocido como la superfamilia Colubroidea [8]. Actualmente, hay tres subfamilias reconocidas que habitan en Colombia: Colubrinae (~50 especies en ~15 géneros), Dipsadinae (~187 especies en ~44 géneros) y Sybiniophiinae (1 especie en 1 género). No obstante, es muy escaso el conocimiento en torno a los venenos de los colúbridos y solo está disponible para algunos géneros de las subfamilias Colubrinae y Dipsadinae, centrándose en información que describe su función y composición [11,28,55–57,29,32–34,42,52–57]. En esta sección discutiremos las tendencias observadas en los venenos de ambas subfamilias de colúbridos colombianos.

### **2.1. Subfamilia Colubrinae**

Históricamente, la mayoría de los géneros y especies de esta subfamilia carecen de cualquier tipo de información relacionada con el veneno [10,11]. Recientemente, ha habido un aumento continuo en la cantidad de información publicada sobre sus venenos. Varios trabajos que incluyen especies asiáticas, africanas y americanas han revelado un gran repertorio de toxinas funcionalmente diversas [11,28,29,52,55,58–61].

Los venenos de algunas especies de este grupo se asemejan a los venenos de las víboras (ver Capítulo 3), poseen un perfil de veneno dominado por metaloproteinasas de veneno de serpiente (SVMP), un grupo de enzimas que degradan el tejido, causan hemorragia y otras manifestaciones locales [58,61]. Sin embargo, la mayor parte de la diversidad de toxinas que se encuentran en esta subfamilia se compone de neurotoxinas de acción postsináptica, no enzimáticas, conocidas como toxinas de tres dedos (3FTxs) [28,52,55,59,60]. Estas proteínas son componentes comunes de los venenos de elápidos (ver Capítulo 5), que causan un potente bloqueo neuromuscular que conduce a la asfixia por paro respiratorio y una muerte rápida [3,62]. Curiosamente, las 3FTxs de Colubrinae parecen haber evolucionado para actuar de forma específica, siendo más tóxicas para ciertos tipos de presas [63]. Debido al amplio espectro de presas de las que se alimentan las especies de la subfamilia Colubrinae que poseen 3FTxs, sólo podemos formular hipótesis sobre la diferente cantidad de posibilidades funcionales que se ocultan en sus neurotoxinas tan específicas.

En Colombia, todas las especies con venenos caracterizados, exhiben un perfil neurotóxico notable con un patrón de composición simple en términos del número de clases de toxinas. Los géneros *Spilotes*, *Leptophis*, *Tantilla*, *Rhinobothryum* y *Oxybelis* contienen las especies con información de composición disponible actualmente [29,30,52,55,60]. Sus venenos están dominados por 3FTx neurotóxicas y proteínas secretoras ricas en cisteína (CRISP, ver Capítulo 5). Estas últimas son una clase de toxinas que se observan comúnmente en la mayoría de los miembros de Colubridae, las cuales interfieren con la contracción del músculo liso al bloquear canales iónicos [1,64,65].

Además, en la mayoría de los géneros estudiados se reportan toxinas como las SVMP y las lectinas de tipo C (CTL), asociadas con efectos locales como hemorragia, edema, necrosis y trastornos hemostáticos relacionados con las plaquetas [66]. En la mayoría de los venenos de Colubrinae presentes y estudiados en Colombia, su composición presenta un perfil neurotóxico dominante, lo cual concuerda con las bajas actividades hemorrágicas y mionecróticas [30]. No obstante, estos estudios se realizaron con muestras de veneno de poblaciones extranjeras, por lo cual las actividades biológicas de las poblaciones colombianas es desconocida. La variación geográfica intraespecífica de los venenos de colúbridos está aún poco explorada y es un área de investigación sin resolver para las poblaciones colombianas (ver Capítulo 5).

Curiosamente, la glándula de Duvernoy no es la única glándula cefálica productora de toxinas que se encuentra en las especies de Colubrinae. Un estudio reciente con una especie del género *Tretanorhinus* reveló que la glándula de Harder también es capaz de producir transcritos semejantes a toxinas con niveles de expresión elevados [54]. Esta glándula se encuentra detrás del ojo de las serpientes y está próxima a la glándula de Duvernoy. Se cree que está estrechamente relacionada con la glándula lagrimal que ayuda en la lubricación del ojo, pero se ha propuesto que cumple otras funciones, siendo una glándula salival accesoria que puede secretar enzimas digestivas o proporcionar una fuente de lubricación [67,68].

El perfil de expresión de la glándula de Harder de *Tretanorhinus variabilis* reveló una serie de posibles toxinas que incluyen SVMP del tipo P-III, CTL y CRISP, que son tres de las principales clases de toxinas reportadas en otros Colubrinae [57]. Estos hallazgos indican que la producción de proteínas similares a toxinas no se limita a la glándula de Duvernoy en colúbridos, pero no está claro si estas otras glándulas que producen proteínas semejantes a toxinas representan una ventaja trófica (función ecológica).

En general, esta subfamilia contiene especies con venenos altamente neurotóxicos específicos para sus presas dominados por 3FTxs y CRISPs. No obstante, las dianas moleculares, la caracterización bioquímica y la función de las toxinas de estos colúbridos siguen siendo pobremente estudiados. Por lo tanto, representan un modelo interesante para explorar nuevos mecanismos moleculares que podrían explotarse farmacoló-

gicamente, ya que interactúan con varios canales iónicos que modulan las respuestas nerviosas [62,65]. Sin embargo, la mayoría de las especies y géneros distribuidos dentro del territorio colombiano carecen de los datos de composición. Estos son indispensables para obtener una mejor comprensión de los procesos evolutivos que podrían estar dando forma a la composición y función del veneno.

## 2.2. Subfamilia Dipsadinae

En contraste con los venenos dominados por neurotoxinas ampliamente representados en las serpientes de la subfamilia Colubrinae, la subfamilia Dipsadinae tiene un perfil de veneno más proteolítico con algunas excepciones (p. ej., el género *Helicops*) [11,42]. La subfamilia Dipsadinae contiene algunos géneros reportados como de importancia médica ya que han causado casos graves de envenenamiento con predominio de síntomas locales (p. ej., hemorragia, edema, necrosis) [31–33,53,69–71]. Los estudios de composición realizados en géneros colombianos revelaron que los venenos de los Dipsadinae están ampliamente dominados por SVMP del tipo P-III y CTL, lo que concuerda con la mayoría de los síntomas de los cuadros clínicos reportados en los casos de envenenamiento [11,32–34,42].

Sin embargo, un estudio reciente encontró que tres tribus de esta subfamilia (Tachymenini, Xenodontini y Conophiini) tienen como componente enzimático principal de sus venenos un tipo diferente de metaloproteínasa [42,53]. Estas enzimas se identificaron como metaloproteinasas de matriz de veneno de serpiente (svMMP), y representan tres eventos independientes de reclutamiento génico en la historia evolutiva de este grupo de serpientes (ver detalle en el numeral 4 de este capítulo).

Además, la tribu Hydropsini posee un patrón composicional que no está dominado ni por SVMP ni por svMMP, coincidiendo con el perfil de veneno neurotóxico reportado en *Helicops angulatus* y los perfiles dominados por CTL observados en otras especies del género [42,72,73]. Así, podemos separar tres grandes grupos composicionalmente diferentes de venenos de Dipsadinae: (1) géneros con venenos dominados por P-III SVMPs (p. ej., *Leptodeira*, *Pseudoboa*, *Philodryas* y *Oxyrhopus*) [11,32,34,57]; (2) géneros con venenos dominados por svMMPs (p. ej., *Erythrolamprus*, *Lygophis* y *Thamnodynastes*) [11,42,56]; y (3) géneros con un perfil único caracterizado por una abundancia de CRISPs y CTLs, similar a lo que se encuentra en algunas especies de Colubrinae (p. ej., *Helicops*) [42,72, 73].

Los análisis funcionales realizados en especies de *Philodryas*, *Leptodeira*, *Thamnodynastes*, *Erythrolamprus* y *Pseudoboa* confirman las actividades proteolíticas predichos por los análisis composicionales mencionados anteriormente. La mayoría de las especies de Dipsadinae muestran fuertes actividades proteolíticas en ensayos *in vitro*, incluso comparables a las actividades observadas en algunas especies del género *Bothrops* [32–34,42,53].

Curiosamente, en algunas especies de la tribu Pseudoboini (géneros *Clelia* y *Boiruna*), se ha detectado un nuevo tipo de fosfolipasa A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>)

como toxina dominante [11,61,73]. Esta PLA<sub>2</sub> es diferente a las que se encuentran en víboras y elápidos (ver Capítulo 5), ya que pertenecen al grupo IIE, relacionadas típicamente con el tejido cerebral, cardíaco y uterino de los mamíferos [1,74]. Recientemente, un análisis transcriptómico y proteómico de toda la tribu reveló que estas PLA<sub>2</sub>-IIE que dominan el veneno de estos géneros poseen una cola C-terminal más corta en comparación con la proteína endógena que cumple funciones fisiológicas en otras serpientes [73]. Este acortamiento podría ser un proceso convergente a lo que se observa en otras toxinas enzimáticas que han evolucionado en andamiajes más compactos a partir de un gen endógeno más grande [73].

Aunque todavía hay poca información disponible sobre este tipo de toxinas, se espera que sean enzimas secretoras dependientes de calcio que tienen como diana principal fosfolípidos extracelulares, ya que sus estructuras primarias y terciarias se asemejan a las observadas en las PLA<sub>2</sub> de los vipéridos [73]. Además, los ensayos enzimáticos con venenos de la tribu Pseudoboini confirmaron que son catalíticamente activas, con niveles de actividad *in vitro* similares a los observados en venenos ricos en PLA<sub>2</sub> de los vipéridos [1,73,74]. Este predominio de PLA<sub>2</sub> es único entre los venenos de los colúbridos hasta ahora conocidos, y representa el quinto reclutamiento del andamiaje de PLA<sub>2</sub> a los venenos de serpientes, lo que demuestra que el veneno tiende a converger hacia los mismos andamiajes de toxinas óptimos en diferentes familias de serpientes [73].

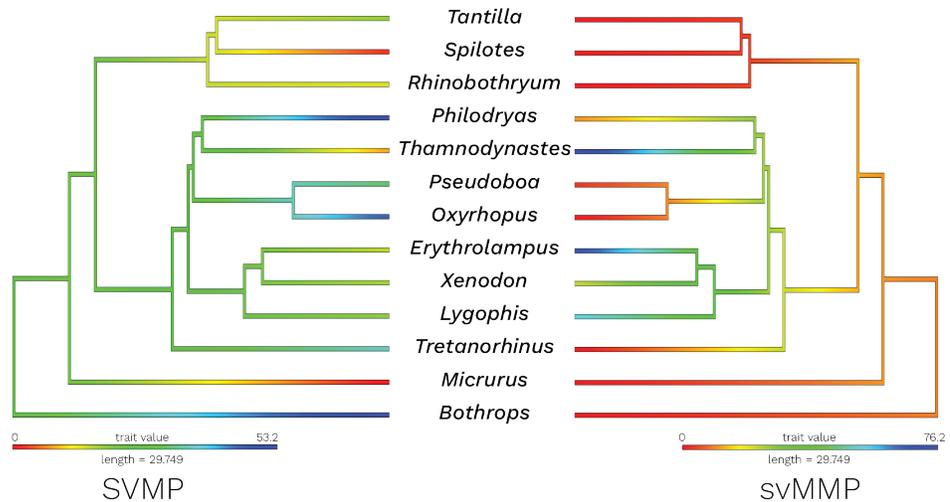
Adicionalmente, se ha reportado una lipasa ácida como una posible toxina nueva en el veneno de *Phalotris mertensi* (Falsa coral) que podría representar el reclutamiento de un nuevo tipo de toxina para el arsenal de los venenos de los colúbridos [74]. En general, los estudios de venenos de colúbridos han resultado en el descubrimiento de varias proteínas tóxicas novedosas que en algunos casos conducen a una convergencia fenotípica con serpientes con colmillos frontales, y en otros, dan como resultado componentes únicos para los colubridos [11,42,61,75].

### 2.3. Tendencias composicionales de los venenos de colúbridos

Comparando las tendencias generales observadas en las composiciones de veneno de los colúbridos tanto del transcriptoma como en el proteoma, aparecen algunos patrones interesantes (Figuras 1 y 2). El dominio general de los venenos proteolíticos en la subfamilia Dipsadinae es claro. Dos tipos distintos de metaloproteinasas dependientes de zinc parecen haber sido reclutados en el arsenal de venenos de esta subfamilia (Figura 1) [42]. Las SVMP están presentes en varios grupos de serpientes avanzadas (ver Capítulos 3 y 5) y es probable que hayan sido reclutadas ancestralmente antes de la separación de las víboras y todas las demás serpientes venenosas [11,76–79].

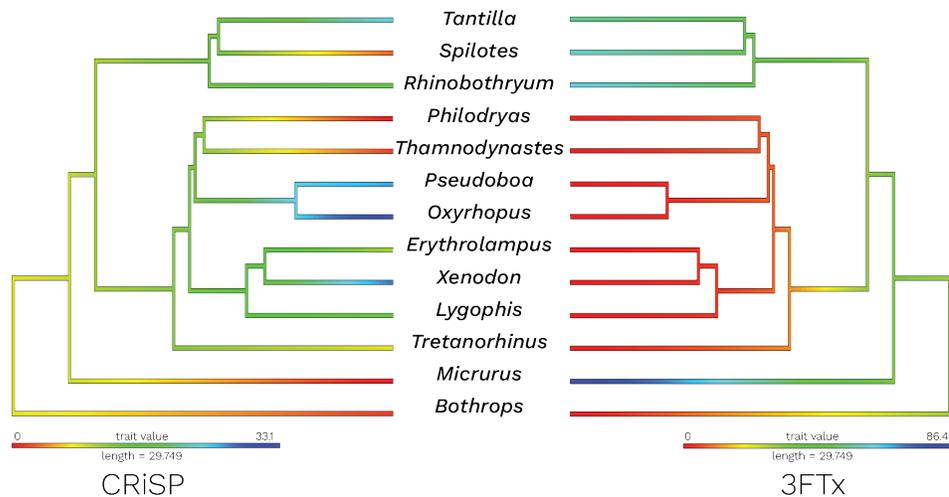
Por otro lado, algunas tribus (Conophiini, Tachymenini y Xenodontini) de la subfamilia Dipsadinae poseen otro tipo de enzima proteolítica (svMMP) que domina sus venenos. Es probable que estas proteínas hayan sido reclutadas recientemente en las glándulas venenosas de especies de Dipsadinae, siendo la clase de toxina dominante en algunos grupos [42].

**Figura 1.** Reconstrucción de estado ancestral de datos de composición para SVMP (izquierda) y svMMP (derecha). El color rojo indica proporciones más bajas de la toxina, mientras que los colores azules indican proporciones más altas; la escala de color amarillo a verde representa proporciones moderadas. Los datos de *Rhinobothryum* se obtuvieron de análisis proteómicos [52] y los datos de *Tretanorhinus* pertenecen a un estudio que analizó la glándula de Harder [54]. *Micrurus* y *Bothrops* se utilizaron como grupos externos [80,81]. Las longitudes de las ramas se obtuvieron de Zaher et al. [9].



Los venenos de las especies de colubrinae muestran venenos altamente neurotóxicos dominados por 3FTx, toxinas postsinápticas que causan bloqueos neuromusculares al actuar en la placa terminal motora (Figura 2) [62]. Este patrón de composición se asemeja al observado en algunas serpientes coral y marca una diferencia notable entre los venenos de Colubrinae y Dipsadinae. Sin embargo, algunas especies de la subfamilia Dipsadinae poseen efectos neurotóxicos, pero se cree que están mediados por CRISP o que son efectos secundarios de la acción proteolítica de sus toxinas [53,72].

**Figura 2.** Reconstrucción de estado ancestral de datos de composición para CRISP (izquierda) y 3FTx (derecha). El color rojo indica proporciones más bajas de la toxina, mientras que los colores azules indican proporciones más altas. La escala de color amarillo a verde representa proporciones moderadas. Los datos de *Rhinobothryum* se obtuvieron de análisis proteómicos [52] y los datos de *Tretanorhinus* pertenecen a un estudio que analizó la glándula de Harder [54]. *Micrurus* y *Bothrops* se utilizaron como grupos externos [80,81]. Las longitudes de las ramas se obtuvieron de Zaher et al. [9].



En general, los venenos de las especies de colúbridos poseen una diversidad de toxinas similar a la de las víboras y los elápidos (ver Capítulos 2 y 5), con algunos grupos que poseen venenos altamente neurotóxicos dominados por 3FTx y otros venenos altamente proteolíticos dominados por SVMP/svMMP (Figura 3). Además, aunque la gran mayoría de las especies de colúbridos carecen de cualquier tipo de información relacionada con el veneno, ya se ha descubierto una enorme diversidad de estructuras y funciones de toxinas exclusivas de este grupo de serpientes [11,37,42].

Estos patrones convergentes y divergentes indican que los cambios en la composición del veneno podrían estar relacionados tanto con la inercia filogenética como con factores ecológicos que conducen a la convergencia [42,82,83].

Esta dualidad ya se ha observado en el pasado en la variación de la actividad de dos toxinas enzimáticas de especies de elápidos australianos. Por ejemplo, aunque en general la actividad enzimática está fuertemente correlacionada a la filogenia, dos especies de serpientes estrechamente relacionadas del género *Denisonia*, y con dietas especializadas en ranas, mostraron una baja correlación entre en la actividad enzimática de sus venenos [82]. Por lo tanto, puede haber factores subyacentes desconocidos que dan forma a la composición y función del veneno en especies de serpientes con colmillos delanteros, colmillos traseros e incluso aglifas. Se necesitan estudios que vinculen las variables ecológicas con los datos de composición y funcionalidad del veneno, junto con información filogenómica, para obtener una mejor comprensión de los procesos evolutivos que moldean el fenotipo del veneno de las serpientes actuales, especialmente en especies de colúbridos.

# TOXINAS DE SERPIENTES NO VENENOSAS

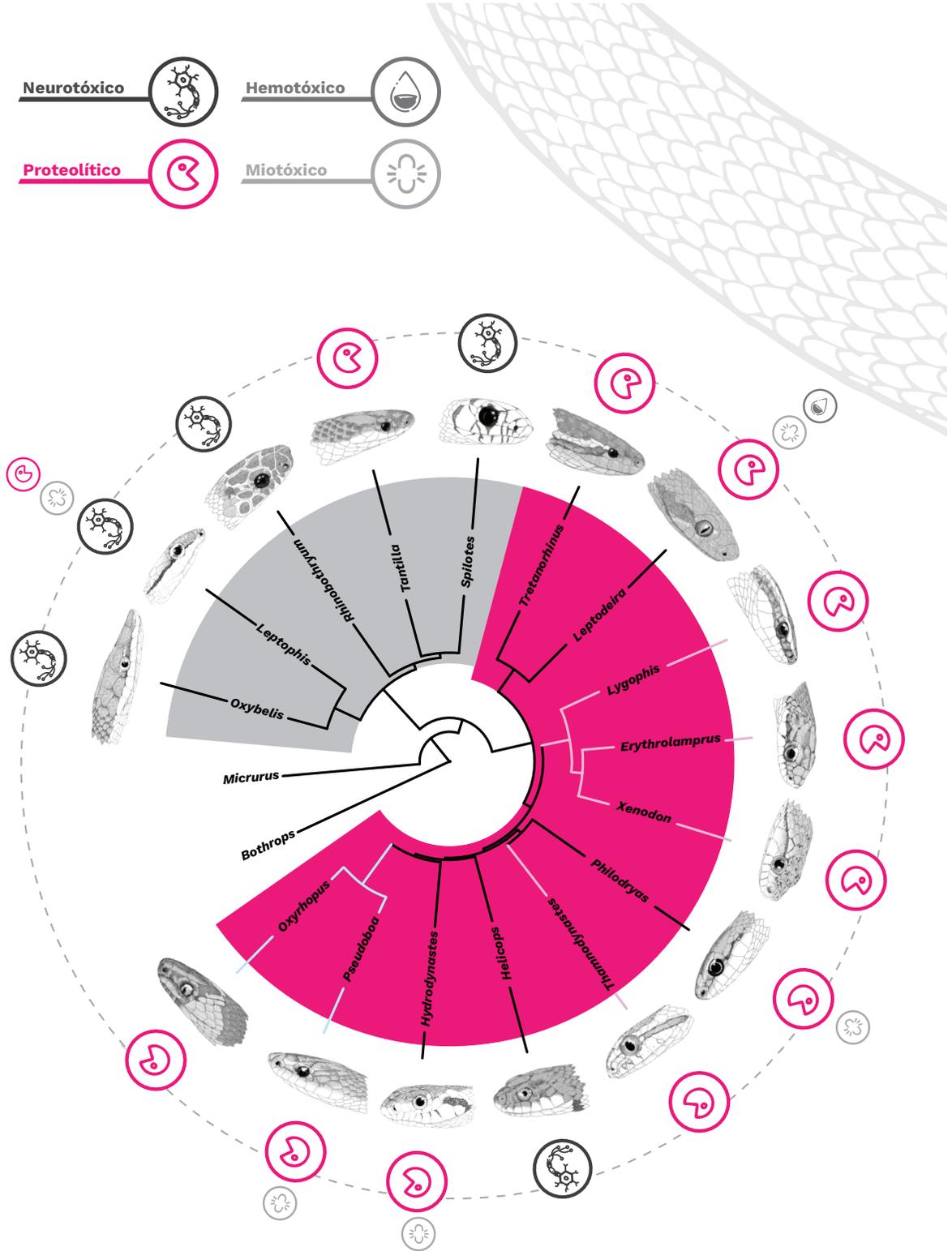


Figura 3. Esquema general de los perfiles de veneno conocidos en colúbridos.

## 2.4. Aspectos venómicos de los colúbridos colombianos

El envenenamiento por colúbridos en Colombia es poco conocido, por lo tanto, la relevancia clínica de estas especies en los accidentes por mordeduras de serpientes ha sido históricamente subestimada [106]. Esto no significa que el envenenamiento por colúbridos no ocurra. De hecho, durante la última década se notificaron un total de 347 casos en Colombia (ver Capítulo 9), de los cuales los causados por *Leptodeira annulata* y *Erythrolamprus bizona* fueron documentados en detalle [106,107]. Sin embargo, la verdadera incidencia de mordeduras causados por colúbridos permanece oculta. A continuación, presentamos la información toxicológica disponible de los colúbridos (aglifas y opistoglifas) de importancia médica en Colombia.

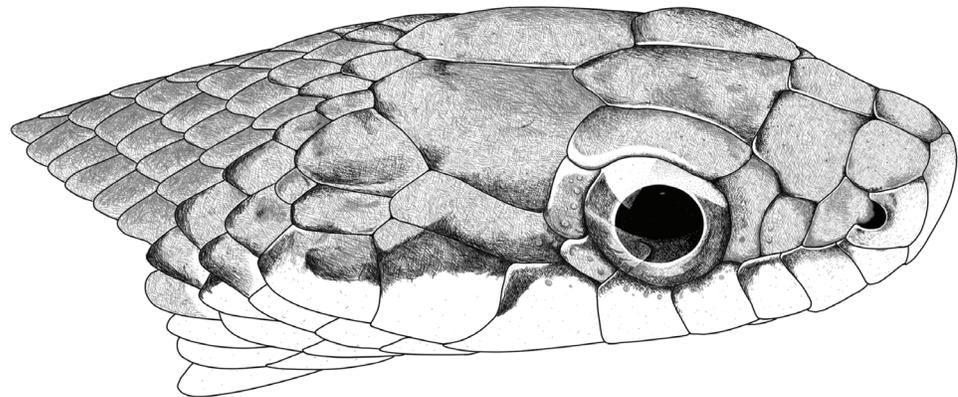
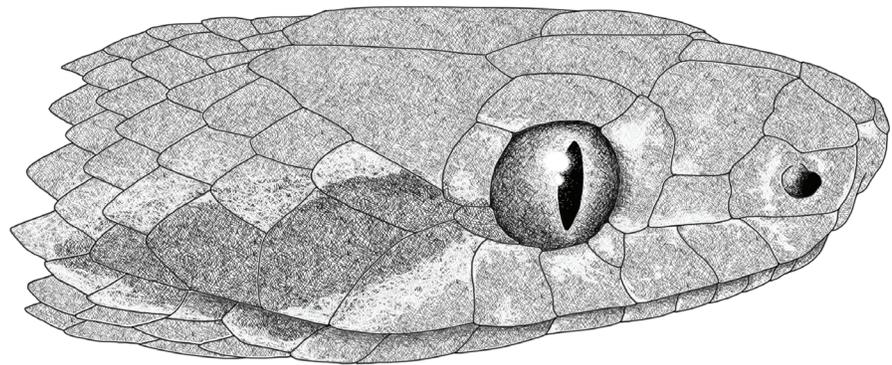
Género *Erythrolamprus*.— Recientemente, se encontró que los venenos de este género están dominados principalmente por una novedosa familia de proteínas conocida como metaloproteinasas de matriz de veneno de serpiente (svMMPs), así como por otras toxinas menores como SVMs, CTLs y CRISPs [42]. Funcionalmente, el veneno de las poblaciones colombianas de *Erythrolamprus bizona* produce un bloqueo neuromuscular parcial, causando alteraciones morfológicas notables como desorganización de los fascículos musculares, edema intersticial y necrosis de las fibras musculares [56]. No obstante, los efectos neuromusculares observados parecen ser el resultado de la alta actividad proteolítica de sus toxinas, y no un mecanismo neurotóxico, coincidiendo con el perfil principalmente proteolítico de las toxinas reportadas que componen su veneno [56].

Complejo de especies *Leptodeira annulata*.— Esta especie es conocida por su comportamiento no agresivo [108]. Sin embargo, se han reportado casos de envenenamiento local moderado en casos de manipulación inadecuada de estas serpientes [106,109]. Se han realizado estudios del veneno de poblaciones colombianas del Valle del Magdalena [33,34], encontrando bandas proteicas con masas moleculares de ~15 kDa a ~140 kDa. Las bandas más conspicuas se observaron a ~35 kDa, ~40 kDa y ~50 kDa, así como una banda prominente en el frente de migración (~15 kDa). Además, el análisis cromatográfico (RP-HPLC) mostró un total de 38 picos separados, lo que indica una alta complejidad en la composición del veneno, que puede ser igual o superior a la observada en algunos venenos de especies de vipéridos del género *Bothrops* [34].

Recientemente, se realizó la caracterización toxicológica completa del veneno de *L. annulata*. El veneno no presentó actividad de esterasas, oxidasa de L-aminoácidos o actividad similar a la trombina, pero presentó actividad proteolítica sobre varios sustratos, incluyendo fibrina, fibrinógeno, gelatina y caseína. La actividad proteolítica probablemente es mediada por metaloproteinasas, ya que fue inhibida únicamente por quelantes de iones metálicos (EDTA y fenantrolina) [34]. Además, el veneno no agregó plaquetas de rata ni inhibió la agregación inducida por colágeno, no obstante, inhibió parcialmente la agregación inducida por trombina. El veneno de este complejo de especies presentó actividad hemorrágica (inhibido por EDTA) y aumentó la permeabilidad vascular en las pruebas

realizadas en la piel dorsal de ratas. Adicionalmente, el veneno produjo mionecrosis en músculo gastrocnemio e incrementó las concentraciones sistémicas de creatina quinasa [34].

El veneno de *Leptodeira annulata* aplicado a preparaciones nervio-muscular de aves produjo un bloqueo neuromuscular moderado sin causar un bloqueo completo. Además, inhibió significativamente la respuesta de contractura al cloruro de potasio exógeno. En contraste, en preparaciones de nervio-musculo de ratones, el veneno de *L. annulata* no presenta un bloqueo neuromuscular significativo. Sin embargo, induce una despolarización menor de la membrana muscular sin afectar los receptores postsinápticos [33]. Estos efectos neuromusculares observados son el resultado de una actividad proteolítica inespecífica del veneno más que de un mecanismo neurotóxico. Por otro lado, el veneno de *L. annulata* causó alteraciones histológicas expresivas en modelos experimentales de ave y ratón, incluyendo fibras hinchadas y necrosis. Estos efectos parecen estar relacionados con la alta actividad proteolítica y la leve actividad PLA<sub>2</sub> ejercida por el veneno [33].



**Figura 4.** Ilustraciones de la cabeza del complejo de especies *Leptodeira annulata* y *Leptophis ahaetulla*. (Arriba) Cabeza en vista lateral de *Leptodeira annulata* de Pacurita, Quibdó, Chocó, Colombia (JDL 31754). (Abajo) Cabeza en vista lateral de *Leptophis ahaetulla* from Caño Cristales, Riosucio, Chocó, Colombia (IAvH-R1458). Ilustraciones por Oscar A. Ramírez Ruiz.

Género *Leptophis*.— Entre las especies de *Leptophis* que habitan en Colombia, solo *Leptophis ahaetulla* tiene estudios sobre su veneno. Aunque es un género común en su rango de distribución, hay pocos estudios sobre la composición o función de su veneno en las poblaciones colombianas (Figura 4). Rodríguez-González y Portillo-Portillo [110] realizaron el primer trabajo explorando la capacidad tóxica del veneno de *L. ahaetulla*. Ellos evaluaron el efecto neurotóxico del veneno de esta especie en el

nervio ciático de la rana *Rhinella horribilis*. Sin embargo, el veneno no alteró el potencial de acción del nervio, y los autores hipotetizaron que tenía una función biológica menor.

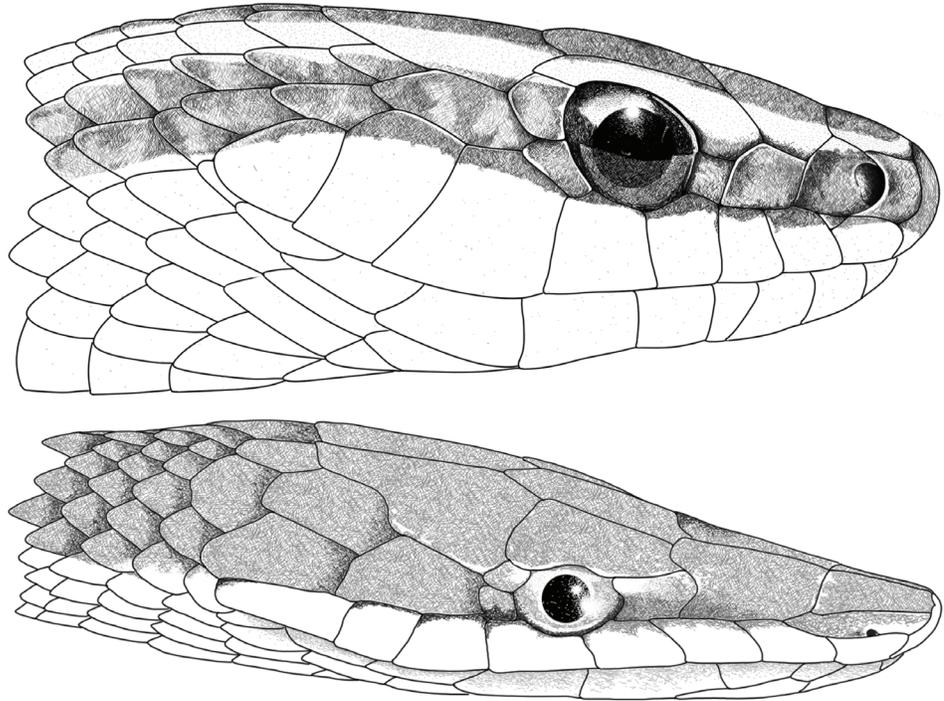
Recientemente, Sánchez et al. [30] realizaron una caracterización funcional y composicional del veneno de una población argentina de *L. ahaetulla*, revelando un perfil composicional dominado por pequeñas proteínas (<10,0-30,0 kDa) identificadas como CTLs, CRISPs y 3FTxs. En consecuencia, las actividades proteolíticas y miotóxicas del veneno de *L. ahaetulla* fueron prácticamente nulas, ya que no se identificó ninguna proteína enzimática como un componente importante del veneno. Además, las pruebas de letalidad en ratones no mostraron signos de efectos letales en dosis tan altas como 20 µg/g, aunque esto podría explicarse a la toxicidad específica hacia presas propias de su dieta (ranas y lagartijas), como se ha observado en otros colúbridos con venenos neurotóxicos [60,63,110]. Sin embargo, aún no se han realizado estudios sobre la caracterización funcional y composicional del veneno de *L. ahaetulla* en poblaciones colombianas.

Género *Lygophis*.— No hay mucha información sobre la composición y función del veneno de las serpientes del género *Lygophis*. Recientemente, un estudio analizó el transcriptoma de la glándula de veneno de *L. flavifrenatus* de Brasil encontró que su veneno muestra un perfil altamente proteolítico, siguiendo la tendencia observada en otros géneros cercanamente relacionados (p. ej., *Erythrolamprus*), con svMMPs como el principal tipo de enzimas proteolíticas entre otros componentes menores del veneno [42].

Género *Oxybelis*.— Se han reportado algunos accidentes con humanos que involucran especies de *Oxybelis* a lo largo de su distribución conocida [112–114]. Generalmente, el envenenamiento causado por especies del género *Oxybelis* presentan síntomas locales como dolor, eritema y hemorragia, raramente acompañados de taquicardia y mareos.

En cuanto a su veneno, en las últimas décadas se han publicado algunas investigaciones interesantes. El veneno de la serpiente bejuquilla verde (*O. fulgidus*) parece ser composicionalmente simple, con proteínas del veneno dentro de los rangos de tamaño de 6-9 kDa, 25 kDa y 50-66 kDa, destacando la presencia de 3FTx [111]. Además, se purificó y caracterizó una neurotoxina de este veneno, que es el componente más abundante. La fulgimotoxina es una 3FTx con una toxicidad letal muy alta hacia lagartos nativos (p. ej., siendo más sensibles en especies del género *Anolis* que especies de gekos del género *Hemidactylus*) y pocos o ningún efecto en mamíferos (ratones) [111].

Recientemente, se describió el proteoma del veneno de *Oxybelis aeneus* and *O. fulgidus*. Los proteomas del veneno mostraron una baja complejidad composicional con cuatro familias de proteínas detectadas (LAAO, SVMPs P-III, CRISP y 3FTx) [60]. En términos generales, ambos venenos son altamente neurotóxicos con actividad letal en lagartos, baja actividad proteolítica y carecen de actividad fibrinogenolítica [60].



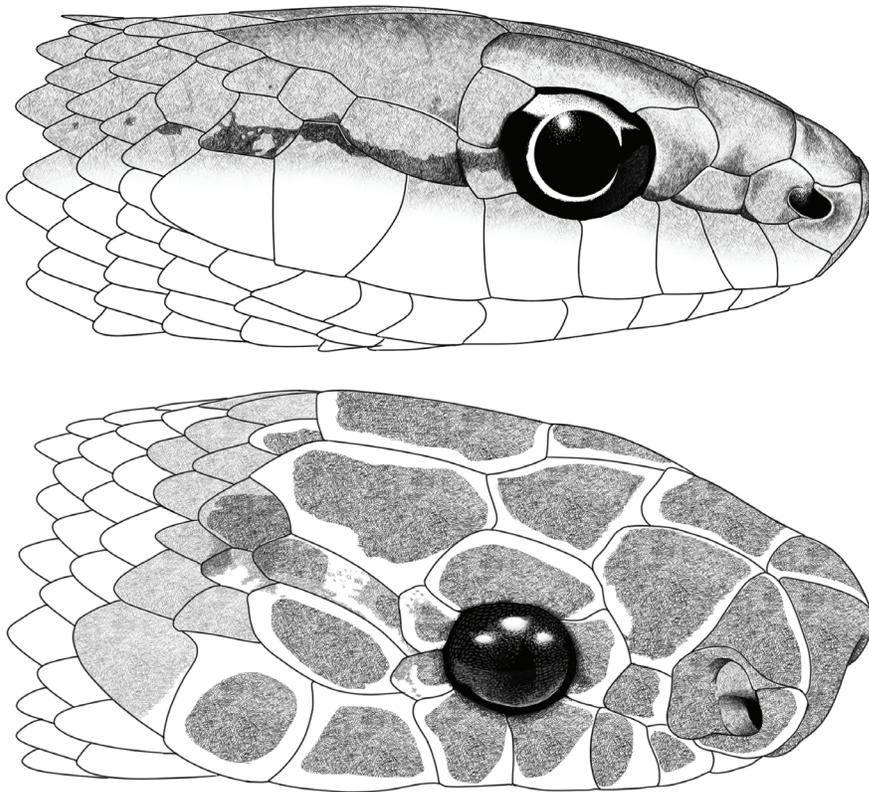
**Figura 5.** Ilustraciones de la cabeza de *Lygophis lineatus* y *Oxybelis aeneus*. (Arriba) Vista lateral de la cabeza de *Lygophis lineatus* de la Universidad Nacional de Colombia sede de La Paz, La Paz, Cesar, Colombia (TAS 2576). (Abajo) Vista lateral de la cabeza de *Oxybelis aeneus* de Riosucio, Chocó, Colombia (IAvH-R1458). Ilustraciones por Oscar A. Ramírez Ruiz.

Género *Oxyrhopus*.— Desafortunadamente, no hay mucha información disponible sobre la composición o función del veneno de este grupo de serpientes. Sin embargo, los pocos datos que existen sugieren que los venenos de las especies de *Oxyrhopus* están dominados por SVMPs, CRISPs y CTLs, siguiendo la misma tendencia observada en la mayoría de las Dipsadinae [11]. No obstante, otros componentes del veneno incluyen PLA<sub>2</sub>-IIE, que son de especial interés porque representan una clase de PLA<sub>2</sub> diferente a la que se encuentra en víboras y elápidos, siendo quizás un nuevo evento de reclutamiento de toxinas en el arsenal de la glándula de veneno de este grupo de serpientes [11,73].

Género *Philodryas*.— Entre los colúbridos que pueden causar casos de envenenamiento en Suramérica, las especies de *Philodryas* son responsables de la mayoría de los casos reportados [17,84,115–118]. Por lo tanto, son las serpientes colúbridas con la mayor cantidad de datos relacionados con venenos en comparación con otros géneros de colúbridos [54,119,120]. Particularmente, debido a la extensa distribución de *Philodryas olfersii*, su veneno ha sido ampliamente estudiado. Este veneno es altamente proteolítico, produce edema, hemorragia y mionecrosis en modelos animales [121–124]. Algunos componentes del veneno han sido purificados: una miotoxina [125], cuatro metaloproteinasas y una serina proteasa [126]. La caracterización e identificación de estos componentes del veneno concuerda con los análisis proteómicos y transcriptómicos realizados en el veneno de esta especie [54,127]. Funcionalmente, el veneno de *P. olfersii* degrada fibrinógeno y fibrina, y carece de actividad similar a la trombina, efectos inhibitorios de la agregación plaquetaria [123]. El veneno tampoco produce alteraciones hematológicas, teniendo efectos

limitados sobre las concentraciones de citocinas circulantes [128]. Aunque se observan diferentes efectos *in vivo* utilizando modelos murinos, las principales manifestaciones en el envenenamiento humano son efectos locales como dolor, edema, eritema y equimosis [85]. Actualmente, no se han reportado casos de envenenamiento por especies del género *Philodryas* en Colombia.

Género *Rhinobothryum*.— Los encuentros en campo con estas especies son generalmente escasos, por lo tanto, los venenos de *Rhinobothryum* son poco conocidos. Recientemente, un estudio con *R. bovallii* reveló que posee un veneno neurotóxico, como se observa en otros géneros de la subfamilia *Colubrinae* (p. ej., *Spilotes*, *Leptophis* y *Oxybelis*) [55]. Los análisis proteómicos revelaron un perfil composicional bastante simple, dominado por CRISPs neurotóxicos (8,2%) y 3FTxs (86,5%) con una pequeña proporción de SVMs proteolíticas (2,4%). Se han reportado repetidamente neurotoxinas específicas de taxones en venenos de colúbridos con dietas especializadas, principalmente enfocadas en aves y/o lagartos. Sin embargo, las especies de *Rhinobothryum* tienen una dieta muy diversa, por lo que se necesitan estudios funcionales que busquen descubrir la especificidad de sus neurotoxinas para obtener una mejor comprensión de su evolución, así como de la resistencia al veneno en sus presas. Actualmente, no se han reportado casos de envenenamiento por especies de *Rhinobothryum* en Colombia.

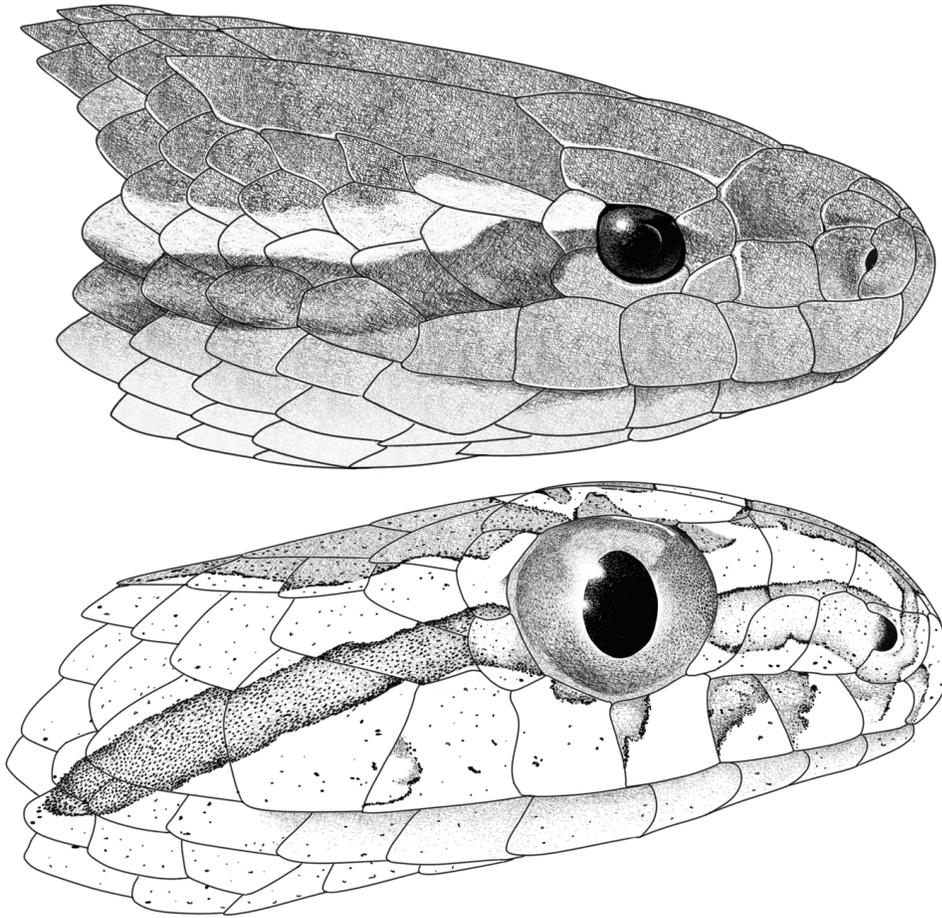


**Figura 6.** Ilustraciones de la cabeza de *Philodryas olfersii* y *Rhinobothryum bovallii*. (Arriba) vista lateral de la cabeza de *Philodryas olfersii* de Puerto Rondón, Arauca, Colombia (IAvH-R2878). (Abajo) Vista lateral de la cabeza de *Rhinobothryum bovallii* de Pedernales, Manabí, Ecuador (QCAZR-R5757). Ilustraciones por Oscar A. Ramírez Ruiz.

*Pseudoboa neuwiedii*.— El veneno de *P. neuwiedii* de poblaciones localizadas en el departamento del Tolima, Colombia, fue caracterizado bioquímicamente por Torres-Bonilla et al. [129]. Estos autores reportan su perfil SDS-PAGE y la identificación de sus componentes por LC-MS/MS. El veneno de esta especie muestra bandas proteicas que van desde ~15 kDa a ~200 kDa, con las bandas más conspicuas entre ~50-75 kDa y ~20-25 kDa. Estas bandas fueron identificadas como SVMPS y CRISPs, asemejándose al patrón de composición reportado en otras especies estrechamente relacionadas a nivel transcriptómico [11]. Entre los componentes identificados, las bandas menos conspicuas fueron CTLs, PLA<sub>2</sub>s, en contraste con las bandas notablemente conspicuas de svMMPs, una familia de proteinasas poco estudiada y recientemente reportada como un componente principal de los venenos de algunos dipsáidos [129].

Además, el veneno de *P. neuwiedii* produce un bloqueo neuromuscular moderado (50% de bloqueo después de ~80 min), con una reducción significativa de las respuestas de contractura al cloruro de potasio exógeno y la acetilcolina después de 120 min de incubación. El veneno causó extensas alteraciones histopatológicas en preparaciones musculares. Las fibras musculares perdieron su perfil poligonal normal y típico con fibras hinchadas o vacuoladas que conducen a una falla en la regulación de la permeabilidad. Los efectos neuromusculares observados son el resultado de una actividad proteolítica general, en lugar de un mecanismo neurotóxico [56]. El veneno de *P. neuwiedii* es altamente proteolítico hacia la azocaseína con una temperatura óptima de 37 °C, pH 8.0, extremadamente activo en gelatina, y mostró una actividad moderada de PLA<sub>2</sub>. El veneno también degrada la cadena Aα del fibrinógeno *in vitro*; carece de actividad coagulante, pero retrasa el tiempo de coagulación durante la recalcificación plasmática [129].

Género *Spilotes*.— Actualmente, no existen reportes de casos de envenenamiento ni de propiedades caracterizadas del veneno de las especies de este género para Colombia. Sin embargo, hay investigaciones recientes que abordan la evolución del veneno *Spilotes sulphureus*. El veneno de *S. sulphureus* fue analizado combinando ensayos con presas específicas de expresión génica del veneno y del fenotipo del veneno [63]. Se identificaron dos neurotoxinas nuevas (3FTx): sulditoxina y sulmotoxina 1, las cuales son las proteínas más abundantes del veneno y expresan toxicidades específicas según el tipo de presa. La sulditoxina es altamente tóxica para lagartijas y no es tóxica para mamíferos, mientras que la sulmotoxina 1 exhibe la tendencia opuesta [63]. Este es también el primer caso en el que se muestra un patrón bimodal y opuesto de toxicidad de toxinas para un veneno en relación con la dieta [63].



**Figura 7.** Ilustraciones de la cabeza de *Tretanorhinus nigroluteus* y *Thamnodynastes dixoni*. (Arriba) Vista lateral de la cabeza de *Tretanorhinus nigroluteus* de la vereda Cacarica, Riosucio, Chocó, Colombia (IAvH-R 2002). (Abajo) Vista lateral de la cabeza de *Thamnodynastes dixoni* de Puerto Carreño, Vichada, Colombia (JDL 31383). Ilustraciones por Oscar A. Ramírez Ruiz.

Género *Tantilla*.— A pesar de la enorme riqueza de especies dentro del género *Tantilla*, solo *T. nigriceps*, una especie distribuida en el sur de Norteamérica, tiene estudios de su veneno. Estos destacan que el género posee un veneno altamente neurotóxico. Sin embargo, su pequeño tamaño y reducida producción de veneno lo hace inocuo para los humanos [37,38]. El transcriptoma de la glándula de veneno de *T. nigriceps* estaba dominado por 3FTxs neurotóxicas (54%) y CRISPs (24%), con proporciones más pequeñas de SVMPS (18%) y CTLs (3%) [52]. La dieta altamente especializada de las especies del género *Tantilla* haría de sus neurotoxinas un modelo idóneo para estudiar la especificidad y evolución de las toxinas.

Género *Thamnodynastes*.— Las especies de serpientes del género *Thamnodynastes* son conocidas por ocasionar envenenamientos con un cuadro clínico que generalmente incluyen síntomas como edema, dolor irradiado, equimosis y hemorragia [46,130,131]. Sin embargo, no había información disponible relacionada con el veneno hasta 2012, cuando Ching et al. [132] publicaron la caracterización proteómica y transcriptómica del veneno de *T. strigatus*. Sus hallazgos revelaron que un nuevo tipo de metaloproteinasas, llamadas svMMP, eran las de toxinas dominante tanto en el proteoma del veneno como en el transcriptoma de la glándula del veneno. Las svMMP representaban el 46% de todo el transcriptoma y el 76% de todas las toxinas

registradas, incluyendo SVMP, CTL, 3FTx, CRISP y otras toxinas menores. Recientemente, un nuevo análisis transcriptómico que incluyó más especies confirmó el predominio de las svMMP en el veneno de este género y mostró que mantienen un perfil altamente proteolítico [42].

**Género *Tretanorhinus*.**— Debido a la escasez de muestras e información disponible para este género, no se ha realizado un solo estudio sobre la composición del veneno de ninguna de las dos especies colombianas. Sin embargo, se ha analizado el transcriptoma de la glándula de Harder de una culebra de pantano cubana (*T. variabilis*). Esta glándula está ubicada detrás del ojo de la serpiente y es proximal a la glándula de Duvernoy. Se hipotetiza que está estrechamente relacionada con la glándula lagrimal, ayudando en la lubricación del ojo, pero también se ha propuesto que cumple otras funciones [67,68,133]. Estas funciones hipotéticas incluyen actuar como una glándula salival accesoria que puede secretar enzimas digestivas o proporcionar una fuente de lubricación. En *T. variabilis*, el perfil de expresión de la glándula de Harder reveló una serie de toxinas putativas, incluidas las SVMP P-III, las CTL y las CRISP, tres de las principales toxinas descritas en otros colúbridos [57]. Estos hallazgos indican que la producción de proteínas similares a toxinas no se limita a la glándula de Duvernoy de los colúbridos, pero no está claro si estas otras glándulas que producen toxinas putativas representan una ventaja trófica.

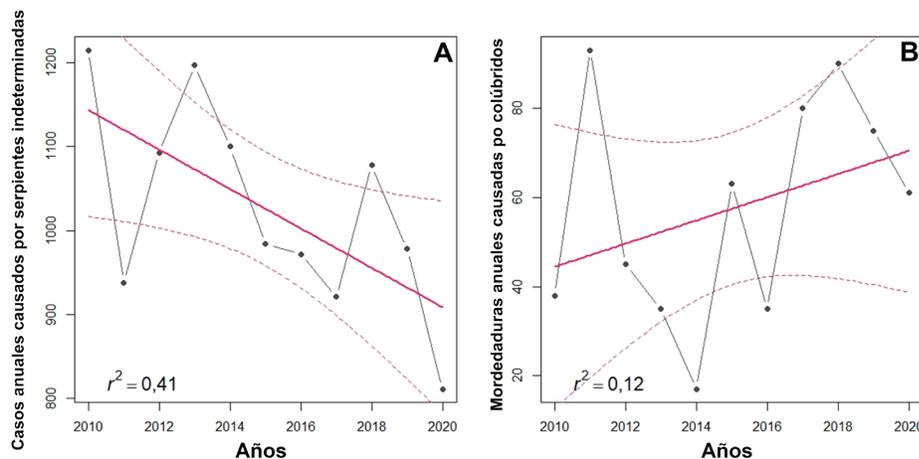
### 3. Epidemiología y manifestaciones clínicas

Los estudios epidemiológicos en todo el mundo han subvalorado el envenenamiento por especies de colúbridos [10,11,35,46,84]. Esto podría estar relacionado con la menor cantidad de mordeduras que involucran colúbridos o la falta de reportes de las mismas, así como con las manifestaciones clínicas relativamente leves causadas por sus venenos [35,44,46,48,51,85,86]. Sin embargo, estos efectos leves pueden provocar la inmovilización parcial o total de las extremidades afectadas, lo que provoca una posible pérdida de la capacidad de trabajo para la víctima (por lo general, un agricultor o un trabajador del campo) [17,36,43,47,50,85].

En Colombia, la incidencia y los registros epidemiológicos de la mordedura de serpiente como métrica de salud pública son proporcionados por el Sistema Nacional de Vigilancia en Salud Pública (SIVIGILA; ver Capítulo 9). El SIVIGILA publica informes anuales con el número total de casos de mordeduras de serpientes que incluyen una gran cantidad de datos que proveen información sobre la identificación de la serpiente involucrada en el accidente. Sin embargo, el proceso de recopilación y análisis de datos involucra la ardua revisión de formularios escritos a mano llenados por médicos de todo el país con diversos grados de información taxonómica disponible. Generalmente, esta complicación captura de forma adecuada la identidad taxonómica de las serpientes que típicamente causan los accidentes ofídicos (p. ej., los géneros *Bothrops*, *Crotalus* y *Micrurus*). Sin embargo, aún existe un sesgo difícil de superar para la mayoría de las especies de colúbridos que generalmente tienen varios nombres comunes que cambian entre diferentes regiones, y abarcan la mayoría de la diversidad de serpientes del país [8,10].

Por lo tanto, la cantidad de serpientes identificadas de forma ambigua o indeterminadas que se informan en esos reportes es generalmente alta, con ~11.280 de los ~49.143 casos entre 2010 y 2020 (~20 % del total de casos). Es probable que esto aumente el sesgo de identificación ya existente que sufren los envenenamientos por colúbridos, ampliando la brecha de relevancia médica entre las serpientes con colmillos delanteros y traseros [10,11].

Afortunadamente, desde 2012, el Instituto Nacional de Salud (INS) realiza campañas para educar sobre la prevención y el manejo de incidentes de mordeduras de serpientes, ayudando a los profesionales médicos a comprender mejor la identificación de serpientes. El impacto positivo de estas iniciativas queda claro al analizar el promedio acumulado de mordeduras de serpientes anuales clasificadas como «indeterminada» en el país (Figura 8).

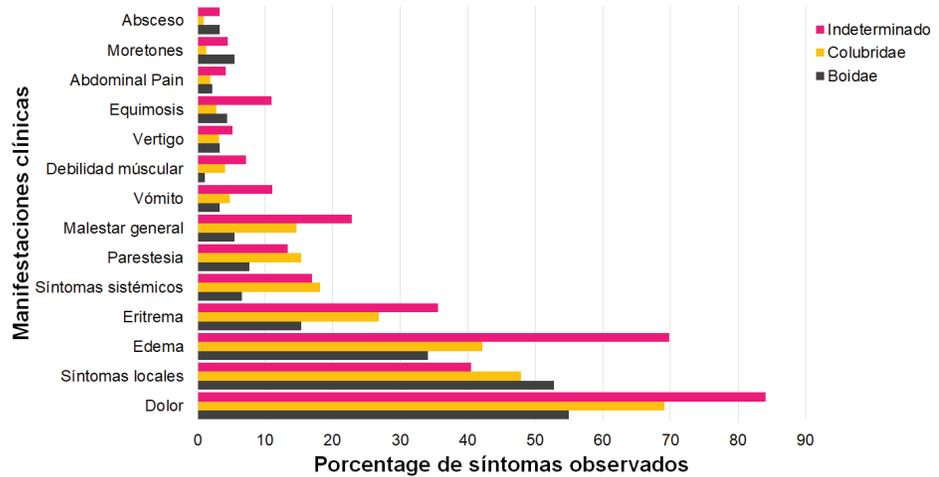


**Figura 8.** Modelos de regresión lineal. (A) Promedio anual acumulado de mordeduras de serpientes clasificadas como «indeterminadas». (B) Promedio anual acumulado de mordeduras de serpientes clasificadas como colúbridos. Estimaciones basadas en el reporte del SIVIGILA (2010-2020). Las líneas grises y los puntos representan la variación anual de los casos de mordeduras de serpientes. La línea rosa continua representa el mejor ajuste del modelo de regresión lineal y las líneas rosa discontinuas muestran el intervalo de confianza del 95 % para el modelo. Los valores de  $r^2$  se muestran en la parte inferior izquierda de cada gráfico.

El número de casos indeterminados muestra una tendencia decreciente en durante el periodo 2010-2020 ( $F = 6,15$ ;  $p = 0,035$ ). Por lo tanto, podríamos esperar un aumento en el número de mordeduras de colúbridos identificadas que antes se consideraban como casos indeterminados. Al analizar las ocurrencias anuales de mordeduras de colúbridos observamos una tendencia creciente. Sin embargo, esta tendencia no es significativa debido a la heterogeneidad de los datos ( $F = 1,19$ ,  $p = 0,30$ ). A pesar de esto, a medida que disminuye el número de casos indeterminados, esperamos ver un aumento en el número de mordeduras de serpientes reportadas que involucran a especies de colúbridos.

Actualmente, hay en promedio 30 casos anuales confirmados de mordeduras de serpientes causadas por especies pertenecientes a las familias Colubridae o Boidae en la base de datos de SIVIGILA (~541 y ~91 respectivamente de 2010-2020). Estos casos tienen un perfil bastante consistente de manifestaciones clínicas (Figura 9). Los cuadros clínicos comúnmente reportados presentan como síntomas locales dolor, edema, eritema; y síntomas sistémicos como parestesia y malestar general.

Además, al comparar estas ocurrencias con el perfil clínico de los casos indeterminados, vemos un perfil similar que podría estar relacionado con la alta proporción de casos relacionados con colúbridos que se etiquetan como indeterminados.



**Figura 9.** Manifestaciones clínicas reportadas en el SIVIGILA para Boidae, Colubridae y casos indeterminados de mordedura de serpiente en Colombia entre 2010 y 2020.

Curiosamente, la base de datos SIVIGILA reporta la aplicación de anti-veneno en algunos casos causados por especies de Colubridae o Boidae (~159 y ~19 respectivamente). Esto es problemático ya que se sabe que las reacciones alérgicas al antiveneno polivalente causan complicaciones médicas [87]. Por lo tanto, la identificación correcta y precisa de la especie que provocó el accidente, es una etapa crucial para garantizar la seguridad del paciente. Incrementar el porcentaje de identificación correcta de especies de serpientes sin colmillos frontales es clave para obtener un panorama completo de la verdadera relevancia epidemiológica de las mordeduras de serpientes en el país.

En general, el manejo de la incidencia de mordeduras de serpientes en Colombia ha mejorado en la última década, aunque persisten algunos desafíos. Existe una necesidad urgente de aumentar el porcentaje de identificación precisa de la identidad taxonómica de las serpientes involucradas en el accidente; se requiere implementar un sistema más eficiente para recopilar y organizar toda la información clínica de cada caso de mordedura. Además, los colúbridos y otros grupos de serpientes sin colmillos frontales deben recibir una mayor relevancia en los estudios y cursos clínicos para disminuir el número de incidentes de mordeduras de serpientes indeterminadas y garantizar que cada caso de mordedura de serpiente se trate correctamente.

#### **4. El potencial biológico sin explotar de los «colúbridos»**

Históricamente, los venenos de serpiente han sido una fuente de nuevos tipos de proteínas con funciones evolutivamente intrigantes y farmacológicamente aplicables [86–88] (ver Capítulo 10). Sin embargo, como se discutió anteriormente, gran parte de las investigaciones sobre la diversi-

dad de venenos se ha centrado en víboras y elápidos, dejando de lado a la mayoría de las especies productoras de veneno [11,39]. Afortunadamente, en los últimos años, ha habido avances trascendentes en nuestro conocimiento sobre la composición del veneno de los colúbridos, revelando una diversidad de toxinas de magnitud similar a la de las serpientes con colmillos frontales [11,42,73]. En esta sección presentaremos las principales aplicaciones directas e indirectas de los venenos de colúbridos, ejemplificando por qué representan un modelo biológico interesante tanto para estudios evolutivos como farmacológicos.

#### **4.1 Los venenos de colúbridos como herramienta para comprender los procesos evolutivos**

El veneno de serpiente es una adaptación trófica que está directamente relacionada con la capacidad de caza y alimentación efectiva, ya que el veneno ayuda a paralizar y matar a las presas [63]. Por lo tanto, la composición y función del veneno están bajo una fuerte presión selectiva y solo pueden variar entre estrechos umbrales óptimos [91]. Además, los genes que controlan las toxinas generalmente se reclutan en la glándula venenosa a través de un proceso conocido como duplicación génica, el cual permite una rápida diversificación haplotipos a medida que las nuevas copias de genes escapan de las restricciones selectivas y tienen la libertad de mutar [42,79,83,92].

Por lo tanto, las toxinas del veneno de serpiente muestran un amplio espectro de diversas funciones y dianas moleculares contenidos dentro de unos pocos tipos de estructura conservadas [62,76,77,91,93]. Estas peculiaridades los han convertido en modelos interesantes para estudiar la convergencia fenotípica, el reclutamiento y la cooptación de genes, las relaciones depredador-presa y muchos otros fenómenos evolutivos [29,42,76,83,93].

Los venenos de serpiente están dominados por un número relativamente pequeño de familias de proteínas, siendo las SVMP, PLA<sub>2</sub>, 3FTx y SVSP las principales familias que componen los perfiles de composición óptimos. Sin embargo, los estudios en torno a la composición de los venenos cuentan con muy pocos datos de especies de colúbridos [11,91]. Sin embargo, los escasos venenos de colúbridos que se han estudiado a fondo han revelado la aparición de nuevos tipos de toxinas que probablemente representen eventos de reclutamiento génico exclusivos de este grupo de serpientes [42].

Estudios recientes de venenos de colúbridos han detectado la aparición, convergencia fenotípica y el reclutamiento de nuevas familias de genes en su repertorio de venenos. Por ejemplo, hace poco se descubrió que las metaloproteinasas de la matriz del veneno de serpiente (svMMP) son una clase de toxina importante en tres tribus de la subfamilia Dipsadinae, reemplazando a las SVMP como las principales toxinas proteolíticas en Xenodontini, Tachymenini y Conophiini [42]. Esta clase de toxina fue reclutada de forma independiente en cada una de las tribus y represen-

ta un curioso evento de convergencia entre ellas. Además, estas toxinas proteolíticas recientemente descubiertas evolucionaron hacia estructuras simplificadas que se asemejan a las SVMP de las víboras, y se cree que poseen capacidades proteolíticas similares [42,56,76,77,94] (ver Capítulo 5). Los ejemplos de retención de un rasgo fenotípico reclutando nuevos genes en un tejido son escasos [42,83], pero los venenos de serpiente, como un rasgo multifactorial determinado por múltiples proteínas con funciones superpuestas y sinérgicas, componen un modelo ideal para estudiar estos complejos eventos evolutivos.

Como una adaptación trófica, los venenos de serpiente son una herramienta útil para comprender las relaciones depredador-presa, así como las adaptaciones de las especies en entornos cambiantes. Esto es especialmente cierto para las hipótesis evolutivas como la hipótesis de «La reina roja» propuesta por Leigh Van Valen, en la que el depredador y la presa están en una carrera armamentista constante para superarse [95,96]. En este ejemplo, las serpientes venenosas desarrollarían toxinas más específicas y potentes hacia sus presas, mientras que sus presas desarrollarían mecanismos de resistencia o comportamientos específicos para evitar ser depredadas.

Existen varios ejemplos de resistencia/especificidad de toxinas para venenos de serpientes con colmillos frontales, que involucran toxinas proteolíticas y neurotóxicas. Los mecanismos de resistencia al veneno generalmente están mediados por factores séricos circulantes o por cambios adaptativos en las moléculas diana del veneno [97-99]. Un ejemplo clásico de los factores séricos circulantes son los homólogos de la glicoproteína  $\alpha 1B$  que se encuentran en las mangostas y las zarigüeyas que inhiben las SVMP o  $PLA_2$  miotóxicas [98].

La resistencia a las toxinas neurotóxicas generalmente implica modificaciones de residuos en los receptores nicotínicos colinérgicos musculares (nAChR) que son el objetivo de las  $\alpha$ -neurotoxinas. Estos mecanismos se han estudiado principalmente en serpientes con colmillos frontales, lo que transforma a los colúbridos en un modelo novedoso y sobresaliente para explorar la resistencia y la especificidad de las toxinas [99].

Ya se ha demostrado que varias especies de colúbridos poseen venenos con neurotoxinas altamente específicas que exhiben una potencia variable hacia diferentes presas [29,55]. Sin embargo, estos estudios solo se han realizado en un número limitado de géneros y las implicaciones evolutivas de la especificidad/resistencia al veneno de los colúbridos aún no se han revelado.

En general, los venenos de colúbridos representan una fuente interesante para buscar nuevos tipos de proteínas y estudiar procesos evolutivos que son poco conocidos. Se necesita una mayor cantidad de datos relacionados con el veneno para comprender verdaderamente los mecanismos que dan forma a la composición, función y evolución del veneno en este grupo de serpientes extremadamente diverso.

## 4.2 Venenos de colúbridos y aplicaciones farmacológicas

La investigación actual que se centra en los venenos de las serpientes opistoglifas aún es incipiente en comparación con la cantidad de trabajos que describen la composición y la diversidad biológica de los venenos de serpientes con colmillos delanteros (ver Capítulos 5 y 10). Por lo tanto, la cantidad de toxinas completamente caracterizadas de venenos de colúbridos es muy baja [11]. La transición desde el descubrimiento/caracterización de la toxina hasta el desarrollo de un posible agente terapéutico es un proceso muy complejo [88,90]. Históricamente, el estudio de los venenos ha representado una fuente significativa de proteínas y péptidos con un notable potencial de aplicación en diversos campos biomédicos y farmacológicos (ver Capítulo 10). Por lo tanto, hay varios compuestos terapéuticos en circulación y/o en ensayos clínicos utilizados en humanos que se han diseñado y desarrollado con éxito a partir de venenos de animales [88,90,100-102].

Teniendo en cuenta que los venenos de serpientes con colmillos traseros contienen una gran cantidad de proteínas y péptidos diferentes con actividades biológicas complejas y potentes que se asemejan a las que se encuentran en víboras y elápidos, éstos representan una nueva fuente de moléculas potencialmente bioactivas [28,37,39-41]. La implementación de nuevos métodos de extracción, la mejora de los ensayos metodológicos y el creciente interés en estos venenos han resultado en una mejor comprensión de sus moléculas y las actividades biológicas complejas, únicas y nuevas que poseen [11,40,103].

La enorme diversidad taxonómica de los colúbridos ha dado como resultado una gran variedad de perfiles de composición y funcionalidad del veneno, como se describió anteriormente en este capítulo. Todos estos factores establecen un enorme potencial para el descubrimiento de nuevas familias de proteínas o efectos biológicos mejorados de algunos compuestos en términos de potencia o eficacia, siendo modelos promisorios para el diseño y desarrollo de nuevos fármacos [10,40,103].

La investigación sobre los venenos de serpientes con colmillos traseros ha revelado una variedad compleja de actividades biológicas y patrones de composición. Sin embargo, las actividades más ubicuas y comúnmente estudiadas en los venenos de colúbridos son la actividad proteolítica que provoca hemorragia y trastornos de la coagulación, y las actividades miotóxicas y edematogénicas que se asemejan a los efectos observados en los venenos de *Bothrops* [32-34,42,53]. Además, algunas familias de proteínas como las SVMP y PLA<sub>2</sub> encontradas en venenos de colúbridos muestran diferentes potencias tóxicas y enzimáticas en comparación con las encontradas en especies de vipéridos [32,34]. Estas diferencias funcionales, así como las toxicidades específicas de las presas, podrían ser enfoques interesantes para futuras investigaciones en busca de compuestos con potencial terapéutico [33,56].

La presencia de estructuras conservadas en toxinas comunes, como las proteínas CRISP, ampliamente distribuidas entre las serpientes vene-

nosos, junto con proteínas no enzimáticas que exhiben múltiples actividades farmacológicas, otorga a los venenos de los colúbridos un conjunto de propiedades biológicas diversas y, en muchos casos, aún no caracterizadas, lo que los posiciona como un área de investigación prometedora para su estudio y exploración científica [11,32,37,39]. Un buen ejemplo de esto es la patagonina, una CRISP aislada del veneno de *Philodryas patagoniensis* que muestra actividad antibacteriana en concentraciones muy bajas sin signos de actividad citotóxica [104,105].

Otro hallazgo muy interesante que resalta la investigación sobre los venenos de colúbridos como una gran fuente de descubrimientos potenciales es la presencia de toxinas únicas y putativas en estos venenos [11,32,33,42]. La presencia de estas familias de proteínas únicas proporciona diferentes enfoques de investigación para descubrir el papel y las actividades biológicas de estas toxinas, como posibles nuevos mecanismos fisiológicos, dianas farmacológicas con potencial terapéutico.

Por otro lado, la diversidad de hábitats, dietas y comportamientos encontrados en los colúbridos colombianos podría traducirse en la presencia de toxinas con estructuras drásticamente diferentes a las de los venenos de elápidos y vipéridos. Sin embargo, la falta de datos relacionados con el veneno ha dificultado el avance de los estudios que revelan las aplicaciones farmacológicas y funcionales de los venenos de colúbridos. El avance y desarrollo de nuevos métodos y herramientas para la investigación de estos venenos representa una gran oportunidad para comprender mejor las implicaciones biológicas de estas toxinas y proporcionar información valiosa para posibles futuros descubrimientos de fármacos novedosos.

## 5. La perspectiva colombiana

Durante las últimas décadas ha florecido un interés por la investigación centrada en los venenos y los casos de envenenamiento por colúbridos. La implementación de nuevos métodos de extracción de veneno, incluidos protocolos manuales y farmacológicos, ha dado como resultado mayores rendimientos de veneno. Esto ha facilitado el desarrollo de mejores metodologías transcriptómicas y proteómicas que aumentan nuestra comprensión sobre la composición y propiedades biológicas de las toxinas de colúbridos utilizando pequeñas cantidades de veneno [11,37–40].

El conocimiento sobre estos venenos obtenido durante los últimos años y la conciencia de los peligros potenciales que representan algunas especies de colúbridos en todo el mundo ha llevado a la implementación de diferentes estrategias para registrar y controlar los casos de envenenamiento que ocurren con estas especies [134,135]. Estas estrategias se enfocan en involucrar a las comunidades para aumentar su conciencia ambiental, asegurar la disponibilidad de tratamientos médicos eficientes y específicos, fortalecer el sistema de salud y establecer alianzas interdisciplinarias entre los sectores público y privado. En muchos países, se

alienta a las instituciones a desarrollar medidas de seguridad para manejar los accidentes que involucren a estas especies, y de esta manera, lograr una identificación taxonómica más rápida y precisa en eventuales casos de envenenamiento [135]. En Brasil, por ejemplo, las mordeduras de colúbridos representan un problema de salud colectivo con muchos casos reportados por año, lo que ha conllevado un mayor grado de conciencia de que algunas serpientes, antes consideradas inofensivas, podrían ser de importancia médica [35,45,49].

En Colombia existen alrededor de ~340 especies de serpientes y el 18% (~20 vipéridos y ~29 elápidos) representan especies de interés médico [8,136,137]. La familia Colubridae contiene la mayoría de las especies de serpientes que se encuentran en el país (~270 especies) y muchas de estas poseen una dentición opistoglifa (dientes maxilares posteriores acanalados agrandados) conectados a la glándula venenosa de Duvernoy que las convierte en un peligro potencial para los humanos [17,36].

Sin embargo, este grupo de serpientes no cuenta con el interés médico ni epidemiológico en Colombia. La falta de capacidad para identificar estas especies por parte de la comunidad en general y el personal médico, así como las deficiencias en el sistema de vigilancia, son las principales limitaciones que enfrentan las mordeduras de serpientes causadas por colúbridos [10]. Una mejor vigilancia y comprensión de estos casos conduciría a mejorar el tratamiento de los pacientes, y evitaría algunas prácticas inadecuadas o innecesarias como la aplicación de antiofídicos desarrollados para atender los accidentes botrópicos o elapídicos en pacientes mordidos por colúbridos.

Debido al bajo interés médico por estas especies y sus venenos, también existe una gran brecha de conocimiento y una falta de información sobre las propiedades biológicas y de composición de los venenos de las especies de colúbridos colombianos [33,56]. La relevancia de la investigación toxinológica de este grupo radica en la gran diversidad de nuevas proteínas/toxinas familiares y funciones biológicas que también representan una gran fuente de recursos para la bioprospección y los enfoques evolutivos/filogenéticos [32,34].

Es necesario incluir a estas especies en los programas de ofidismo en Colombia. También deben incluirse en las estrategias de vigilancia epidemiológica. Esto conducirá al establecimiento de medidas y protocolos de seguridad para el mantenimiento de colúbridos en cautiverio y a un mejor sistema de notificación y registro de accidentes que incluyan a estas especies. Junto con estos datos, los estudios epidemiológicos regionales de estos accidentes ayudarían a identificar las comunidades más afectadas y la implementación de programas educativos que aumenten la conciencia médica sobre estas especies. Finalmente, estos enfoques darán como resultado un mayor interés de los grupos de investigación por abordar estos venenos y llevar a cabo proyectos interdisciplinarios para comprender la composición, evolución y mecanismos de acción de estos.

## Apéndice A: Material y Métodos

Los métodos de búsqueda para identificar investigaciones relacionadas con los venenos de los colúbridos se basaron en búsquedas semanales de enero de 2022 a junio de 2024. Las búsquedas se realizaron de la siguiente manera:

1. Búsquedas semanales de Google Scholar
2. Búsquedas semanales de Scielo;
3. Búsquedas semanales de Scopus.

Las estrategias de búsqueda contenían las siguientes palabras clave y se combinaron de diferentes formas utilizando los conectores booleanos AND y OR: snake venoms, colubrid, Colubridae, Dipsadidae, *Xenodon*, *Lep-tophis*, *Erythrolamprus*, *Oxybelis*, *Helicops*, *Thamnodynastes*, *Leptodeira*, *Philodryas*, *Pseudoboa*, *Tantilla*, *Spilotes*, *Rhinobothryum*, *Tretanorhinus*, *Oxyrhopus*, *Lygophis*, transcriptome, proteome, evolution, epidemiology, pharmacology y drug development.

Para comparar la relación entre diferentes clases de toxinas venenosas en colúbridos, recuperamos datos de expresión de toxinas relevantes en trabajos publicados con especies de colúbridos (tanto proteómicos como transcriptómicos) [29,42,52,54,55,57,132]. Transformamos los datos en porcentajes para obtener valores comparables para las proporciones de cada clase de toxina. Los venenos se consideraron neurotóxicos o proteolíticos si >30% de las toxinas identificadas estaban vinculadas a esas actividades. Realizamos un análisis de reconstrucción del estado ancestral utilizando los parámetros predeterminados de la función fastAnc implementada en el paquete Phytools [138] en el software R utilizando la filogenia propuesta por Zaher et al. [9] para estimar la longitud de las ramas usando *Micrurus corallinus* y *Bothrops jararaca* como nuestros grupos externos.

Luego, construimos un árbol usando la función contMap en Phytools para representar la variación continua en las proporciones de toxinas para cada nodo usando un gradiente de color. Los datos de composición de *Micrurus* y *Bothrops* se obtuvieron de investigaciones previas [80,81]. Como estos datos se obtuvieron de varias investigaciones que implementaron diferentes metodologías, algunas de las cuales carecían de confirmación proteómica de las toxinas reportadas, nuestras comparaciones son meramente cualitativas y deben interpretarse con prudencia. Se necesita un conjunto de datos construido con más detalle para construir una visión sólida de la variación del veneno entre los colúbridos.

Los datos epidemiológicos se obtuvieron de la revisión manual de los informes del Sistema Nacional de Vigilancia en Salud Pública (SIVIGILA). En todos los casos se revisaron los casos anuales, las manifestaciones clínicas, la identificación de especies y el uso de antiveneno. Se consideró que una especie estaba identificada correctamente cuando el informe incluía su nombre científico completo o un nombre común suficientemente específico que permitiera clasificar a nivel de familia. Los casos anuales se graficaron usando el paquete PlotR desarrollado por Guisande-González [139], y los modelos de regresión lineal se realizaron siguiendo los procedimientos descritos por Guisande-González et al. [140].

## Referencias

1. Mackessy, S.P. *Handbook of Venoms and Toxins of Reptiles.*; 1st ed.; CRC Press: Boca Raton, **2021**.
2. Junqueira-De-Azevedo, I.L.M.; Bastos, C.M.V.; Ho, P.L.; Luna, M.S.; Yamanouye, N.; Casewell, N.R. Venom-Related Transcripts from *Bothrops jararaca* Tissues Provide Novel Molecular Insights into the Production and Evolution of Snake Venom. *Mol. Biol. Evol.* **2015**, *32*, 754–766, doi:10.1093/molbev/msu337.
3. Lomonte, B.; Rey-Suárez, P.; Fernández, J.; Sasa, M.; Pla, D.; Vargas, N.; Bénard-Valle, M.; Sanz, L.; Corrêa-Netto, C.; Núñez, V.; et al. Venoms of *Micrurus* Coral Snakes: Evolutionary Trends in Compositional Patterns Emerging from Proteomic Analyses. *Toxicon* **2016**, *122*, 7–25.
4. Bucarechi, F.; De Capitani, E.M.; Vieira, R.J.; Rodrigues, C.K.; Zannin, M.; Da Silva, N.J.; Casais-e-Silva, L.L.; Hyslop, S. Coral Snake Bites (*Micrurus* spp.) in Brazil: A Review of Literature Reports. *Clin. Toxicol.* **2016**, *54*, 222–234.
5. Oliveira, F.N.; Brito, M.T.; de Moraes, I.C.O.; Fook, S.M.L.; de Albuquerque, H.N. Accidents Caused by *Bothrops* and *Bothropoides* in the State of Paraíba: Epidemiological and Clinical Aspects. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* **2010**, *43*, 662–667, doi:10.1590/S0037-86822010000600012.
6. Kularatne, S.A.M.; Budagoda, B.D.S.S.; Gawarammana, I.B.; Kularatne, W.K.S. Epidemiology, Clinical Profile and Management Issues of Cobra (*Naja Naja*) Bites in Sri Lanka: First Authenticated Case Series. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **2009**, *103*, 924–930, doi:10.1016/J.TRSTMH.2009.04.002.
7. Otero-Patiño, R. Epidemiological, Clinical and Therapeutic Aspects of *Bothrops asper* Bites. *Toxicon* **2009**, *54*, 998–1011, doi:10.1016/j.toxicon.2009.07.001.
8. Uetz, P.; Freed, P.; Hošek, J. The Reptile Database Available online: <https://reptile-database.reptarium.cz/> (accessed on 23 January 2024).
9. Zaher H, Murphy RW, Arredondo JC, Graboski R, Machado-Filho PR, Mahlow K, et al. Largescale molecular phylogeny, morphology, divergence-time estimation, and the fossil record of advanced caenophidian snakes (Squamata: Serpentes). *PLoS ONE* (2019) 14(5): e0216148. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0216148> PMID: 31075128
10. Peñuela-Gómez, S.M. El Abandono En La Investigación Toxinológica de Los Colúbridos Opistoglifos. *Mem. Conf. Interna Med. Aprovech. Fauna Silv. Exót. Conv.* **2010**, *0*, 24–26.
11. Junqueira-de-Azevedo, I.L.M.; Campos, P.F.; Ching, A.T.C.; Mackessy, S.P. Colubrid Venom Composition: An -Omics Perspective. *Toxins (Basel)*. **2016**, *8*, 1–24, doi:10.3390/toxins8080230.
12. Campbell, J.A.; Lamar, W.W.; Brodie, E.D.; others *The Venomous Reptiles of the Western Hemisphere*; Comstock Pub. Associates Ithaca [NY], **2004**; Vol. 1.
13. Kardong, K. V The Evolution of the Venom Apparatus in Snakes From Colubrids To Viperids & Elapids. *Mem. Inst. Butantan* **1982**, *4*, 106–118.
14. Kardong, K. V Colubrid Snakes and Duvernoy's "Venom" Glands. *J. Toxicol. - Toxin Rev.* **2002**, *21*, 1–19, doi:10.1081/TXR-120004739.
15. Jackson, T.N.W.; Young, B.; Underwood, G.; McCarthy, C.J.; Kochva, E.; Vidal, N.; van der Weerd, L.; Nabuurs, R.; Dobson, J.; Whitehead,

- D.; et al. Endless Forms Most Beautiful: The Evolution of Ophidian Oral Glands, Including the Venom System, and the Use of Appropriate Terminology for Homologous Structures. *Zoomorphology* **2016**, *136*, 107–130, doi:10.1007/S00435-016-0332-9.
16. de Oliveira, L.; Jared, C.; da Costa Prudente, A.L.; Zaher, H.; Antoniazzi, M.M. Oral Glands in Dipsadine “Goo-Eater” Snakes: Morphology and Histochemistry of the Infralabial Glands in *Atractus reticulatus*, *Dipsas indica*, and *Sibynomorphus mikanii*. *Toxicon* **2008**, *51*, 898–913, doi:10.1016/J.TOXICON.2007.12.021.
  17. Weinstein, S.A.; Warrell, D.A.; White, J.; Keyler, D.E. “Venomous? Bites from Non-Venomous Snakes: A Critical Analysis of Risk and Management of “Colubrid? Snake Bites (Livre Numérique Google). **2011**, 364.
  18. Gaiarsa, M.P.; de Alencar, L.R. V; Martins, M. Natural History of Pseudoboine Snakes. *Pap. Avulsos Zool.* **2013**, *53*, 261–283, doi:10.1590/S0031-10492013001900001.
  19. Giraud, A.R.; Arzamendia, V.; Bellini, G.P.; Bessa, C.A.; Costanzo, M.B. Ecología de Una Gran Serpiente Sudamericana, *Hydrodynastes gigas* (Serpentes: Dipsadidae). *Rev. Mex. Biodivers.* **2014**, *85*, 1206–1216, doi:10.7550/rmb.43765.
  20. Todd, B.D.; Willson, J.D.; Winne, C.T.; Semlitsch, R.D.; Gibbons, J.W. Ecology of the Southeastern Crowned Snake, *Tantilla coronata*. *Copeia* **2008** (2), 388–394, (2008). doi:10.1643/CE-06-289.
  21. Marques, O.A. V; Muniz-Da-Silva, D.F.; Barbo, F.E.; Cardoso, S.R.T.; Maia, D.C.; Almeida-Santos, S.M. Ecology of the Colubrid Snake *Spilotes pullatus* from the Atlantic Forest of Southeastern Brazil. *Herpetologica* **2014**, *70*, 407–416, doi:10.1655/HERPETOLOGICA-D-14-00012.
  22. Corrêa, D.N. Ecologia Alimentar Das Serpentes Semi-Aquáticas *Erythrolamprus jaegeri jaegeri* (Günther, 1858) e *Erythrolamprus poecilogyrus sublineatus* (Cope, 1860) (Serpentes , Dipsadidae) Na Região Costeira Do Extremo Sul Do Brasil. *An. Acad. Bras. Ciênc.* **2016**, *88*, (1), 293–308, <https://doi.org/10.1590/0001-3765201520140570>
  23. Barbo, F.E.; Marques, O.A. V; Sawaya, R.J. Diversity, Natural History, and Distribution of Snakes in the Municipality of São Paulo. *South Am. J. Herpetol.* **2011**, *6*, 135–160, doi:10.2994/057.006.0301.
  24. Alencar, L.R. V; Gaiarsa, M.P.; Martins, M. The Evolution of Diet and Microhabitat Use in Pseudoboine Snakes. *S Am J Herpetol* **2013**, *8*, 60–66, doi:10.2994/SAJH-D-13-00005.1.
  25. de Aguiar, L.F.S.; Di-Bernardo, M. Diet and Feeding Behavior of *Helicops infrataeniatus* (Serpentes: Colubridae: Xenodontinae) in Southern Brazil. *Stud. Neotrop. Fauna Environ* **2010**, *39*, 7–14, doi:10.1080/01650520412331270927.
  26. Serna-Botero, V.; Marín-Martínez, M.; Velásquez-Guarín, D.; Ramírez-Chaves, H.E. Boyacá Spiny Rat, *Proechimys chrysaolus* (Mammalia: Echimyidae), a New Prey Item of the Banded Calico Snake, *Oxyrhopus petolarius* (Reptilia: Dipsadidae). *Herpetol. Notes* **2019**, *12*, 651–653.
  27. Henderson, R.W. Trophic Relationships and Foraging Strategies of Some New World Tree Snakes (*Leptophis*, *Oxybelis*, *Uromacer*). *Am-*

- phibia-Reptilia* **1982**, 3, 71–80, doi:10.1163/156853882X00185.
28. Modahl, C.M.; Mackessy, S.P. Venoms of Rear-Fanged Snakes: New Proteins and Novel Activities. *Front. Ecol. Evol.* **2019**, 7, 1–18, doi:10.3389/fevo.2019.00279.
  29. Modahl, C.M.; Mrinalini; Fietze, S.; Mackessy, S.P. Adaptive Evolution of Distinct Prey-Specific Toxin Genes in Rear-Fanged Snake Venom. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* **2018**, 285, doi:10.1098/rspb.2018.1003.
  30. Sánchez, M.N.; Teibler, G.P.; López, C.A.; Mackessy, S.P.; Peichoto, M.E. Assessment of the Potential Toxicological Hazard of the Green Parrot Snake (*Leptophis ahaetulla marginatus*): Characterization of Its Venom and Venom-Delivery System. *Toxicon* **2018**, 148, 202–212, doi:10.1016/j.toxicon.2018.04.027.
  31. Sánchez, M.N.; Teibler, G.P.; Sciani, J.M.; Casafús, M.G.; Maruñak, S.L.; Mackessy, S.P.; Peichoto, M.E. Unveiling Toxicological Aspects of Venom from the Aesculapian False Coral Snake *Erythrolamprus aesculapii*. *Toxicon* **2019**, 164, 71–81, doi:10.1016/j.toxicon.2019.04.007.
  32. Torres-Bonilla, K.A.; Andrade-Silva, D.; Serrano, S.M.T.; Hyslop, S. Biochemical Characterization of Venom from *Pseudoboa neuwiedii* (Neuwied's False Boa; Xenodontinae; Pseudoboini). *Comp. Biochem. Physiol. Part C Toxicol. Pharmacol.* **2018**, 213, 27–38, doi:10.1016/J.CBPC.2018.06.003.
  33. Torres-Bonilla, K.A.; Schezaro-Ramos, R.; Floriano, R.S.; Rodrigues-Simioni, L.; Bernal-Bautista, M.H.; Alice da Cruz-Höfling, M. Biological Activities of *Leptodeira annulata* (Banded Cat-Eyed Snake) Venom on Vertebrate Neuromuscular Preparations. *Toxicon* **2016**, 119, 345–351, doi:10.1016/j.toxicon.2016.07.004.
  34. Torres-Bonilla, K.A.; Panunto, P.C.; Pereira, B.B.; Zambrano, D.F.; Herrán-Medina, J.; Bernal, M.H.; Hyslop, S. Toxinological Characterization of Venom from *Leptodeira annulata* (Banded Cat-Eyed Snake; Dipsadidae, Imantodini). *Biochimie* **2020**, 174, 171–188, doi:10.1016/J.BIOCHI.2020.04.006.
  35. Salomão, M.D.G.; Albolea, A.B.P.; Almeida Santos, S.M. Colubrid Snakebite: A Public Health Problem in Brazil. *Herpetol. Rev.* **2003**, 34, 307–312.
  36. Angarita-Sierra, T.; Montañez-Méndez, A.; Toro-Sánchez, T.; Rodríguez-Vargas, A.; Angarita-Sierra, T.; Montañez-Méndez, A.; Toro-Sánchez, T.; Rodríguez-Vargas, A. A Case of Envenomation by the False Fer-de-Lance Snake *Leptodeira annulata* (Linnaeus, 1758) in the Department of La Guajira, Colombia. *Biomedica* **2020**, 40, 20–26, doi:10.7705/biomedica.4773.
  37. Hill, R.E.; Mackessy, S.P. Characterization of Venom (Duvernoy's Secretion) from Twelve Species of Colubrid Snakes and Partial Sequence of Four Venom Proteins. *Toxicon* **2000**, 38, 1663–1687, doi:10.1016/S0041-0101(00)00091-X.
  38. Hill, R.E.; Mackessy, S.P. Venom Yields from Several Species of Colubrid Snakes and Differential Effects of Ketamine. *Toxicon* **1997**, 35, 671–678, doi:10.1016/S0041-0101(96)00174-2.
  39. Mackessy, S.P. Biochemistry And Pharmacology Of Colubrid Snake Venoms. *J. Toxicol. Toxin Rev.* **2002**, 21, 43–83, doi:10.1081/TXR-120004741.
  40. Modahl, C.M.; Saviola, A.J.; Mackessy, S.P. Venom Genomics and Proteomics. *Venom Genomics and Proteomics* **2016**, 51–79, doi:10.1007/978-94-007-6416-3.

41. Peichoto, M.E.; Tavares, F.L.; Santoro, M.L.; MacKessy, S.P. Venom Proteomes of South and North American Opisthoglyphous (Colubridae and Dipsadidae) Snake Species: A Preliminary Approach to Understanding Their Biological Roles. *Comp. Biochem. Physiol. - Part D Genomics Proteomics* **2012**, *7*, 361–369, doi:10.1016/j.cbd.2012.08.001.
42. Bayona-Serrano, J.D.; Viala, V.L.; Rautsaw, R.M.; Schramer, T.D.; Barros-Carvalho, G.A.; Nishiyama, M.Y.; Freitas-de-Sousa, L.A.; Moura-da-Silva, A.M.; Parkinson, C.L.; Graziotin, F.G.; et al. Replacement and Parallel Simplification of Nonhomologous Proteinases Maintain Venom Phenotypes in Rear-Fanged Snakes. *Mol. Biol. Evol.* **2020**, *37*, 3563–3575, doi:10.1093/MOLBEV/MSAA192.
43. Medeiros, C.R. de; Souza, S.N. de; Silva, M.C. da; Ventura, J. de S.; Piorelli, R. de O.; Puerto, G. Bites by Tomodon Dorsatus (Serpentes, Dipsadidae): Clinical and Epidemiological Study of 86 Cases. *Toxicon* **2019**, *162*, 40–45, doi:10.1016/j.toxicon.2019.03.005.
44. Diaz, F.; Navarrete, L.F.; Pefaur, J.; Rodriguez-Acosta, A. Envenomation by Neotropical Opisthoglyphous Colubrid *Thamnodynastes cf. pallidus* Linné, 1758 (Serpentes:Colubridae) in Venezuela. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo* **2004**, *46*, 287–290, doi:10.1590/S0036-46652004000500011.
45. Prado-Franceschi, J.; Hyslop, S. South American Colubrid Envenomations. *J. Toxicol. - Toxin Rev.* **2002**, *21*, 117–158.
46. Rebelato, M.M.; Ferri, V.Y.K.; Dalmolin, D.A.; Tozetti, A.M.; Verrastro, L. Envenomation by Opisthoglyphous Snake *Thamnodynastes hypoconia* (Cope, 1860) (Dipsadinae: Tachymenini) in Southern Brazil. *Toxicon* **2021**, *189*, 1–6, doi:10.1016/J.TOXICON.2020.10.022.
47. Gutiérrez, J.M.; Sasa, M. Bites and Envenomations by Colubrid Snakes in Mexico and Central America. *J. Toxicol. - Toxin Rev.* **2002**, *21*, 105–115, doi:10.1081/TXR-120004743.
48. Menegucci, R.C.; Bernarde, P.S.; Monteiro, W.M.; Bisneto, P.F.; Martins, M. Envenomation by an Opisthoglyphous Snake, *Erythrolamprus aesculapii* (Dipsadidae), in Southeastern Brazil. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* **2019**, *52*, 0–2, doi:10.1590/0037-8682-0055-2019.
49. de Medeiros, C.R.; Hess, P.L.; Nicoletti, A.F.; Sueiro, L.R.; Duarte, M.R.; de Almeida-Santos, S.M.; França, F.O.S. Bites by the Colubrid Snake *Philodryas patagoniensis*: A Clinical and Epidemiological Study of 297 Cases. *Toxicon* **2010**, *56*, 1018–1024, doi:10.1016/j.toxicon.2010.07.006.
50. Oliveira, J.S.; Sant'Anna, L.B.; Oliveira Junior, M.C.; Souza, P.R.M.; Andrade Souza, A.S.; Ribeiro, W.; Vieira, R.P.; Hyslop, S.; Cogo, J.C. Local and Hematological Alterations Induced by *Philodryas olfersii* Snake Venom in Mice. *Toxicon* **2017**, *132*, 9–17, doi:10.1016/j.toxicon.2017.03.013.
51. Silva, K.V.; Said, R. do C.; Assy, J.G.P.L.; Duarte, M.R.; Torrez, P.P.Q.; França, F.O. de S. A Case of Envenomation Caused by *Oxybelis fulgidus* (Serpentes, Colubridae) in Brazilian Amazon. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* **2019**, *52*, doi:10.1590/0037-8682-0426-2018.
52. Hofmann, E.P.; Rautsaw, R.M.; Mason, A.J.; Strickland, J.L.; Parkinson, C.L. Duvernoy's Gland Transcriptomics of the Plains Black-Headed Snake, *Tantilla nigriceps* (Squamata, Colubridae): Unearthing the Venom of Small Rear-Fanged Snakes. *Toxins*, **2021**, *13*, 336, doi:10.3390/TOXINS13050336.

53. Ching, A.T.C.; Paes Leme, A.F.; Zelanis, A.; Rocha, M.M.T.; Furtado, M.D.F.D.; Silva, D.A.; Trugilho, M.R.O.; Da Rocha, S.L.G.; Perales, J.; Ho, P.L.; et al. Venomics Profiling of *Thamnodynastes strigatus* Unveils Matrix Metalloproteinases and Other Novel Proteins Recruited to the Toxin Arsenal of Rear-Fanged Snakes. *J. Proteome Res.* **2012**, *11*, 1152–1162, doi:10.1021/pr200876c.
54. Ching, A.T.C.; Rocha, M.M.T.; Paes Leme, A.F.; Pimenta, D.C.; de Fátima D. Furtado, M.; Serrano, S.M.T.; Ho, P.L.; Junqueira-de-Azevedo, I.L.M. Some Aspects of the Venom Proteome of the Colubridae Snake *Philodryas olfersii* Revealed from a Duvernoy's (Venom) Gland Transcriptome. *FEBS Lett.* **2006**, *580*, 4417–4422, doi:10.1016/J.FEBSLET.2006.07.010.
55. Calvete, J.J.; Bonilla, F.; Granados-Martínez, S.; Sanz, L.; Lomonte, B.; Sasa, M. Venomics of the Duvernoy's Gland Secretion of the False Coral Snake *Rhinobothryum bovalli* (Andersson, 1916) and Assessment of Venom Lethality towards Synapsid and Diapsid Animal Models. *J. Proteomics* **2020**, *225*, 103882, doi:10.1016/J.JPROT.2020.103882.
56. Torres-Bonilla, K.A.; Floriano, R.S.; Schezaro-Ramos, R.; Rodrigues-Simioni, L.; da Cruz-Höfling, M.A. A Survey on Some Biochemical and Pharmacological Activities of Venom from Two Colombian Colubrid Snakes, *Erythrolamprus bizona* (Double-Banded Coral Snake Mimic) and *Pseudoboa neuwiedii* (Neuwied's False Boa). *Toxicon* **2017**, *131*, 29–36, doi:10.1016/J.TOXICON.2017.02.030.
57. Domínguez-Pérez, D.; Durban, J.; Agüero-Chapin, G.; López, J.T.; Molina-Ruiz, R.; Almeida, D.; Calvete, J.J.; Vasconcelos, V.; Antunes, A. The Harderian Gland Transcriptomes of *Caraiba andreae*, *Cubophis cantherigerus* and *Tretanorhinus variabilis*, Three Colubroid Snakes from Cuba. *Genomics* **2019**, *111*, 1720–1727, doi:10.1016/J.YGENO.2018.11.026.
58. Modahl, C.M.; Frieze, S.; Mackessy, S.P. Transcriptome-Facilitated Proteomic Characterization of Rear-Fanged Snake Venoms Reveal Abundant Metalloproteinases with Enhanced Activity. *J. Proteomics* **2018**, *187*, 223–234, doi:10.1016/j.jprot.2018.08.004.
59. Pla, D.; Petras, D.; Saviola, A.J.; Modahl, C.M.; Sanz, L.; Pérez, A.; Juárez, E.; Frieze, S.; Dorrestein, P.C.; Mackessy, S.P.; et al. Transcriptomics-Guided Bottom-up and Top-down Venomics of Neonate and Adult Specimens of the Arboreal Rear-Fanged Brown Treesnake, *Boiga irregularis*, from Guam. *J. Proteomics* **2018**, *174*, 71–84, doi:10.1016/J.JPROT.2017.12.020.
60. Heyborne, W.H.; Mackessy, S.P. Venoms of New World Vinesnakes (*Oxybelis aeneus* and *O. fulgidus*). *Toxicon* **2021**, *190*, 22–30, doi:10.1016/J.TOXICON.2020.12.002.
61. Pla, D.; Sanz, L.; Whiteley, G.; Wagstaff, S.C.; Harrison, R.A.; Casewell, N.R.; Calvete, J.J. What Killed Karl Patterson Schmidt? Combined Venom Gland Transcriptomic, Venomic and Antivenomic Analysis of the South African Green Tree Snake (the Boomslang), *Dispholidus typus*. *Biochim. Biophys. Acta - Gen. Subj.* **2017**, *1861*, 814–823, doi:10.1016/J.BBAGEN.2017.01.020.
62. Kini, R.M.; Doley, R. Structure, Function and Evolution of Three-Finger Toxins: Mini Proteins with Multiple Targets. *Toxicon* **2010**, *56*, 855–867.

63. Modahl, C.M.; Mrinalini; Frieze, S.; Mackessy, S.P. Adaptive Evolution of Distinct Prey-Specific Toxin Genes in Rear-Fanged Snake Venom. *Proc. R. Soc. B* **2018**, *285*, doi:10.1098/RSPB.2018.1003.
64. Yamazaki, Y.; Morita, T. Structure and Function of Snake Venom Cysteine-Rich Secretory Proteins. *Toxicon* **2004**, *44*, 227–231, doi:10.1016/J.TOXICON.2004.05.023.
65. Tadokoro, T.; Modahl, C.M.; Maenaka, K.; Aoki-Shioi, N. Cysteine-Rich Secretory Proteins (CRISPs) from Venomous Snakes: An Overview of the Functional Diversity in a Large and Underappreciated Superfamily Toxins. **2020**, *12*, 175, doi:10.3390/TOXINS12030175.
66. Lu, Q.; Navdaev, A.; Clemetson, J.M.; Clemetson, K.J. Snake Venom C-Type Lectins Interacting with Platelet Receptors. Structure–Function Relationships and Effects on Haemostasis. *Toxicon* **2005**, *45*, 1089–1098, doi:10.1016/J.TOXICON.2005.02.022.
67. Rehorek, S.J. Squamate Harderian Gland: An Overview. *Anat. Rec.* **1997**, *248*, 301–306, doi:10.1002/(SICI)1097-0185(199707)248:3<301::AID-AR1>3.0.CO;2-S.
68. McDowell, S.B. Toxicocalamus, a New Guinea Genus of Snakes of the Family Elapidae. *J. Zool.* **1969**, *159*, 443–511, doi:10.1111/J.1469-7998.1969.TB03900.X.
69. Da Rocha, M.M.T.; Furtado, M.D.F.D. Analysis of Biological Activities from *Philodryas olfersii* (Lichtenstein) and *P. patagoniensis* (Girard) Venoms (Serpents, Colubridae). *Rev. Bras. Zool.* **2007**, *24*, 410–418, doi:10.5380/rbz.v24i2.8468.
70. Pérez, O.A. De; Vila, L.L. De; Peichoto, M.E.; Maruñak, S.; Ruiz, R.; Teibler, P.; Gay, C.; Rey, L. Edematogenic and Myotoxic Activities of the Duvernoy ' s Gland Secretion of *Philodryas olfersii* from the North-East Region Of. *World Health* **2003**, *27*, 363–370.
71. Lemoine, K.; Salgueiro, L.M.; Rodríguez-Acosta, A.; Acosta, J.A. Neurotoxic, Hemorrhagic and Proteolytic Activities of Duvernoy's Gland Secretion from Venezuelan Opisthoglyphous Colubrid Snakes in Mice. *Vet. Hum. Toxicol.* **2004**, *46*, 10–14.
72. Estrella, A.; Sánchez, E.E.; Galán, J.A.; Tao, W.A.; Guerrero, B.; Navarrete, L.F.; Rodríguez-Acosta, A. Characterization of Toxins from the Broad-Banded Water Snake *Helicops angulatus* (Linnaeus, 1758): Isolation of a Cysteine-Rich Secretory Protein, Helicopsin. *Arch. Toxicol.* **2011**, *85*, 305–313, doi:10.1007/s00204-010-0597-6.
73. Cerda, P. A., Crowe-Riddell, J. M., Gonçalves, D. J., Larson, D. A., Duda Jr, T. F., & Davis Rabosky, A. R. (2022). Divergent specialization of simple venom gene profiles among rear-fanged snake genera (*Helicops* and *Leptodeira*, Dipsadinae, Colubridae). *Toxins*, *14*(7), 489.
74. Six, D.A.; Dennis, E.A. The Expanding Superfamily of Phospholipase A2 Enzymes: Classification and Characterization. *Biochim. Biophys. Acta - Mol. Cell Biol. Lipids* **2000**, *1488*, 1–19, doi:10.1016/S1388-1981(00)00105-0.
75. Campos, P.F.; Andrade-Silva, D.; Zelanis, A.; Leme, A.F.P.; Rocha, M.M.T.; Menezes, M.C.; Serrano, S.M.T.; Junqueira-De-Azevedo, I.D.L.M. Trends in the Evolution of Snake Toxins Underscored by an Integrative Omics Approach to Profile the Venom of the Colubrid *Phalotris mertensi*. *Genome Biol. Evol.* **2016**, *8*, 2266–2287, doi:10.1093/gbe/evw149.

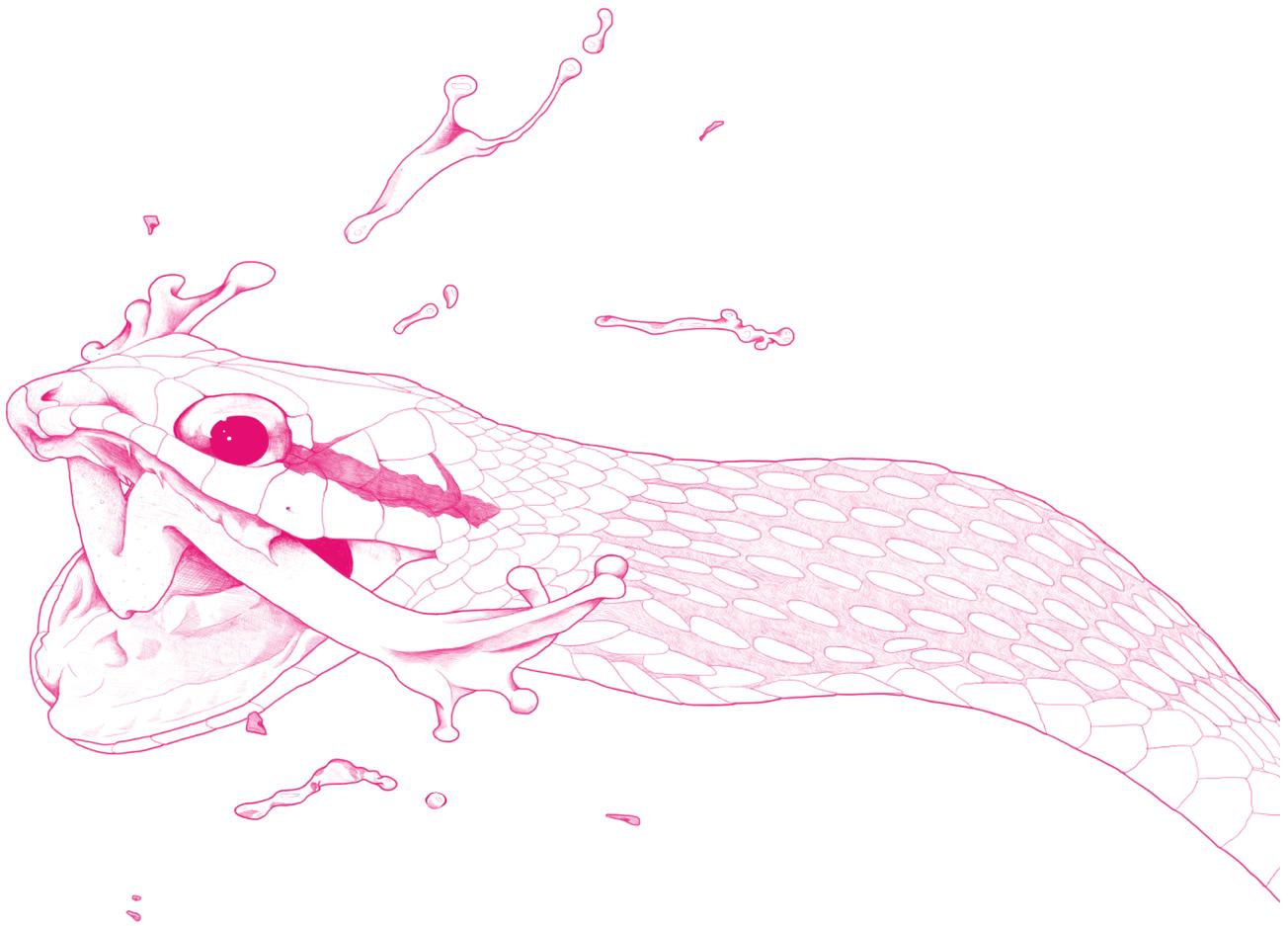
76. Brust, A.; Sunagar, K.; Undheim, E.A.B.; Vetter, I.; Yang, D.C.; Casewell, N.R.; Jackson, T.N.W.; Koludarov, I.; Alewood, P.F.; Hodgson, W.C.; et al. Differential Evolution and Neofunctionalization of Snake Venom Metalloprotease Domains. *Mol. Cell. Proteomics* **2013**, *12*, 651–663, doi:10.1074/mcp.M112.023135.
77. Casewell, N.R.; Wagstaff, S.C.; Harrison, R.A.; Renjifo, C.; Wüster, W. Domain Loss Facilitates Accelerated Evolution and Neofunctionalization of Duplicate Snake Venom Metalloproteinase Toxin Genes. *Mol. Biol. Evol.* **2011**, *28*, 2637–2649, doi:10.1093/molbev/msr091.
78. Sanz, L.; Calvete, J.J. Insights into the Evolution of a Snake Venom Multi-Gene Family from the Genomic Organization of *Echis ocellatus* SVMP Genes. *Toxins (Basel)*. **2016**, *8*, doi:10.3390/toxins8070216.
79. Sanz, L.; Harrison, R.A.; Calvete, J.J. First Draft of the Genomic Organization of a PIII-SVMP Gene. *Toxicon* **2012**, *60*, 455–469, doi:10.1016/j.toxicon.2012.04.331.
80. Cidade, D.A.P.; Simão, T.A.; Dávila, A.M.R.; Wagner, G.; de L.M. Junqueira-de-Azevedo, I.; Lee Ho, P.; Bon, C.; Zingali, R.B.; Albano, R.M. *Bothrops jararaca* Venom Gland Transcriptome: Analysis of the Gene Expression Pattern. *Toxicon* **2006**, *48*, 437–461, doi:10.1016/J.TOXICON.2006.07.008.
81. Corrêa-Netto, C.; Junqueira-de-Azevedo, I. de L.M.; Silva, D.A.; Ho, P.L.; Leitão-de-Araújo, M.; Alves, M.L.M.; Sanz, L.; Foguel, D.; Zingali, R.B.; Calvete, J.J. Snake Venomics and Venom Gland Transcriptomic Analysis of Brazilian Coral Snakes, *Micrurus altirostris* and *M. corallinus*. *J. Proteomics* **2011**, *74*, 1795–1809, doi:10.1016/J.JPROT.2011.04.003.
82. Tasoulis, T.; Lee, M.S.Y.; Ziajko, M.; Dunstan, N.; Sumner, J.; Isbister, G.K. Activity of Two Key Toxin Groups in Australian Elapid Venoms Show a Strong Correlation to Phylogeny but Not to Diet. *BMC Evol. Biol.* **2020**, *20*, 1–13, doi:10.1186/S12862-020-1578-X/FIGURES/7.
83. True, J.R.; Carroll, S.B. Gene Co-Option in Physiological and Morphological Evolution. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* **2002**, *18*, 53–80, doi:10.1146/annurev.cellbio.18.020402.140619.
84. Weinstein, S.A.; White, J.; Keyler, D.E.; Warrell, D.A. Non-Front-Fanged Colubroid Snakes: A Current Evidence-Based Analysis of Medical Significance. *Toxicon* **2013**, *69*, 103–113, doi:10.1016/J.TOXICON.2013.02.003.
85. Ribeiro, L.A.; Puerto, G.; Jorge, M.T. Bites by the Colubrid Snake *Philodryas olfersii*: A Clinical and Epidemiological Study of 43 Cases. *Toxicon* **1999**, *37*, 943–948, doi:10.1016/S0041-0101(98)00191-3.
86. Sevilla-Sánchez, M.J.; Ayerbe-González, S.; Bolaños-Bolaños, E. Aspectos Biomédicos y Epidemiológicos Del Accidente Ofídico En El Departamento Del Cauca, Colombia, 2009–2018. *Biomédica* **2021**, *41*, 314–337, doi:10.7705/BIOMEDICA.5853.
87. De Silva, H.A.; Ryan, N.M.; De Silva, H.J. Adverse Reactions to Snake Antivenom, and Their Prevention and Treatment. *Br. J. Clin. Pharmacol.* **2016**, *81*, 446–452, doi:10.1111/BCP.12739.
88. Koh, C.Y.; Kini, R.M. From Snake Venom Toxins to Therapeutics - Cardiovascular Examples. *Toxicon* **2012**, *59*, 497–506, doi:10.1016/j.toxicon.2011.03.017.
89. Pal, S.K.; Gomes, A.A.; Dasgupta, S.C.; Gomes, A.A. Snake Venom as Therapeutic Agents: From Toxin to Drug Development. *IJEB Vol.40(12) [December 2002]* **2002**.

90. Fox, J.; Serrano, S. Approaching the Golden Age of Natural Product Pharmaceuticals from Venom Libraries: An Overview of Toxins and Toxin-Derivatives Currently Involved in Therapeutic or Diagnostic Applications. *Curr. Pharm. Des.* **2007**, *13*, 2927–2934, doi:10.2174/138161207782023739.
91. Barua, A.; Mikheyev, A.S. Many Options, Few Solutions: Over 60 My Snakes Converged on a Few Optimal Venom Formulations. *Mol. Biol. Evol.* **2019**, *36*, 1964–1974, doi:10.1093/molbev/msz125.
92. J., A.; Ohno, S. Evolution by Gene Duplication. *Popul. (French Ed.* **1971**, *26*, 1176, doi:10.2307/1530208.
93. Vonk, F.J.; Casewell, N.R.; Henkel, C. V.; Heimberg, A.M.; Jansen, H.J.; McCleary, R.J.R.; Kerckamp, H.M.E.; Vos, R.A.; Guerreiro, I.; Calvete, J.J.; et al. The King Cobra Genome Reveals Dynamic Gene Evolution and Adaptation in the Snake Venom System. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2013**, *110*, 20651–20656, doi:10.1073/pnas.1314702110.
94. Bazaa, A.; Juárez, P.; Marrakchi, N.; Lasfer, Z.B.; Ayeb, M. El; Harrison, R.A.; Calvete, J.J.; Sanz, L. Loss of Introns along the Evolutionary Diversification Pathway of Snake Venom Disintegrins Evidenced by Sequence Analysis of Genomic DNA from *Macrovipera lebetina* Transmediterranea and *Echis ocellatus*. *J. Mol. Evol.* **2007**, *64*, 261–271, doi:10.1007/s00239-006-0161-4.
95. Stenseth, N.C. Where Have All the Species Gone? On the Nature of Extinction and the Red Queen Hypothesis. *Oikos* **1979**, *33*, 196, doi:10.2307/3543998.
96. Kerfoot, W.C.; Weider, L.J. Experimental Paleoecology (Resurrection Ecology): Chasing Van Valen's Red Queen Hypothesis. *Limnol. Oceanogr.* **2004**, *49*, 1300–1316, doi:10.4319/lo.2004.49.4\_part\_2.1300.
97. Holding, M.L.; Drabeck, D.H.; Jansa, S.A.; Gibbs, H.L. Venom Resistance as a Model for Understanding the Molecular Basis of Complex Coevolutionary Adaptations. *Integr. Comp. Biol.* **2016**, *56*, 1032–1043, doi:10.1093/icb/icw082
98. Voss, R.S.; Jansa, S.A. Snake-Venom Resistance as a Mammalian Trophic Adaptation: Lessons from *Didelphis marsupialis*. *Biol. Rev.* **2012**, *87*, 822–837, doi:10.1111/j.1469-185X.2012.00222.x.
99. Khan, M.A.; Dashevsky, D.; Kerckamp, H.; Kordiš, D.; de Bakker, M.A.G.; Wouters, R.; van Thiel, J.; op den Brouw, B.; Vonk, F.; Manjunatha Kini, R.; et al. Widespread Evolution of Molecular Resistance to Snake Venom  $\alpha$ -Neurotoxins in Vertebrates. *Toxins* **2020**, *12*, 638, doi:10.3390/TOXINS12100638.
100. Gan, Z.R.; Gould, R.J.; Jacobs, J.W.; Friedman, P.A.; Polokoff, M.A. Echistatin. A Potent Platelet Aggregation Inhibitor from the Venom of the Viper, *Echis carinatus*. *J. Biol. Chem.* **1988**, *263*, 19827–19832, doi:10.1016/s0021-9258(19)77710-2.
101. Markland, F.S. Snake Venoms and the Hemostatic System. *Toxicon* **1998**, *36*, 1749–1800, doi:10.1016/S0041-0101(98)00126-3.
102. Scarborough, R.M.; Rose, J.W.; Naughton, M.A.; Phillips, D.R.; Nannizzi, L.; Arfsten, A.; Campbell, A.M.; Charo, I.F. Characterization of the Integrin Specificities of Disintegrins Isolated from American Pit Viper Venoms. *J. Biol. Chem.* **1993**, *268*, 1058–1065, doi:10.1016/s0021-9258(18)54041-2.

103. Saviola, A.J.; Peichoto, M.E.; Mackessy, S.P. Rear-Fanged Snake Venoms: An Untapped Source of Novel Compounds and Potential Drug Leads. *Toxin Rev.* **2014**, *33*, 185–201, doi:10.3109/15569543.2014.942040.
104. Badari, J.C.; Díaz-Roa, A.; Teixeira Rocha, M.M.; Mendonça, R.Z.; Silva Junior, P.I. da Patagonin-CRiSP: Antimicrobial Activity and Source of Antimicrobial Molecules in Duvernoy's Gland Secretion (Philodryas Patagoniensis Snake). *Front. Pharmacol.* **2021**, *11*, 2374, doi:10.3389/FPHAR.2020.586705/BIBTEX.
105. Peichoto, M.E.; Mackessy, S.P.; Teibler, P.; Tavares, F.L.; Burckhardt, P.L.; Breno, M.C.; Acosta, O.; Santoro, M.L. Purification and Characterization of a Cysteine-Rich Secretory Protein from *Philodryas patagoniensis* Snake Venom. *Comp. Biochem. Physiol. Part C Toxicol. Pharmacol.* **2009**, *150*, 79–84, doi:10.1016/J.CBPC.2009.03.002.
106. Angarita-Sierra, T.; Montañez-Méndez, A.; Toro-Sánchez, T.; Rodríguez-Vargas, A. A Case of Envenomation by the False Fer-de-Lance Snake *Leptodeira annulata* (Linnaeus, 1758) in the Guajira Department, Colombia. *Biomédica* **2020**, *40* 20-26. doi: 10.7705/biomedica.4773.
107. Angarita-Corzo, K.; García-Peluffo, J.D.; Franco-Gutiérrez, M. Case Report of Human Envenomation by a False Coralsnake, *Erythrolamprus bizona* Jan, 1863. *Herpetol. Notes* **2023**, *16*, 627–631.
108. Barrio-Amorós, C.L. On the Taxonomy of Snakes in the Genus *Leptodeira*, with an Emphasis on Costa Rican Species. *Reptil. Amphib.* **2019**, *26*, 1–15, doi:10.17161/RANDA.V26I1.14321.
109. Gorzula, S. *Leptodeira annulata ashmedeadii* Envenomation. *Herpetol. Rev.* **1982**, *13*, 47.
110. Rodríguez-González, L.A.; Portillo-Portillo, P.A. Evaluación de La Actividad Neurotóxica de La Secreción Salival de *Erythrolamprus bizona* y *Leptophis ahaetulla* Serpientes Opistoglifas En Nervio Ciático de Bufo Marinus, Universidad del Quindío, **2006**.
111. Heyborne, W.H.; Mackessy, S.P. Identification and Characterization of a Taxon-Specific Three-Finger Toxin from the Venom of the Green Vinesnake (*Oxybelis Fulgidus*; Family Colubridae). *Biochimie* **2013**, *95*, 1923–1932, doi:10.1016/J.BIOCHI.2013.06.025.
112. Crimmins, M.L. A Case of Oxybelis Poisoning in Man. *Copeia* **1937**, *1937*, 233, doi:10.2307/1436270.
113. Babo Martins, S.; Bolon, I.; Chappuis, F.; Ray, N.; Alcoba, G.; Ochoa, C.; Kumar Sharma, S.; Nkwescheu, A.S.; Wanda, F.; Durso, A.M.; et al. Snakebite and Its Impact in Rural Communities: The Need for a One Health Approach. *PLoS Negl. Trop. Dis.* **2019**, *13*, e0007608, doi:10.1371/journal.pntd.0007608.
114. Lette-Pinto, R.N.; Da Silva, N.J.; Aird, S.D. Human envenomation by the South American opisthoglyph *Clelia clelia plumbea* (Wied). *Toxicon* **1991**, *29*, 1512–1516, doi:https://doi.org/10.1016/0041-0101(91)90008-f.
115. de Araújo, M.E.; dos Santos, A.C.M.C.A. Cases of Human Envenoming Caused by *Philodryas olfersii* and *Philodryas patagoniensis* (Serpentes: Colubridae). *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* **1997**, *30*, 517–519, doi:10.1590/S0037-86821997000600013.
116. Fowler, I.R.; Salomão, M. da G. Activity Patterns in the Colubrid Snake Genus *Philodryas* and Their Relationship to Reproduction and Snakebite. *Bull. Chicago Herpetol. Soc.* **1994**, *29*, 229–232.

117. Prado-Franceschi, J.; Hyslop, S. South American colubrid envenomations. <http://dx.doi.org/10.1081/TXR-120004744> **2002**, *21*, 117–158, doi:10.1081/TXR-120004744.
118. Salomao, M.A.; Pinto-Albolea, A.B.; Almeida-Santos, S.M. Colubrid Snakebite: A Public Health Problem in Brazil. *Herpetol. Rev.* **2003**, *34*, 307–312.
119. Mandelbaum, F.R.; Reichl, A.P.; Assakura, M.T.; Serrano, S.M.T. *Philodryas* Venom Metalloproteinases. *Handb. Proteolytic Enzym. Second Ed.* **2004**, *1*, 701–702, doi:10.1016/B978-0-12-079611-3.50210-X.
120. Peichoto, M.E.; Teibler, P.; Mackessy, S.P.; Leiva, L.; Acosta, O.; Gonçalves, L.R.C.; Tanaka-Azevedo, A.M.; Santoro, M.L. Purification and Characterization of Patagonfibrase, a Metalloproteinase Showing  $\alpha$ -Fibrinogenolytic and Hemorrhagic Activities, from *Philodryas patagoniensis* Snake Venom. *Biochim. Biophys. Acta - Gen. Subj.* **2007**, *1770*, 810–819, doi:10.1016/J.BBAGEN.2006.12.014.
121. Acosta de Pérez, O.; Leiva de Vila, L.; Peichoto, M.; Maruñak, S.L.; Ruiz, R.; Teibler, P.; Gay, C.; Rey, L. Edematogenic and Myotoxic Activities of the Duvernoy's Gland Secretion of *Philodryas olfersii* from the North-East Region Of. *BIOCELL* **2003**, *27*, 363–370.
122. Assakura, M.T.; Reichl, A.P.; Mandelbaum, F.R. Isolation and Characterization of Five Fibrin(Ogen) Olytic Enzymes from the Venom of *Philodryas olfersii* (Green Snake). *Toxicon* **1994**, *32*, 819–831, doi:10.1016/0041-0101(94)90007-8.
123. Assakura, M.T.; Salomão, M. da G.; Puerto, G.; Mandelbaum, F.R. Hemorrhagic, Fibrinogenolytic and Edema-Forming Activities of the Venom of the Colubrid Snake *Philodryas olfersii* (Green Snake). *Toxicon* **1992**, *30*, 427–438, doi:10.1016/0041-0101(92)90539-H.
124. Prado-Franceschi, J.; Hyslop, S.; Cogo, J.C.; Andrade, A.L.; Assakura, M.; Cruz-Höfling, M.A.; Rodrigues-Simioni, L. The Effects of Duvernoy's Gland Secretion from the Xenodontine Colubrid *Philodryas olfersii* on Striated Muscle and the Neuromuscular Junction: Partial Characterization of a Neuromuscular Fraction. *Toxicon* **1996**, *34*, 459–466, doi:10.1016/0041-0101(95)00146-8.
125. Prado-Franceschi, J.; Hyslop, S.; Cogo, J.C.; Andrade, A.L.; Assakura, M.T.; Reichl, A.P.; Cruz-Höfling, M.A.; Rodrigues-Simioni, L. Characterization of a Myotoxin from the Duvernoy's Gland Secretion of the Xenodontine Colubrid *Philodryas olfersii* (Green Snake): Effects on Striated Muscle and the Neuromuscular Junction. *Toxicon* **1998**, *36*, 1407–1421, doi:10.1016/S0041-0101(98)00075-0.
126. Assakura, M.T.; Reichl, A.P.; Mandelbaum, F.R. Isolation and Characterization of Five Fibrin(Ogen)Olytic Enzymes from the Venom of *Philodryas olfersii* (Green Snake). *Toxicon* **1994**, *32*, 819–831, doi:10.1016/0041-0101(94)90007-8.
127. Peichoto, M.E.; Tavares, F.L.; Santoro, M.L.; MacKessy, S.P. Venom Proteomes of South and North American Opisthoglyphous (Colubridae and Dipsadidae) Snake Species: A Preliminary Approach to Understanding Their Biological Roles. *Comp. Biochem. Physiol. Part D Genomics Proteomics* **2012**, *7*, 361–369, doi:10.1016/J.CBD.2012.08.001.
128. Oliveira, J.S.; Sant'Anna, L.B.; Oliveira Junior, M.C.; Souza, P.R.M.; Andrade Souza, A.S.; Ribeiro, W.; Vieira, R.P.; Hyslop, S.; Cogo, J.C.

- Local and Hematological Alterations Induced by *Philodryas olfersii* Snake Venom in Mice. *Toxicon* **2017**, *132*, 9–17, doi:10.1016/J.TOXICON.2017.03.013.
129. Torres-Bonilla, K.A.; Andrade-Silva, D.; Serrano, S.M.T.; Hyslop, S. Biochemical Characterization of Venom from *Pseudoboa neuwiedii* (Neuwied's False Boa; Xenodontinae; Pseudoboini). *Comp. Biochem. Physiol. Part - C Toxicol. Pharmacol.* **2018**, *213*, 27–38, doi:10.1016/j.cbpc.2018.06.003.
130. Lemoine, K.; Girón, M.E.; Aguilar, I.; Navarrete, L.F.; Rodríguez-Acosta, A. Proteolytic, Hemorrhagic, and Neurotoxic Activities Caused by *Lep-todeira annulata ashmeadii* (Serpentes: Colubridae) Duvernoy's Gland Secretion. *Wilderness Environ. Med.* **2004**, *15*, 82–89, doi:10.1580/1080-6032(2004)015[0082:PHANAC]2.0.CO;2.
131. Diaz, F.; Navarrete, L.F.; Pefaur, J.; Rodríguez-Acosta, A. Envenomation by Neotropical Opisthophthalmous Colubrid *Thamnodynastes cf. pallidus* Linné, 1758 (Serpentes:Colubridae) in Venezuela. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo* **2004**, *46*, 287–290, doi:10.1590/S0036-46652004000500011.
132. Ching, A.T.C.; Leme, A.F.P.; Zelanis, A.; Rocha, M.M.T.; Furtado, M. de F.D.; Silva, D.A.; Trugilho, M.R.O.; da Rocha, S.L.G.; Perales, J.; Ho, P.L.; et al. Venomics Profiling of *Thamnodynastes strigatus* Unveils Matrix Metalloproteinases and Other Novel Proteins Recruited to the Toxin Arsenal of Rear-Fanged Snakes. *J. Proteome Res.* **2012**, *11*, 1152–1162, doi:10.1021/PR200876C.
133. Walls Gordon L. (Gordon Lynn) *The Vertebrate Eye and Its Adaptive Radiation*; Bloomfield Hills, Mich.,Cranbrook Institute of Science, **1942**.
134. Bhaumik, S.; Jagadesh, S.; Lassi, Z. Quality of WHO Guidelines on Snakebite: The Neglect Continues. *BMJ Glob. Heal.* **2018**, *3*, doi:10.1136/bmjgh-2018-000783.
135. Organization, W.H. *Snakebite Envenoming: A Strategy for Prevention and Control: Executive Summary*; World Health Organization, **2019**.
136. Lynch, J.D. El Contexto de las Serpientes de Colombia Con Un Análisis De Las Amenazas En Contra De Su Conservación. *Rev. Colomb. Cienc.*, **2012**, *36* (140), 435–449
137. Lynch, J.D.; Angarita, T.; Ruiz, F.J. *Programa Nacional Para La Conservación de Las Serpientes Presentes En Colombia*; Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible, **2014**.
138. Revell, L.J. Phytools: An R Package for Phylogenetic Comparative Biology (and Other Things). *Methods Ecol. Evol.* **2012**, *3*, 217–223, doi:10.1111/j.2041-210X.2011.00169.x.
139. Guisande-González, C. Plots with R: Package ' PlotsR ' **2020**, 368.
140. Guisande-González, C.; Vaamonde-Liste, B.; Barreiro-Felpeto, A. Rwizard **2014**, 1–452.



# Capítulo 5

## Mezclas intrincadas: Buceando entre venenos de serpiente

**Ariadna Rodríguez-Vargas, Andrés Pereañez, Camila Figueredo-Salinas, Juan Carlos Vega, Adrián Marcelo Franco-Vásquez, Teddy Angarita-Sierra**

**Resumen:** Los venenos de las serpientes han evolucionado con el propósito de dominar, inmovilizar y digerir a sus presas, además de servir como defensa frente a sus depredadores. Por lo tanto, las toxinas que los conforman están diseñadas específicamente para alterar o inhibir de manera precisa las funciones metabólicas y fisiológicas de sus presas o depredadores naturales. Por ejemplo, las metaloproteasas actúan principalmente alterando las uniones endoteliales, las fosfolipasas  $A_2$  dañan los tejidos del músculo esquelético y las toxinas de tres dedos afectan la transmisión de las señales eléctricas en las uniones sinápticas neuromusculares. Por ende, el envenenamiento ocasionado por las mordeduras de serpientes se caracteriza de acuerdo con los síntomas fisiopatológicos, hemocitotóxicos, miotóxicos y neurotóxicos que exhiben sus presas o personas durante un accidente ofídico. Actualmente, las hipótesis sobre los mecanismos de acción tóxica y las potencias de los componentes individuales del veneno siguen bajo debate, al igual que las hipótesis sobre los principales factores que determinan la amplia variabilidad en la composición de los venenos. Comprender los determinantes de la variabilidad y composición de los venenos de serpientes es fundamental, ya que estos elementos juegan un rol principal en el desenlace de los envenenamientos causados por estos reptiles. En este capítulo presentamos una revisión integral de la complejidad en la composición de los venenos de serpientes, detallando la naturaleza bioquímica y funcional de sus toxinas, y destacando su actividad durante el envenenamiento.

**Palabras clave:** Venenos de serpiente, toxinas, envenenamiento, actividad funcional, modelos 3D.



Citación: Rodríguez-Vargas A; Pereañez A; Figueredo-Salinas C; Vega-Garzón, JC; Franco-Vásquez, AM; Angarita-Sierra T. Capítulo 5. Mezclas intrincadas: Buceando entre venenos de serpiente. En el libro: *Mordeduras, venenos y serpientes venenosas de Colombia*; Angarita-Sierra, T., Ruiz-Gómez, FJ, Eds.; Instituto Nacional de Salud: Bogotá D.C., Colombia, 2024; pp. 217-294. doi:10.33610/0175470ubvyy



Copyright: © 2024 por los autores. Publicación de acceso abierto bajo los términos y condiciones de licenciamiento Creative Commons Atribución (CC BY-NC-ND 4.0) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Ilustraciones por:  
Oscar A. Ramírez Ruiz

## 1. Conceptos básicos sobre los venenos de las serpientes

### 1.1 Sistemas de inoculación del veneno

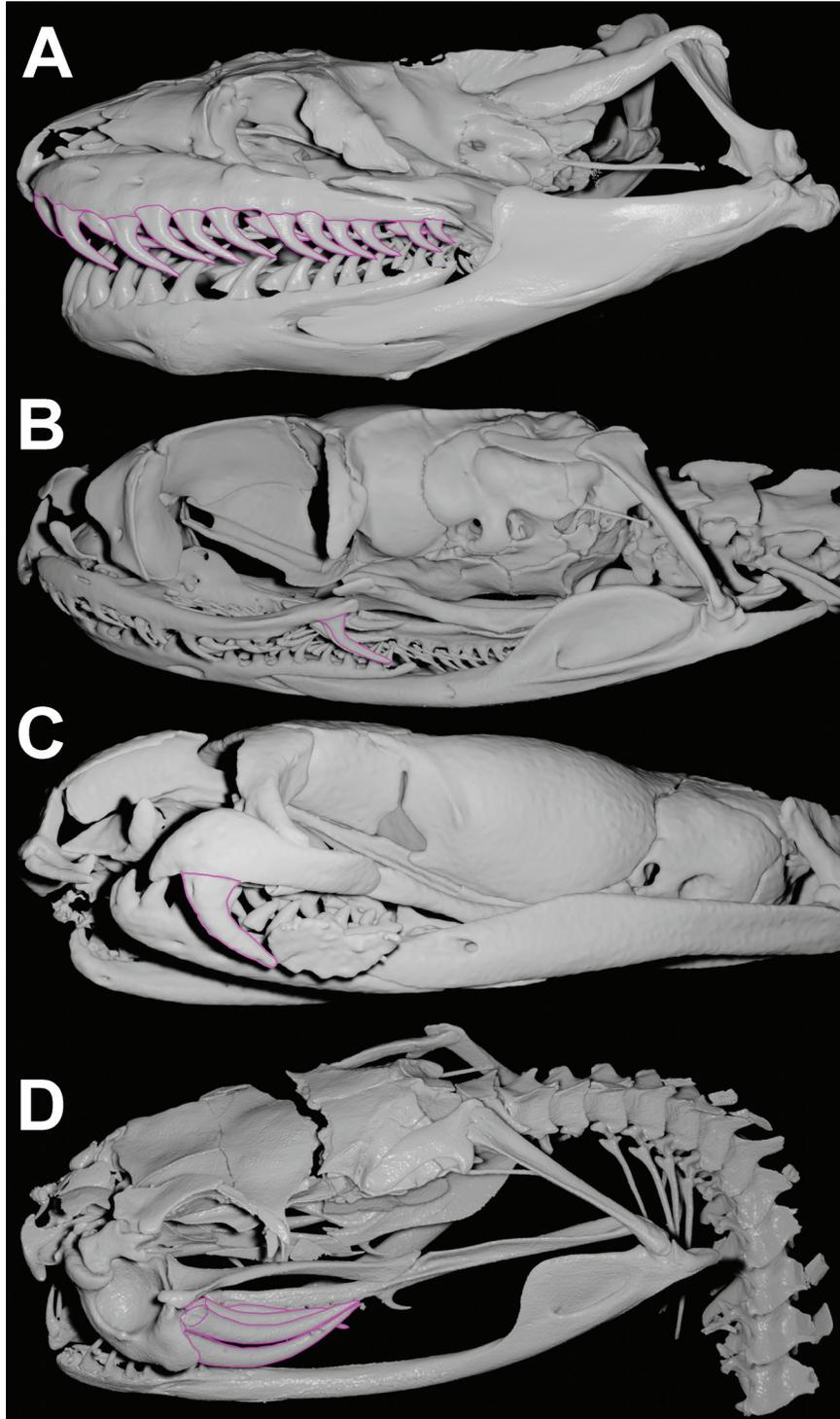
La capacidad de las serpientes de constreñir e inocular toxinas a sus presas, son tal vez, dos de los rasgos biológicos más conocidos y sorprendentes de estos reptiles. En particular, los sistemas de inoculación de veneno han recibido gran atención debido a su sofisticada especialización, rutas evolutivas y convergencias ecológicas [1–3]. Los mecanismos de inoculación de toxinas se han estudiado principalmente en familias altamente venenosas como Elapidae (p. ej., corales, cobras) y Viperidae (p. ej., víboras, serpiente cascabel), y más recientemente en la familia Colubridae (p. ej., corredoras, cazadoras, bejuquillos, etc.), la familia de serpientes con el mayor número de especies del mundo [1].

El aparato venenoso de las serpientes de las familias Viperidae, Elapidae y Colubridae, cuenta con cuatro unidades o elementos básicos para su funcionamiento eficiente. Primero, el veneno debe producirse y almacenarse en un depósito (=glándula). Segundo, este debe ser transportado al lugar previsto para su inoculación. Tercero, se requiere de un mecanismo para liberar el veneno hacia un organismo objetivo, minimizando el riesgo de pérdida. Cuarto, requiere un mecanismo de propulsión que rodee el reservorio (=glándula), que permita el flujo de veneno a través del sistema, desde el sitio de almacenamiento inicial hasta el organismo objetivo [4].

Específicamente, las glándulas venenosas y las glándulas accesorias, los conductos conectores, los colmillos y los músculos estriados que rodean las glándulas, representan el aparato venenoso en su totalidad. Los primeros tres componentes se presentan en pares, uno a cada lado de la cabeza de la serpiente ubicados en la región temporal y terminando en la región maxilar. Las fibras musculares cubren un área ligeramente más amplia de la cabeza de la serpiente y forman parte del sistema de compresión que permite liberar el veneno. Los mecanismos para la mordedura y propulsión del veneno están compuestos por músculos digástrico, pterigoideo, temporal anterior y temporal posterior, que se encuentran a cada lado de la cabeza [5].

El aparato venenoso de las serpientes se caracteriza por sus colmillos, los cuales siempre se encuentran en la maxila superior y nunca en ningún otro hueso portador de dientes [6]. Las serpientes con colmillos presentan cuatro tipos de arquitectura dental (Figura 1): colmillos frontales cortos, con canales abiertos o parcialmente cerrados que conducen el veneno a través de un surco visible que conecta con los orificios (dentición proteroglifa: Elapidae y Atractaspididae, como la serpiente coral o la serpiente áspid africana, respectivamente; Figura 1C); colmillos frontales largos y tubulares con conductos cerrados que transportan el veneno una superficie lisa entre los orificios (dentición solenoglifa: Viperidae, cascabeles o víboras; Figura 1D); y colmillos acanalados sólidos y agrandados ubicados en el extremo posterior del maxilar (dentición opistoglifa: colmillos traseros de falsas cobras de agua; Figura 1B); estos esta presentan en numerosos linajes de colúbridos (los surcos pueden estar presentes en la región anterior, posterior, lingual o

labial del colmillo). La posición frontal de los colmillos en las estructuras de los proteroglifos y solenoglifos difiere no sólo en la estructura de los colmillos, sino también en el alto nivel de libertad cinemática del hueso maxilar. En los solenoglifos, los colmillos pueden ocupar posición casi paralela al paladar cuando las dos estructuras están en reposo y cercanas entre sí, permitiendo un giro de más de 120 grados a lo largo del eje anteroposterior para colocarlos directamente hacia la presa objetivo [4].



**Figura 1.** Tipos de arquitectura dental en serpientes. (A) Aglifa (anaconda verde *Eunectes murinus*, UF 84822). (B) Opistoglifa (serpiente de casa costera *Thamnodynastes pallidus*, UMMZ 246849). (C) Proteroglifa (serpiente coral *Micrurus nigrocinctus*, UMMZ 131984). (D) Solenoglifa (serpiente de cascabel sudamericana *Crotalus durissus*, UMMZ 119571). Todas las imágenes fueron obtenidas el 05/08/2023 de Morphosource bajo la licencia CC BY-NC-ND 4.0.

El origen evolutivo de los colmillos, así como de los otros elementos del aparato venenoso, ha sido objeto de controversia, ya que su evolución involucra varias fuerzas subyacentes que han impulsado su diversificación [2]. A pesar de las incógnitas evolutivas no resueltas, la mayoría de los estudios coinciden en que los colmillos frontales presentes en los vipéridos y elápidos, derivaron independientemente de las serpientes con colmillos traseros (Colubridae), lo que refleja una evolución convergente [4]. La evolución del sistema de inoculación de veneno se ha asociado frecuentemente con especializaciones en la dieta y ecología de estos reptiles. Por ejemplo, entre las serpientes venenosas, existen dos estrategias de caza predominantes: las serpientes con colmillos traseros y los elápidos suelen exhibir una estrategia de morder y sujetar (constricción), mientras que la mayoría de las vipéridos y *Atractaspis* utilizan una estrategia de morder y soltar, lo cual parece estar asociado al tamaño de la presa [2,7]. Por lo tanto, el alargamiento del colmillo sugiere que ha sido una adaptación impulsada por el comportamiento de ataque más que la mayor tensión (fuerza de estiramiento) asociada con cambios estructurales en el aparato venenoso [2].

Dado que las serpientes se mueven lentamente y tienen una tasa metabólica baja, el aparato venenoso descarga rápidamente el veneno en la presa para asegurar la presa, o como forma de defensa contra los depredadores, reduciendo así el gasto energético [5]. Hay dos mecanismos generales para la liberación del veneno. El primero, presente en los vipéridos y elápidos, es un sistema de inoculación alta presión en el que se libera rápidamente un flujo de veneno mediante el aumento repentino de presión. El segundo, presente en los colúbridos con colmillos traseros, es un sistema de inoculación de baja presión, donde la liberación del veneno es más prolongada [1]. En este sistema de baja presión, la liberación de veneno es provocada por la fuerza mecánica obtenida cuando los colmillos penetran en la presa. En el sistema de alta presión, la acción directa de los músculos de la mandíbula sobre la glándula del veneno genera una presión que provoca una rápida liberación del veneno. El sistema de alta presión posee un sello hermético entre el conducto y el colmillo, asegurando que se mantenga la presión en todo el canal de conducción e impulsando el veneno hacia la presa. En contraste, en el sistema de baja presión carece de este sello hermético, lo que resulta en una menor presión del flujo de veneno [1].

Las serpientes de la familia Colubridae poseen un aparato «venenoso» diferente (ver Capítulo 4). La glándula de Duvernoy, que es homóloga a la glándula venenosa y está ubicada en una posición similar, carece de un gran lumen en su reservorio, así como de los músculos de compresión a su alrededor de la glándula. Este sistema utiliza presiones relativamente más bajas que el sistema de inoculación presente en los vipéridos y elápidos, liberando las secreciones lentamente en el epitelio bucal adyacente a los colmillos posteriores de la maxila, los cuales puede o no ser acanalados [1,2,7,8]. La estructura de la glándula de Duvernoy varía ampliamente entre las especies de colúbridos, desde estar ausente hasta presentar una glándula puramente serosa y bien diferenciada [3]. De manera similar,

las secreciones de esta glándula muestran un grado significativo de variabilidad en su composición, produciendo toxinas de origen enzimático digestivo o pancreático, así como fosfolipasas, fosfodiesterasas y proteasas [3] (ver Capítulo 4).

La investigación inicial sobre los venenos de serpientes se centra en sus propiedades tóxicas y secreciones orales. Es evidente que los componentes de los venenos, incluidos los de las glándulas de Duvernoy, tienen múltiples funciones biológicas e incluso fines biotecnológicos [5] (ver Capítulos 4 y 10). Los sistemas venenosos de elápidos y víboras difieren en tamaño y morfología, pero todos comparten un diseño básico similar de composición y función.

## 1.2. Definición de venenos

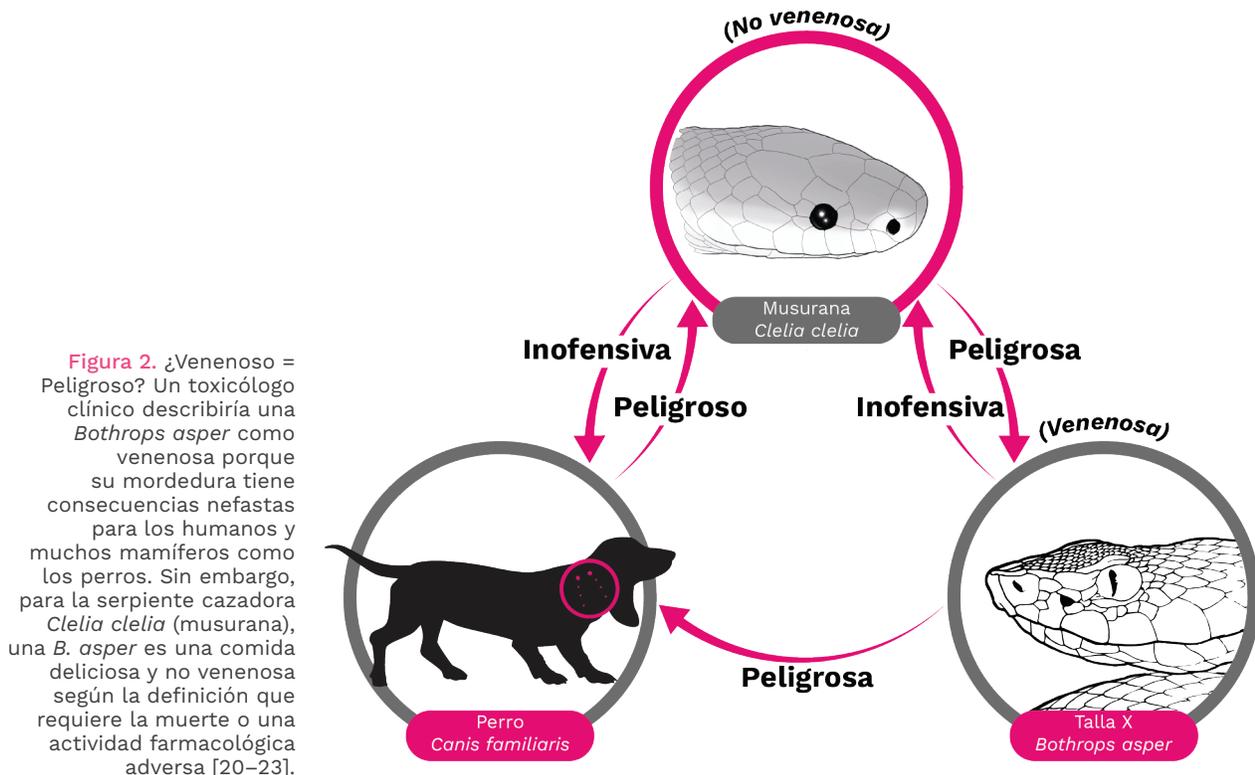
Para definir el veneno con precisión, seguimos la propuesta de Arbuckle et al. [10], quienes definen el veneno como «una sustancia biológica producida por un organismo que contiene moléculas (toxinas) que interfieren con los procesos fisiológicos o bioquímicos en otro organismo. El organismo venenoso ha desarrollado esta sustancia para proporcionarse beneficios (alimentación y/o defensa) al inocularla sobre otro organismo. El veneno se produce y almacena en una estructura especializada y se transfiere activamente a otro organismo a través de una lesión causada por un sistema de inoculación especializado».

En un contexto biológico, el término «tóxico» se refiere a la propiedad letal de una sustancia química, expresada como la dosis letal media ( $DL_{50}$ ) o la dosis letal absoluta ( $DL_{100}$ ), generalmente identificada y caracterizada en condiciones de laboratorio definidas. El término «venenoso» se refiere a la función o rol biológico de la secreción de una sustancia producida por un animal que se utiliza para la defensa o la obtención de otro animal como presa [6]. La observación del animal en su hábitat natural suele ser la base para concluir si una secreción se utiliza como veneno. Los dos términos se basan en conceptos diferentes, por lo que hay más en juego que la mera semántica [3].

Los venenos son mezclas de proteínas, enzimas, péptidos, iones, carbohidratos y trazas de otras moléculas, producidas en las glándulas y secretadas a través de sistemas especializados para someter a las presas, digerirlas o disuadir a los depredadores (p. ej., venenos de serpientes, escorpiones o arañas, entre otros). Por el contrario, lo que se denomina como «ponzoña» (para relacionarlo con el término *poison*, en inglés) está compuesto por sustancias que se concentran en el cuerpo de ciertos organismos o regiones anatómicas de los mismos. Puede causar efectos adversos en otros organismos que los manipulan o consumen (p. ej., espinas de pez león o piel de ranas venenosas que se encuentran en la familia Dendrobatidae). Las toxinas son sustancias producidas por organismos vivos que pueden alterar la homeostasis de otros organismos están expuestos a ellas [10].

Ambos términos involucran la composición de toxinas, y la toxicología es el estudio de estas sustancias. Se trata de una rama de la toxicología que se encarga de estudiar las moléculas producidas por organismos vivos. Estas moléculas se reconocen como venenos cuando son inoculados de forma activa por un animal a otro; y como ponzoña cuando las toxinas albergadas en los tejidos de animales, plantas, hongos y bacterias son ingeridas, absorbidas o inhaladas por un organismo causándole daño [4,11].

Ser venenoso es un rasgo ecológico funcional que se comporta como intermediario en las interacciones entre dos o más organismos. Sin embargo, es importante comprender que el término «venenoso» no necesariamente significa ser «peligroso» (Figura 2). El nivel de peligro depende de la susceptibilidad al veneno por parte del organismo objetivo, así como de la cantidad de veneno que se inyecta. Por ejemplo, en el caso de una mordedura seca (mordedura de serpiente sin inoculación de veneno) [12], es posible que el veneno ni siquiera llegue al organismo. El veneno es un rasgo común entre las serpientes de importancia médica (familias Elapidae y Viperidae) [13]. Sin embargo, para algunas especies «no venenosas», como ciertos colúbridos con colmillos traseros [19] (ver Capítulo 4), sus secreciones causan síntomas leves de envenenamiento, o en casos poco frecuentes coagulopatías que pueden poner en riesgo la vida las personas.



La composición y actividad de los venenos de serpientes evolucionó en paralelo con la fisiología de sus presas y, posiblemente, de sus depredadores naturales. Aunque anteriormente se creía que los humanos no habían ejercido una presión selectiva significativa en las funciones

defensivas de los venenos de las serpientes, y que el envenenamiento se consideraba un daño colateral en la carrera armamentista química entre las serpientes venenosas y sus presas [15], investigaciones recientes sugieren que el veneno y el mecanismo de inoculación de las cobras escupidoras evolucionaron para hacer frente a los homínidos y mamíferos que las amenazaban hace 2,5 millones de años. El veneno de las cobras escupidoras (p. ej., *Hemachatus haemachatus*, *Naja sumatra*) evolucionó en parte para producir dolor severo en los homínidos que representaban una posible amenaza para ellas [18]. Por lo tanto, existen múltiples dimensiones de la evolución del veneno de las serpientes que permanecen inexploradas y requieren más investigación.

### 1.3. Variación entre y dentro de las especies

Los venenos de serpientes muestran una notable variación en su composición y actividad biológica, entre especies y dentro de sus poblaciones, así como en niveles taxonómicos superiores (familias y géneros). Esta variación se considera adaptativa porque permite a las serpientes diversificar su dieta de acuerdo con las presas fácilmente disponibles o disuadir a los depredadores [15]. La variabilidad del veneno tiene implicaciones significativas tanto para la investigación básica del veneno como para el manejo del accidente ofídico, así como en la selección de antiofídicos y especímenes para la producción de antiofídicos que aborden la fisiopatología del accidente [15,19,20].

La variabilidad en los venenos se presenta en múltiples dimensiones (ver Capítulo 3) incluyendo variaciones entre familias, géneros, entre especies e intraespecíficas (entre población o sexos), así como variación entre individual, a través de su desarrollo ontogenético, cambios estacionales, dieta y hábitats [21].

A nivel de familia, los venenos de los elápidos y los vipéridos presentan diferencias significativas. Algunas toxinas son exclusivas de cada linaje, ya que han sido incorporadas de manera única en los venenos de una familia y no están presentes en la otra. [22]. De manera similar, existen diferencias en la composición del veneno entre géneros dentro de cada familia y entre especies dentro de cada género. El enfoque terapéutico debe basarse en el entendimiento de que los antivenenos se han desarrollado con base en la comprensión de la variabilidad de los venenos entre familias, géneros, especies y regiones [15].

Recientemente, se ha reconocido que el veneno varía dentro de las especies, incluidas variaciones regionales, así como variaciones entre edades y tamaños (ver Capítulo 2). El veneno es un rasgo ecológico que evoluciona de forma dinámica. La composición del veneno de una serpiente también está influenciada por la variedad de su dieta. Las serpientes juveniles tienden a consumir presas diferentes a las de los adultos de la misma especie, exhibiendo diferentes estrategias de alimentación y comportamiento. Por ejemplo, los juveniles pueden ser nocturnos mientras que los adultos son más diurnos. Como resultado, los juveniles pue-

den emplear una estrategia de morder y sujetar, mientras que los adultos pueden morder y soltar [15].

La variación regional puede estar relacionada con diferencias ecológicas entre poblaciones, las cuales están sujetas a mecanismos evolutivos de selección positiva o neutral sobre los sistemas venenosos de las serpientes [23]. Esto sugiere que para que un rasgo evolucione rápidamente, como lo es el veneno, debe haber una diversidad hereditaria significativa dentro de las poblaciones. Por ello, se ha hipotetizado que las variaciones entre los venenos deberían ocurrir con más frecuencia en los miembros adultos de una población, más que en otro segmento poblacional [15].

En general, el marco conceptual molecular sobre el dinamismo de la evolución de los venenos está bien establecido. Por ejemplo, los análisis transcriptómicos y proteómicos del veneno de *Bothrops atrox* revelan que los mecanismos de transcripción y traducción facilitan la variación fenotípica de un veneno. La evidencia revela que los venenos contienen dos tipos de proteínas: proteínas de función central conservadas, que son esenciales para su funcionamiento adecuado, y proteínas adaptativas, que están menos conservadas, varían en expresión y pueden especializarse en su función [19]. Estas observaciones sugieren que los mecanismos genéticos que controlan la variabilidad del veneno se extienden más allá de la selección de copias de genes o mutaciones en genes estructurales. También incluyen la selección de mecanismos que controlan la expresión genética, contribuyendo a la plasticidad de los fenotipos de serpientes venenosas [19].

La variabilidad del veneno se produce debido a las trayectorias evolutivas de las serpientes venenosas, así como a la especialización de algunas de sus toxinas. Por ejemplo, los venenos tanto de las familias Elapidae y Viperidae están dominados por dos o tres familias de proteínas: fosfolipasas  $A_2$  ( $PLA_2$ ) y toxina de tres dedos (3FTx) para los elápidos, y metaloproteasas (SVMP),  $PLA_2$  y serino proteasas (SVSP) para los vipéridos. En promedio, estas familias de proteínas constituyen el 83% y el 67% del proteoma del veneno de elápidos y víboras, respectivamente [24].

Los venenos de serpientes de la familia Elapidae son principalmente neurotóxicos, mientras que los de la familia Viperidae inducen coagulopatías, hemorragias y daños tisulares locales [25,26]. Esto se debe a la prevalencia de las proteínas 3FTx y  $PLA_2$  en el veneno de elápidos que pueden causar debilidad similar a la miastenia gravis [27]. Esta debilidad puede afectar a cualquier músculo; y si el bloqueo neuromuscular afecta a los músculos de la respiración, puede provocar la muerte [26,27]. Por otro lado, el veneno de vipéridos tiene efectos principalmente hemotóxicos y miotóxicos. Los agentes identificados en el veneno de las víboras incluyen proteinasas similares a la trombina que provocan coagulopatía [28], hialuronidasas que alteran las matrices extracelulares, fosfolipasas  $A_2$  que causan inflamación local y dolor [29], y metaloproteasas que contribuyen a la hemorragia [30,31]. El resultado es una destrucción local del tejido empeorada por el efecto coagulopático [26].

Existe una amplia variación en los perfiles de veneno entre especies dentro del mismo género [32–34]. Por ejemplo, los perfiles proteómicos de los venenos de dos especies de vipéridos del género *Bothriechis*, *B. lateralis* y *B. schlegelii*, muestran que los venenos de estas dos especies contienen péptidos potenciadores de bradiginina (BPP) y proteínas PLA<sub>2</sub>, serinoproteasas, L-aminoácido oxidasas (LAAO), proteínas secretoras ricas en cisteína (CRISP) y metaloproteasas dependientes de Zn<sup>2+</sup> (SVMP). Sin embargo, cada especie tiene una abundancia relativa diferente de cada familia de proteínas. Además, cada veneno contiene componentes distintos. Por ejemplo, *B. lateralis* contiene factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y moléculas similares a lectina de tipo C, mientras que *B. schlegelii* tiene inhibidores de proteasa de tipo Kasal [35].

Las proteínas del veneno de ambas especies de *Bothriechis* son similares en menos del 10%, lo que indica una divergencia significativa en la composición del veneno. A pesar de que ambas especies se adaptan a hábitos arbóreos, las características bioquímicas de su veneno probablemente estén relacionadas con las características de las presas que consumen [32,35]. La composición de los venenos puede proporcionar pistas para racionalizar los diversos signos de envenenamiento causados por *B. schlegelii* y *B. lateralis* [35].

También existe variación en el perfil del veneno de serpiente entre individuos de la misma especie, encontrándose diferencias intraespecíficas por ubicación geográfica [28,36,37]. Por ejemplo, se analizó a nivel de subespecie la composición y el perfil toxicológico del veneno de la serpiente cascabel *Crotalus simus* en México. Los venenos de la subespecie *C. s. simus*, *C. s. culminatus* y *C. s. tzabcan* difieren en la expresión del complejo neurotóxico «crotoxina». *Crotalus s. simus* tiene la mayor concentración de crotoxina seguida de *C. s. tzabcan*, mientras que el veneno de *C. s. culminatus* está casi desprovisto de este PLA<sub>2</sub> neurotóxico. El análisis proteómico se correlaciona estrechamente con los perfiles toxicológicos. Por ejemplo, *C. s. simus* contiene altas cantidades de crotoxina y serinoproteasas, mientras que el veneno *C. s. culminatus* tiene mayores cantidades de metaloproteasas y crotamina. Esto sugiere que la variación geográfica en la composición del veneno puede reflejar la selección natural para alimentarse de presas locales [38]. La creciente aparición de crotamina en poblaciones de *Crotalus* es razón suficiente para advertir sobre la necesidad de desarrollar un antiofídico que pueda neutralizar esta toxina [36].

Asimismo, existe variación en la composición del veneno entre especies de serpientes jóvenes y adultas debido a diferencias en la dieta [39]. Normalmente, las víboras jóvenes se alimentan de animales ectotérmicos (invertebrados, anfibios y reptiles), mientras que los adultos se alimentan principalmente de pequeños mamíferos (endotermos) [38,40,41]. Este cambio de dieta ha promovido numerosos estudios que buscan comprender los cambios ontogenéticos en los venenos de las serpientes [42,43]. Por ejemplo, los venenos de *Bothrops* obtenidos de adultos y recién nacidos revelaron diferentes actividades de coagulación del plasma. La investigación identificó dos perfiles de veneno distintos: los individuos jóvenes

tienen pocas miotoxinas PLA<sub>2</sub> K-49 y más proteasas, mientras que los adultos mostraron mucha más PLA<sub>2</sub> K-49 pero menos proteasas [30,50]. El veneno de los neonatos es menos inflamatorio y hemorrágico, pero más miotóxico y procoagulante en comparación con el veneno de los adultos que muestra mayor actividad hemorrágica *in vivo* [45–47].

Se ha establecido que ciertos perfiles de veneno podrían variar entre sexos, sugiriendo que esta es una adaptación a la dieta diferencial entre machos y hembras en algunas especies [38,41,48,49]. No obstante, análisis de electroforesis de los venenos de 30 crías de una sola camada de *Bitis gabonica* (víbora de Gabón) reveló variaciones individuales, pero no se observaron diferencias significativas acorde al sexo [49]. En las serpientes colombianas, las relaciones entre la variabilidad del veneno y los rasgos de historia de vida representan un campo poco explorado que requiere mayores esfuerzos investigativos.

La acción del veneno, así como su combinación proporcional, están determinadas, al menos en parte, por el tipo de presa disponible para una población de serpientes [20,50]. Por ejemplo, es importante señalar que las toxinas CRISP abundan en los venenos de especies de colúbridos como *Telioscopus dhara* (serpiente gato árabe) y *Trimorphodon biscutatus* (serpiente lira occidental) que se alimentan de reptiles. El efecto hipotérmico tóxico de esta toxina es útil para frenar el movimiento de presas ectotérmicas «de sangre fría» [51]. Los determinantes en la variación de los perfiles de los venenos de serpiente es un campo de investigación apasionante y sin resolver, que requiere un enfoque multidisciplinario, así como un arduo esfuerzo para revelar los mecanismos que generan sus intrincadas mezclas.

## 2. Lo esencial de los venenos de serpiente

### 2.1. Metaloproteasas de venenos de serpiente

Las metaloproteasas del veneno de serpiente (SVMP) causan hemorragia en la microvasculatura de sus presas, lo que contribuye a su inmovilización, situación que también se observa en los accidentes ofídicos. Además, los SVMP inducen miotoxicidad, edema, dermonecrosis, formación de ampollas y trastornos de la coagulación [52,53].

La mezcla de veneno contiene varias toxinas, incluidas las SVMP, que pueden descomponer las proteínas en polipéptidos o aminoácidos más pequeños. Las SVMP son un tipo de endopeptidasas dependientes de zinc que pertenecen a la subfamilia ADAM/Adamalisina/reprolisina, que forma parte de la familia de las metzincinas [54,55]. Las metzincinas son metalopeptidasas que tienen dominios catalíticos globulares. Muchos de estos dominios son multidominio, contienen una secuencia consenso de aminoácidos de unión al zinc, HEXXHXXGXX, y un giro  $\beta$ -1-4 que tiene un residuo de metionina altamente conservado (giro Met). Este residuo forma una base hidrofóbica para el cofactor de zinc y los tres residuos de histidina involucrados en la catálisis [56]. Por tanto, estas toxinas están compuestas por cinco dominios o unidades funcionales y/o estructurales. Primero, un

péptido señal que es un péptido corto (~ 16-32 aminoácidos) que incita a una célula a translocar la proteína, y posteriormente, la SVMP que pueden contener prodominio, metaloproteasa, desintegrina y rico en cisteína [56].

Sin embargo, las toxinas maduras (proteínas funcionales) del veneno, pueden estar en diferentes combinaciones en los últimos tres dominios, lo que permite clasificarlas según su masa molecular y composición de dominios. Las SVMP de tipo P-I tienen una masa molecular entre 20 y 30 kDa y presentan solo un dominio de metaloproteasa. Las SVMP de tipo P-II tienen una masa molecular entre 30 y 60 kDa y contienen dominios de metaloproteasa y desintegrina. Las SVMP de tipo P-III tienen una masa molecular entre 60 y 100 kDa y son ricas en dominios de cisteína además de dominios de metaloproteasa y desintegrina [54,57,58]. La última subclase se determina en función de modificaciones postraduccionales, como el procesamiento proteolítico entre las proteinasas, los dominios de desintegrina (clase P-IIIb), la dimerización (P-IIIc), la adición de proteínas tipo lectinas de tipo C (P-IIId) y los P-III canónicos inicialmente descritos conocidos como P-IIIA [54,58].

La estructura del dominio metaloproteasa, el dominio más característico de las SVMP, está formada por cinco láminas  $\beta$ , cuatro hélices  $\alpha$  y una hélice  $\alpha$  corta en el N-terminal. Las láminas  $\beta$ 1,  $\beta$ 2,  $\beta$ 3 y  $\beta$ 5 son paralelas entre sí, mientras que la lámina  $\beta$ 4 es antiparalela a las otras láminas  $\beta$ . El dominio se divide en dos partes (subdominios M y S) por la hendidura de unión del sustrato [65]. Dentro de esta hendidura, el  $Zn^{2+}$  está coordinado por el átomo N $\epsilon$ 2 de los residuos de histidina ubicados en las posiciones 142, 152 y 156, así como por moléculas de agua catalíticas.

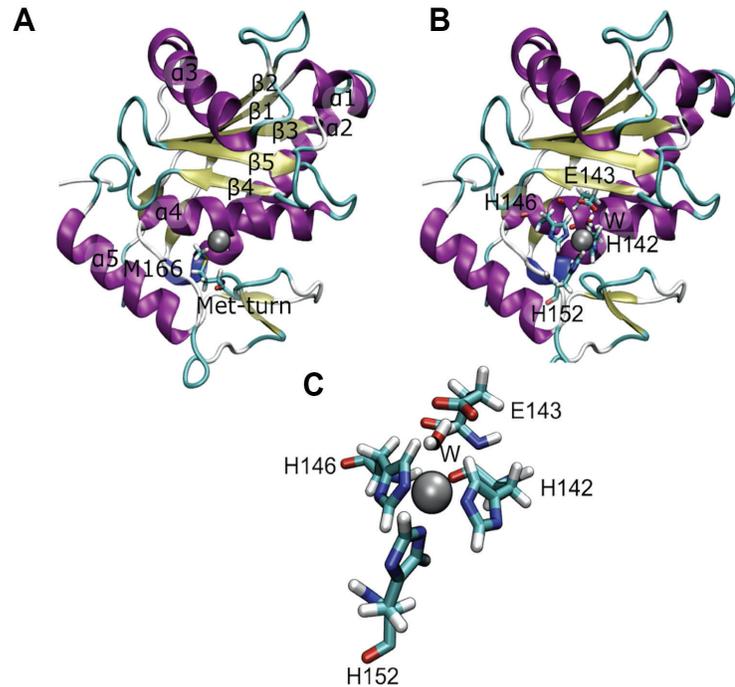
Debajo del sitio activo se encuentra la cadena lateral de un residuo de metionina altamente conservado que forma una base hidrófoba para el cofactor de zinc y constituye el giro Met, una característica altamente conservada dentro de la familia de las metzincinas [59]. Además, estas enzimas requieren un ion  $Ca^{2+}$  para estabilizar su estructura, y la ubicación de este catión es estructuralmente opuesta a la hendidura de unión del sustrato [58,59]. El sitio activo del dominio metaloproteasa incluye un residuo de glutamato (Glu143) que participa en el inicio del ciclo catalítico al desprotonar el agua catalítica (Figura 3).

Después de desprotonar el agua (cesión de un catión hidrógeno), el grupo hidroxilo resultante actúa como nucleófilo y ataca al carbonilo del enlace peptídico que luego se hidroliza. Posteriormente, se forma un oxianión que se estabiliza mediante el cofactor  $Zn^{2+}$ . Finalmente, los electrones dislocados en el oxígeno vuelven a su enlace original y los productos de la reacción se liberan con la ayuda de nuevas moléculas de agua [60].

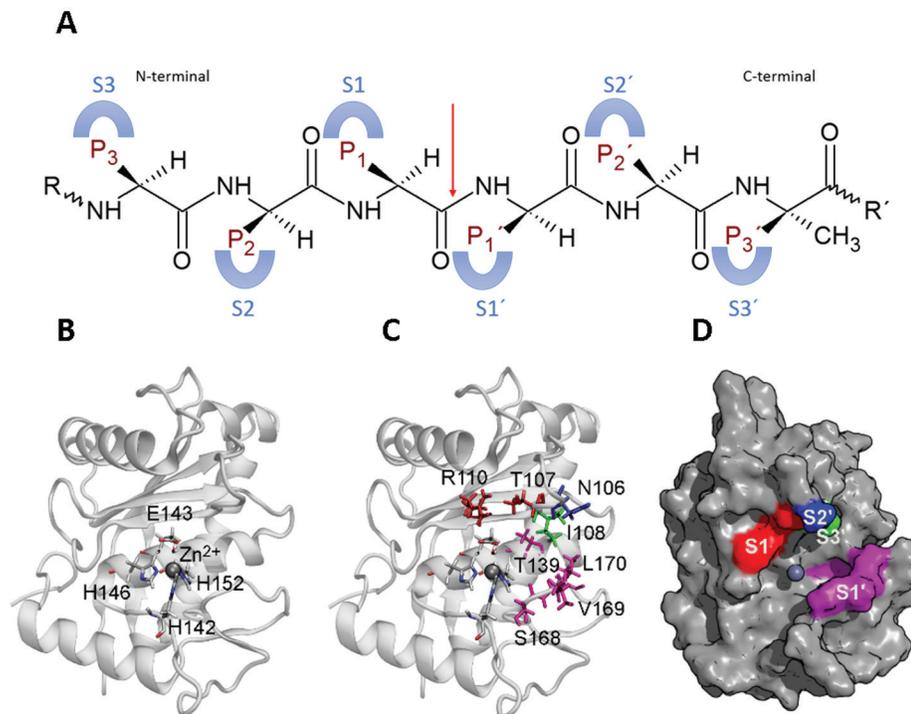
Las SVMP tienen una hendidura de unión al sustrato que desempeña un papel crucial en la unión y estabilización de este para una mayor reacción catalítica. Además, los residuos catalíticos y la coordinación del zinc también contribuyen a la reacción. La hendidura contiene subsitios, incluidos S1, S2, S3, S1', S2' y S3', que interactúan con las cadenas laterales del sus-

trato. El sitio activo de la enzima sirve como centro, con S1 a S3 ubicado desde el sitio activo hasta el N-terminal, y S1' a S3' ubicado desde el sitio activo hasta el C-terminal. El enlace peptídico que se va a hidrolizar se encuentra en el centro del sitio activo y el sustrato tiene sitios complementarios de la siguiente manera: los sitios P1 a P3 interactúan con los subsitios S1 a S3 de la enzima y los sitios P1' a P3' interactúan con S1' para subsitios S3' de la enzima. Esta nomenclatura permite una descripción exacta de la interacción entre la enzima y el sustrato o inhibidores [60,61] (Figura 4).

**Figura 3.** Estructura de una SVMP P-I: (A) Muestra la disposición de la estructura secundaria, incluidos Met166 y giro Met (Met-turn). (B) Muestra la posición del ion zinc (esfera gris), su coordinación y los residuos catalíticos. (C) Representa el sitio activo de la enzima. La figura se preparó a partir de la estructura con el código PDB 2W15 usando VMD (Visual molecular dynamics).  
Figura elaborada por Lina María Preciado Rojo.



**Figura 4.** Subsitios de una SVMP P-I. (A) Representaciones esquemáticas de subsitios de la enzima y su interacción con sitios del sustrato. La flecha roja señala el enlace peptídico que se va a hidrolizar. (B) Sitio activo de la enzima y los residuos catalíticos. (C) Cadena lateral de los residuos implicados en los subsitios de la enzima mediante una clave de color. Rojo: S1, azul: S2', verde claro: S3' y morado: S1'. (D) Superficie de la enzima y ubicación de los subsitios con la misma clave de color que C. La figura se preparó a partir de la estructura con código PDB 2W15 usando VMD (Visual molecular dynamics).  
Figura elaborada por Lina María Preciado Rojo.

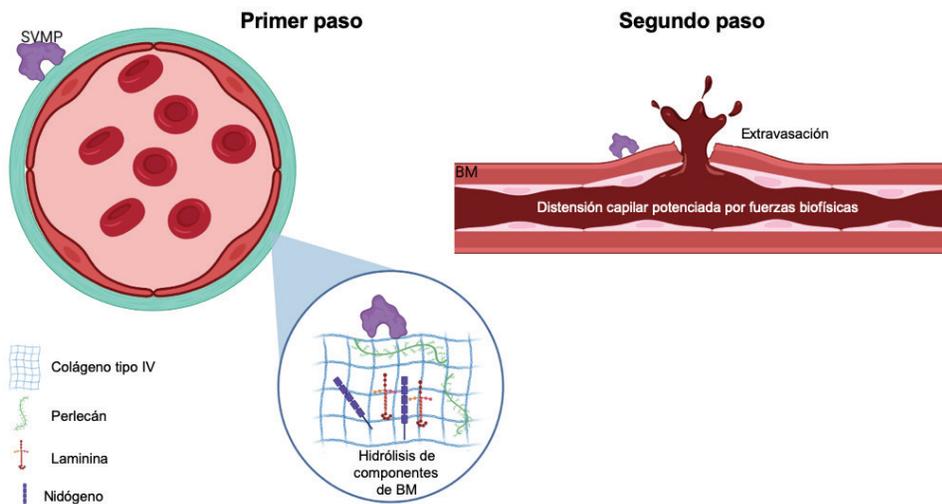


## 2.2. Efectos biológicos inducidos por SVMP

### Hemorragia

Esta actividad puede ser local o sistémica y depende del catalizador. Se ha propuesto una hipótesis de dos pasos para explicar cómo estas toxinas inducen hemorragia [52]. Inicialmente, las SVMP hidrolizan el sustrato en la membrana basal (MB), como el colágeno tipo IV, la laminina, el nidógeno y el perlecán. Esto debilita la estabilidad mecánica de la MB y aumenta la distensibilidad de la pared del microvaso. Además, las SVMP pueden degradar otras proteínas, incluidas aquellas implicadas en la unión de la MB a la matriz extracelular de los músculos, como los colágenos no fibrilares VI, XII, XIV, XV, XVI y XIX, así como el colágeno fibrilar tipo V [53,62,63].

En el segundo paso, las fuerzas hemodinámicas actúan sobre la microvasculatura, incluida la tensión de corte y la presión hidrostática sobre la pared del microvaso. Estas fuerzas potencian la distensión de la pared, provocando su ruptura y la extravasación de glóbulos rojos [58] (Figura 5).



**Figura 5.** Representación esquemática del modelo de dos pasos para la hemorragia inducida por SVMP. El primer paso implica la hidrólisis de componentes de la membrana basal (MB) que desestabiliza la interacción entre las células endoteliales y la MB. En el segundo paso, las fuerzas biofísicas contribuyen a la potenciación de la distensión capilar de la pared de los microvasos, lo que lleva a su alteración. Para más detalles, consulte el texto. Imagen creada con Bio Render.

Hay dos tipos de hemorragia, por rexis y por diapédesis. La hemorragia por rexis es característica de la microvasculatura capilar. En este caso, la extravasación se produce a través de huecos formados en la pared del vaso, como se describió anteriormente. Además, el grosor de la célula endotelial disminuye, lo que debilita la pared capilar [52,53,64]. Aunque la hemorragia inducida por SVMP es causada principalmente por el modo por rexis, el mecanismo por diapédesis se observa en las vénulas donde los eritrocitos escapan a través de uniones intercelulares ensanchadas en lugar de a través de espacios en las células endoteliales [65].

Además, las SVMP inducen apoptosis (muerte celular programada) de las células endoteliales [66–70]. En ciertos casos, los niveles de proteínas antiapoptóticas de la familia BCL-2 no se ven afectados, mientras que en otros casos los niveles de BCL-XL, otra proteína antiapoptótica, disminuyen [67,70]. Además, se ha observado la activación de las caspasas 3 y 8 [67,70]. Estas proteasas participan en la cascada de señalización intrace-

lular que conduce a la apoptosis celular. Las SVMP pueden aumentar los niveles de expresión de varias metaloproteasas de matriz (MMP) [71], lo que puede aumentar su efecto hemorrágico al degradar la matriz extracelular y una mayor debilidad de la interacción de las células endoteliales derivadas de la médula ósea.

Existe una clara diferencia en la potencia de las SVMP para inducir hemorragia. Específicamente, las SVMP P-III y P-II son más hemorrágicas que las SVMP P-I. El mecanismo molecular subyacente a este fenómeno aún no se ha dilucidado por completo, pero algunas hipótesis proporcionan información sobre este tema. En primer lugar, las SVMP P-II y P-III contienen desintegrina, dominios ricos en cisteína y, en algunos casos, un dominio de lectina de tipo C (P-III). Estos dominios pueden dirigir las toxinas a objetivos específicos en la microvasculatura, concentrándolas en áreas donde pueden causar el mayor daño [58,61].

Por ejemplo, el dominio desintegrina puede dirigirse a las integrinas expresadas en la membrana celular de las células endoteliales [72]. Por lo tanto, las SVMP P-II y P-III muestran un patrón de co-localización con colágeno tipo IV en la pared del vaso. Por el contrario, las SVMP P-I, que carecen de dominios adicionales, están ampliamente distribuidas en la matriz extracelular y no se concentran en los vasos [73,74].

Además, los estudios han demostrado que el inhibidor de la proteínasa plasmática  $\alpha 2$ -macroglobulina inhibe las actividades proteolíticas y hemorrágicas de varias SVMP P-I, pero no tiene capacidad inhibitoria para las SVMP P-II y P-III [75–77]. Aún se desconoce la base estructural de estas diferencias. Sin embargo, una hipótesis es que los dominios adicionales encontrados en P-II y P-III crean obstáculos para la unión de la  $\alpha 2$ -macroglobulina, lo que resulta en una falla en el reconocimiento. Este descubrimiento también puede explicar la capacidad de las SVMP P-II y P-III para causar hemorragia sistémica, ya que la  $\alpha 2$ -macroglobulina no las limita una vez que ingresan a la circulación sistémica, mientras que las SVMP P-I son rápidamente inhibidas por este inhibidor de la proteasa [53].

Otro aspecto importante relacionado con las SVMP es que las de tipo P-I difieren significativamente en su capacidad para inducir hemorragia [78–80]. Aunque tienen actividad proteolítica similar hacia varios sustratos *in vitro*, algunas de estas enzimas causan hemorragia mientras que otras no [63,79,80]. Se observaron diferencias significativas entre los SVMP hemorrágicos y no hemorrágicos en su capacidad para hidrolizar los componentes de la MB *in vivo*. La toxina BaP1 de P-I SVMP hidroliza el colágeno tipo IV y el perlecán en mayor medida que la SVMP P-I no hemorrágica, llamada leucurulisina-A. El análisis proteómico de los exudados recolectados del tejido muscular inyectado con estas SVMP también reveló diferencias en los tipos de componentes de la matriz extracelular presentes [63].

Sin embargo, los determinantes estructurales detallados de la actividad hemorrágica de los SVMP P-I siguen siendo en gran medida descono-

cidos. Por lo tanto, la posibilidad de predecir el potencial hemorrágico de los SVMP basándose en el análisis de estructura o secuencia sigue siendo incierta. Sin embargo, una hipótesis reciente sugiere que las diferencias en la dinámica de un bucle ubicado cerca del sitio catalítico pueden explicar la variable actividad hemorrágica [82].

Otro hallazgo importante fueron las diferencias en las superficies electrostáticas entre este tipo de proteínas [83]. Recientemente se han utilizado herramientas bioinformáticas para predecir la interacción de las SVMP P-I hemorrágicas o no hemorrágicas con sus sustratos naturales, como los dominios de colágeno tipo IV, perlecán y laminina [84]. Las SVMP P-I hemorrágicas pueden formar complejos catalíticos con sus sustratos, mientras que las SVMP P-I no hemorrágicas no pueden. Además, las SVMP P-I no hemorrágicas pueden tener un área de volumen mayor de la hendidura de unión al sustrato que las SVMP de P-I hemorrágicas. A pesar de todos los resultados descritos, se necesitan más estudios para aclarar la actividad hemorrágica entre los tipos de SVMP P-I.

### ***Mionecrosis y deterioro de la regeneración muscular***

La inoculación de SVMP produce daño muscular necrótico (mionecrosis) causado por una hemorragia inducida por las mismas toxinas. El sangrado afecta el suministro de sangre al tejido afectado, lo que provoca isquemia. La isquemia puede causar hipoxia y daño a las células musculares [30,80,85]. Este efecto puede contribuir a la actividad miotóxica inducida por otras toxinas del veneno de serpiente, principalmente las fosfolipasas  $A_2$  (PLA<sub>2</sub>).

El proceso de regeneración muscular después de una lesión requiere tres condiciones: suministro sanguíneo intacto, restitución de la unión neuromuscular y MB intacta [86]. Además, está implicada una interacción sincronizada entre varias sustancias y células inflamatorias. Las SVMP afectan dos de estos requisitos al degradar los componentes de la MB, lo que resulta en un debilitamiento de la pared de la microvasculatura y la extravasación del contenido de los vasos. La necrosis del músculo liso en la pared de las arterias intramusculares causada por SVMP puede afectar la regeneración muscular al disminuir el suministro de sangre [87,88]. El oxígeno y los nutrientes hacia el tejido afectado disminuyen y el proceso de regeneración muscular se ve afectado [85].

### ***Formación de flictenas y necrosis de la piel (dermonecrosis)***

La formación de flictenas inducida por las SVMP es causada por su actividad catalítica contra los componentes de la MB ubicados en la unión dermoepidérmica [71,89,90]. Las SVMP hidrolizan colágeno tipo IV, laminina y nidógeno, entre otras proteínas, en los fluidos de la flictena [89,90]. Después de esta hidrólisis, la epidermis se separa de la dermis, dando como resultado la formación de una ampolla que acumula principalmente fluido plasmático, favorecido por el proceso inflamatorio, así como fibrinógeno y fibrina que son degradados por varias SVMP. La dermonecrosis puede ocurrir cuando las células se desprenden y luego mueren, y posteriormente tiene lugar un proceso regenerativo ineficiente, ya sea con o sin

formación de cicatriz [96]. Sin embargo, se necesitan más estudios para obtener más información sobre este tema.

### **Edema e inflamación**

Hipotéticamente, la actividad formadora de edema de las SVMP está relacionada inicialmente con la extravasación del contenido de los vasos sanguíneos al espacio intersticial. Sin embargo, esta hipótesis ha sido refutada parcialmente de forma experimental. Por ejemplo, al inyectar dosis subhemorrágicas de SVMP, se provoca edema, lo que sugiere que este efecto es independiente de la extravasación y es inducido por eventos con múltiples componentes [86]. Primero, se produce la infiltración de leucocitos en el órgano afectado. Luego, ocurre la degranulación de los mastocitos y liberación de histamina que también puede conducir a la activación de los macrófagos [71,91–93]. De manera similar, las SVMP estimulan la liberación de IL-1 e IL-6, lo que conduce a un aumento del nivel de ARNm del factor de necrosis tumoral (TNF), y resulta en la sobreexpresión de esta proteína responsable de los procesos de inflamación [71,93,95].

### **2.3. Fosfolipasas A<sub>2</sub> del veneno de serpiente**

Las serpientes venenosas emplean las fosfolipasas A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>) para provocar mionecrosis (muerte de células musculares), neurotoxicidad (parálisis de los músculos respiratorios), inflamación, dolor y alteración de la coagulación sanguínea. Todos estos efectos contribuyen a la inmovilización de la presa y pueden observarse en accidentes ofídicos.

#### **Aspectos generales: clasificación, reacción catalítica y estructura general**

Existen dieciséis grupos de PLA<sub>2</sub> (IA, IB, IIA, IIB, IIC, IID, IIE, IIF, III, V, IX, X, XIA, XIB, XII, XIV) que se clasifican en función de su secuencia, masa molecular, origen, posición de enlaces disulfuro, requerimiento de calcio y otras características [95]. Las PLA<sub>2</sub> pueden hidrolizar el enlace éster de la posición sn-2 de los glicerofosfolípidos, produciendo un ácido graso y un lisofosfolípido (Figura 6).

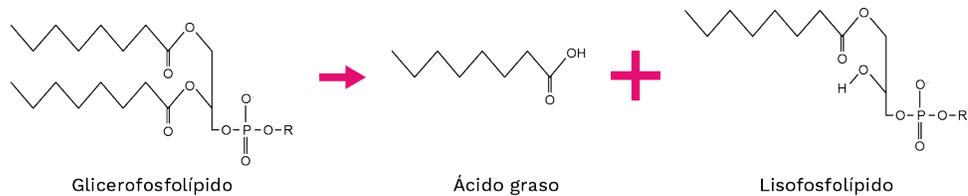


Figura 6. Reacción catalizada por las PLA<sub>2</sub>s.

La familia de enzimas PLA<sub>2</sub> está presente en una amplia variedad de organismos, incluyendo animales, plantas, hongos y bacterias. Sin embargo, entre los dieciséis tipos de PLA<sub>2</sub>, los encontrados en venenos de serpientes pertenecen a los grupos IA, IIA y IIB [102]. Las PLA<sub>2</sub> del grupo IA están presentes en los venenos de los elápidos que en América están representados por las serpientes coral (*Micrurus* spp.). Estas PLA<sub>2</sub> típicamente tienen una masa molecular entre 13 y 15 kDa, y presentan siete

puentes disulfuro, uno de los cuales es exclusivo de este grupo y se encuentra entre las cisteínas 11 y 77.

Las PLA<sub>2</sub> del grupo IIA se encuentran en los venenos de las víboras, como las serpientes de los géneros *Crotalus*, *Lachesis*, *Bothrops* y *Porthidium*. La masa molecular de las PLA<sub>2</sub> del grupo IIA es como la de las PLA<sub>2</sub> del grupo IA, también presentes en los venenos de los vipéridos, ambos grupos con siete puentes disulfuro. El puente disulfuro exclusivo en las PLA<sub>2</sub> del grupo IIA se encuentra entre las cisteínas 50 y 137. El grupo IIA comprende otro conjunto de PLA<sub>2</sub> de veneno de serpiente, incluida una enzima también aislada del veneno de la víbora de Russell (*Daboia russellii*) de Asia (India, Pakistán, Nepal, Sri Lanka, Bangladesh y Bután), y la característica única de esta proteína es que tiene un puente disulfuro menos que las PLA<sub>2</sub> mencionadas anteriormente [95,96].

Las PLA<sub>2</sub> de elápidos y vipéridos tienen contrapartes humanas. Por ejemplo, el grupo IB de PLA<sub>2</sub> pancreático es homólogo a las enzimas del grupo IA. La PLA<sub>2</sub> sinovial pertenece al grupo IIA y tiene una estructura similar a las proteínas del veneno de serpiente del mismo grupo. Sin embargo, es bien sabido que las PLA<sub>2</sub> humanas no causan los efectos nocivos observados en los venenos de serpiente. Estos efectos incluyen neurotoxicidad pre y/o postsináptica, miotoxicidad local y/o sistémica, anticoagulación, cardiotoxicidad, modulación de la agregación plaquetaria, actividad hemolítica, edema e hipotensión, y daño directo a órganos como el riñón, pulmón e hígado [97].

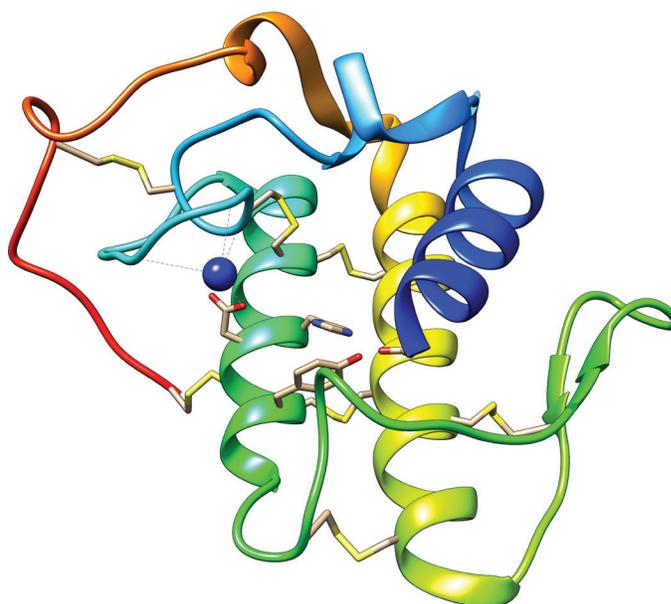
Las PLA<sub>2</sub> del veneno de serpiente se clasifican como proteínas básicas o ácidas según su punto isoeléctrico. La mayoría de las PLA<sub>2</sub> son básicas. Aunque se sabe que las PLA<sub>2</sub> ácidas tienen actividad catalítica, generalmente carecen de efectos biológicos. Sin embargo, en algunos casos, muestran actividades miotóxicas y formadoras de edema [98,99]. Las proteínas ácidas también se han identificado en venenos colombianos, que incluyen especies como *Porthidium nasutum*, *P. lansbergii* y *Bothrops asper* [100–102].

Para explicar la variedad de efectos y las diferencias en la susceptibilidad entre los distintos tejidos, se propuso un modelo que se ocupa de los «sitios diana» en la superficie de las células o los tejidos objetivo [103]. El modelo sugiere que los «sitios farmacológicos» específicos responsables de inducir cada actividad son reconocidos en dichos sitios diana, los cuales se encuentran en la estructura tridimensional de las PLA<sub>2</sub>. El modelo propone que los sitios farmacológicos pueden o no superponerse con el sitio activo. Los efectos farmacológicos inducidos por las PLA<sub>2</sub> están determinados por la alta afinidad entre la molécula diana y el sitio farmacológico. Se supone que esto se debe a la presencia ubicua de fosfolípidos en las membranas celulares. Es poco probable que estas sean las moléculas diana que afirma el modelo. Por el contrario, es plausible que los receptores sean glicoproteínas u otras proteínas que se expresan de forma diferencial [103].

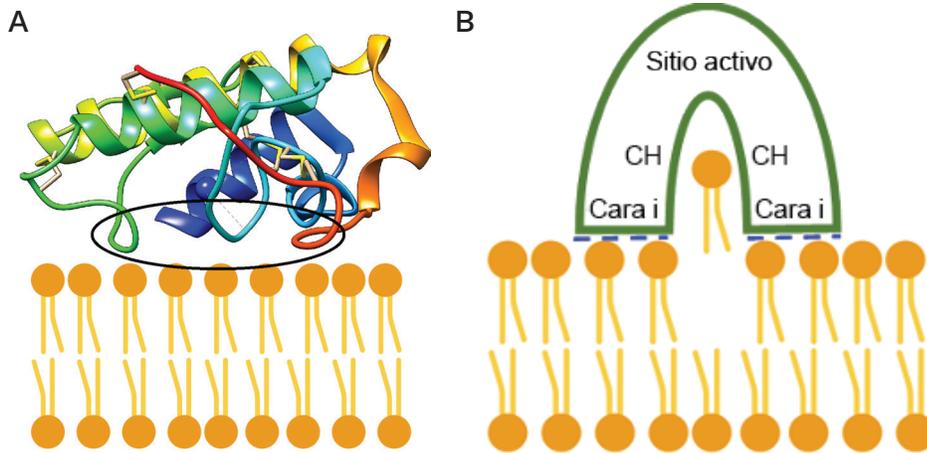
Las PLA<sub>2</sub> de los venenos de serpiente son enzimas dependientes de calcio (Ca<sup>2+</sup>) que estructuralmente consisten en tres hélices  $\alpha$ , dos láminas  $\beta$  antiparalelas y un bucle de unión al calcio (Figura 7). Estas proteínas tienen una longitud variable, que va desde 119 a 134 aminoácidos. El canal hidrofóbico involucrado en conducir el sustrato hacia el sitio activo está definido por residuos ubicados en dos de las hélices  $\alpha$  (hélice  $\alpha$  dos, residuos 37-57, y hélice  $\alpha$  tres, residuos 90-109, respectivamente), además de la hélice N-terminal (hélice  $\alpha$  uno) y los residuos Leu2, Val3, Phe5, His6, Ile9, Trp19, Val31, Lys69, Ala102 y Ala103. El sitio activo está formado por His48, Asp49, Tyr52 y Asp99. Luego, el bucle de unión al calcio coordina el calcio necesario para la catálisis y está formado por Tyr28, Gly30, Gly32 y Asp49 [104] (Figura 7).

Las PLA<sub>2</sub> catalizan reacciones que pueden dar lugar a incoherencia química debido a que las enzimas son solubles en agua, mientras que su sustrato es anfipático (una región de la molécula es hidrosoluble y la otra es liposoluble). Para superar este problema, las PLA<sub>2</sub> tienen una superficie de unión interfacial (i-face), que media su adsorción en la interfaz lípido-agua fuera de la membrana celular [104] (Figura 8A).

Para que se produzca una reacción catalítica en la interfase, deben tener lugar una serie de eventos, entre ellos, que el fosfolípido salga de la membrana y llegue al sitio activo de la PLA<sub>2</sub>. El fosfolípido pasa a través de un canal hidrofóbico mediante un proceso de difusión que no requiere energía. Después de localizar el sustrato en el sitio activo de la enzima, el fosfolípido debe anclarse para reducir los grados de libertad del enlace éster en la posición sn-2. Esta fijación la realiza el aminoácido en la posición 69 (Lys o Tyr) a través de un enlace de hidrógeno, generalmente con el fosfato de la posición sn-3 [104] (Figura 8B).



**Figura 7.** Estructura general de las PLA<sub>2</sub> del veneno de serpiente. Las hélices alfa uno, dos y tres se muestran en azul, verde y amarillo, respectivamente. El bucle de unión al calcio se muestra en cian (azul verdoso) y el ion Ca<sup>2+</sup> se representa como una esfera azul. Los puentes disulfuro se presentan como barras amarillas. Además, los residuos catalíticos también se muestran en barras (His48, Asp49, Tyr52 y Asp99) (la figura se preparó a partir de la estructura con el código PDB 2QOG, cadena B).



**Figura 8.** (A) Representación esquemática de i-face. El círculo negro indica las regiones implicadas en el reconocimiento de la membrana y la adsorción de la enzima en la interfase lípido-agua. (B) Representación esquemática de la conducción del glicerofosfolípido al sitio activo a través del canal hidrofóbico (HC). Las líneas discontinuas azules representan interacciones hidrofóbicas y electrostáticas entre los aminoácidos de la enzima y los glicerofosfolípidos. Los glicerofosfolípidos fueron extraídos de Bio Render.

Tras el reconocimiento del sustrato y su desplazamiento a través del canal hidrofóbico, comienza el ciclo catalítico. La His48 se protona extrayendo un ion hidrógeno del agua, lo que genera un grupo hidroxilo (OH<sup>-</sup>) que actúa como nucleófilo. A continuación, el OH<sup>-</sup> ataca el enlace éster sn-2, lo que conduce a la formación de un oxianión que se estabiliza mediante el ion Ca<sup>2+</sup>. Finalmente, los electrones dislocados del oxígeno vuelven a su enlace original y se liberan los productos de la reacción [104,105].

Las PLA<sub>2</sub> del veneno de serpiente requieren actividad catalítica para inducir la mayoría de sus efectos biológicos. Sin embargo, desde 1984 [106] se ha descubierto un subgrupo de estas toxinas que han sustituido su residuo catalítico Asp49 por otros aminoácidos (principalmente Lys, pero también se pueden incluir Gln, Ser y Arg). Esta sustitución hace que las nuevas proteínas sean enzimáticamente inactivas y se las conoce como homólogas de PLA<sub>2</sub> o miotoxinas similares a PLA<sub>2</sub>. Aunque no pueden hidrolizar los glicerofosfolípidos de la membrana, pueden causar miotoxicidad y edema [22,107].

### **Efectos biológicos inducidos por las PLA<sub>2</sub>s de venenos de serpientes**

#### *Miotoxicidad*

Las PLA<sub>2</sub> del veneno de serpiente pueden inducir mionecrosis a través de miotoxicidad. Aunque los eventos moleculares no se comprenden completamente, existe una descripción detallada de los procesos celulares que involucran el daño de estas toxinas a las células musculares. En primer lugar, se sugiere que la miotoxina se une a la célula diana. Algunos autores han identificado una proteína del músculo de conejo llamada receptores tipo M [108]. El receptor tiene una masa molecular de 180 kDa y contiene repeticiones en tándem de regiones homólogas con los dominios de reconocimiento de carbohidratos (CDR).

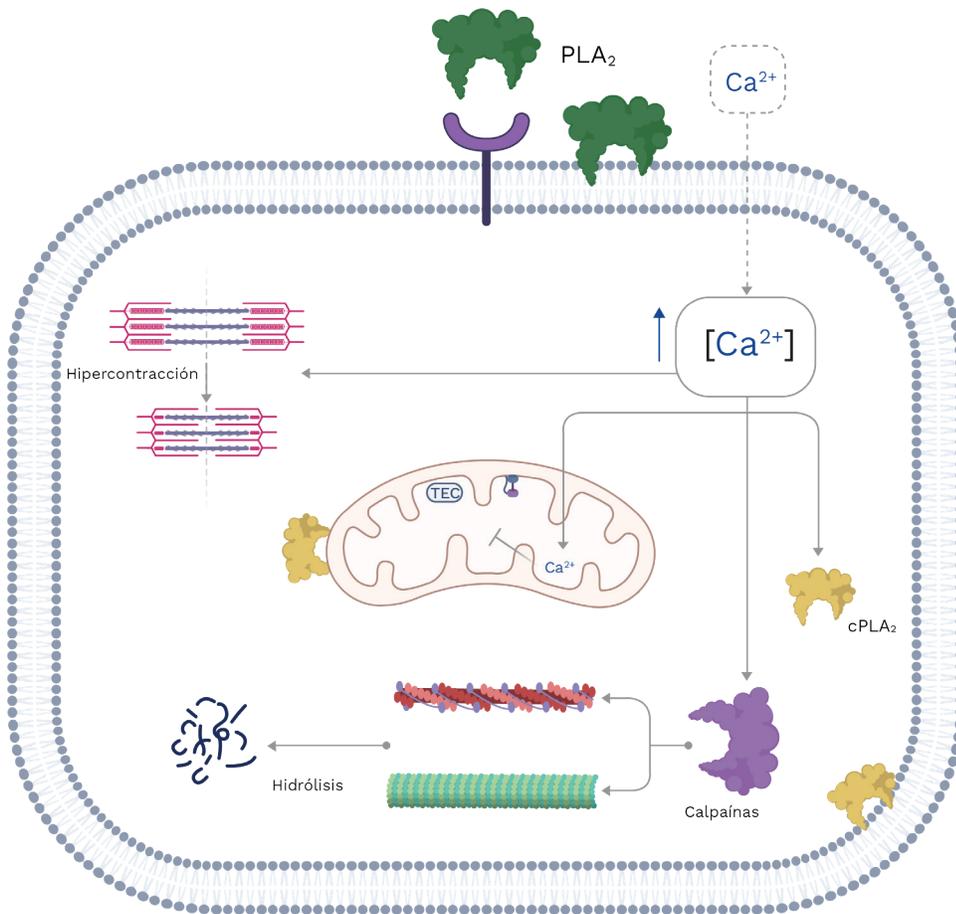
Un estudio reciente sugiere que la nucleolina, una proteína nuclear que también se expresa en la membrana celular, puede interactuar con una PLA<sub>2</sub> Lys49 y mediar en su internalización [109]. Posteriormente, las

PLA<sub>2</sub> alteran la membrana muscular. La PLA<sub>2</sub> Asp49 cataliza este proceso, mientras que los homólogos de la PLA<sub>2</sub> desestabilizan la proteína a través de interacciones hidrofóbicas y electrostáticas con los glicerofosfolípidos.

Fernandes et al. [110] propusieron que estas toxinas tienen un estado oligomérico que puede ser activado alostéricamente por una molécula pequeña, probablemente un ácido graso. La proteína se acopla entonces a la membrana en un sitio específico llamado Sitio de Acoplamiento de Membrana (MDoS). Finalmente, las PLA<sub>2</sub> provocan la desestabilización de los glicerofosfolípidos de membrana a través de la acción del Sitio de Disrupción de Membrana (MDiS) [111]. Estos eventos inducen cambios en la selectividad y permeabilidad de la membrana muscular, lo que lleva a una entrada masiva de calcio y despolarización celular. Además, se liberan creatina quinasa (CK), deshidrogenasa láctica (LDH) y otras moléculas que se utilizan como marcadores de miotoxicidad.

La concentración elevada de iones de calcio en el citoplasma de las células musculares conduce a una hipercontracción del sarcómero, lo que resulta en daño mecánico. Los iones de calcio también inducen una sobrecarga de las mitocondrias, lo que lleva a un daño en la cadena transportadora de electrones y la síntesis de ATP. Además, el calcio puede activar las PLA<sub>2</sub> citosólicas que pueden aumentar el daño intracelular, particularmente en organelos con membrana; y también puede estimular la acción proteolítica de las calpaínas, desencadenando la desorganización del citoesqueleto. Finalmente, las PLA<sub>2</sub> del veneno de serpiente pueden internalizarse, lo que lleva a un mayor daño interno. Estos eventos finalmente resultan en la muerte celular por necrosis (Figura 9), que es un factor significativo en el envenenamiento por vipéridos, incluidos los de Colombia (ver Capítulo 9) [111,112].

La miotoxicidad sistémica es otro efecto biológico conocido de algunas mordeduras de serpientes, observado en Colombia en el caso de accidentes con serpientes de cascabel (*Crotalus durissus*; ver Capítulo 9) [113]. Aunque los determinantes moleculares de este efecto son actualmente desconocidos, se sugiere que la toxina podría unirse a sitios de baja afinidad en el área inyectada y luego distribuirse a otras regiones anatómicas del cuerpo. Esta distribución puede inducir miotoxicidad a través de los eventos descritos anteriormente [119]. Las PLA<sub>2</sub> del veneno de serpiente pueden causar actividad miotóxica que conduce a rabdomiólisis que puede afectar la función renal al bloquear la filtración glomerular debido al exceso de mioglobina en la sangre. Esto en última instancia, puede resultar en insuficiencia renal aguda (IRA) [114,115].



**Figura 9.** Representación esquemática de los eventos celulares que ocurren durante la miotoxicidad inducida por las PLA<sub>2</sub> del veneno de serpiente. TEC: cadena transportadora de electrones; cPLA<sub>2</sub>: PLA<sub>2</sub> citosólica. La membrana de la célula muscular se ve alterada por mecanismos catalíticos o no catalíticos de las PLA<sub>2</sub>, lo que conduce a una entrada masiva de Ca<sup>2+</sup>. Esto da como resultado una hipercontracción del sarcómero, la activación de la calpaína y la cPLA<sub>2</sub>, todo lo cual contribuye a aumentar el daño. Para más detalles, consulte el texto. Imagen creada con Bio Render y editada por Oscar A Ramírez Ruiz.

### Edema

La inyección intramuscular de PLA<sub>2</sub> de veneno de serpiente induce inflamación, caracterizada por un aumento de la permeabilidad vascular, formación de edema, reclutamiento de leucocitos a los tejidos afectados y liberación de mediadores inflamatorios [116]. Sin embargo, cabe señalar que los mecanismos por los cuales estas toxinas inducen este efecto no se comprenden completamente. Las PLA<sub>2</sub> Asp49 pueden generar ácido araquidónico que sirve como punto de partida para producir eicosanoides que amplifican la respuesta inflamatoria. Por el contrario, los homólogos de PLA<sub>2</sub> inducen edema y degranulación de mastocitos de una manera catalíticamente independiente. Es evidente que la actividad enzimática no es estrictamente necesaria para causar estos efectos. Una variedad de moléculas endógenas, incluyendo histamina, 5-hidroxitriptamina, bradisinina, taquicininas, metabolitos de ácido araquidónico, citocinas proinflamatorias y óxido nítrico (NO), han sido implicadas en la actividad inflamatoria de las PLA<sub>2</sub> del veneno [116,117]. Otras características estructurales de las PLA<sub>2</sub> también están implicadas en la inducción de la inflamación. Sin embargo, se necesitan más estudios para dilucidar estas regiones moleculares [116,117].

### Neurotoxicidad

La neurotoxicidad presináptica o  $\beta$ -neurotoxicidad es otro efecto relevante observado en algunas mordeduras de serpientes. Por ejemplo, las infligidas por serpientes cascabel sudamericanas (*Crotalus durissus*) y las

serpientes coral (especies de *Micrurus*; ver Capítulo 9) [113]. Las toxinas responsables de este efecto se denominan  $\beta$ -neurotoxinas, y sus estructuras poseen una, dos, tres y hasta cinco subunidades que pueden interactuar mediante enlaces covalentes o no covalentes. Una de sus subunidades es una PLA<sub>2</sub> catalíticamente activa [118]. La toxicidad surge de la inhibición de la liberación de acetilcolina (Ach), lo que lleva a una parálisis flácida de los músculos respiratorios, incluido el diafragma. La inhibición de la liberación de Ach ocurre en tres pasos: primero, hay una ligera inhibición transitoria de la liberación de Ach que está relacionada con la unión de PLA<sub>2</sub> a la membrana presináptica; segundo, hay un aumento significativo en la liberación de Ach; y finalmente, hay una inhibición sostenida de la liberación de Ach [112,119,120].

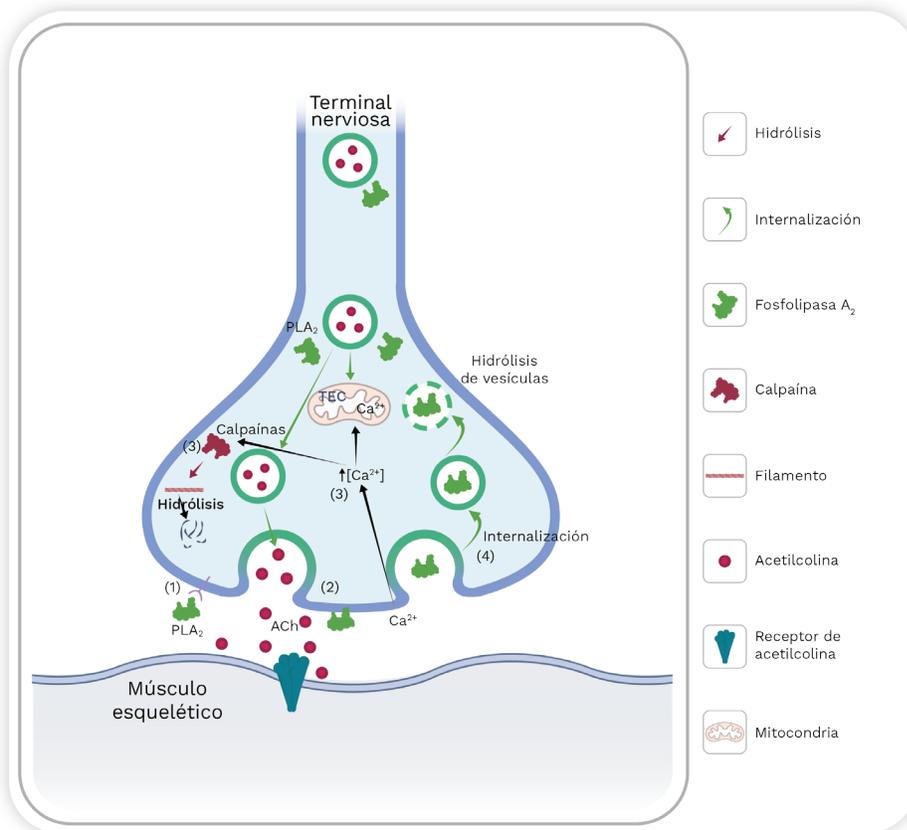
Los eventos celulares involucrados en la neurotoxicidad presináptica inducida por PLA<sub>2</sub> del veneno de serpiente incluyen la unión de la toxina a una célula diana (motoneurona). Aunque la identificación precisa del receptor aún no se ha realizado, Lambeau et al. [121] encontraron una proteína de alta afinidad en el cerebro de rata, llamada tipo N debido a su origen neuronal. Estos receptores pueden estar ubicados cerca de la región donde se libera Ach. Después de la unión, PLA<sub>2</sub> hidroliza los glicerofofolípidos en la membrana presináptica, lo que lleva a una acumulación de ácidos grasos y lisofosfolípidos [119,122].

La capa externa de la membrana presináptica tiene una alta concentración de lisofosfolípidos que induce una curvatura y promueve la fusión de la membrana de la vesícula sináptica al tiempo que inhibe la endocitosis. Un experimento que agregó mezclas de ácidos grasos y lisofosfolípidos en las uniones neuromusculares respalda esta observación. Los efectos fueron similares a los inducidos por las PLA<sub>2</sub> neurotóxicas [123]. La desestabilización de la membrana neuronal induce una afluencia de iones Ca<sup>2+</sup> que pueden activar las PLA<sub>2</sub> endógenas y las calpaínas. Esta activación puede causar la degradación interna de la membrana y la desorganización del citoesqueleto. Además, la alta concentración de calcio en el citosol puede desestabilizar las mitocondrias y alterar sus procesos bioquímicos [124]. Finalmente, la toxina es internalizada por las neuronas.

Sin embargo, el mecanismo por el cual las  $\beta$ -neurotoxinas son transportadas a las células nerviosas sigue siendo desconocido. Estas toxinas podrían ser internalizadas a través de poros generados después de la hidrólisis de la membrana presináptica, o las proteínas podrían usar la endocitosis de vesículas sinápticas como vehículo para entrar en las células nerviosas [125]. Una vez que la PLA<sub>2</sub> entra en la neurona, se une a ciertas proteínas como la calmodulina, la proteína disulfuro isomerasa y proteínas de nombre 14-3-3; pero las implicaciones específicas para el modo de acción de la toxina no son claras. De manera similar, la calmodulina estabiliza la capacidad de la PLA<sub>2</sub> para hidrolizar glicerofofolípidos [126]. Además, las proteínas 14-3-3 desempeñan un papel importante en la dirección de las PLA<sub>2</sub> a las vesículas sinápticas para llevar a cabo su actividad catalítica y posteriormente inhibir la endocitosis de vesículas [127]. En última instancia, estos eventos contribuyen a la falla de la unión

neuromuscular, lo que resulta en la inhibición de la liberación de Ach y la posterior parálisis flácida [118–121,128,129] (Figura 10).

La crotovina (CTX) es una  $\beta$ -neurotoxina derivada de *Crotalus durissus*, la serpiente cascabel sudamericana [138]. Consiste en una subunidad básica  $PLA_2$  conocida como CB y una subunidad ácida llamada crotapotina (subunidad A o CA). Esta última actúa como chaperona, guiando la subunidad CB a las células diana (motoneuronas) y evitando la unión de la  $PLA_2$  a sitios no específicos [131,132]. Además, CA aumenta la actividad neurotóxica de CB pero disminuye su actividad enzimática [133,134]. Por lo tanto, el complejo de crotovina es responsable de la neurotoxicidad observada en el envenenamiento por la serpiente cascabel colombiana. Otras toxinas encontradas en venenos de especies de Colombia, clasificadas como  $\beta$ -neurotoxinas, incluyen las  $PLA_2$  aisladas de los venenos de las serpientes coral *Micrurus mipartitus* y *M. dumerilii* [135].



**Figura 10.** Representación esquemática de los eventos celulares que ocurren durante la neurotoxicidad inducida por  $PLA_2$  del veneno de serpiente. TEC: cadena de transporte de electrones. Las  $PLA_2$  pueden entrar en las vesículas presinápticas e hidrolizarlas (paso 1 y 2). La desestabilización de la membrana puede provocar una entrada masiva de calcio que puede activar enzimas dependientes del calcio, como las calpaínas, que promueven la hidrólisis del citoesqueleto (paso 3).  $PLA_2$  se internalizan a la terminal nerviosa para perpetuar el daño (paso 4). Para más detalles, consulte el texto. Imagen creada con Bio Render y editada por Oscar A Ramírez Ruiz.

### Actividad anticoagulante

Las enzimas  $PLA_2$ , según su potencia anticoagulante, se clasifican en enzimas fuertes, débiles y no anticoagulantes. Las  $PLA_2$  fuertemente anticoagulantes inhiben la coagulación sanguínea a concentraciones bajas (<2  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), mientras que las  $PLA_2$  débilmente anticoagulantes muestran efectos entre 3 y 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Algunas  $PLA_2$  del veneno no prolongan significativamente los tiempos de coagulación, incluso a 15  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ; y, por lo tanto, se clasifican como enzimas no anticoagulantes [138].

Los primeros estudios sobre PLA<sub>2</sub> sugieren que la actividad catalítica es necesaria para sus efectos anticoagulantes [137]. Sin embargo, estudios recientes proponen que las PLA<sub>2</sub> fuertemente anticoagulantes actúan a través de mecanismos tanto enzimáticos como no enzimáticos, siendo estos últimos mediados por un «sitio anticoagulante». Kini et al. [138] propusieron la posición de este sitio en la estructura tridimensional de las PLA<sub>2</sub>, que se encuentra entre los residuos 53 y 76, y está cargada positivamente, mientras que las PLA<sub>2</sub> con actividad débil o no anticoagulante tienen un predominio de cargas negativas o neutras en esta región [136,138].

Sin embargo, Stefansson et al. [139] propusieron un mecanismo no enzimático para las PLA<sub>2</sub> anticoagulantes [139]. El estudio demuestra que una PLA<sub>2</sub> del veneno de la cobra escupidora de cuello negro (*Naja nigricollis*) que tiene fuertes propiedades anticoagulantes, se une al factor de coagulación Xa, bloqueando la activación adicional de la protrombina. Faure et al. [149] propusieron un modelo estructural para la interacción entre las PLA<sub>2</sub> y el factor de coagulación Xa. Varios enfoques bioinformáticos proponen que los residuos específicos 2, 3 y 7 de la hélice 1; 16, 18, 19, 23, 24, 31–34 del bucle de unión a Ca<sup>2+</sup>; 53, 59, 60, 69, 70 de la hélice 3; y 118, 119, 121–124, 129–131 y 133 de las láminas β, se unen entre sí. El conocimiento aceptado actualmente propone que las PLA<sub>2</sub> del veneno de serpiente pueden provocar su actividad anticoagulante a través de mecanismos tanto enzimáticos como no enzimáticos [141,142].

#### *Otras actividades biológicas inducidas por efecto de PLA<sub>2</sub>*

Las PLA<sub>2</sub> del veneno pueden modular la agregación plaquetaria, ya sea induciéndola o inhibiéndola. Se clasifican en tres clases distintas: A, B y C [143]. Las enzimas de clase A inician la agregación plaquetaria [144,145]; las PLA<sub>2</sub> de clase B causan inhibición de la agregación plaquetaria [146,147]; y las PLA<sub>2</sub> de clase C muestran efectos bifásicos que inducen la agregación plaquetaria en dosis bajas o tiempos de incubación cortos, mientras que inhiben la agregación plaquetaria en concentraciones más altas o incubación prolongada [148].

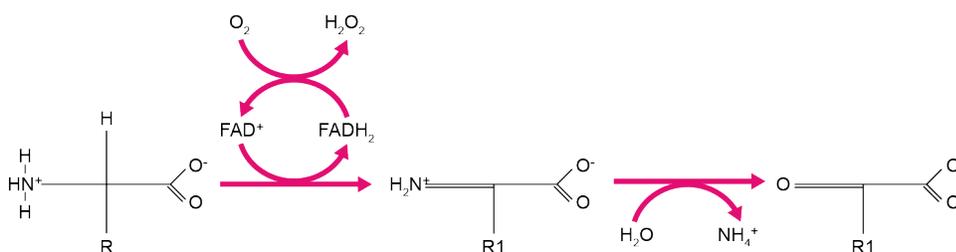
Además, estas toxinas tienen efectos hipotensores, sin embargo, el mecanismo molecular y celular responsable de la reducción de la presión arterial no se comprende completamente [149]. Por ejemplo, la BthA-I-PLA<sub>2</sub>, aislada de la víbora de foseta jararacussu (*Bothrops jararacussu*), reduce la presión arterial debido a su actividad de fosfolipasa. Esto fue apoyado por la alquilación de His48 con bromuro de p-bromofenacilo que bloquea el mecanismo catalítico de la enzima [150]. Por otro lado, las toxinas PLA<sub>2</sub> OSC3a y OSC3b aisladas de la taipán de Papúa (*Oxyuranus scutellatus*), producen efectos hipotensores al generar metabolitos de ciclooxigenasa (prostaglandinas dilatadoras o prostaciclina) que pueden estar involucrados en la liberación de mediadores endógenos, como la histamina y la bradiquinina [151]. Sin embargo, no se ha informado el modo de acción de otras enzimas, como BmooPLA<sub>2</sub>-I, de la cuatronarices brasileña (*Bothrops moojeni*) [152].

Las PLA<sub>2</sub> del veneno de serpiente exhiben actividades citotóxicas, bactericidas y antivirales. Algunas toxinas provocan estas actividades de manera

dependiente del catalizador. Sin embargo, también se ha reportado que los homólogos de PLA<sub>2</sub> tienen estos efectos, lo que sugiere que la actividad catalítica no está completamente involucrada en la inducción de dichos efectos biológicos [153,154]. Se necesitan más estudios para revelar los mecanismos moleculares involucrados en la inducción de estos efectos.

## 2.4. L-Aminoácido Oxidasas (LAAOs) del veneno de serpiente

Las L-aminoácido oxidasas están ampliamente presentes en los venenos de serpientes, así como en otros organismos [155–157]. Estas flavoproteínas son responsables del color amarillo en los venenos de serpientes. Catalizan la desaminación oxidativa estereoespecífica de los L-aminoácidos, produciendo el alfa-cetoácido, amoníaco y peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (Figura 11). Las LAAO son proteínas homodiméricas que constan de tres dominios (Tabla 1). Cada monómero tiene una masa molecular de 57-68 kDa. La enzima normalmente constituye entre el 1% y el 4% del peso del veneno. Sin embargo, en ciertas especies, como la víbora malaya (*Callosellasma rhodostoma*), la enzima puede representar hasta el 30% del peso seco del veneno [167]. La presencia de LAAO en los venenos de serpientes y sus actividades biológicas pueden mejorar las acciones de otras toxinas importantes y contribuir a la inmovilización de la presa o al aumento de la toxicidad en las mordeduras de serpiente.



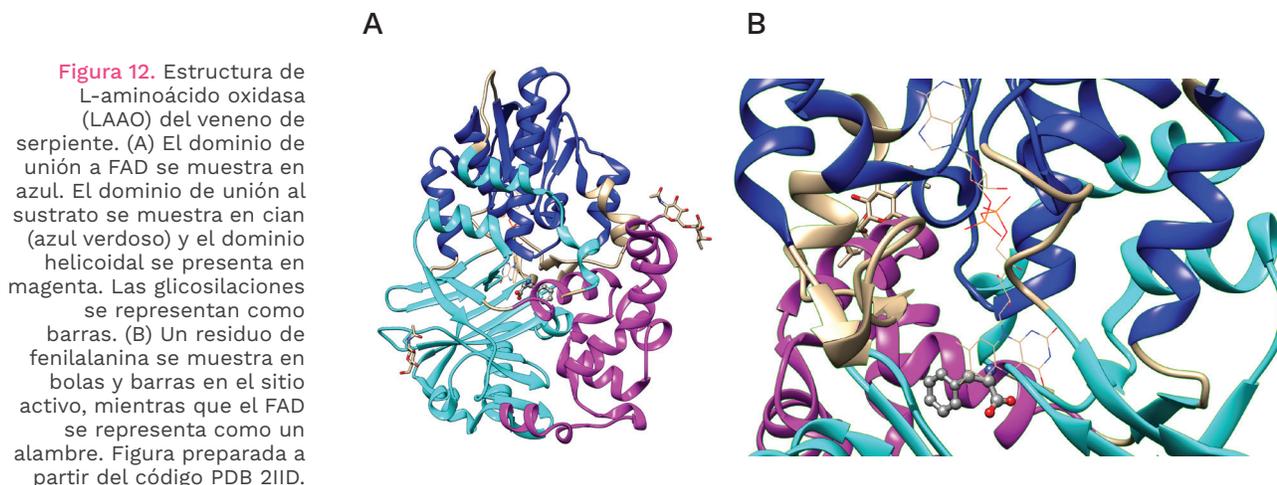
**Figura 11.** Reacción catalizada por L-aminoácido oxidasas (LAAO) del veneno de serpiente.

**Tabla 1.** Dominios presentes en L-aminoácido oxidasas (LAAO) del veneno de serpiente

Dominios	Rango de residuos de aminoácidos
Dominio de unión a FAD	35-64, 241-318, 446-471
Dominio de unión a sustrato	5-25,73-129, 233-235,323-420
Dominio helicoidal	130-230

El dominio de unión al dinucleótido de flavina y adenina (FAD) estabiliza la molécula FAD<sup>+</sup> necesaria para la catálisis. La estructura secundaria de este dominio consta de seis láminas β y cinco hélices α con la adición de dos láminas β cortas y una hélice α. Cuatro de las seis láminas β son paralelas y las dos restantes son antiparalelas. Ambas láminas β cortas son paralelas entre sí. Este dominio contiene la secuencia de consenso de residuos de glicina (G40XG42XXG45) que participa en el acceso al grupo fosfato cargado negativamente de la coenzima. Además, varios puentes salinos estabilizan este dominio [159,160]. El dominio de unión al sustrato interactúa con el aminoácido que se va a

oxidar y contiene seis hélices  $\alpha$  y once láminas  $\beta$  [159,160]. Finalmente, el dominio helicoidal es el único con una secuencia continua. La estructura secundaria del dominio consta de seis hélices  $\alpha$  con una hélice  $\alpha$  corta y varios bucles [159,160] (Figura 12).



El residuo más importante para la catálisis es la His223, que se conserva en todas las LAAO encontradas en venenos de serpiente [166,168]. Este residuo actúa como nucleófilo al desprotonar el  $\alpha$ -amino del sustrato (aminoácido) [157,159]. Además, este aminoácido tiene dos conformaciones, A y B. Durante la catálisis, la His223 pasa el 40% de su tiempo en la conformación A y el 60% en la B. Como conformación A, este residuo impide la entrada de oxígeno; mientras que, en la conformación B, el oxígeno puede entrar libremente y participar en la formación final de peróxido de hidrógeno para recuperar el  $\text{FAD}^+$  [161]. Aunque las LAAO oxidan todos los L-aminoácidos, prefieren los aminoácidos aromáticos e hidrofóbicos, como la fenilalanina y la leucina [159,160,162].

Es importante destacar que estas toxinas son glicoproteínas. En algunos casos, se sabe que la eliminación de carbohidratos reduce los efectos enzimáticos y biológicos causados por las LAAO del veneno de serpiente [163,164]. Sin embargo, la desglicosilación no afecta las actividades enzimáticas de las LAAO de las víboras de foqueta como *Bothrops pauloensis*, *B. jararaca*, *B. alternatus* y *B. moojeni* [165–167]. Por lo tanto, se necesitan más estudios para determinar el papel preciso de la glicosilación en las LAAO del veneno de serpiente y sus implicaciones en los efectos biológicos inducidos. Se conocen algunas LAAO en el veneno de especies colombianas de importancia médica, entre ellas *Crotalus durissus*, *Bothriechis schlegelii* y *Micrurus mipartitus* [135,168,169]. Estas enzimas inducen varios efectos biológicos, que se describen a continuación [135,168–170].

### **Actividades biológicas inducidas por LAAO del veneno de serpiente**

Los efectos biológicos de las LAAO se atribuyen al peróxido de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) generado en la reacción catalítica. Los efectos son inhibidos por

los depuradores de  $H_2O_2$  como la catalasa [171–174]. Sin embargo, varios estudios demuestran que los efectos biológicos no se recuperan completamente mediante la incubación con catalasa, lo que sugiere que los efectos producidos por las LAAO no se deben únicamente a la producción de  $H_2O_2$  [157,175,176].

#### *Hemorragia*

Algunas LAAO que se encuentran en los venenos de serpiente pueden inducir hemorragia por sí mismas [165,177–179]. Este efecto se atribuye a la capacidad de las LAAO para inducir apoptosis en células endoteliales. Esto conduce a la ruptura del endotelio y la extravasación de glóbulos rojos. La acumulación de  $H_2O_2$  en los vasos sanguíneos puede ser responsable del efecto apoptótico sobre las células endoteliales [177]. Por lo tanto, se sugiere que este efecto contribuye a la actividad hemorrágica provocada por las SVMP.

#### *Edema*

El mecanismo preciso que produce este efecto, por parte de las LAAO, no se entiende por completo. Una LAAO de la serpiente japonesa mamushi (*Gloydius blomhoffii*) estimula los linfocitos y monocitos para liberar citoquinas proinflamatorias, IL-6, IL-2 e IL-12, lo que puede explicar la actividad inflamatoria de esta enzima [180]. Sin embargo, Izidoro et al. [171] sugirieron que la formación de edema se debe a la activación de la respuesta inflamatoria por el  $H_2O_2$  generado, ya que la administración de glutatión (un antioxidante) a la pata del ratón inhibe la actividad inductora de edema de la enzima [181].

#### *Modulación de la agregación plaquetaria*

El efecto de las LAAO de veneno de serpiente sobre la agregación plaquetaria no es concluyente. Algunas enzimas inducen agregación plaquetaria, mientras que otras toxinas producen inhibición de la agregación de estas células [162]. Du y Clemetson [182] propusieron que el peróxido de hidrógeno generado en la reacción catalítica de las LAAO es responsable de inducir e inhibir la agregación plaquetaria. La actividad inhibidora puede estar relacionada con el peróxido de hidrógeno que impide la interacción entre el fibrinógeno y su receptor en la superficie de la plaqueta (GPIIb/IIIa) o reduce la unión del ADP a las plaquetas [183,184]. Por otro lado, la activación plaquetaria puede ser una consecuencia de la producción de tromboxano  $A_2$  provocada por  $H_2O_2$  [172]. A pesar de esta evidencia, se requieren más estudios sistemáticos para determinar por qué las LAAO pueden provocar o inhibir la agregación plaquetaria.

### **Otras actividades biológicas que no están relacionadas con el envenenamiento por mordedura de serpiente**

Las LAAO inducen varias actividades que las hacen atractivas para la búsqueda de alternativas terapéuticas en infecciones protozoarias, virales, bacterianas y en cáncer, debido a su citotoxicidad (ver Capítulo 10). Varias LAAO de veneno de serpiente tienen actividad antileishmaniasis [171–173,185–187]. Este efecto se atribuye al  $H_2O_2$  generado por el ciclo catalítico de las enzimas.

Asimismo, una LAAO de veneno de serpiente aislada de *Trimeresurus stejnegeri* (víbora verde china) tiene actividad antiviral contra el VIH-1 [179]. Las LAAO también han demostrado actividad antibacteriana contra bacterias gramnegativas y grampositivas [162,168,181,188]. El modo de acción de las LAAO para inducir el efecto antimicrobiano se le atribuye al  $H_2O_2$ . Sin embargo, la unión de la enzima a la superficie bacteriana y una mayor concentración de  $H_2O_2$  parecen ser esenciales para este efecto [189]. Varias LAAO derivadas del veneno de serpientes muestran actividad citotóxica contra líneas de células tumorales [199], además, pueden inducir apoptosis en estas células. Este efecto involucra al  $H_2O_2$ , pero también se especula que las fracciones de glicano son cruciales para la interacción con la célula objetivo [191].

## 2.5. Desintegrinas del veneno de serpientes

El término «desintegrina» fue introducido en 1987 por primera vez en la toxicología por Huang et al. [192], al describir, aislar y caracterizar la trigamina del veneno de *Craspedocephalus gramineus* (víbora común del bambú). Sin embargo, hoy en día este término se utiliza para definir toxinas con una longitud de entre 40 y 100 aminoácidos presentes en el veneno de vipéridos. Estas toxinas se producen por procesamiento proteolítico de las SVMP P-II y P-III. Inicialmente, el motivo Arg-Gly-Asp (RGD) se describió como una característica estructural esencial para su actividad principal, que es inhibir la agregación plaquetaria mediante el bloqueo de las integrinas  $\beta_1$  y  $\beta_3$  [198].

### **Estructura de las desintegrinas del veneno de serpiente**

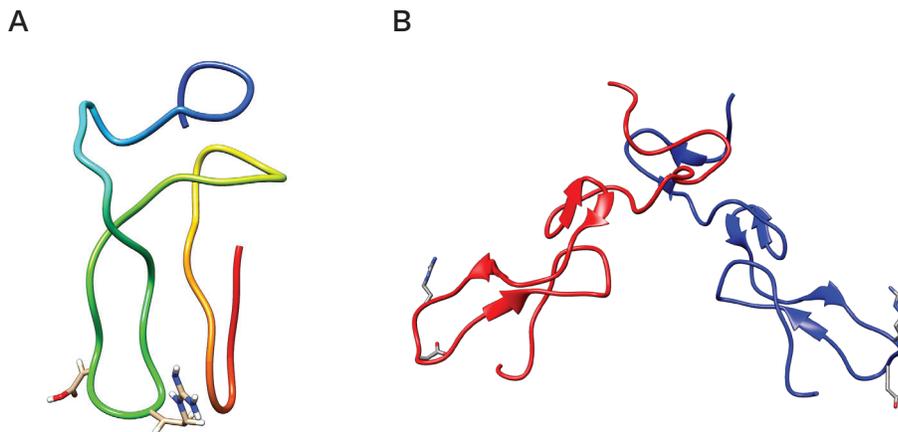
Las desintegrinas del veneno de serpiente se pueden clasificar en cuatro grupos según su número de aminoácidos y enlaces disulfuro [193,194]. El primer grupo está formado por desintegrinas cortas de 41 a 51 residuos y cuatro enlaces disulfuro. El segundo grupo está formado por desintegrinas de tamaño medio que contienen alrededor de 70 aminoácidos y seis enlaces disulfuro. El tercer grupo está formado por péptidos largos con aproximadamente 84 aminoácidos y siete enlaces de cisteína que los entrecruzan. El cuarto grupo incorpora homo y heterodímeros. Estas desintegrinas están compuestas por 67 aminoácidos y diez residuos de cisteína, que intervienen en la estabilización de la estructura mediante la formación de enlaces disulfuro intra e intercatenarios.

El motivo RDG es el más común en las desintegrinas de veneno de serpiente. Sin embargo, también se han identificado otros motivos. La Tabla 2 describe la diversidad de estos motivos y sus dianas moleculares (principalmente, integrinas). Los estudios estructurales de desintegrinas de tamaño corto, mediano, grande y diméricas revelaron un bucle móvil que contiene el motivo activo, que sobresale 14–17 Å del núcleo de la proteína [193,194,195] (Figura 13).

**Tabla 2.** Integrinas, su función y desintegrinas del veneno de serpiente que las inhiben.

Integrina	Función	Desintegrinas que la inhiben*	Referencias
$\alpha 5\beta 1$	Principal receptor de fibronectina	RGD, VGD y MDG	[145,147,148, 193,197,198]
$\alpha 8\beta 1$	Receptor de tenascina	RGD	
$\alpha v\beta 1$	Receptor de vitronectina	RGD	
$\alpha v\beta 3$	Receptor de vitronectina	RGD, WGD	
$\alpha IIb\beta 3$	Receptor de fibrinógeno plaquetario implicado en la agregación plaquetaria	RGD, WGD y KGD	
$\alpha 4\beta 1$	Fibronectina y receptor VCAM-1	MLD	
$\alpha 4\beta 7$	Fibronectina, receptor VCAM-1 y receptor MDCAM	MLD	
$\alpha 3\beta 1$	Receptor de laminina	MLD	
$\alpha 6\beta 1$	Receptor de laminina	MLD	
$\alpha 7\beta 1$	Receptor de laminina	MLD	
$\alpha 9\beta 1$	Receptor de tenascina	MLD	
$\alpha 1\beta 1$	Receptor de colágeno IV	KTS y RTS	

\*Código estándar de una letra para aminoácidos.



**Figura 13.** Estructura de las desintegrinas del veneno de serpiente. (A) Desintegrina monomérica. B. Desintegrina heterodimérica. Las cadenas azul y roja representan diferentes subunidades. El motivo RGD se muestra en esquema de varitas. Las letras N y C representan el extremo N y C de cada cadena, respectivamente. Esta imagen se preparó a partir de las estructuras PDB con los códigos 2MOP (monomérica) y 1TEJ (heterodimérica).

### **Actividades biológicas inducidas por las desintegrinas del veneno de serpiente**

Debido a su capacidad para bloquear las integrinas, la actividad más importante inducida por las desintegrinas del veneno de serpiente es la inhibición de la agregación plaquetaria. Esto puede contribuir a los trastornos hemostáticos causados por las SVSP, SVMP y otras toxinas en el envenenamiento por mordedura de serpiente [199–203]. De hecho, la actividad antiagregación plaquetaria de las desintegrinas las ha convertido en plantillas esenciales para el desarrollo de fármacos utilizados como agentes antitrombóticos. Por ejemplo, el tirofibán se deriva de la echistatina que se encuentra en el veneno de *Echis carinatus* (serpiente Phoorisa) [204] y el eptifibatide se obtiene de la barbourina presente en el veneno de *Sistrurus miliarius barbouri* [200,201,205] (ver Capítulo 10).

Además, las desintegrinas del veneno de serpiente han demostrado potencial en la terapia contra el cáncer. Pueden actuar sobre una amplia variedad de integrinas y, por lo tanto, es plausible que tengan el potencial de interferir en procesos esenciales involucrados en la carcinogénesis, el crecimiento tumoral, la invasión y migración celular (ver Capítulo 10). Por lo tanto, las desintegrinas pueden utilizarse como herramientas y posibles fármacos para el tratamiento de este problema de salud [197,206–208].

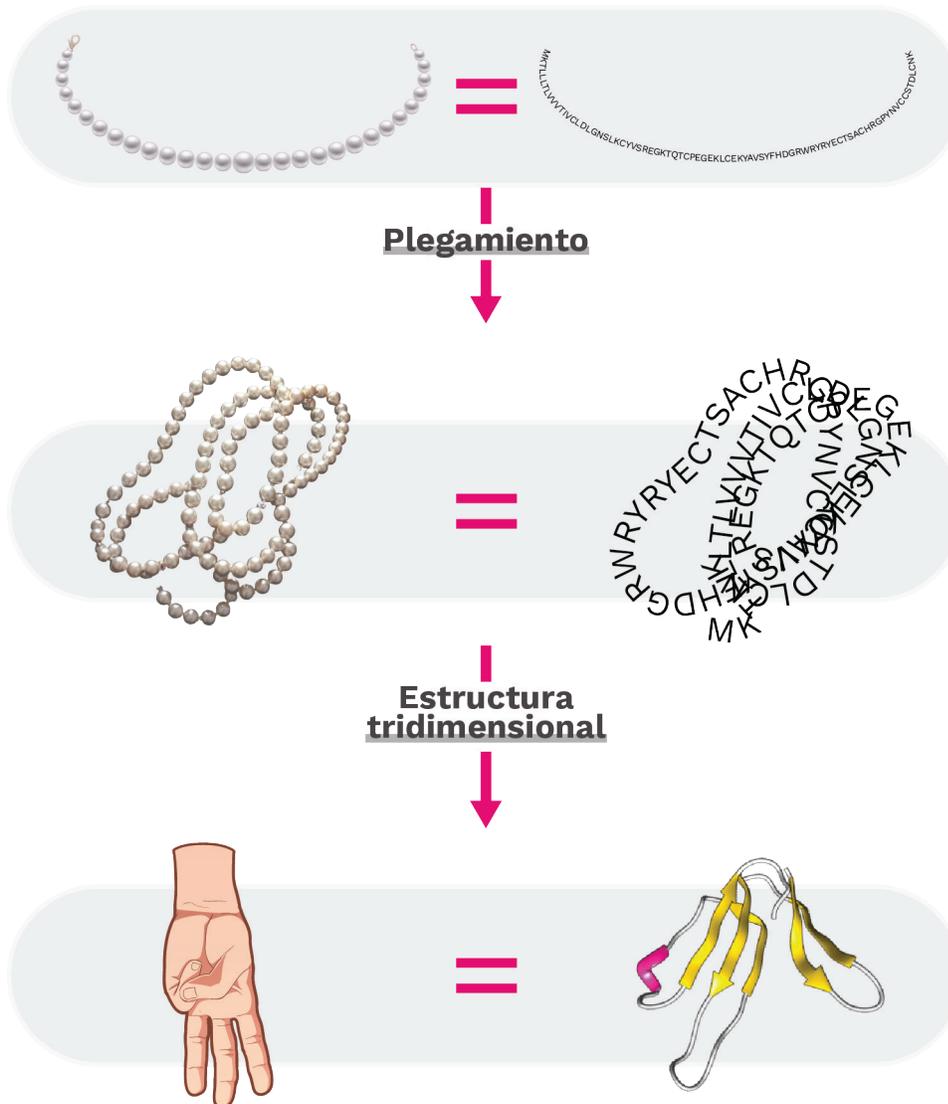
## 2.6. Toxinas de tres dedos (3FTx)

### **Estructura**

La familia de proteínas conocida como toxinas de tres dedos está formada por polipéptidos no enzimáticos que van desde 60 a 62 residuos de aminoácidos (cadena corta) y entre 66 y 74 residuos de aminoácidos (cadena larga). Por lo general, son monómeros y contienen de 4 a 5 puentes disulfuro altamente conservados. Su plegamiento se caracteriza por tres bucles con cadenas beta que parten de un núcleo hidrofóbico que a su vez está atravesado por cuatro enlaces disulfuro. Los venenos de elápidos, hidrófidos (serpientes marinas) y colúbridos contienen estas proteínas [209].

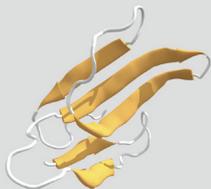
La estructura primaria de una proteína está determinada por su secuencia de aminoácidos que se representan como cuentas en un collar. Para tener una estructura completa y funcional, son necesarias interacciones específicas entre aminoácidos para un plegamiento adecuado. La Figura 14 muestra la estructura primaria y terciaria de la mipartoxina-I, una toxina que se encuentra en el veneno de *Micrurus mipartitus* (rabo de ají).

Aunque los miembros de la familia 3FTx comparten características estructurales conservadas que les permiten plegarse y mantener su integridad, también ocurren algunas modificaciones. Estas modificaciones pueden estar relacionadas con la diversidad de sus funciones y su afinidad por ciertas dianas moleculares [210,211]. Además de los ocho residuos de cisteína presentes en la región central que favorecen la formación de puentes disulfuro, los residuos aromáticos de tirosina o fenilalanina en las posiciones 25 y 27 también se conservan y contribuyen al adecuado plegamiento y estabilidad de la estructura de la lámina beta en esta toxina. La estabilidad de la conformación nativa también es aportada por los residuos de arginina en la posición 39 y ácido aspártico en la posición 60, ya que forman puentes salinos con cualquiera de los extremos terminales [209,212]. La Tabla 3 enumera las principales variaciones reportadas descritas para las estructuras 3FTx.

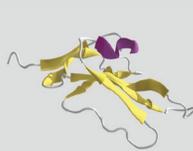


**Figura 14.** La estructura primaria de la mipartoxina-I del veneno de *Micrurus mipartitus* (código GenBank: AV157319.1) se representa como una cadena larga. Las interacciones entre los residuos de aminoácidos facilitan el plegamiento en varios sitios de la cadena, lo que contribuye a la conformación de la estructura secundaria y terciaria. La mipartoxina-I tiene una estructura tridimensional que se asemeja a los tres dedos centrales de una mano. Es por eso que pertenece a la familia de proteínas conocidas como toxinas de tres dedos (3FTx) [210].

Tabla 3. Algunos ejemplos de las variaciones estructurales encontradas en la familia de toxinas de tres dedos.

Variación / Estructura tridimensional	Nombre de la toxina	Especie de serpiente	Anotaciones	Referencias
Cadena corta	Erabutoxina (código PDB 1QKE)	<i>Laticauda semifasciata</i> Serpiente marina china (Elapidae)	62 aminoácidos	[213]
				
Cadena larga	Bungarotoxina (código PDB 1IKC)	<i>Bungarus multicinctus</i> Krait con muchas bandas de Taiwán (Elapidae)	74 aminoácidos	[214]
				
Presencia de un quinto enlace disulfuro en el bucle I	WTX recombinante (código PDB 2MJ0)	<i>Naja kaouthia</i> Cobra de monóculo del sur y sudeste de Asia (Elapidae)	Aunque anteriormente se la clasificaba como una neurotoxina débil, estudios recientes muestran que las toxinas con un quinto enlace disulfuro en esa posición son altamente tóxicas y se unen a los receptores nicotínicos de acetilcolina en concentraciones en el rango nanomolar. Estas toxinas se denominan «3FTx no convencionales» debido a su diferente selectividad y especificidad con respecto a las neurotoxinas canónicas. Un ejemplo adicional es la toxina BM14 que se encuentra en el veneno de <i>Bungarus multicinctus</i> de Taiwán. Esta toxina exhibe una mayor afinidad por el receptor muscarínico de acetilcolina M2 que por el M1	[215,216]
				
Presencia de un quinto enlace disulfuro en el bucle II	NTX-1 (código PDB 1NTN)	<i>Naja oxiana</i> Cobra de Asia Central (Elapidae)	El quinto enlace disulfuro en el bucle II proporciona un giro y forma un segmento helicoidal corto en la punta del bucle. Esta unión adicional desempeña un papel importante en la especificidad del bloqueo del receptor nicotínico de acetilcolina $\alpha 7$ . Sin embargo, toxinas como la candoxina y la haditoxina que carecen de esta variación también se unen a este receptor	[217]
				

### Extensiones en el N-terminal o C-terminal



Denmotoxina  
(código PDB  
2H5F)

*Boiga dendrophila*  
Serpiente de  
manglar o  
serpiente gato de  
anillos dorados  
de Malasia  
(Colubridae)

La proteína tiene un segmento N-terminal extendido con siete residuos adicionales, que están cubiertos por un ácido pirrolutámico.

[218]

Actualmente se desconoce el efecto de esta variación estructural sobre su función. Normalmente, las neurotoxinas de cadena larga tienen entre 2 y 9 residuos adicionales en el extremo C.

### Dímeros con enlaces no covalentes



Haditoxina  
(código PDB  
3HH7)

*Ophiophagus hannah*  
La cobra real desde la India hasta el sudeste asiático (Elapidae)

La mayoría de las 3FTx son monómeros, pero algunos pueden existir de forma natural como dímeros. La haditoxina es un homodímero, con dos monómeros de cadena corta que están unidos de forma no covalente y orientados en direcciones opuestas. Esto le da a la haditoxina la capacidad de funcionar como antagonista de los receptores nicotínicos de acetilcolina musculares (abgd) y neuronales (a7, a3b2 y a4b2)

[219]

### Dímeros unidos de manera covalente



Irditoxina  
(código PDB  
2HTZ)

*Boiga irregularis*  
Serpiente arbórea parda de Australia, Papúa Nueva Guinea y las islas del noroeste de Melanesia (Colubridae)

El heterodímero consta de dos subunidades 3FTx no convencionales, cada una de las cuales contiene una cisteína adicional que forma un enlace disulfuro entre cadenas. Además, el extremo N-terminal tiene una extensión de siete residuos de aminoácidos. Esto da como resultado una potente neurotoxina postsináptica.

[218]

Otros ejemplos incluyen el heterodímero  $\alpha$ -cobrotóxina/citotóxina, que se une al receptor nicotínico de acetilcolina muscular  $\alpha 7$  pero no tiene actividad citotóxica, y el homodímero de  $\alpha$ -cobrotóxina que reconoce el receptor nicotínico de acetilcolina neuronal  $\alpha 3\beta 2$  como la  $\beta$ -bungarotóxina.

### Toxinas sinérgicas



SynTx  
(código PDB  
7C28)

*Dendroaspis jamesoni*  
Mamba verde del Congo (Elapidae)

Aunque este grupo contiene moléculas con una secuencia de aminoácidos similar a otras neurotoxinas y citotoxinas de la familia 3FTx, su toxicidad puede ser baja o nula. Sin embargo, su importancia radica en que incrementa la toxicidad de otras proteínas del veneno (sinergismo), como las toxinas tipo angusticeps, que, a su vez, se comportan como inhibidores de la colinesterasa.

[5,221,222]

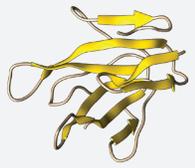
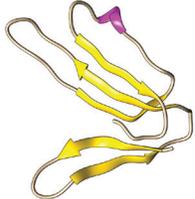
Modelos tridimensionales tomados de PDB y preparados en UCSF Chimera v1.17.3. Todas estas toxinas tienen una vista de modelo 3D disponible en <https://serpientes.ins.gov.co/>

Recientemente, algunos autores propusieron una guía para separar y estudiar sistemáticamente las toxinas de tres dedos debido a la alta variabilidad entre las secuencias de aminoácidos de estas proteínas [223–225]. Reunieron una base de datos con secuencias 3FTx seleccionadas conocidas para especies de *Micrurus* de Brasil y clasificaron las proteínas en función de su similitud e identidad estructural. En consecuencia, los autores establecieron parámetros para proponer una reclasificación basada en aminoácidos funcionales clave, puentes disulfuro, distribución de carga en la superficie y la relación filogenética de la secuencia [223–225]. La funcionalidad de la proteína se puede atribuir a nueve grupos con base en la homología de sus secuencias. Esta clasificación sirve como referencia para las toxinas de tres dedos encontradas en especies de *Micrurus* de Suramérica únicamente.

Los modelos predichos a partir de las secuencias primarias de especímenes brasileños se basaron en secuencias homólogas de elápidos del viejo mundo, incluidos *Dendroaspis polylepis*, *Naja atra*, *Bungarus multicinctus*, *B. candidus*, *Ophiophagus hannah*, *Dendroaspis jamesoni* y *Hemachatus haemachatus* (cobra escupidora de cuello anillado). Solo se construyó una secuencia a partir de la fultoxina del veneno de *Micrurus fulvius* (código PDB 4RUD). Los nueve grupos recientemente conformados incluyeron especímenes locales representativos como *Micrurus altirostris*, *Micrurus carvalhoi*, *Micrurus corallinus*, *Micrurus frontalis*, *Micrurus lemniscatus*, *Micrurus paraensis*, *Micrurus spixii* y *Micrurus surinamensis* [224].

Solo se ha purificado y caracterizado una pequeña cantidad de toxinas de tres dedos a partir de venenos de *Micrurus* colombianas. Actualmente, solo tres toxinas tienen modelos tridimensionales predichos a partir de secuencias reportadas en la literatura. Dos de estas toxinas pertenecen a especies de serpientes de importancia médica en Colombia (*M. mipartitus* y *M. dumerilii*; Tabla 4) [225]. Además, ejemplifican los grupos de patrones bicolor y de mónadas, respectivamente [235]. Otra especie del grupo de patrones de mónadas, *M. clarki*, también ha sido objeto de investigación de 3FTx [227].

**Tabla 4.** Estructuras de toxinas de tres dedos purificadas de algunos venenos de *Micrurus* en Colombia. A cada secuencia se le asigna un número de acceso en UniProt

Nombre de las toxinas de tres dedos y número de acceso en UniProt	Especie de serpiente	Secuencia	Modelo 3D predicho	Referencias
Clarkitoxina-I-Mdum C0HLK5	<i>Micrurus dumerilii</i> Coral capuchina Elapidae	RICDDSSIPFLRTPQLCPKGQDVCYKK- TPIVKKFKWLQKKGCASSCPKNGFIKI- FKIECCTKDNCI		[226]
Mipartoxina-1 B3EWF8	<i>Micrurus mipartitus</i> Coral rabo de aji	MKTLTLLVVTIVCLDLGNSLKCY- VSREGKTQTCPEGEKLEKYAVSY- FHDGRWRYRECTSACHRGPYN- VCCSTDLCNK		[226]
Clarkitoxina-1 C0HK04	<i>Micrurus clarki</i>	RICDDSSIPFLRTPQLCPKGQDVCYKK- TPIVKKFKWLQKKGCASSCPKNGFIKI- FKIECCTKDNCI		[227]

Secuencias utilizadas para predecir las estructuras tridimensionales presentadas mediante el software SWISS MODEL [239,240]. Moléculas ajustadas y preparadas en UCSF Chimera v.1.17.3

### **Actividades biológicas**

Aunque las toxinas de la familia 3FTx comparten una similitud estructural, exhiben una amplia variedad de actividades fisiopatológicas y mecanismos de acción, incluyendo neurotoxicidad postsináptica, citotoxicidad, cardiotoxicidad, efecto anticoagulante y antiplaquetario. Además, actúan como antagonistas del canal de  $\text{Ca}^{2+}$  tipo L y pueden promover sinérgicamente la hipotensión con las toxinas muscarínicas [223]. Las 3FTx tienen una estructura pequeña, compacta y estable con múltiples sitios de interacción para lograr varias funciones que han sido optimizadas evolutivamente [223].

### **Neurotoxinas**

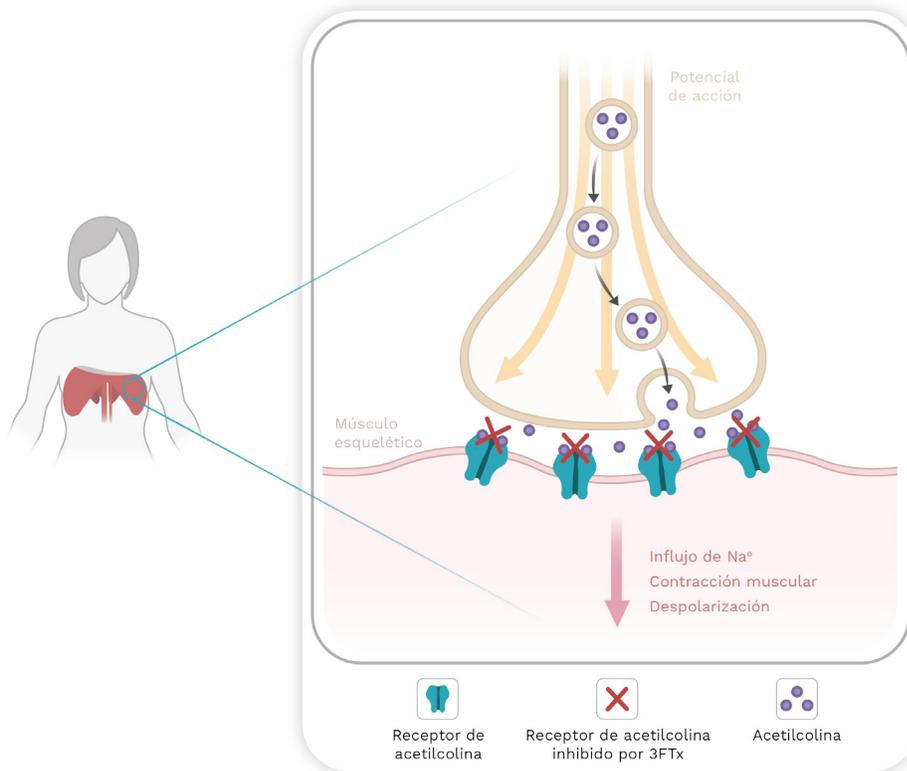
La neurotoxicidad es posiblemente el efecto más conocido de las 3FTx debido al drástico efecto de parálisis flácida e insuficiencia respiratoria en víctimas de mordeduras de serpiente. La interferencia con la transmisión de la señal puede ocurrir por diferentes vías. En el caso de la transmisión colinérgica alterada en los sistemas nerviosos central y periférico, la neurotoxicidad puede ocurrir en varios sitios en la región postsináptica, afectando tanto a los receptores nicotínicos como a los muscarínicos [15] (Figura 15). Los siguientes son ejemplos de toxinas y sus mecanismos de acción que conducen a neurotoxicidad:

*Toxinas similares al curare o  $\alpha$ -neurotoxinas.*— Son similares al alcaloide curare (del extracto de plantas de pueblos indígenas de América Central y del Sur). Son neurotoxinas de cadena larga y corta que se unen al receptor de acetilcolina muscular  $\alpha 1$  e impiden la transmisión neuromuscular efectiva. En contraste, las neurotoxinas de cadena larga se unen con alta afinidad al receptor de acetilcolina neuronal  $\alpha 7$ .

*Toxinas muscarínicas.*— Estas comprenden toxinas que actúan como agonistas o antagonistas de los receptores muscarínicos. La toxina muscarínica  $\alpha$  ( $\text{MT}\alpha$ ) aislada del veneno de mamba (*Dendroaspis jamesoni*) es un potente antagonista del adrenoceptor  $\alpha 2\text{B}$  [212,223].

*$\alpha$ -neurotoxinas.*— Estas se unen específicamente al receptor de acetilcolina nicotínico neuronal ( $\alpha 3\text{b}4$ ). Su estructura se asemeja a la de las  $\alpha$ -neurotoxinas de cadena larga, pero se presentan como dímeros. No reconocen el receptor de acetilcolina  $\alpha 1$ .

Recientemente, las micrurotoxinas 1 y 2 ( $\text{MmTX1}$  y  $\text{MmTX2}$ ), aisladas del veneno de *Micrurus mipartitus* (rabo de ají), se han descrito como agonistas del receptor ionotrópico  $\text{GABA}_A$  que mejora la apertura y la desensibilización del receptor.



**Figura 15.** Las toxinas de tres dedos bloquean los receptores de acetilcolina en la célula efectora de la unión neuromuscular, lo que provoca parálisis flácida en los miocitos e insuficiencia respiratoria cuando se ve afectado el diafragma. Imagen creada con BioRender y editada por Oscar A Ramírez Ruiz.

Los inhibidores de la acetilcolinesterasa interfieren con la transmisión neuromuscular al inhibir la unión al sitio periférico de la enzima acetilcolinesterasa (AChE) presente en la unión neuromuscular. Esto evita que la AChE capture y degrade la acetilcolina, lo que lleva a espasmos musculares debido a la acumulación de acetilcolina en la hendidura sináptica. Estos inhibidores se conocen como fasciculinas y tienen una estructura similar a las neurotoxinas de cadena corta [209,212].

### **Cardiotoxinas**

Las cardiotoxinas son un grupo de toxinas que se han encontrado exclusivamente en venenos de cobra, particularmente en especies del género *Naja*. Estas toxinas son similares a las neurotoxinas de cadena corta, contienen cuatro enlaces disulfuro y representan el segundo grupo más grande después de las neurotoxinas. Son responsables de aumentar la frecuencia cardíaca y pueden provocar un paro cardíaco de manera dependiente de la dosis. Además, muchas toxinas de este grupo también tienen efectos citolíticos, formando poros en las membranas lipídicas, por lo que también se les conoce como citolisinas. Finalmente, se reconoce otro subgrupo dentro de esta clasificación, las  $\beta$ -cardiotoxinas y toxinas relacionadas. Este subgrupo exhibe actividad bloqueadora de los receptores adrenérgicos cardíacos  $\beta_1$  y  $\beta_2$  [212].

### **Bloqueadores de los canales de calcio de tipo L**

Estructuralmente, estos bloqueadores de canales son polipéptidos similares a las neurotoxinas de cadena corta. Se unen al sitio de unión de la

1,4-dihidropiridina de los canales de calcio de tipo L y bloquean físicamente las corrientes de calcio, lo que lleva a la relajación del músculo liso y la inhibición de las contracciones cardíacas [212].

### **Trastornos de la hemostasia**

Solo unas pocas 3FTx tienen la secuencia de aminoácidos RGD (Arginina-Glicina-Ácido Aspártico) en un sitio accesible para la interacción. El tripéptido RGD participa en la función adhesiva de varias proteínas, interfiriendo en la interacción entre el fibrinógeno y su complejo receptor para la glicoproteína IIB-IIIa ( $\alpha_{IIb}\beta_3$ ) inhibiendo la agregación plaquetaria [223].

La toxina KT-6.9, aislada del veneno de la cobra *Naja kaouthia*, inhibe la agregación plaquetaria inducida por el difosfato de adenosina (ADP), la trombina y el ácido araquidónico. Como resultado, inhibe la agregación plaquetaria (hemostasia primaria) de manera dosis-dependiente [223]. En la hemostasia secundaria, el veneno de cobra de la especie *Hemachatus haemachatus* (Cobra escupidora de cuello anillado) contiene ringhalexina y exactina que inhiben la activación del factor de coagulación X, causando alteraciones de la coagulación [223].

### **Interacción con canales de sodio**

Algunas 3FTx interactúan con los canales iónicos sensibles al ácido (ASIC), que normalmente son canales iónicos selectivos para  $\text{Na}^+$  y se activan con protones. Los ASIC están ampliamente distribuidos en todo el sistema nervioso periférico y central de los vertebrados. Estos canales están involucrados en la plasticidad sináptica, la neurodegeneración y la percepción del dolor [223].

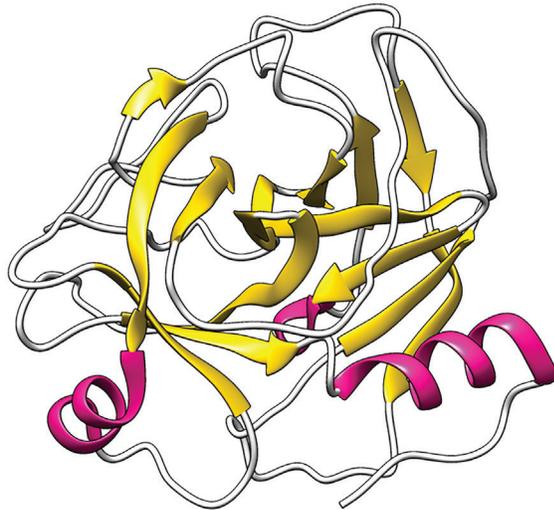
## **2.7. Serinoproteasas del veneno de serpiente (SVSP)**

### **Estructura**

Las serinoproteasas son proteínas glicosiladas con actividad enzimática. Su peso molecular oscila entre 26 y 67 kDa, dependiendo del grado de N- u O-glicosilación. El subgrupo conocido como serinoproteasas tipo trombina es responsable de degradar el fibrinógeno y amplificar las condiciones de sangrado durante el envenenamiento [244]. En el veneno de *Bothrops asper* (cuatronarices, barbiamarilla) las serinoproteasas son constituyentes abundantes que representan entre el 5% y el 18% de las proteínas, dependiendo de la edad de la serpiente y su región geográfica [235]. Estas proteasas, junto con las hialuronidasas, metaloproteasas y fosfolipasas  $A_2$ , pertenecen al grupo de enzimas hemotóxicas que son importantes en los venenos de víbora [232].

Estas proteasas se caracterizan por un pliegue típico de quimotripsina y dos barriles de láminas  $\beta$  de 6 hebras (Figura 16). Su sitio activo se encuentra en la hendidura entre estas últimas e incluyen una tríada catalítica canónica de His-Asp-Ser. Aunque comparten entre el 50% y el 80% de identidad en sus secuencias de aminoácidos, difieren significativamente en su especificidad de sustrato y, por lo tanto, en su actividad

[233]. Varias SVSP tienen actividad farmacológica (ver Capítulo 10). Por ejemplo, las mambalginas son toxinas que se encuentran en el veneno de la mamba negra (*Dendroaspis polylepis*). Tienen efecto analgésico al bloquear los canales con las subunidades ASIC1a y ASIC2a en el sistema nervioso central, así como los canales que incluyen la subunidad ASIC1b en los nociceptores [229].



**Figura 16.** AaV-SP-I, serinoproteasa glicosilada presente en el veneno de la serpiente *Agkistrodon acutus*. Modelo tridimensional tomado de PDB (código 1OP0) y preparado en UCSF Chimera v.1.17.3

## **Actividades biológicas**

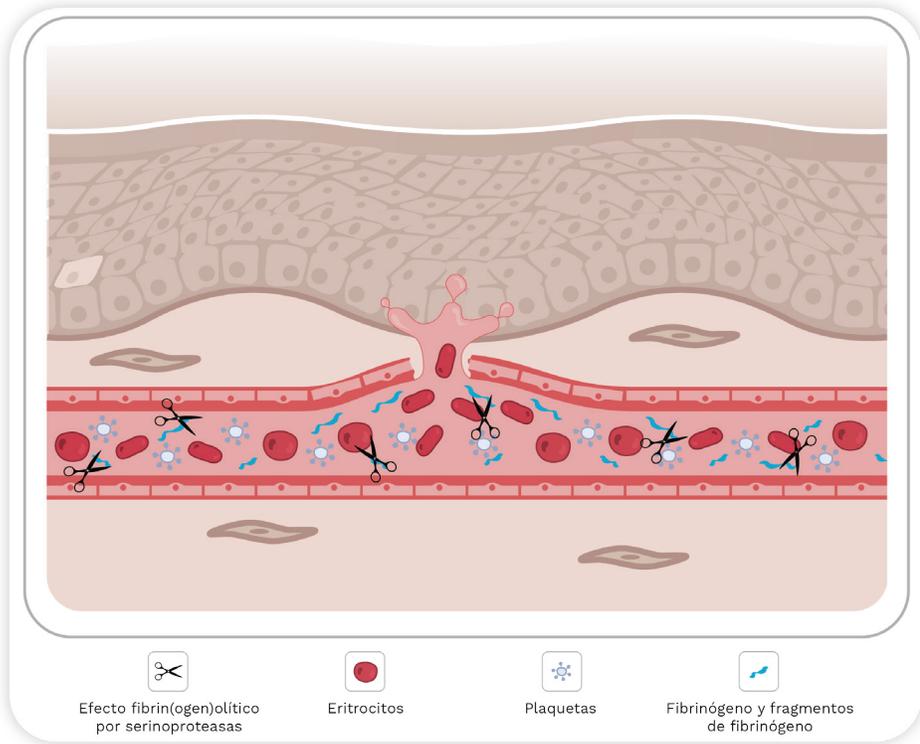
### *Hemotóxico y coagulopático*

El cuerpo humano puede contrarrestar el efecto hemorrágico producido por las metaloproteasas. Sin embargo, las serinoproteasas similares a la trombina, presentes en el veneno de los vipéridos, impiden la formación de un tapón de fibrina eficaz. En condiciones fisiológicas, la trombina endógena escinde regiones específicas de fibrinógeno en la circulación antes del sangrado. Esto expone el sitio de unión de otras moléculas de fibrinógeno que experimentan la misma hidrólisis, formando una malla de fibrina que estabiliza el coágulo y promueve la hemostasia.

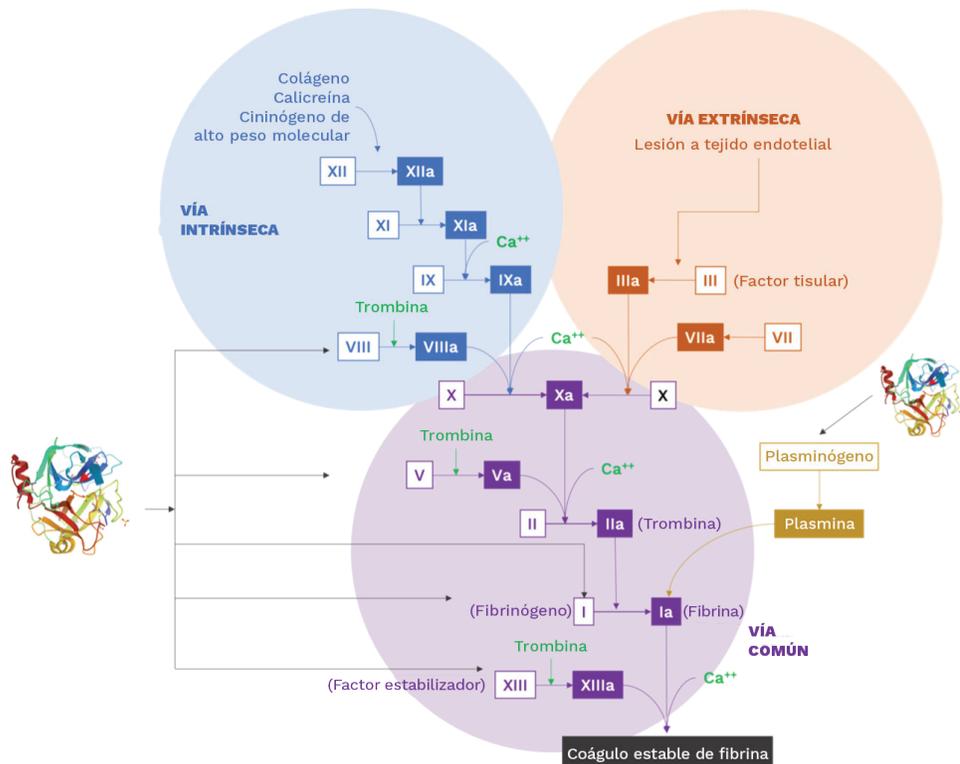
Las serinoproteasas similares a trombina simulan la actividad de la trombina, pero hidrolizan diferentes sitios en la molécula de fibrinógeno. Esto altera la unión entre las moléculas de fibrinógeno, lo que da como resultado un consumo irregular de fibrinógeno y la formación de un coágulo inestable de fibrina (Figura 17) [234–237]. Si bien muchas serinoproteasas actúan sobre la cadena  $\alpha$  del fibrinógeno, algunas purificadas de especies de *Agkistrodon* actúan tanto sobre la cadena  $\alpha$  como sobre la  $\beta$  [238]. Además, este subgrupo de enzimas tiene la capacidad de activar los factores de coagulación VIII y XIII, así como la trombina. También son responsables de la activación de la proteína C, la agregación plaquetaria, la activación del plasminógeno y el factor V. Estas acciones pueden dar lugar a una coagulopatía de consumo (Figura 18) [238,239].

**Figura 17.** Modelo de alteración de la hemostasia.

Las moléculas de fibrinógeno circulantes (representadas en azul) sufren una hidrólisis inadecuada por parte de las serinoproteasas similares a trombina, lo que favorece su consumo errático y excesivo, dando como resultado la formación de un coágulo deficiente de fibrina y una hemostasia insatisfactoria. Además, las plaquetas (estructuras en blanco) se agregan de manera inapropiada en sitios distintos al sitio de la lesión, lo que conduce a un consumo inadecuado, así como a un sangrado incontenible y la aparición de microtrombos. La imagen fue creada con Bio Render y editada por Oscar A Ramírez Ruiz.



**Figura 18.** Esquema de las vías de la cascada de coagulación sanguínea en condiciones fisiológicas que indican los sitios respectivos de acción de las serinoproteasas del veneno de serpiente (SVSP). Las flechas rojas indican la activación por SVSP. La flecha negra indica la actividad de la fibrinogenasa, que causa un consumo inadecuado de fibrinógeno, y la flecha punteada resalta la actividad similar a la trombina (ver más información dentro del texto). Las SVSP actúan como enzimas de activación plaquetaria, lo que permite una agregación excesiva e inapropiada de plaquetas. Además, las SVSP activan la proteína C (no se muestra en la figura) y actúan como anticoagulantes al inactivar irreversiblemente el factor Va y el factor VIIIa. Las SVSP también pueden actuar como enzimas similares a la calicreína, convirtiendo el cininógeno en bradisinina y exacerbando las manifestaciones asociadas con los trastornos hemodinámicos.



La asperasa fue la primera serinoproteasa aislada del veneno de *Bothrops asper*. Es una enzima glicosilada con una masa molecular de 30 kDa. Esta proteína promueve la desfibrinogénesis en modelos murinos y causa alteraciones del comportamiento, como pérdida del reflejo de enderezamiento, opistótonos (espasmo de los músculos que causa arqueamiento hacia atrás de la cabeza, el cuello y la columna vertebral) y rotaciones intermitentes a lo largo del eje longitudinal del cuerpo. Esta característica es similar a la de la giroxina, una enzima similar a la trombina que se encuentra en el veneno de *Crotalus durissus* de poblaciones brasileñas [236,240].

#### *Hipotensión*

La producción de bradicinina (BK) por las serinoproteasas similares a la calicreína, así como la inhibición de la degradación de BK por los péptidos potenciadores de la bradicinina (BPP), da como resultado un aumento general en los niveles de BK. En consecuencia, la estimulación del receptor de bradicinina B<sub>2</sub> induce vasodilatación, así como efectos antifibróticos y antiinflamatorios, a través de varios mecanismos intracelulares [149,235].

Algunas serinoproteasas aisladas, principalmente de venenos de vipéridos, pero también en elápidos como la serpiente marina *Hydrophis hardwickii*, muestran una actividad hipotensora similar a la calicreína que libera bradicinina y causa vasodilatación. Estas proteasas degradan la angiotensina I en angiotensina II que luego se convierte en tetrapéptidos sin actividad hipertensiva. Posteriormente, los niveles de fibrinógeno en sangre disminuyen, alterando el flujo sanguíneo, dando como resultado la liberación de BK y Met-Lys-bradicinina del cininógeno, que actúan sobre los receptores B<sub>1</sub> y B<sub>2</sub>, causando vasodilatación y posterior hipotensión [149].

## **2.8. Lectinas tipo C (CTL) y similares a lectinas tipo C (CLP)**

### ***Estructura***

Las lectinas de veneno de serpiente tienen propiedades intermedias entre las dos familias importantes de lectinas animales, denominadas S y C. Las lectinas de tipo C son extracelulares y tienen este nombre porque requieren iones de calcio para su actividad de interacción con azúcares. Las lectinas de tipo S deben su nombre al hecho de que requieren agentes reductores del grupo tiol para una actividad completa, tanto intra como extracelular, y muestran especificidad para los galactósidos [241].

Se han aislado y caracterizado varias lectinas de tipo C y proteínas relacionadas a partir de venenos de serpiente. Estas proteínas se pueden clasificar ampliamente en dos grupos principales según sus propiedades estructurales y funcionales: lectinas de tipo C verdaderas y un grupo más complejo de proteínas estructuralmente relacionadas con las lectinas de tipo C, pero con diferentes funciones, llamadas proteínas similares a lectinas de tipo C (CLP) [242].

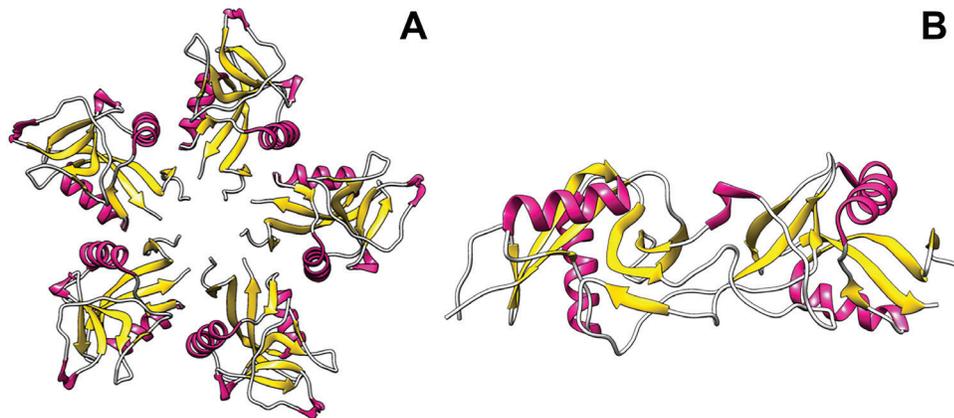
Las lectinas de tipo C dependen del calcio. Son proteínas que se unen a carbohidratos con estructuras canónicas, como lo hacen las selectinas y

las proteínas de unión a manosa. Son homodímeros (o multímeros superiores) con propiedades de unión a azúcares (principalmente galactósidos) (Figura 19A) [242]. Las lectinas de tipo C, del veneno de serpiente (SVgalLs), que se unen a galactósidos son un ejemplo de lectinas de tipo C verdaderas. Un ejemplo de ellas se conoce del veneno de *Lachesis stenophrys* (verrugo centroamericano), pero también está presente en venenos de víperidos como *Crotalus atrox* (serpiente cascabel occidental) [243].

El dominio de reconocimiento de carbohidratos (CRD) en las SVgalLs está representado generalmente por tres residuos de aminoácidos, Gln-Pro-Asp, considerados determinantes en su afinidad por la galactosa, mediada por calcio. La especificidad por este carbohidrato está relacionada con la interacción de los grupos hidroxilo 3 y 4, con los residuos Q96 y D98 a través de enlaces de hidrógeno [243].

Las proteínas similares a lectinas tipo C tienen secuencias de aminoácidos similares a las lectinas de tipo C, pero no poseen propiedades de unión a carbohidratos. Además, cualquier asociación con  $\text{Ca}^{2+}$  no ocurre a través de la vía clásica de lectinas tipo C con el bucle de unión. Son heterodímeros, que consisten en subunidades  $\alpha$  y  $\beta$  estrechamente relacionadas, generalmente unidas por un enlace disulfuro, y forman una estructura integrada mediante el intercambio de bucles. También pueden formar estructuras más grandes a través de una asociación multimérica de orden superior unida por enlaces disulfuro o por interacciones no covalentes [242]. Las proteínas similares a lectinas de tipo C (CLP) se denominan así por su alta similitud de secuencia (15%-40%) con los dominios de reconocimiento de carbohidratos de las lectinas de tipo C. Las subunidades  $\alpha$  y  $\beta$  tienen pesos moleculares de 14-15 y 13-14 kDa, respectivamente. La multimerización de estos heterodímeros puede ocurrir a través de interacciones covalentes y no covalentes, lo que da como resultado estructuras  $\alpha\beta$ ,  $(\alpha\beta)_2$  y  $(\alpha\beta)_4$ . Los heterodímeros  $\alpha\beta$  de CLP se forman mediante intercambio de dominios, donde un dominio de una subunidad reemplaza el dominio correspondiente de la otra (Figura 19) [244].

Las CLP, también conocidos como *snaclecs*, presentan diversas actividades, como efectos anticoagulantes e inducción o inhibición de la agregación plaquetaria [260], según su estructura y función. La caracterización farmacológica muestra que las *snaclecs* pueden mejorar o inhibir la función de los factores de coagulación, lo que destaca su potencial en el descubrimiento de fármacos para enfermedades relacionadas con la sangre [244].



**Figura 19.** (A) Estructura de lectina de tipo C purificada a partir del veneno de serpiente *Crotalus atrox*. Código PDB 1MUQ. (B) Estructura de una proteína similar a lectina de tipo C llamada flavocetina-A, purificada a partir del veneno de serpiente *Trimeresurus flavoviridis*. Código PDB 1C3A. Moléculas preparadas en UCSF Chimera v.1.17.3

## Actividades biológicas

### Alteraciones hemostáticas

Las plaquetas son esenciales para la hemostasia y su agregación es el primer paso en la cascada de coagulación sanguínea (Figura 20). Este proceso depende de la interacción de muchos receptores de superficie de las plaquetas, incluidos ADP, colágeno y otros factores. Los venenos contienen componentes que alteran esta interacción, lo que provoca un sangrado continuo en la presa.

Las lectinas tipo C y las proteínas similares se dirigen a receptores específicos de glicoproteínas o integrinas para inhibir o promover la agregación plaquetaria. La mayoría de las lectinas de veneno logran sus efectos al dirigirse al receptor de glicoproteína de superficie plaquetaria GPIb, y algunas también se dirigen a GPIV, que están involucrados en la interacción colágeno-plaquetas. La convulxina, aislada del veneno de *Crotalus durissus* de poblaciones brasileñas, parece participar en la vía que involucra a GPIV. Las lectinas tipo C del veneno de serpiente también se unen a las integrinas, así como al factor von Willebrand (vWF), la trombina y ciertos receptores de superficie plaquetaria no identificados [246].

Los efectos de las *snaclecs* incluyen la actividad anticoagulante al inhibir los factores Xa y IXa y bloquear la interacción entre el factor Xa y sus cofactores en el complejo de protrombinasa que depende de  $\text{Ca}^{2+}$  [244,247]. Por ejemplo, la inhibición de la trombina que depende del calcio [268] y la activación plaquetaria, donde las lectinas tipo C como la botrocetina y la bitiscetina de *Bothrops jararaca* y *Bitis arietans*, respectivamente, se unen preferentemente al factor de von Willebrand y agrandan la superficie de unión con el receptor plaquetario GPIb, estimulan la agregación plaquetaria [262,267]. Además, la lectina echicetina que se encuentra en el veneno de *Echis carinatus* tiene propiedades antitrombóticas, actuando sobre el receptor plaquetario GPIb, impidiendo su agregación [244].

### Respuesta inflamatoria

Se ha investigado el papel de SVgalL en la respuesta inflamatoria utilizando diferentes modelos animales y enfoques para evaluar la participación

de los leucocitos y el reconocimiento de los glicoconjugados de la matriz extracelular (ECM) en la respuesta inflamatoria. Las lectinas de *Bothrops godmani* (BgL) y *Bothrops jararacussu* (BJcuL) tienen la capacidad de inducir un aumento de la permeabilidad vascular en la pata del ratón, lo que resulta en un edema agudo moderado. Esta relación puede estar asociada con la capacidad de las lectinas para estimular la degranulación de mastocitos y liberando histamina y serotonina para desencadenar respuestas inflamatorias locales [243].

Se han observado experimentalmente otros eventos inflamatorios relacionados con las lectinas. Por ejemplo, BJcuL aumenta la adherencia de los leucocitos en los microvasos de los músculos cremáster de los ratones. Esta toxina puede unirse a las glicoproteínas fibronectina y vitronectina, lo que sugiere que la migración de los leucocitos de sangre periférica al sitio inflamatorio implica la adhesión celular a las proteínas de la matriz extracelular (ECM) mediadas por lectinas. BJcuL no solo reconoce los glicoligandos en la superficie de la célula neutrófila, sino que también promueve la polarización y la migración, mejorando la adhesión a la fibronectina y al matrigel, que son componentes de la matriz extracelular. Esta lectina induce la activación funcional de los neutrófilos al aumentar la fagocitosis y la producción de superóxido. Galatrox, una lectina del veneno de *Bothrops atrox*, promueve la migración aguda de neutrófilos y la liberación de las citocinas IL-1 $\alpha$  e IL-6. Además, reconoce los glicoconjugados de la membrana celular de los neutrófilos, interactúa con la laminina de la matriz extracelular e induce la quimiotaxis de los neutrófilos *in vitro* [243].

#### *Efectos sobre la función renal*

En riñones aislados de ratas, las lectinas BiL, BpirL, y BmLec obtenidos de los venenos de *Bothrops insularis*, *Bothrops pirajai* y *Bothrops moojeni*, respectivamente, indujeron alteraciones en los parámetros de la función renal, incluyendo la presión de perfusión, la resistencia vascular, el flujo urinario, la tasa de filtración glomerular y el transporte de iones en los túbulos (Figura 20). El análisis histológico de los riñones de los animales que recibieron BiL sugiere una lesión directa de las células renales glomerulares y tubulares. El mecanismo implica citotoxicidad directa en la región glomerular inducida por las lectinas y la presencia de mediadores proinflamatorios sistémicos como las prostaglandinas [242].

**EFEECTO DEL VENENO DE SERPIENTE SOBRE EL ORGANISMO HUMANO**

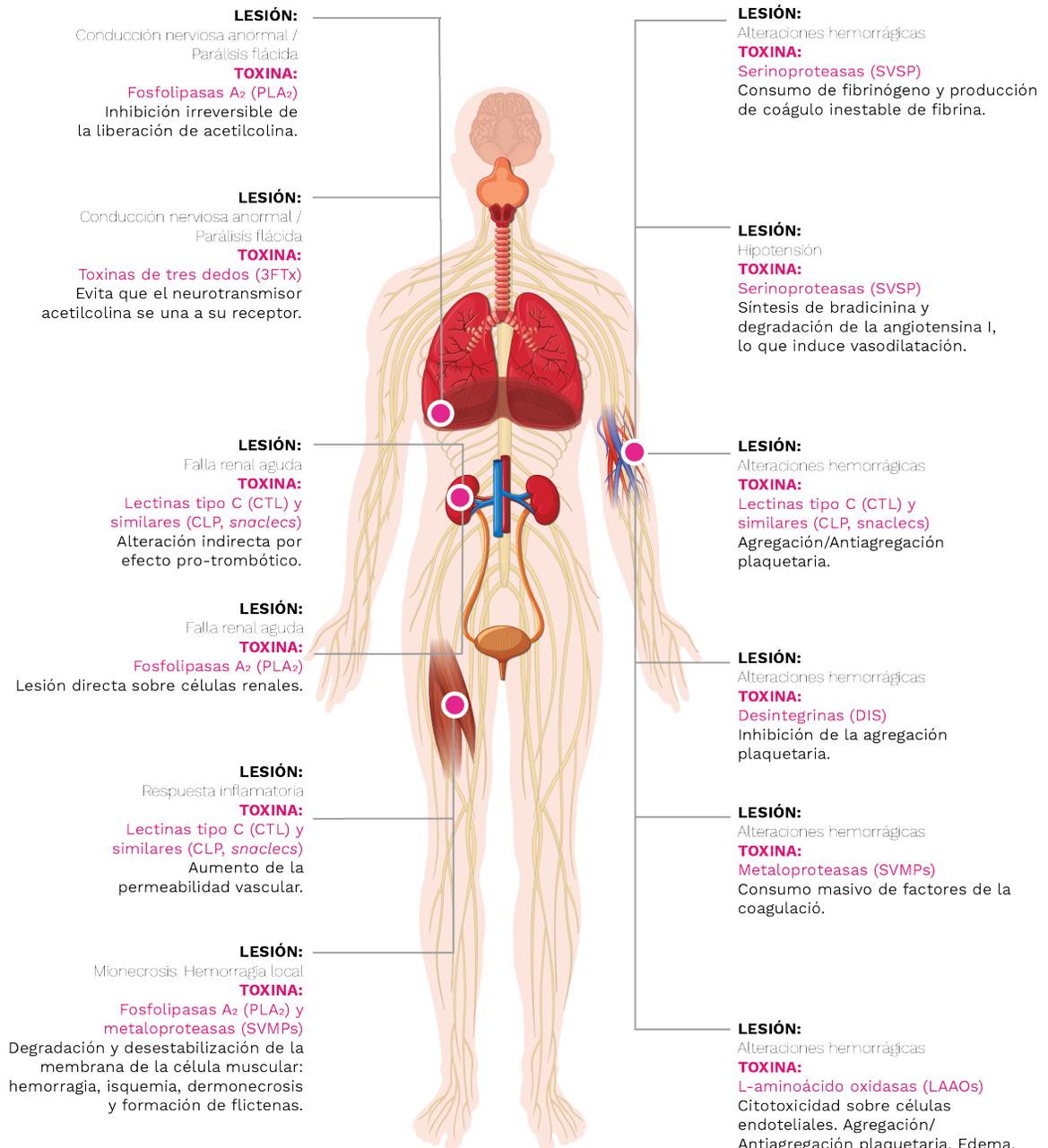


Figura 20. Principales efectos de los venenos de serpientes sobre el cuerpo humano.

## 2.9. Péptidos y proteínas menores en los venenos de serpientes

Las técnicas ómicas (proteómica, transcriptómica y genómica), junto con los recientes avances en métodos cromatográficos y fraccionamiento de veneno bioguiado, han permitido la identificación de péptidos y proteínas que están presentes en bajas cantidades en el veneno de las serpientes. Estos componentes incluyen enzimas, proteínas sin actividad enzimática y péptidos. Las siguientes secciones describirán el rol de algunas de estas toxinas menores durante un accidente ofídico, así como sus posibles actividades biológicas.

### **Hialuronidasas**

Las hialuronidasas son enzimas que se encuentran en el veneno de serpiente y que degradan el ácido hialurónico, el principal glicosaminoglicano de la matriz extracelular (ECM) [7,248]. Esta degradación, combinada con la escisión de otros componentes de la ECM como fibras de colágeno, laminina, nidógeno y perlecán por las SVMP, promueve la propagación de las otras toxinas en el sitio de la mordedura. Esto demuestra que una hialuronidasa de *Naja naja*, por ejemplo, puede aumentar la actividad miotóxica de una PLA<sub>2</sub> y el efecto hemorrágico de una SVMP [249].

La hialuronidasa del veneno de serpiente tiene el potencial de generar fragmentos de baja masa molecular del ácido hialurónico, que pueden activar la respuesta inflamatoria del huésped [250,251]. Estos mismos fragmentos pueden activar las metaloproteasas de matriz (MMP) y aumentar el daño a la matriz extracelular (ECM). Los estudios han demostrado que estas fracciones regulan positivamente la expresión de las MMP [252].

### **Acetilcolinesterasas**

Las acetilcolinesterasas son toxinas que hidrolizan la acetilcolina en colina y acetato. Las enzimas humanas degradan el neurotransmisor en las sinapsis, que es un mecanismo para terminar los procesos de señalización. Los venenos de elápidos suelen contener estas enzimas, excepto las mambas que contienen fasciculinas, inhibidores de las acetilcolinesterasas [253,254]. Estas enzimas podrían contribuir a la neurotoxicidad inducida por las toxinas de tres dedos y las PLA<sub>2</sub> (como se discutió anteriormente en este capítulo) al reducir los niveles de acetilcolina en las sinapsis y promover la acción de las toxinas. Sin embargo, esta hipótesis requiere una mayor confirmación mediante investigaciones adicionales.

### **Nucleotidasas**

Las nucleotidasas son enzimas que degradan los nucleótidos en nucleósidos. Un subgrupo de nucleotidasas son las nucleotidasas 5' que catalizan específicamente la hidrólisis del fosfato esterificado en el carbono 5' de la ribosa de los nucleótidos. Estas enzimas se han aislado de venenos de serpiente, y su principal actividad biológica es la inhibición de la agregación plaquetaria [253,254]. Por lo tanto, esta actividad puede contribuir a la inhibición plaquetaria inducida por otras toxinas, como las desintegrinas, lectinas tipo C, las PLA<sub>2</sub> y las toxinas de tres dedos. La adenosina es probablemente uno de los nucleósidos liberados. Puede potenciar otras

actividades, como la inmovilización de presas al activar los receptores neuronales de adenosina  $A_1$ , suprimiendo la liberación de acetilcolina de las neuronas motoras y los neurotransmisores excitadores de los sitios centrales. La adenosina también exagera la hipotensión inducida por veneno al activar los receptores  $A_2$  en la vasculatura. Además, la adenosina activa los receptores  $A_3$  en los mastocitos que conducen a la liberación de sustancias vasoactivas y aumentan la permeabilidad vascular [259].

### **Fosfolipasa B (PLB)**

La fosfolipasa B hidroliza los glicerofosfolípidos en las posiciones sn-1 y sn-2 [260]. Estas enzimas se han identificado en estudios proteómicos de veneno de serpiente y análisis transcriptómicos de glándulas de veneno, incluso de especies colombianas de importancia médica como *Micrurus dumerillii*, *Bothrocophias myersi*, *Porthidium lansbergii* y *Bothrops asper* [261–264]. El primer reporte de estas enzimas en venenos de serpientes indica que presentan actividad hemolítica [265]. Las PLB posiblemente contribuyan a la lisis de los glóbulos rojos causada por otras toxinas. Sin embargo, debido a sus bajas cantidades en los venenos, no ha sido posible identificar otras actividades biológicas.

### **Proteínas secretoras ricas en cisteína (CRISP)**

Varios venenos de serpientes contienen proteínas secretoras ricas en cisteína que se dirigen a los canales iónicos, como los canales BKCa (canales de potasio activados por calcio de gran conductancia) y los canales iónicos regulados por nucleótidos cíclicos (CNG) [266,267]. Además, las CRISP aumentan la permeabilidad vascular y las respuestas inflamatorias al activar la infiltración de leucocitos y neutrófilos [289]. Por lo tanto, las CRISP contribuyen a las actividades formadoras de edema de otras toxinas, principalmente  $PLA_2$  y SVMP.

### **Factores de crecimiento**

Se han identificado factores de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y factores de crecimiento nervioso (NGF) en venenos de serpiente [269,270], pero su papel en las mordeduras de serpiente aún no está completamente dilucidado. Los estudios han demostrado que los NFG y VEGF pueden inducir cambios en diferentes líneas celulares. Por ejemplo, un NGF aislado del veneno de cobra fue capaz de retrasar el crecimiento del carcinoma ascítico de Ehrlich [292]. Además, otro NGF de la cobra *Naja sputatrix* regula positivamente la expresión endógena de NGF en células PC12, así como los receptores de superficie celular pro-supervivencia y los canales iónicos [293]. Por otro lado, los VEGF del veneno de serpiente inducen hipotensión, permeabilidad vascular y pueden conducir a la muerte de células endoteliales [266,273].

### **Inhibidores de proteasa**

Se han identificado varios tipos de proteasas en los venenos de serpientes, incluyendo kazal, Kunitz e inhibidores de tripéptidos; pero sus funciones en el envenenamiento no son claras aún. Los inhibidores de proteasas de tipo Kunitz tienen actividad antihemorrágica al inhibir la plasmina [274,275]. Además, se ha reportado que los inhibidores tipo

Kunitz muestran actividades antiangiogénicas y antitumorales [276]. Por otro lado, un inhibidor de tipo kazal aislado del veneno de *Bothriechis schelegelii* no mostró efectos citotóxicos, hemorrágicos o miotóxicos. Sin embargo, indujo edema en la almohadilla de la pata de ratones e inhibió la actividad enzimática de la tripsina. Este inhibidor puede limitar la actividad proteolítica mientras el veneno se almacena en la glándula del veneno [277]. Algunos venenos de serpientes contienen inhibidores de tripéptidos que son potentes inhibidores de SVMP y que pueden atenuar, por tanto, la actividad proteolítica de las metaloproteasas en la glándula del veneno [278]. Otros componentes identificados en los venenos de serpientes incluyen fosfodiesterasas [259,279,280], aminopeptidasas [281] y vesprinas [282,283], entre otros. Sin embargo, su papel en las mordeduras de serpientes sigue siendo poco conocido.

## 6. Proteomas de serpientes colombianas

El veneno de las serpientes facilita su supervivencia en hábitats específicos. Comprender los venenos de las serpientes es un desafío debido a la complejidad de las toxinas, sus interrelaciones y las consecuencias fisiopatológicas del envenenamiento. Aunque las familias de serpientes venenosas comparten grupos de proteínas, cada familia tiene un grupo de proteínas dominantes que varían en su secuencia de aminoácidos y abundancia, lo que contribuye a las diferencias en la actividad biológica, tanto generales como individuales de los venenos. Por ejemplo, los venenos de vipéridos tienen una alta actividad enzimática que produce trastornos de la coagulación sanguínea, mientras que los venenos de elápidos muestran predominantemente neurotoxicidad [57].

La caracterización bioquímica de los venenos muestra que son esencialmente mezclas de proteínas y péptidos que exhiben diversas actividades biológicas [57]. La comprensión de los venenos y sus propiedades se ha vuelto más precisa con el avance de las técnicas y herramientas utilizadas para su estudio.

El análisis del veneno inicialmente implicó estudios cromatográficos agregados a la electroforesis en gel de poliacrilamida unidimensional, revelando grandes grupos de proteínas. Esto proporcionó una línea de base para estudios más específicos. Con la llegada de la cromatografía líquida asociada a las técnicas de espectrometría de masas, la electroforesis bidimensional y los métodos de secuenciación, se llevó a cabo un enfoque global que permitió visualizar la complejidad de los venenos y caracterizar individualmente las proteínas.

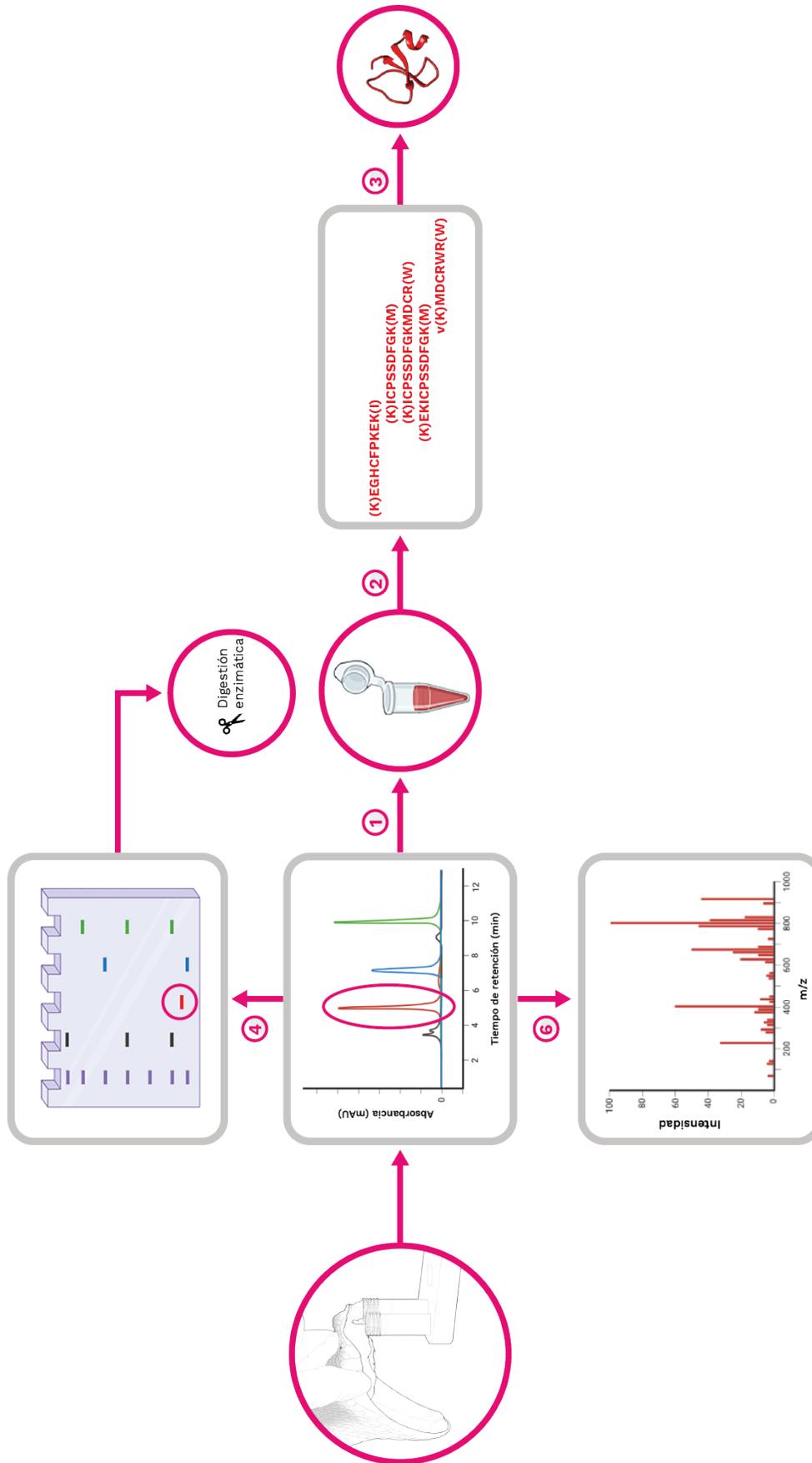
Existen métodos efectivos para manejar venenos crudos. Uno de ellos consiste en simplificar el veneno antes de realizar la espectrometría de masas e integrarlo con el análisis de la secuenciación por degradación de Edman [32]. Otra forma de analizar el veneno es mediante enfoques directos o de escopeta (Shotgun en inglés), utilizando cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas en tándem. Alternativamente, los enfoques indirectos implican analizar las fracciones cromatográficas

obtenidas del veneno crudo o de las manchas resultantes de la electroforesis bidimensional (2-D).

El método de elección depende de la pregunta de investigación. El número total de proteínas únicas en el gel de electroforesis 2-D es típicamente mayor que el número determinado por el análisis directo del veneno a través de espectrometría de masas. Cada mancha puede contener más de una proteína. Esto está relacionado con la complejidad de los venenos, la presencia de múltiples isoformas y modificaciones post-traduccionales de las proteínas, más que con la presencia de muchas proteínas diferentes [57].

A continuación, se propone una metodología para separar los componentes del veneno utilizando la crotamina del veneno de *C. d. cumanensis* como modelo (Figura 21). En el paso 1, el veneno se separa en cada componente utilizando métodos cromatográficos; luego, se selecciona una fracción y se lleva a digestión enzimática en el paso 2. Utilizando diferentes técnicas como la espectrometría de masas o la secuenciación de Edman, los péptidos resultantes se superponen para obtener la estructura primaria. El estudio de los péptidos resultantes también puede proporcionar información sobre diferentes formas (isoformas o proteoformas) de una proteína. Mediante el uso de servidores bioinformáticos especializados, la secuencia se puede utilizar para predecir un modelo tridimensional de la proteína (paso 3). El paso 4 representa una forma alternativa de identificar la secuencia seleccionando la fracción y sometiéndola a electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecil sulfato de sodio (SDS-PAGE) para verificar su pureza. Por lo tanto, la banda se escinde del gel para ser digerida enzimáticamente (paso 5) y la identificación y modelado se realizan como se describió previamente en los pasos 2 y 3. El paso 6 destaca el uso de la fracción separada para determinar directamente la masa molecular por espectrometría de masas.

Se puede usar la herramienta de búsqueda de alineamiento local básico (BLAST) empleando las secuencias de péptidos obtenidos después de la digestión enzimática que permitieron el alineamiento con la crotamina de *Crotalus durissus terrificus* (poblaciones brasileras). Esta secuencia luego se utilizó para predecir la estructura tridimensional utilizando el software SWISS MODEL [228]. Estas técnicas se han utilizado para comparar venenos, determinar variaciones genéticas, ecológicas y geográficas, e incluso para construir hipótesis filogenéticas de las especies que producen toxinas específicas [57,284,285].



**Figura 21.** Representación esquemática de un abordaje completo de veneno, utilizando como ejemplo el veneno de *Crotalus durissus* (poblaciones colombianas) y su crotamina. El veneno obtenido inicialmente se separa en fracciones mediante la técnica RP-HPLC.

La cromatografía líquida en fase inversa es la técnica más utilizada para la separación de proteínas intactas. Sin embargo, no puede aislar diversas formas de proteínas (proteoformas) debido a la variación en sus propiedades fisicoquímicas. Por lo tanto, también se emplean otros métodos de separación basados en la hidrofobicidad, la interacción hidrofílica, la carga eléctrica, el tamaño y la afinidad [286]. Incluso se han descrito otras técnicas, como la electroforesis y el enfoque isoeléctrico, como posibles alternativas [287].

Sin embargo, estas técnicas de separación pueden no siempre resolver eficazmente proteomas complejos. Por el contrario, las estrategias proteómicas de «arriba hacia abajo» (Top-down procedure en inglés) se pueden utilizar para identificar y caracterizar proteínas fragmentando proteínas intactas, en lugar de medir los péptidos producidos a partir de proteínas mediante procedimientos de digestión triptica [198]. El análisis directo de proteínas intactas proporciona datos enriquecidos, que cubren casi la secuencia completa de proteínas, y permite la identificación de proteoformas y la localización de modificaciones [288]. Actualmente, esta técnica está limitada a proteínas de tamaño bajo y mediano. Sin embargo, probablemente se utilizará para complejos proteicos más grandes en el futuro cercano.

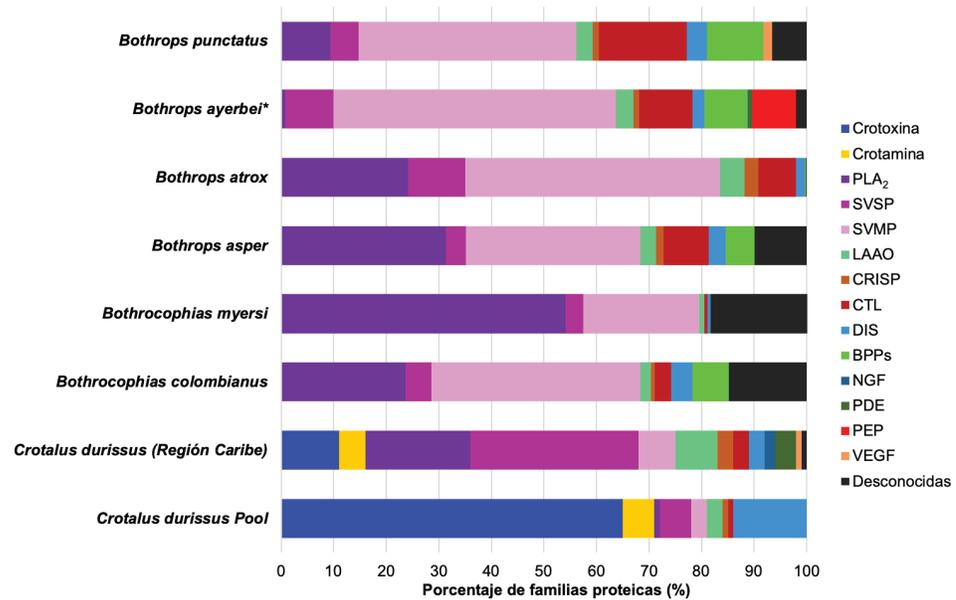
Los proteomas de venenos de serpiente se representan típicamente de manera gráfica como diagramas circulares o de barras, que muestran el porcentaje de abundancia de cada familia de proteínas y su relación con la actividad general del veneno (ver Capítulo 3). En Colombia, el veneno de los vipéridos (Figura 22), muestra una mayor concentración de metaloproteasas en especímenes juveniles de *Bothrops asper* que tiende a disminuir en individuos adultos. Esta diferencia se compensa con un ligero aumento en la presencia de PLA<sub>2</sub>, serinoproteasas y L-aminoácido oxidasas [289]. En el veneno de *Bothrops atrox*, las metaloproteasas representan casi el 50% del proteoma. Si bien PLA<sub>2</sub> también está presente, vale la pena señalar que el veneno de las poblaciones colombianas contiene dos veces la cantidad de serinoproteasas y L-aminoácido oxidasas reportado para las poblaciones brasileñas [290].

El veneno de *Porthidium lansbergii* mantiene la relación 2:1 entre metaloproteasas y PLA<sub>2</sub>, pero también contiene una cantidad significativa de desintegrinas y lectinas tipo C (13% y 7%, respectivamente) [291]. Aunque el veneno de *P. lansbergii* es rico en estos componentes, los estudios de sus aplicaciones biotecnológicas aún están en sus primeras etapas [292]. En contraste, el veneno de *Bothrocophias myersi* (Cabeza de sapo roja) está compuesto principalmente de PLA<sub>2</sub> y SVMPs (54% y 21,4%, respectivamente) [284]. Los venenos de otras víboras, como *Bothrocophias campbelli* (cabeza de sapo chochoana) contienen menos del 1% de desintegrinas [198], y el veneno de *Crotalus durissus* tiene lectinas tipo C que representan el 1,18% de su proteoma [293].

En particular, el veneno de *C. durissus* está compuesto por más de un 60% de crotolina, una PLA<sub>2</sub> neurotóxica, y un 6% de crotamina, una miotoxi-

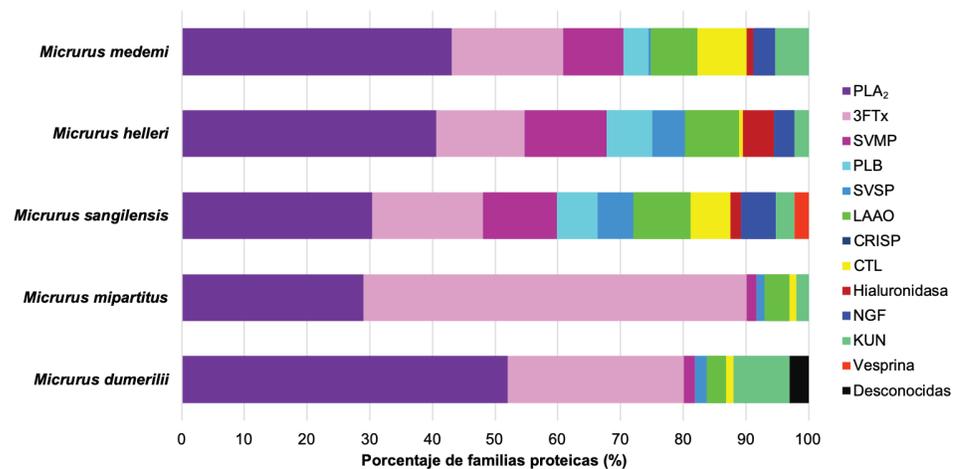
na de bajo peso molecular que es típica de las serpientes de cascabel [293] (Figura 22). En contraste, *Lachesis acrochorda* (verrugoso chocono) tiene un predominio de serinoproteasas, seguidas de metaloproteasas y péptidos vasoactivos, incluyendo toxinas poco comunes como los péptidos potenciadores de bradicinina (BPP) y el péptido natriurético tipo C (C-NP) [294].

**Figura 22.** Representatividad de toxinas en los proteomas de venenos de víboras colombianas con datos disponibles. BPPs: péptidos potenciadores de bradicinina; PLA<sub>2</sub>: fosfolipasa A<sub>2</sub>; SVSP: serinoproteasa de veneno de serpiente; SVMP: metaloproteasa de veneno de serpiente; LAAO: L-aminoácido oxidasa; CRISP: proteína secretora rica en cisteína; CTL: lectinas tipo C y similares a lectinas; DIS: desintegrina; NGF: factor de crecimiento nervioso; VEGF: factor de crecimiento endotelial vascular; PEP: otros péptidos; UNK: desconocidas; Crotoquina: neurotoxina cristalina de tipo fosfolipasa A<sub>2</sub> obtenida del veneno de la serpiente de cascabel del género *Crotalus*; Crotamina: miotoxina de bajo peso molecular del veneno de la serpiente de cascabel del género *Crotalus*. Los proteomas del veneno de las especies se obtuvieron de [81,290,293,295–297].



Solo ocho especies de elápidos colombianos tienen caracterizaciones proteómicas disponibles. Al considerar la dicotomía de 3FTx-PLA<sub>2</sub>, en el veneno de *Micrurus mipartitus*, las 3FTx predominan con 61% [285], mientras que para *M. dumerilii*, *M. helleri*, *M. medemi* y *M. sangilensis* el 52%, 41%, 43% y 30% del proteoma está representado por PLA<sub>2</sub>, respectivamente [264], que incluye proporciones significativas de péptidos de Kunitz para *M. dumerilii* y metaloproteasas para *M. helleri*, *M. medemi* y *M. sangilensis* (Figura 23). El veneno de la serpiente marina de vientre amarillo *Hydrophis platurus* de la población costarricense contiene aproximadamente 50% de 3FTx, en comparación con 33% de PLA<sub>2</sub> [297], sin embargo, aún no se ha caracterizado ninguna población colombiana.

**Figura 23.** Representatividad de toxinas en los proteomas de venenos de serpientes corales colombianas con datos disponibles. PLA<sub>2</sub>: fosfolipasa A<sub>2</sub>; SVSP: serinoproteasas de veneno de serpiente; SVMP: metaloproteasas de veneno de serpiente; LAAO: L-aminoácido oxidasa; CRISP: proteína secretora rica en cisteína; CTL: lectinas tipo C y similares a lectinas; 3FTx: toxinas de tres dedos; KUN: péptidos de Kunitz. Los proteomas del veneno de las especies se obtuvieron de [264,285].



Aunque se ha incrementado la caracterización de los proteomas de veneno de serpientes de especies colombianas, son necesarios más estudios. Debido a las bajas tasas de encuentro, hábitats crípticos y alta riqueza de especies, la mayoría de los venenos de las serpientes de importancia médica en Colombia carecen de caracterización proteómica de sus venenos, siendo las corales (*Micrurus*) las que presentan los mayores vacíos de conocimiento. Conocer las principales toxinas del veneno de cada especie permitirá entender las actividades fisiopatológicas de cada componente y sus potenciales aplicaciones en biotecnología y medicina.

### **Potenciales usos de los venenos de serpientes**

Los venenos de serpientes son mezclas complejas que contienen toxinas que atacan varios procesos fisiológicos. Han sido reconocidos como fuentes de moléculas bioactivas desde el descubrimiento y desarrollo del captopril (ver Capítulo 10). Ha habido casos exitosos en los que se han producido medicamentos a partir de toxinas de serpientes. Por ejemplo, el tirofibán es un medicamento utilizado para inhibir la agregación plaquetaria en síndromes coronarios agudos. La desintegrina identificada en el veneno de *Echis carinatus* fue modificada y formulada para desarrollar este medicamento [298].

Los venenos de serpientes también son útiles para estudiar procesos biológicos. Por ejemplo, la batroxobina se utiliza con fines diagnósticos en química clínica. La reptilasa (Reptilase®, Pentapharm, Basilea, Suiza) es una alternativa al tiempo de trombina en muestras que contienen heparina o para diagnosticar hipofibrinogenemia [299]. Los venenos son fuentes importantes de compuestos bioactivos que tienen potencial como compuestos principales para el desarrollo de fármacos o como moléculas para estudiar algunos procesos biológicos (ver Capítulo 10).

## Apéndice: Materiales y métodos



### *Visualización de estructura secundaria de toxinas en 3D*

En este capítulo el estudio de las toxinas se aborda desde la estructura secundaria. Para su correcta visualización se colorean selectivamente las zonas con estructura secundaria en hélice alfa (en fucsia), hoja beta (en verde/amarillo), giros y estructura al azar (en blanco).

Se escogió el modo de visualización esquemático para permitir mostrar la representación de Richardson (MolScript). Esta visualización es similar al modelo de cintas, pero muestra mediante puntas de flecha la orientación de las cadenas en hebras y hélices, y los tramos sin estructura secundaria son cordones en lugar de cintas [301,302]. En algunas proteínas, o en ciertas regiones de estas, no existen interacciones de suficiente consideración como para que se pueda distinguir un nivel de organización superior a la estructura primaria. En estos casos se habla de conformación al azar.

Cuando la cadena principal o esqueleto de un polipéptido se pliega en el espacio en forma de helicoide dextrógiro se adopta una conformación denominada hélice alfa. Por lo contrario, cuando la cadena principal de un polipéptido se estira al máximo permitiendo que sus enlaces covalentes interaccionen, este adopta una configuración espacial denominada estructura  $\beta$  (hoja beta), que suele representarse como una flecha [302]. Cuando las estructuras beta tienen el mismo sentido, la hoja  $\beta$  resultante es paralela, y si las estructuras  $\beta$  tienen sentidos opuestos, la hoja plegada resultante es antiparalela.

Las secuencias de la cadena polipeptídica con estructura alfa o beta a menudo están conectadas entre sí por medio de los llamados giros beta, que son secuencias cortas, con una conformación característica que impone un brusco giro de 180 grados a la cadena principal de un polipéptido. Los modelos 3D de las toxinas fueron obtenidos de la base de datos Protein Data Bank (PDB), fueron descargados en formato Wavefront(.obj) y posteriormente optimizados utilizando Blender [303,304]. Posteriormente fueron importados a Jmol generando el patrón de estilo esquemático, luego se exportaron en formato 3D VRML[305]. Finalmente se importaron a la plataforma sketchfab para generar el código html de visualización [306].

## References

1. Kardong, K.; Lavin-Murcio, P. Venom Delivery of Snakes as High-Pressure and Low-Pressure Systems. *JSTOR* **1993**, 644–650.
2. Broeckhoven, C.; Du Plessis, A. Has Snake Fang Evolution Lost Its Bite? New Insights from a Structural Mechanics Viewpoint. *Biol Lett* **2017**, *13*, doi:10.1098/rsbl.2017.0293.
3. Vidal, N. Colubroid Systematics: Evidence for an Early Appearance of the Venom Apparatus Followed by Extensive Evolutionary Tinkering. *J Toxicol Toxin Rev* **2002**, *21*, 21–41.
4. Kardong, K. V The Evolution of the Venom Apparatus in Snakes from Colubrids to Viperids & Elapids. *Mem. Inst. Butantan* **1982**, *4*, 106–118.
5. Weinstein, S.A.; Smith, T.L.; Kardong, K. V Reptil Venom Glands: Form, Function, and Future. In *Handbook of venoms and toxins of reptiles*; Mackessy, S.P., Ed.; CRC Press: Boca Raton, **2010**; pp. 65–91 ISBN 978-0-8493-9165-1.
6. Vonk, F.J.; Admiraal, J.F.; Jackson, K.; Reshef, R.; De Bakker, M.A.G.; Vanderschoot, K.; Van Den Berge, I.; Van Atten, M.; Burgerhout, E.; Beck, A.; et al. Evolutionary Origin and Development of Snake Fangs. *Nature* **2008**, *454*, 630–633, doi:10.1038/nature07178.
7. Deufel, A.; Cundall, D. Functional Plasticity of the Venom Delivery System in Snakes with a Focus on the Poststrike Prey Release Behavior. *Zool Anz* **2006**, *245*, 249–267, doi: 10.1016/j.jcz.2006.07.002.
8. Glaudas, X.; Kearney, T.C.; Alexander, G.J. To Hold or Not to Hold? The Effects of Prey Type and Size on the Predatory Strategy of a Venomous Snake. *J Zool* **2017**, *302*, 211–218, doi:10.1111/jzo.12450.
9. Mackessy, S. *Handbook of Venoms and Toxins of Reptiles*; Mackessy, S., Ed.; CRC Press, **2016**; ISBN 9780429186394.
10. Arbuckle, K. Evolutionary Context of Venom in Animals. In *Evolution of Venomous Animals and Their Toxins*; Gopalakrishnakone, P., Malhotra, A., Eds.; Springer: Dordrecht, **2017**; pp. 3–31 ISBN 978-94-007-6458-3.
11. Bock, W.J. The Definition and Recognition of Biological Adaptation. *Am Zool* **1980**, *20*, 217–227.
12. Wexler, P.; Fonger, G.C.; White, J.; Weinstein, S. Toxinology: Taxonomy, Interpretation, and Information Resources. *Sci Technol Libr (New York, NY)* **2015**, *34*, 67–90, doi:10.1080/0194262X.2014.993788.
13. Mebs, D. *Venomous and Poisonous Animals: A Handbook for Biologists, Toxicologists and Toxinologists, Physicians and Pharmacists*; Medpharm Scientific Publ., **2002**; ISBN 9783804750234.
14. Vetter, R.S.; Schmidt, J.O. Semantics of Toxinology. *Toxicon* **2006**, *48*.
15. Casewell, N.R.; Jackson, T.N.W.; Laustsen, A.H.; Sunagar, K. Causes and Consequences of Snake Venom Variation. *Trends Pharmacol Sci* **2020**, *41*.
16. Hiestand, P.C.; Hiestand, R.R. *Dispholidus typus* (Boomslang) Snake Venom: Purification and Properties of the Coagulant Principle. *Toxicon* **1979**, *17*, doi:10.1016/0041-0101(79)90282-4.
17. Lomonte, B.; Cerdas, L.; Solórzano, A.; Martínez, S. El Suero de Neonatos de *Clelia clelia* (Serpentes: Colubridae) Neutraliza La Acción Hemorrágica Del Veneno de *Bothrops asper* (Serpentes: Viperidae). *Revista Biol. Trop.* **1989**, *38*, 325–326.

18. Kazandjian, T.D.; Petras, D.; Robinson, S.D.; van Thiel, J.; Greene, H.W.; Arbuckle, K.; Barlow, A.; Carter, D.A.; Wouters, R.M.; Whiteley, G.; et al. Convergent Evolution of Pain-Inducing Defensive Venom Components in Spitting Cobras. *Science* **2021**, *371*, 386–390, doi:10.1126/science.abb9303.
19. Amazonas, D.R.; Portes-Junior, J.A.; Nishiyama-Jr, M.Y.; Nicolau, C.A.; Chalkidis, H.M.; Mourão, R.H.V.; Grazziotin, F.G.; Rokyta, D.R.; Gibbs, H.L.; Valente, R.H.; et al. Molecular Mechanisms Underlying Intraspecific Variation in Snake Venom. *J Proteomics* **2018**, *181*, 60–72, doi:10.1016/j.jprot.2018.03.032.
20. Chippaux, J.P.; Williams, V.; White, J. Snake Venom Variability: Methods of Study, Results and Interpretation. *Toxicon* **1991**, *29*, 1279–1303.
21. Chippaux, J.P.; Goyffon, M. Venoms, Antivenoms and Immunotherapy. *Toxicon* **1998**, *36*, 823–846, doi:10.1016/S0041-0101(97)00160-8.
22. Lomonte, B.; Rangel, J. Snake Venom Lys49 Myotoxins: From Phospholipases A<sub>2</sub> to Non-Enzymatic Membrane Disruptors. *Toxicon* **2012**, *60*, 520–530, doi: 10.1016/j.toxicon.2012.02.007.
23. Vélez, S.M.; Salazar, M.; Acosta de Patiño, H.; Gómez, L.; Rodríguez, A.; Correa, D.; Saldaña, J.; Navarro, D.; Lomonte, B.; Otero-Patiño, R.; et al. Geographical Variability of the Venoms of Four Populations of *Bothrops asper* from Panama: Toxicological Analysis and Neutralization by a Polyvalent Antivenom. *Toxicon* **2017**, *132*, 55–61, doi: 10.1016/j.toxicon.2017.04.002.
24. Tasoulis, T.; Isbister, G.K. A Review and Database of Snake Venom Proteomes. *Toxins (Basel)* **2017**, doi:10.3390/toxins9090290.
25. Aminoff, M.J.; So, Y.T. Effects of Toxins and Physical Agents on the Nervous System. In *Neurology in Clinical Practice*; Elsevier, **2012**; pp. 1353–1376.
26. Thornton, S.L. Snakes. In *Encyclopedia of Toxicology: Third Edition*; Academic Press, **2014**; pp. 310–312 ISBN 9780123864543.
27. Rolan, T.D. Neurotoxic Snakes of the Americas. *Neurol Clin Pract* **2015**, *5*, 383–388, doi:10.1212/CPJ.0000000000000180.
28. Castro, E.N.; Lomonte, B.; del Carmen Gutiérrez, M.; Alagón, A.; Gutiérrez, J.M. Intraspecific Variation in the Venom of the Rattlesnake *Crotalus simus* from Mexico: Different Expression of Crotoxin Results in Highly Variable Toxicity in the Venoms of Three Subspecies. *J Proteomics* **2013**, *87*, 103–121, doi:10.1016/j.jprot.2013.05.024.
29. Sunagar, K.; Undheim, E.A.B.; Scheib, H.; Gren, E.C.K.; Cochran, C.; Person, C.E.; Koludarov, I.; Kelln, W.; Hayes, W.K.; King, G.F.; et al. Intraspecific Venom Variation in the Medically Significant Southern Pacific Rattlesnake (*Crotalus oreganus helleri*): Biodiscovery, Clinical and Evolutionary Implications. *J Proteomics* **2014**, *99*, 68–83, doi:10.1016/j.jprot.2014.01.013.
30. Gutiérrez, J.M.; Rucavado, A. Snake Venom Metalloproteinases: Their Role in the Pathogenesis of Local Tissue Damage. *Biochimie* **2000**, *82*, 841–850, doi:10.1016/s0300-9084(00)01163-9.
31. Estêvão-Costa, M.I.; Diniz, C.R.; Magalhães, A.; Markland, F.S.; Sanchez, E.F. Action of Metalloproteinases Mutalysin I and II on Several Components of the Hemostatic and Fibrinolytic Systems. *Thromb Res* **2000**, *99*, 363–376, doi:10.1016/S0049-3848(00)00259-0.

32. Calvete, J.J.; Escolano, J.; Sanz, L. Snake Venomics of *Bitis* Species Reveals Large Intra-genus Venom Toxin Composition Variation: Application to Taxonomy of Congeneric Taxa. *J Proteome Res* **2007**, *6*, 2732–2745, doi:10.1021/pr0701714.
33. Mackessy, S.P. Evolutionary Trends in Venom Composition in the Western Rattlesnakes (*Crotalus viridis* sensu lato): Toxicity vs. Tenderizers. *Toxicon* **2010**, *55*, 1463–1474, doi: 10.1016/j.toxicon.2010.02.028.
34. Salazar, A.M.; Guerrero, B.; Cantu, B.; Cantu, E.; Rodríguez-Acosta, A.; Pérez, J.C.; Galán, J.A.; Tao, A.; Sánchez, E.E. Venom Variation in Hemostasis of the Southern Pacific Rattlesnake (*Crotalus oreganus helleri*): Isolation of Hellerase. *Comparative Biochemistry and Physiology - C Toxicology and Pharmacology* **2009**, *149*, 307–316, doi: 10.1016/j.cbpc.2008.08.007.
35. Lomonte, B.; Escolano, J.; Fernández, J.; Sanz, L.; Angulo, Y.; Gutiérrez, J.M.; Calvete, J.J. Snake Venomics and Antivenomics of the Arboreal Neotropical Pitvipers *Bothriechis lateralis* and *Bothriechis schlegelii*. *J Proteome Res* **2008**, *7*, 2445–2457, doi:10.1021/pr8000139.
36. Boldrini-França, J.; Corrêa-Netto, C.; Silva, M.M.S.; Rodrigues, R.S.; De La Torre, P.; Pérez, A.; Soares, A.M.; Zingali, R.B.; Nogueira, R.A.; Rodrigues, V.M.; et al. Snake Venomics and Antivenomics of *Crotalus durissus* Subspecies from Brazil: Assessment of Geographic Variation and Its Implication on Snakebite Management. *Proteomics* **2010**, *73*, 1758–1776, doi: 10.1016/j.jprot.2010.06.001.
37. Fry, B.G.; Wickramaratna, J.C.; Hodgson, W.C.; Alewood, P.F.; Kini, R.M.; Ho, H.; Wüster, W. Electrospray Liquid Chromatography/Mass Spectrometry Fingerprinting of *Acanthophis* (Death Adder) Venoms: Taxonomic and Toxinological Implications. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **2002**, *16*, 600–608, doi:10.1002/rcm.613.
38. Daltry, J.C.; Wüster, W.; Thorpe, R.S. Diet and Snake Venom Evolution. *Nature* **1996**, *379*, 537–542, doi:10.1038/379537a0.
39. Sasa, M. Diet and Snake Venom Evolution: Can Local Selection Alone Explain Intraspecific Venom Variation? *Toxicon* **1999**, *37*, 249–252, doi:10.1016/S0041-0101(98)00121-4.
40. Hartmann, P.A.; Hartmann, M.T.; Martins, M. Ecology of a Snake Assemblage in the Atlantic Forest of Southeastern Brazil. *Pap Avulsos Zool* **2009**, *49*, 343–360, doi:10.1590/s0031-10492009002700001.
41. Daltry, J.C.; Ponnudurai, G.; Shin, C.K.; Tan, N.H.; Thorpe, R.S.; Wüster, W. Electrophoretic Profiles and Biological Activities: Intraspecific Variation in the Venom of the Malayan Pit Viper (*Calloselasma rhodostoma*). *Toxicon* **1996**, *34*, 67–79, doi:10.1016/0041-0101(95)00122-0.
42. Calvete, J.J.; Sanz, L.; Pérez, A.; Borges, A.; Vargas, A.M.; Lomonte, B.; Angulo, Y.; Gutiérrez, J.M.; Chalkidis, H.M.; Mourão, R.H.V.; et al. Snake Population Venomics and Antivenomics of *Bothrops atrox*: Paedomorphism along Its Transamazonian Dispersal and Implications of Geographic Venom Variability on Snakebite Management. *J Proteomics* **2011**, *74*, 510–527, doi:10.1016/j.jprot.2011.01.003.
43. Silva, F.M. da; Oliveira, L.S. de; Nascimento, L.R. de S.; Machado, F.A.; Prudente, A.L. da C. Sexual Dimorphism and Ontogenetic Changes of Amazonian Pit Vipers (*Bothrops atrox*). *Zool Anz* **2017**, *271*, 15–24, doi:10.1016/j.jcz.2017.11.001.

44. Gutiérrez, J.; Lomonte, B. Phospholipase A2 Myotoxins from *Bothrops* Snake Venoms. *Toxicon* **1995**, *33*, 1405–1424.
45. López-Lozano, J.L.; de Sousa, M.V.; Ricart, C.A.O.; Chávez-Olortegui, C.; Flores Sanchez, E.; Muniz, E.G.; Bührnheim, P.F.; Morhy, L. Ontogenetic Variation of Metalloproteinases and Plasma Coagulant Activity in Venoms of Wild *Bothrops atrox* Specimens from Amazonian Rain Forest. *Toxicon* **2002**, *40*, 997–1006, doi:10.1016/S0041-0101(02)00096-X.
46. da Silva Aguiar, W.; da Costa Galizio, N.; Sant’Anna, S.S.; Silveira, G.P.M.; de Souza Rodrigues, F.; Grego, K.F.; de Moraes-Zani, K.; Tanaka-Azevedo, A.M. Ontogenetic Study of *Bothrops jararacussu* Venom Composition Reveals Distinct Profiles. *Toxicon* **2020**, *186*, 67–77, doi: 10.1016/j.toxicon.2020.07.030.
47. Antunes, T.C.; Yamashita, K.M.; Barbaro, K.C.; Saiki, M.; Santoro, M.L. Comparative Analysis of Newborn and Adult *Bothrops jararaca* Snake Venoms. *Toxicon* **2010**, *56*, 1443–1458, doi: 10.1016/j.toxicon.2010.08.011.
48. Menezes, M.C.; Furtado, M.F.; Travaglia-Cardoso, S.R.; Camargo, A.C.M.; Serrano, S.M.T. Sex-Based Individual Variation of Snake Venom Proteome among Eighteen *Bothrops jararaca* Siblings. *Toxicon* **2006**, *47*, 304–312, doi:10.1016/j.toxicon.2005.11.007.
49. Chippaux, J.P.; Boche, J.; Courtois, B. Electrophoretic Patterns of the Venoms from a Litter of *Bitis gabonica* Snakes. *Toxicon* **1982**, *20*, 521–522, doi:10.1016/0041-0101(82)90019-8.
50. Williams, V.; White, J.; Schwaner, T.D.; Sparrow, A. Variation in Venom Proteins from Isolated Populations of Tiger Snakes (*Notechis ater niger*, *N. scutatus*) in South Australia. *Toxicon* **1988**, *26*, 1067–1075, doi:10.1016/0041-0101(88)90205-X.
51. Fry, B.G.; Scheib, H.; van der Weerd, L.; Young, B.; McNaughtan, J.; Ryan Ramjan, S.F.; Vidal, N.; Poelmann, R.E.; Norman, J.A. Evolution of an Arsenal: Structural and Functional Diversification of the Venom System in the Advanced Snakes (*Caenophidia*). *Molecular and Cellular Proteomics* **2008**, *7*, 215–246, doi:10.1074/mcp.M700094-MCP200.
52. Gutiérrez, J.M.; Escalante, T.; Rucavado, A.; Herrera, C. Hemorrhage Caused by Snake Venom Metalloproteinases: A Journey of Discovery and Understanding. *Toxins (Basel)* **2016**, *8*, 93, doi:10.3390/toxins8040093.
53. Gutiérrez, J.M.; Rucavado, A.; Escalante, T.; Díaz, C. Hemorrhage Induced by Snake Venom Metalloproteinases: Biochemical and Biophysical Mechanisms Involved in Microvessel Damage. *Toxicon* **2005**, *45*, 997–1011, doi: 10.1016/j.toxicon.2005.02.029.
54. Takeda, S. ADAM and ADAMTS Family Proteins and Snake Venom Metalloproteinases: A Structural Overview. *Toxins (Basel)* **2016**, *8*, doi:10.3390/TOXINS8050155.
55. Gomis-Rüth, F.X. Structural Aspects of the Metzincin Clan of Metalloendopeptidases. *Mol Biotechnol* **2003**, *24*, 157–202, doi:10.1385/MB:24:2:157.
56. Bode, W.; Gomis-Rüth, F.X.; Stöckler, W. Astacins, Serralysins, Snake Venom and Matrix Metalloproteinases Exhibit Identical Zinc-Binding Environments (HEXXHXXGXXH and Met-Turn) and Topologies and Should Be Grouped into a Common Family, the “Metzincins.” *FEBS Lett* **1993**, *331*, 134–140, doi:10.1016/0014-5793(93)80312-i.

57. Fox, J.W.; Serrano, S.M.T. Insights into and Speculations about Snake Venom Metalloproteinase (SVMP) Synthesis, Folding and Disulfide Bond Formation and Their Contribution to Venom Complexity. *FEBS J* **2008**, *275*, 3016–3030, doi:10.1111/j.1742-4658.2008.06466. x.
58. Olaoba, O.T.; Karina Dos Santos, P.; Selistre-de-Araujo, H.S.; Ferreira de Souza, D.H. Snake Venom Metalloproteinases (SVMPs): A Structure-Function Update. *Toxicon X* **2020**, *7*, 100052, doi: 10.1016/j.toxcx.2020.100052.
59. Takeda, S.; Takeya, H.; Iwanaga, S. Snake Venom Metalloproteinases: Structure, Function and Relevance to the Mammalian ADAM/ADAMTS Family Proteins. *Biochim Biophys Acta* **2012**, *1824*, 164–176, doi:10.1016/j.bbapap.2011.04.009.
60. Tallant, C.; Marrero, A.; Gomis-Rüth, F.X. Matrix Metalloproteinases: Fold and Function of Their Catalytic Domains. *Biochim Biophys Acta* **2010**, *1803*, 20–28, doi: 10.1016/j.bbamcr.2009.04.003.
61. Coronado, M.A.; de Moraes, F.R.; Ullah, A.; Masood, R.; Santana, V.S.; Mariutti, R.; Brognaro, H.; Georgieva, D.; Murakami, M.T.; Betzel, C.; et al. Three-Dimensional Structures and Mechanisms of Snake Venom Serine Proteinases, Metalloproteinases, and Phospholipase A<sub>2</sub>s. In *Venom Genomics and Proteomics*; Gopalakrishnakone, P., Calvete, J.J., Eds.; Toxinology; Springer Netherlands: Dordrecht, **2016**; pp. 239–267 ISBN 978-94-007-6416-3.
62. Escalante, T.; Rucavado, A.; Pinto, A.F.M.; Terra, R.M.S.; Gutiérrez, J.M.; Fox, J.W. Wound Exudate as a Proteomic Window to Reveal Different Mechanisms of Tissue Damage by Snake Venom Toxins. *J Proteome Res* **2009**, *8*, 5120–5131, doi:10.1021/pr900489m.
63. Escalante, T.; Ortiz, N.; Rucavado, A.; Sanchez, E.F.; Richardson, M.; Fox, J.W.; Gutiérrez, J.M. Role of Collagens and Perlecan in Microvascular Stability: Exploring the Mechanism of Capillary Vessel Damage by Snake Venom Metalloproteinases. *PLoS One* **2011**, *6*, e28017, doi: 10.1371/journal.pone.0028017.
64. Moreira, L.; Borkow, G.; Ovadia, M.; Gutiérrez, J.M. Pathological Changes Induced by BaH1, a Hemorrhagic Proteinase Isolated from *Bothrops asper* (Terciopelo) Snake Venom, on Mouse Capillary Blood Vessels. *Toxicon* **1994**, *32*, 976–987, doi:10.1016/0041-0101(94)90376-x.
65. Ohsaka, A. Hemorrhagic, Necrotizing and Edema-Forming Effects of Snake Venoms. In *Handbook of Experimental Pharmacology*; Springer Verlag: Berlin, Germany, **1979**; Vol. 52, Snake, pp. 480–546.
66. Araki, S. Endothelial Cell Toxicity of Vascular Apoptosis-Inducing Proteins from Hemorrhagic Snake Venom. In *Snake Venoms*; Inagaki, H., Vogel, C.-W., Mukherjee, A.K., Rahmy, T.R., Gopalakrishnakone, P., Eds.; Toxinology; Springer Netherlands: Dordrecht, **2017**; pp. 145–159 ISBN 978-94-007-6410-1.
67. Díaz, C.; Valverde, L.; Brenes, O.; Rucavado, A.; Gutiérrez, J.M. Characterization of Events Associated with Apoptosis/Anoikis Induced by Snake Venom Metalloproteinase BaP<sub>1</sub> on Human Endothelial Cells. *J Cell Biochem* **2005**, *94*, 520–528, doi:10.1002/jcb.20322.
68. Wan, S.-G.; Jin, Y.; Lee, W.-H.; Zhang, Y.A. Snake Venom Metalloproteinase That Inhibited Cell Proliferation and Induced Morphological Changes of ECV304 Cells. *Toxicon* **2006**, *47*, 480–489, doi:10.1016/j.toxicon.2006.01.006.

69. Wang, S.H.; Shen, X.C.; Yang, G.Z.; Wu, X.F. CDNA Cloning and Characterization of Agkistin, a New Metalloproteinase from *Agkistrodon halys*. *Biochem Biophys Res Commun* **2003**, *301*, 298–303, doi:10.1016/s0006-291x(02)03001-2.
70. You, W.-K.; Seo, H.-J.; Chung, K.-H.; Kim, D.-S. A Novel Metalloprotease from *Gloydius halys* Venom Induces Endothelial Cell Apoptosis through Its Protease and Disintegrin-like Domains. *J Biochem* **2003**, *134*, 739–749, doi:10.1093/jb/mvg202.
71. Rucavado, A.; Núñez, J.; Gutiérrez, J.M. Blister Formation and Skin Damage Induced by BaP1, a Haemorrhagic Metalloproteinase from the Venom of the Snake *Bothrops asper*. *Int J Exp Pathol* **1998**, *79*, 245–254.
72. Moura-da-Silva, A.M.; Marcinkiewicz, C.; Marcinkiewicz, M.; Niewiarowski, S. Selective Recognition of Alpha2beta1 Integrin by Jararhagin, a Metalloproteinase/Disintegrin from *Bothrops jararaca* Venom. *Thromb Res* **2001**, *102*, 153–159, doi:10.1016/s0049-3848(01)00216-x.
73. Baldo, C.; Jamora, C.; Yamanouye, N.; Zorn, T.M.; Moura-da-Silva, A.M. Mechanisms of Vascular Damage by Hemorrhagic Snake Venom Metalloproteinases: Tissue Distribution and in Situ Hydrolysis. *PLoS Negl Trop Dis* **2010**, *4*, e727, doi: 10.1371/journal.pntd.0000727.
74. Herrera, C.; Escalante, T.; Voisin, M.-B.; Rucavado, A.; Morazán, D.; Macêdo, J.K.A.; Calvete, J.J.; Sanz, L.; Nourshargh, S.; Gutiérrez, J.M.; et al. Tissue Localization and Extracellular Matrix Degradation by PI, PII and PIII Snake Venom Metalloproteinases: Clues on the Mechanisms of Venom-Induced Hemorrhage. *PLoS Negl Trop Dis* **2015**, *9*, e0003731, doi: 10.1371/journal.pntd.0003731.
75. Baramova, E.N.; Shannon, J.D.; Bjarnason, J.B.; Gonias, S.L.; Fox, J.W. Interaction of Hemorrhagic Metalloproteinases with Human Alpha 2-Macroglobulin. *Biochemistry* **1990**, *29*, 1069–1074, doi:10.1021/bi00456a032.
76. Camacho, E.; Villalobos, E.; Sanz, L.; Pérez, A.; Escalante, T.; Lomonte, B.; Calvete, J.J.; Gutiérrez, J.M.; Rucavado, A. Understanding Structural and Functional Aspects of PII Snake Venom Metalloproteinases: Characterization of BlatH1, a Hemorrhagic Dimeric Enzyme from the Venom of *Bothriechis lateralis*. *Biochimie* **2014**, *101*, 145–155, doi: 10.1016/j.biochi.2014.01.008.
77. Kamiguti, A.S.; Desmond, H.P.; Theakston, R.D.; Hay, C.R.; Zuzel, M. Ineffectiveness of the Inhibition of the Main Haemorrhagic Metalloproteinase from *Bothrops jararaca* Venom by Its Only Plasma Inhibitor, Alpha 2-Macroglobulin. *Biochim Biophys Acta* **1994**, *1200*, 307–314, doi:10.1016/0304-4165(94)90172-4.
78. Akao, P.K.; Tonoli, C.C.C.; Navarro, M.S.; Cintra, A.C.O.; Neto, J.R.; Arni, R.K.; Murakami, M.T. Structural Studies of BmooMPalpha-I, a Non-Hemorrhagic Metalloproteinase from *Bothrops moojeni* Venom. *Toxicon* **2010**, *55*, 361–368, doi:10.1016/j.toxicon.2009.08.013.
79. Bello, C.A.; Hermogenes, A.L.N.; Magalhaes, A.; Veiga, S.S.; Gremski, L.H.; Richardson, M.; Sanchez, E.F. Isolation and Biochemical Characterization of a Fibrinolytic Proteinase from *Bothrops leucurus* (White-Tailed Jararaca) Snake Venom. *Biochimie* **2006**, *88*, 189–200, doi:10.1016/j.biochi.2005.07.008.

80. Gutiérrez, J.M.; Romero, M.; Núñez, J.; Chaves, F.; Borkow, G.; Ovidia, M. Skeletal Muscle Necrosis and Regeneration after Injection of BaH1, a Hemorrhagic Metalloproteinase Isolated from the Venom of the Snake *Bothrops asper* (Terciopelo). *Exp Mol Pathol* **1995**, *62*, 28–41, doi:10.1006/exmp.1995.1004.
81. Patiño, A.C.; Pereañez, J.A.; Núñez, V.; Benjumea, D.M.; Fernandez, M.; Rucavado, A.; Sanz, L.; Calvete, J.J. Isolation and Biological Characterization of Batx-I, a Weak Hemorrhagic and Fibrinogenolytic PI Metalloproteinase from Colombian *Bothrops atrox* Venom. *Toxicon* **2010**, *56*, 936–943, doi:10.1016/j.toxicon.2010.06.016.
82. Wallnoefer, H.G.; Lingott, T.; Gutiérrez, J.M.; Merfort, I.; Liedl, K.R. Backbone Flexibility Controls the Activity and Specificity of a Protein-Protein Interface: Specificity in Snake Venom Metalloproteases. *J Am Chem Soc* **2010**, *132*, 10330–10337, doi:10.1021/ja909908y.
83. de Souza, R.A.; Díaz, N.; Nagem, R.A.P.; Ferreira, R.S.; Suárez, D. Unraveling the Distinctive Features of Hemorrhagic and Non-Hemorrhagic Snake Venom Metalloproteinases Using Molecular Simulations. *J Comput Aided Mol Des* **2016**, *30*, 69–83, doi:10.1007/s10822-015-9889-5.
84. Preciado, L.M.; Pereañez, J.A.; Singam, E.R.A.; Comer, J. Interactions between Triterpenes and a P-I Type Snake Venom Metalloproteinase: Molecular Simulations and Experiments. *Toxins (Basel)* **2018**, *10*, 1–20, doi:10.3390/toxins10100397.
85. Gutiérrez, J.M.; Escalante, T.; Hernández, R.; Gastaldello, S.; Saravia-Otten, P.; Rucavado, A. Why Is Skeletal Muscle Regeneration Impaired after Myonecrosis Induced by Viperid Snake Venoms? *Toxins (Basel)* **2018**, *10*, E182, doi:10.3390/toxins10050182.
86. Tidball, J.G. Regulation of Muscle Growth and Regeneration by the Immune System. *Nat Rev Immunol* **2017**, *17*, 165–178, doi:10.1038/nri.2016.150.
87. Queiroz, L.S.; Santo Neto, H.; Assakura, M.T.; Reichl, A.P.; Mandelbaum, F.R. Pathological Changes in Muscle Caused by Haemorrhagic and Proteolytic Factors from *Bothrops jararaca* Snake Venom. *Toxicon* **1985**, *23*, 341–345, doi:10.1016/0041-0101(85)90158-8.
88. Homma, M.; Tu, A.T. Morphology of Local Tissue Damage in Experimental Snake Envenomation. *Br J Exp Pathol* **1971**, *52*, 538–542.
89. Jiménez, N.; Escalante, T.; Gutiérrez, J.M.; Rucavado, A. Skin Pathology Induced by Snake Venom Metalloproteinase: Acute Damage, Revascularization, and Re-Epithelization in a Mouse Ear Model. *J Invest Dermatol* **2008**, *128*, 2421–2428, doi:10.1038/jid.2008.118.
90. Macêdo, J.K.A.; Joseph, J.K.; Menon, J.; Escalante, T.; Rucavado, A.; Gutiérrez, J.M.; Fox, J.W. Proteomic Analysis of Human Blister Fluids Following Envenomation by Three Snake Species in India: Differential Markers for Venom Mechanisms of Action. *Toxins (Basel)* **2019**, *11*, E246, doi:10.3390/toxins11050246.
91. Laing, G.D.; Clissa, P.B.; Theakston, R.D.G.; Moura-da-Silva, A.M.; Taylor, M.J. Inflammatory Pathogenesis of Snake Venom Metalloproteinase-Induced Skin Necrosis. *Eur J Immunol* **2003**, *33*, 3458–3463, doi:10.1002/eji.200324475.
92. Fernandes, C.M.; Zamuner, S.R.; Zuliani, J.P.; Rucavado, A.; Gutiérrez, J.M.; Teixeira, C. de F.P. Inflammatory Effects of BaP1 a Metallopro-

- teinase Isolated from *Bothrops asper* Snake Venom: Leukocyte Recruitment and Release of Cytokines. *Toxicon* **2006**, *47*, 549–559, doi: 10.1016/j.toxicon.2006.01.009.
93. Teixeira, C. de F.P.; Fernandes, C.M.; Zuliani, J.P.; Zamuner, S.F. Inflammatory Effects of Snake Venom Metalloproteinases. *Mem Inst Oswaldo Cruz* **2005**, *100 Suppl*, 181–184, doi:10.1590/s0074-02762005000900031.
  94. Clissa, P.B.; Laing, G.D.; Theakston, R.D.; Mota, I.; Taylor, M.J.; Moura-da-Silva, A.M. The Effect of Jararhagin, a Metalloproteinase from *Bothrops jararaca* Venom, on pro-Inflammatory Cytokines Released by Murine Peritoneal Adherent Cells. *Toxicon* **2001**, *39*, 1567–1573, doi:10.1016/s0041-0101(01)00131-3.
  95. Schaloske, R.H.; Dennis, E.A. The Phospholipase A<sub>2</sub> Superfamily and Its Group Numbering System. *Biochim Biophys Acta* **2006**, *1761*, 1246–1259, doi: 10.1016/j.bbali.2006.07.011.
  96. Filkin, S.Y.; Lipkin, A. V.; Fedorov, A.N. Phospholipase Superfamily: Structure, Functions, and Biotechnological Applications. *Biochemistry (Mosc)* **2020**, *85*, S177–S195, doi:10.1134/S0006297920140096.
  97. Kini, R.M. Excitement Ahead: Structure, Function and Mechanism of Snake Venom Phospholipase A<sub>2</sub> Enzymes. *Toxicon* **2003**, *42*, 827–840, doi: 10.1016/j.toxicon.2003.11.002.
  98. Días, E.H.V.; Dos Santos Paschoal, T.; da Silva, A.P.; da Cunha Pereira, D.F.; de Sousa Simamoto, B.B.; Matias, M.S.; Santiago, F.M.; Rosa, J.C.; Soares, A.; Santos-Filho, N.A.; et al. BaltPLA<sub>2</sub>: A New Phospholipase A<sub>2</sub> from *Bothrops alternatus* Snake Venom with Antiplatelet Aggregation Activity. *Protein Pept Lett* **2018**, *25*, 943–952, doi:10.2174/0929866525666181004101622.
  99. Nunes, E.; Frihling, B.; Barros, E.; de Oliveira, C.; Verbisck, N.; Flores, T.; de Freitas Júnior, A.; Franco, O.; de Macedo, M.; Migliolo, L.; et al. Antibiofilm Activity of Acidic Phospholipase Isoform Isolated from *Bothrops erythromelas* Snake Venom. *Toxins (Basel)* **2020**, *12*, E606, doi:10.3390/toxins12090606.
  100. Jiménez-Charris, E.; Montealegre-Sánchez, L.; Solano-Redondo, L.; Castro-Herrera, F.; Fierro-Pérez, L.; Lomonte, B. Divergent Functional Profiles of Acidic and Basic Phospholipases A<sub>2</sub> in the Venom of the Snake *Porthidium lansbergii lansbergii*. *Toxicon* **2016**, *119*, 289–298, doi: 10.1016/j.toxicon.2016.07.006.
  101. Posada Arias, S.; Rey-Suárez, P.; Pereáñez J, A.; Acosta, C.; Rojas, M.; Delazari Dos Santos, L.; Ferreira, R.S.; Núñez, V. Isolation and Functional Characterization of an Acidic Myotoxic Phospholipase A<sub>2</sub> from Colombian *Bothrops asper* Venom. *Toxins (Basel)* **2017**, *9*, E342, doi:10.3390/toxins9110342.
  102. Vargas, L.J.; Londoño, M.; Quintana, J.C.; Rua, C.; Segura, C.; Lomonte, B.; Núñez, V. An Acidic Phospholipase A<sub>2</sub> with Antibacterial Activity from *Porthidium nasutum* Snake Venom. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol* **2012**, *161*, 341–347, doi: 10.1016/j.cbpb.2011.12.010.
  103. Kini, R.M.; Evans, H.J. A Model to Explain the Pharmacological Effects of Snake Venom Phospholipases A<sub>2</sub>. *Toxicon* **1989**, *27*, 613–635, doi:10.1016/0041-0101(89)90013-5.

104. Scott, D. Phospholipase A<sub>2</sub>: Structure and Catalytic Properties. In *Venom phospholipase A<sub>2</sub> enzymes: structure, function and mechanism*; Kini, R., Ed.; John Wiley & Sons: Chichester, 1997; pp. 97–128.
105. Berg, O.G.; Gelb, M.H.; Tsai, M.D.; Jain, M.K. Interfacial Enzymology: The Secreted Phospholipase A<sub>2</sub>-Paradigm. *Chem Rev* **2001**, *101*, 2613–2654, doi:10.1021/cr990139w.
106. Maraganore, J.M.; Merutka, G.; Cho, W.; Welches, W.; Kézdy, F.J.; Henrikson, R.L. A New Class of Phospholipases A<sub>2</sub> with Lysine in Place of Aspartate 49. Functional Consequences for Calcium and Substrate Binding. *J Biol Chem* **1984**, *259*, 13839–13843.
107. Gutiérrez, J.M.; León, G.; Lomonte, B. Pharmacokinetic-Pharmacodynamic Relationships of Immunoglobulin Therapy for Envenomation. *Clin Pharmacokinet* **2003**, *42*, 721–741, doi:10.2165/00003088-200342080-00002.
108. Lambeau, G.; Schmid-Alliana, A.; Lazdunski, M.; Barhanin, J. Identification and Purification of a Very High Affinity Binding Protein for Toxic Phospholipases A<sub>2</sub> in Skeletal Muscle. *Journal of Biological Chemistry* **1990**, *265*, 9526–9532, doi:10.1016/s0021-9258(19)38881-7.
109. Massimino, M.L.; Simonato, M.; Spolaore, B.; Franchin, C.; Arrigoni, G.; Marin, O.; Monturiol-Gross, L.; Fernández, J.; Lomonte, B.; Tonello, F. Cell Surface Nucleolin Interacts with and Internalizes *Bothrops asper* Lys49 Phospholipase A<sub>2</sub> and Mediates Its Toxic Activity. *Sci Rep* **2018**, *8*, 10619, doi:10.1038/s41598-018-28846-4.
110. Fernandes, C.A.H.; Borges, R.J.; Lomonte, B.; Fontes, M.R.M. A Structure-Based Proposal for a Comprehensive Myotoxic Mechanism of Phospholipase A<sub>2</sub>-like Proteins from Viperid Snake Venoms. *Biochim Biophys Acta Proteins Proteom* **2014**, *1844*, 2265–2276, doi: 10.1016/j.bbapap.2014.09.015.
111. Gutiérrez, J.M.; Ownby, C.L. Skeletal Muscle Degeneration Induced by Venom Phospholipases A<sub>2</sub>: Insights into the Mechanisms of Local and Systemic Myotoxicity. *Toxicon* **2003**, *42*, 915–931, doi: 10.1016/j.toxicon.2003.11.005.
112. Montecucco, C.; Gutiérrez, J.M.; Lomonte, B. Cellular Pathology Induced by Snake Venom Phospholipase A<sub>2</sub> Myotoxins and Neurotoxins: Common Aspects of Their Mechanisms of Action. *Cell Mol Life Sci* **2008**, *65*, 2897–2912, doi:10.1007/s00018-008-8113-3.
113. Otero-Patiño, R. Snake Bites in Colombia. In *Clinical Toxinology: Clinical Toxinology*; Gopalakrishnakone, P., Faiz, S.M.A., Gnanathasan, C.A., Habib, A.G., Fernando, R., Yang, C.-C., Eds.; Springer Netherlands: Dordrecht, **2013**; pp. 1–42 ISBN 978-94-007-6288-6.
114. Sarkar, S.; Sinha, R.; Chaudhury, A.R.; Maduwage, K.; Abeyagunawardena, A.; Bose, N.; Pradhan, S.; Bresolin, N.L.; Garcia, B.A.; McCulloch, M. Snake Bite Associated with Acute Kidney Injury. *Pediatr Nephrol* **2020**, *36*, 3829–3840, doi:10.1007/s00467-020-04911-x.
115. Sitprija, V. Animal Toxins and the Kidney. *Nat Clin Pract Nephrol* **2008**, *4*, 616–627, doi:10.1038/ncpneph0941.
116. Teixeira, C.F.P.; Landucci, E.C.T.; Antunes, E.; Chacur, M.; Cury, Y. Inflammatory Effects of Snake Venom Myotoxic Phospholipases A<sub>2</sub>. *Toxicon* **2003**, *42*, 947–962, doi: 10.1016/j.toxicon.2003.11.006.

117. Costa, S.K.P.; Camargo, E.A.; Antunes, E. Inflammatory Action of Secretory Phospholipases A<sub>2</sub> from Snake Venoms. In *Toxins and Drug Discovery*; Cruz, L.J., Luo, S., Gopalakrishnakone, P., Eds.; Toxinology; Springer Netherlands: Dordrecht, **2017**; pp. 35–52 ISBN 978-94-007-6452-1.
118. Pungerčar, J.; Križaj, I. Understanding the Molecular Mechanism Underlying the Presynaptic Toxicity of Secreted Phospholipases A<sub>2</sub>. *Toxicon* **2007**, *50*, 871–892, doi: 10.1016/j.toxicon.2007.07.025.
119. Montecucco, C.; Rossetto, O. How Do Presynaptic PLA<sub>2</sub> Neurotoxins Block Nerve Terminals? *Trends Biochem Sci* **2000**, *25*, 266–270, doi:10.1016/s0968-0004(00)01556-5.
120. Tonello, F.; Rigoni, M. Cellular Mechanisms of Action of Snake Phospholipase A<sub>2</sub> Toxins. In *Snake Venoms*; Inagaki, H., Vogel, C.-W., Mukherjee, A.K., Rahmy, T.R., Gopalakrishnakone, P., Eds.; Toxinology; Springer Netherlands: Dordrecht, **2017**; pp. 49–65 ISBN 978-94-007-6410-1.
121. Lambeau, G.; Barhanin, J.; Schweitz, H.; Qar, J.; Lazdunski, M. Identification and Properties of Very High Affinity Brain Membrane-Binding Sites for a Neurotoxic Phospholipase from the Taipan Venom. *Journal of Biological Chemistry* **1989**, *264*, 11503–11510, doi:10.1016/s0021-9258(18)60492-2.
122. Paoli, M.; Rigoni, M.; Koster, G.; Rossetto, O.; Montecucco, C.; Postle, A.D. Mass Spectrometry Analysis of the Phospholipase A<sub>2</sub> Activity of Snake Pre-Synaptic Neurotoxins in Cultured Neurons. *J Neurochem* **2009**, *111*, 737–744, doi:10.1111/j.1471-4159.2009.06365.x.
123. Rigoni, M.; Caccin, P.; Gschmeissner, S.; Koster, G.; Postle, A.D.; Rossetto, O.; Schiavo, G.; Montecucco, C. Equivalent Effects of Snake PLA<sub>2</sub> Neurotoxins and Lysophospholipid-Fatty Acid Mixtures. *Science* **2005**, *310*, 1678–1680, doi:10.1126/science.1120640.
124. Nicotera, P.; Bellomo, G.; Orrenius, S. Calcium-Mediated Mechanisms in Chemically Induced Cell Death. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* **1992**, *32*, 449–470, doi:10.1146/annurev.pa.32.040192.002313.
125. Montecucco, C.; Rossetto, O.; Caccin, P.; Rigoni, M.; Carli, L.; Morbiato, L.; Muraro, L.; Paoli, M. Different Mechanisms of Inhibition of Nerve Terminals by Botulinum and Snake Presynaptic Neurotoxins. *Toxicon* **2009**, *54*, 561–564, doi: 10.1016/j.toxicon.2008.12.012.
126. Kovacic, L.; Novinec, M.; Petan, T.; Krizaj, I. Structural Basis of the Significant Calmodulin-Induced Increase in the Enzymatic Activity of Secreted Phospholipases A<sub>2</sub>. *Protein Eng Des Sel* **2010**, *23*, 479–487, doi:10.1093/protein/gzq019.
127. Mattiazzi, M.; Sun, Y.; Wolinski, H.; Bavdek, A.; Petan, T.; Anderluh, G.; Kohlwein, S.D.; Drubin, D.G.; Križaj, I.; Petrovič, U. A Neurotoxic Phospholipase A<sub>2</sub> Impairs Yeast Amphiphysin Activity and Reduces Endocytosis. *PLoS One* **2012**, *7*, e40931, doi: 10.1371/journal.pone.0040931.
128. Šribar, J.; Oberčkal, J.; Križaj, I. Understanding the Molecular Mechanism Underlying the Presynaptic Toxicity of Secreted Phospholipases A<sub>2</sub>: An Update. *Toxicon* **2014**, *89*, 9–16, doi: 10.1016/j.toxicon.2014.06.019.
129. Kordiš, D.; Križaj, I. Secreted Phospholipases A<sub>2</sub> with β-Neurotoxic Activity. In *Snake Venoms*; Inagaki, H., Vogel, C.-W., Mukherjee, A.K.,

- Rahmy, T.R., Gopalakrishnakone, P., Eds.; Toxinology; Springer Netherlands: Dordrecht, **2017**; pp. 67–86 ISBN 978-94-007-6410-1.
130. Pereañez, J.A.; Núñez, V.; Huancahuire-Vega, S.; Marangoni, S.; Ponce-Soto, L.A. Biochemical and Biological Characterization of a PLA<sub>2</sub> from Crotoxin Complex of *Crotalus durissus cumanensis*. *Toxicon* **2009**, *53*, 534–542, doi: 10.1016/j.toxicon.2009.01.021.
  131. Hendon, R.A.; Fraenkel-Conrat, H. Biological Roles of the Two Components of Crotoxin. *Proc Natl Acad Sci USA* **1971**, *68*, 1560–1563, doi:10.1073/pnas.68.7.1560.
  132. Habermann, E.; Breithaupt, H. Mini-Review. The Crotoxin Complex-an Example of Biochemical and Pharmacological Protein Complementa-tion. *Toxicon* **1978**, *16*, 19–30, doi:10.1016/0041-0101(78)90056-9.
  133. Canziani, G.; Seki, C.; Vidal, J.C. The Mechanism of Inhibition of Phos-pholipase Activity of Crotoxin B by Crotoxin A. *Toxicon* **1983**, *21*, 663–674, doi:10.1016/0041-0101(83)90272-6.
  134. Pereañez, J.A.; Gómez, I.D.; Patiño, A.C. Relationship between the Structure and the Enzymatic Activity of Crotoxin Complex and Its Phospholipase A<sub>2</sub> Subunit: An in-Silico Approach. *J Mol Graph Model* **2012**, *35*, 36–42, doi: 10.1016/j.jmglm.2012.01.004.
  135. Rey-Suárez, P.; Núñez, V.; Saldarriaga-Córdoba, M.; Lomonte, B. Pri-mary Structures and Partial Toxicological Characterization of Two Phospholipases A<sub>2</sub> from *Micrurus mipartitus* and *Micrurus dumerilii* Coral Snake Venoms. *Biochimie* **2017**, *137*, 88–98, doi: 10.1016/j.bio-chi.2017.03.008.
  136. Kini, R.M. Structure-Function Relationships and Mechanism of Anti-coagulant Phospholipase A<sub>2</sub> Enzymes from Snake Venoms. *Toxicon* **2005**, *45*, 1147–1161, doi: 10.1016/j.toxicon.2005.02.018.
  137. Verheij, H.M.; Boffa, M.C.; Rothen, C.; Bryckaert, M.C.; Verger, R.; de Haas, G.H. Correlation of Enzymatic Activity and Anticoagulant Properties of Phospholipase A<sub>2</sub>. *Eur J Biochem* **1980**, *112*, 25–32, doi:10.1111/j.1432-1033.1980.tb04982.x.
  138. Kini, R.M.; Evans, H.J. Structure-Function Relationships of Phospho-lipases. The Anticoagulant Region of Phospholipases A<sub>2</sub>. *J Biol Chem* **1987**, *262*, 14402–14407.
  139. Stefansson, S.; Kini, R.M.; Evans, H.J. The Basic Phospholipase A<sub>2</sub> from *Naja nigricollis* Venom Inhibits the Prothrombinase Complex by a Novel Nonenzymatic Mechanism. *Biochemistry* **1990**, *29*, 7742–7746, doi:10.1021/bi00485a024.
  140. Faure, G.; Gowda, V.T.; Maroun, R.C. Characterization of a Human Coa-gulation Factor Xa-Binding Site on Viperidae Snake Venom Phospho-lipases A<sub>2</sub> by Affinity Binding Studies and Molecular Bioinformatics. *BMC Struct Biol* **2007**, *7*, 82, doi:10.1186/1472-6807-7-82.
  141. Faure, G.; Xu, H.; Saul, F. Anticoagulant Phospholipases A<sub>2</sub> Which Bind to the Specific Soluble Receptor Coagulation Factor Xa. In *Toxins and Hemostasis: From Bench to Bedside*; Kini, R.M., Clemetson, K.J., Mar-kland, F.S., McLane, M.A., Morita, T., Eds.; Springer Netherlands: Dor-drecht, **2010**; pp. 201–217 ISBN 978-90-481-9295-3.
  142. Saikia, D.; Mukherjee, A.K. Anticoagulant and Membrane Damaging Properties of Snake Venom Phospholipase A<sub>2</sub> Enzymes. In *Snake Ve-noms*; Gopalakrishnakone, P., Inagaki, H., Mukherjee, A.K., Rahmy, T.R.,

- Vogel, C.-W., Eds.; *Toxinology*; Springer Netherlands: Dordrecht, **2015**; pp. 1–14 ISBN 978-94-007-6648-8.
143. Kini, R.M.; Evans, H.J. Effects of Phospholipase Enzymes on Platelet Aggregation. In *Venom Phospholipase A<sub>2</sub> Enzymes: Structure, Function and Mechanism*; John Wiley: Chichester, England, **1997**; pp. 369–387.
144. Ouyang, C.; Teng, C.M. The Action Mechanism of the Purified Platelet Aggregation Principle of *Trimeresurus mucrosquamatus* Venom. *Thromb Haemost* **1979**, *41*, 475–490.
145. Landucci, E.C.; Condino-Neto, A.; Perez, A.C.; Hyslop, S.; Corrado, A.P.; Novello, J.C.; Marangoni, S.; Oliveira, B.; Antunes, E.; de Nucci, G. Crotoxin Induces Aggregation of Human Washed Platelets. *Toxicon* **1994**, *32*, 217–226, doi:10.1016/0041-0101(94)90111-2.
146. Ouyang, C.; Yeh, H.I.; Huang, T.F. A Potent Platelet Aggregation Inhibitor Purified from *Agkistrodon Halys* (Mamushi) Snake Venom. *Toxicon* **1983**, *21*, 797–804, doi:10.1016/0041-0101(83)90068-5.
147. Li, Y.S.; Liu, K.F.; Wang, Q.C.; Ran, Y.L.; Tu, G.C. A Platelet Function Inhibitor Purified from *Vipera Russellii Siamensis* (Smith) Snake Venom. *Toxicon* **1985**, *23*, 895–903, doi:10.1016/0041-0101(85)90381-2.
148. Ouyang, C.; Huang, T.F. Effect of the Purified Phospholipases A<sub>2</sub> from Snake and Bee Venoms on Rabbit Platelet Function. *Toxicon* **1984**, *22*, 705–718, doi:10.1016/0041-0101(84)90154-5.
149. Péterfi, O.; Boda, F.; Szabó, Z.; Ferencz, E.; Bába, L. Hypotensive Snake Venom Components-A Mini-Review. *Molecules* **2019**, *24*, 1–16, doi:10.3390/molecules24152778.
150. Andrião-Escarso, S.H.; Soares, A.M.; Fontes, M.R.M.; Fuly, A.L.; Corrêa, F.M.A.; Rosa, J.C.; Greene, L.J.; Giglio, J.R. Structural and Functional Characterization of an Acidic Platelet Aggregation Inhibitor and Hypotensive Phospholipase A<sub>2</sub> from *Bothrops jararacussu* Snake Venom. *Biochem Pharmacol* **2002**, *64*, 723–732, doi:10.1016/s0006-2952(02)01210-8.
151. Chaisakul, J.; Isbister, G.K.; Tare, M.; Parkington, H.C.; Hodgson, W.C. Hypotensive and Vascular Relaxant Effects of Phospholipase A<sub>2</sub> Toxins from Papuan Taipan (*Oxyuranus scutellatus*) Venom. *Eur J Pharmacol* **2014**, *723*, 227–233, doi: 10.1016/j.ejphar.2013.11.028.
152. Silveira, L.B.; Marchi-Salvador, D.P.; Santos-Filho, N.A.; Silva, F.P.; Marcussi, S.; Fuly, A.L.; Nomizo, A.; da Silva, S.L.; Stábeli, R.G.; Arantes, E.C.; et al. Isolation and Expression of a Hypotensive and Anti-Platelet Acidic Phospholipase A<sub>2</sub> from *Bothrops moojeni* Snake Venom. *J Pharm Biomed Anal* **2013**, *73*, 35–43, doi: 10.1016/j.jpba.2012.04.008.
153. Almeida, J.R.; Palacios, A.L. V; Patiño, R.S.P.; Mendes, B.; Teixeira, C.A.S.; Gomes, P.; da Silva, S.L. Harnessing Snake Venom Phospholipases A<sub>2</sub> to Novel Approaches for Overcoming Antibiotic Resistance. *Drug Dev Res* **2019**, *80*, 68–85, doi:10.1002/ddr.21456.
154. Hiu, J.J.; Yap, M.K.K. Cytotoxicity of Snake Venom Enzymatic Toxins: Phospholipase A<sub>2</sub> and L-Amino Acid Oxidase. *Biochem Soc Trans* **2020**, *48*, 719–731, doi:10.1042/BST20200110.
155. Asano, Y.; Yasukawa, K. Identification and Development of Amino Acid Oxidases. *Curr Opin Chem Biol* **2019**, *49*, 76–83, doi: 10.1016/j.cbpa.2018.10.020.
156. Hossain, G.S.; Li, J.; Shin, H.D.; Du, G.; Liu, L.; Chen, J. L-Amino Acid Oxidases from Microbial Sources: Types, Properties, Functions, and

- Applications. *Appl Microbiol Biotechnol* **2014**, *98*, 1507–1515, doi:10.1007/s00253-013-5444-2.
157. Paloschi, M. V.; Pontes, A.S.; Soares, A.M.; Zuliani, J.P. An Update on Potential Molecular Mechanisms Underlying the Actions of Snake Venom L-Amino Acid Oxidases (LAAOs). *Curr Med Chem* **2018**, *25*, 2520–2530, doi:10.2174/0929867324666171109114125.
158. Tan, N.H. L-Amino Acid Oxidases and Lactate Deshydrogenases. In *Enzymes from snake venom*; Bailey, G.S., Ed.; Alaken: Fort Collins, **1998**; pp. 579–598.
159. Ullah, A. Structure–Function Studies and Mechanism of Action of Snake Venom L-Amino Acid Oxidases. *Front Pharmacol* **2020**, *11*, 110, doi:10.3389/fphar.2020.00110.
160. Izidoro, L.F.M.; Sobrinho, J.C.; Mendes, M.M.; Costa, T.R.; Grabner, A.N.; Rodrigues, V.M.; Da Silva, S.L.; Zanchi, F.B.; Zuliani, J.P.; Fernandes, C.F.C.; et al. Snake Venom L-Amino Acid Oxidases: Trends in Pharmacology and Biochemistry. *Biomed Res Int* **2014**, *2014*, doi:10.1155/2014/196754.
161. Moustafa, I.M.; Foster, S.; Lyubimov, A.Y.; Vrielink, A. Crystal Structure of LAAO from *Calloselasma rhodostoma* with an L-Phenylalanine Substrate: Insights into Structure and Mechanism. *J Mol Biol* **2006**, *364*, 991–1002, doi: 10.1016/j.jmb.2006.09.032.
162. Guo, C.; Liu, S.; Yao, Y.; Zhang, Q.; Sun, M.Z. Past Decade Study of Snake Venom L-Amino Acid Oxidase. *Toxicon* **2012**, *60*, 302–311.
163. Liu, J.W.; Chai, M.Q.; Du, X.Y.; Song, J.G.; Zhou, Y.C. [Purification and characterization of L-amino acid oxidase from *Agkistrodon halys pallas* venom]. *Sheng Wu Hua Xue Yu Sheng Wu Wu Li Xue Bao (Shanghai)* **2002**, *34*, 305–310.
164. Torii, S.; Yamane, K.; Mashima, T.; Haga, N.; Yamamoto, K.; Fox, J.W.; Naito, M.; Tsuruo, T. Molecular Cloning and Functional Analysis of Apoxin I, a Snake Venom-Derived Apoptosis-Inducing Factor with L-Amino Acid Oxidase Activity. *Biochemistry* **2000**, *39*, 3197–3205, doi:10.1021/bi992416z.
165. Stábeli, R.G.; Marcussi, S.; Carlos, G.B.; Pietro, R.C.L.R.; Selistre-De-Araújo, H.S.; Giglio, J.R.; Oliveira, E.B.; Soares, A.M. Platelet Aggregation and Antibacterial Effects of an L-Amino Acid Oxidase Purified from *Bothrops alternatus* Snake Venom. *Bioorg Med Chem* **2004**, *12*, 2881–2886, doi: 10.1016/j.bmc.2004.03.049.
166. Rodrigues, R.S.; da Silva, J.F.; Boldrini França, J.; Fonseca, F.P.P.; Otaviano, A.R.; Henrique Silva, F.; Hamaguchi, A.; Magro, A.J.; Braz, A.S.K.; dos Santos, J.I.; et al. Structural and Functional Properties of Bp-LAAO, a new L-Amino Acid Oxidase Isolated from *Bothrops pauloensis* Snake Venom. *Biochimie* **2009**, *91*, 490–501, doi: 10.1016/j.biochi.2008.12.004.
167. Ciscotto, P.; Machado de Avila, R.A.; Coelho, E.A.F.; Oliveira, J.; Diniz, C.G.; Farías, L.M.; de Carvalho, M.A.R.; Maria, W.S.; Sanchez, E.F.; Borges, A.; et al. Antigenic, Microbicidal and Antiparasitic Properties of an L-Amino Acid Oxidase Isolated from *Bothrops jararaca* Snake Venom. *Toxicon* **2009**, *53*, 330–341, doi: 10.1016/j.toxicon.2008.12.004.
168. Vargas, L.J.; Quintana, J.C.; Pereañez, J.A.; Núñez, V.; Sanz, L.; Calvente, J. Cloning and Characterization of an Antibacterial L-Amino Acid

- Oxidase from *Crotalus Durissus cumanensis* Venom. *Toxicon* **2013**, *64*, 1–11, doi: 10.1016/j.toxicon.2012.11.027.
169. Vargas Muñoz, L.J.; Estrada-Gomez, S.; Núñez, V.; Sanz, L.; Calvente, J.J. Characterization and cDNA Sequence of *Bothriechis schlegelii* L-Amino Acid Oxidase with Antibacterial Activity. *Int J Biol Macromol* **2014**, *69*, 200–207, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2014.05.039.
170. Bedoya-Medina, J.; Mendivil-Perez, M.; Rey-Suarez, P.; Jimenez-Del-Rio, M.; Núñez, V.; Velez-Pardo, C. L-Amino Acid Oxidase Isolated from *Micrurus mipartitus* Snake Venom (MipLAAO) Specifically Induces Apoptosis in Acute Lymphoblastic Leukemia Cells Mostly via Oxidative Stress-Dependent Signaling Mechanism. *Int J Biol Macromol* **2019**, *134*, 1052–1062, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2019.05.174.
171. Izidoro, L.F.M.; Ribeiro, M.C.; Souza, G.R.L.; Sant'Ana, C.D.; Hamaguchi, A.; Homsí-Brandeburgo, M.I.; Goulart, L.R.; Belebóni, R.O.; Nomizo, A.; Sampaio, S. V; et al. Biochemical and Functional Characterization of an L-Amino Acid Oxidase Isolated from *Bothrops pirajai* Snake Venom. *Bioorg Med Chem* **2006**, *14*, 7034–7043, doi: 10.1016/j.bmc.2006.06.025.
172. Toyama, M.H.; Toyama, D. de O.; Passero, L.F.D.; Laurenti, M.D.; Corbett, C.E.; Tomokane, T.Y.; Fonseca, F. V; Antunes, E.; Joazeiro, P.P.; Beriam, L.O.S.; et al. Isolation of a New L-Amino Acid Oxidase from *Crotalus durissus cascavella* Venom. *Toxicon* **2006**, *47*, 47–57, doi: 10.1016/j.toxicon.2005.09.008.
173. Soares, T.G.; Santos, J.L. Dos; Alvarenga, V.G. de; Santos, J.S.C.; Leclercq, S.Y.; Faria, C.D.; Oliveira, M.A.A.; Bemquerer, M.P.; Sanchez, E.O.F.; de Lima, M.E.; et al. Biochemical and Functional Properties of a New L-Amino Acid Oxidase (LAAO) from *Micrurus lemniscatus* Snake Venom. *Int J Biol Macromol* **2020**, *154*, 1517–1527, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2019.11.033.
174. Samel, M.; Vija, H.; Rönnholm, G.; Siigur, J.; Kalkkinen, N.; Siigur, E. Isolation and Characterization of an Apoptotic and Platelet Aggregation Inhibiting L-Amino Acid Oxidase from *Vipera berus berus* (Common Viper) Venom. *Biochim Biophys Acta* **2006**, *1764*, 707–714, doi: 10.1016/j.bbapap.2006.01.021.
175. Suhr, S.M.; Kim, D.S. Comparison of the Apoptotic Pathways Induced by L-Amino Acid Oxidase and Hydrogen Peroxide. *J Biochem* **1999**, *125*, 305–309, doi: 10.1093/oxfordjournals.jbchem.a022287.
176. Ande, S.R.; Kommoju, P.R.; 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*, 1439–1451, doi:10.1007/s10495-006-7959-9.
177. Souza, D.H.; Eugenio, L.M.; Fletcher, J.E.; Jiang, M.S.; Garratt, R.C.; Oliva, G.; Selistre-de-Araujo, H.S. Isolation and Structural Characterization of a Cytotoxic L-Amino Acid Oxidase from *Agkistrodon contortrix laticinctus* Snake Venom: Preliminary Crystallographic Data. *Arch Biochem Biophys* **1999**, *368*, 285–290, doi:10.1006/abbi.1999.1287.
178. Alves, R.M.; Antonucci, G.A.; Paiva, H.H.; Cintra, A.C.O.; Franco, J.J.; Mendonça-Franqueiro, E.P.; Dorta, D.J.; Giglio, J.R.; Rosa, J.C.; Fuly, A.L.; et al. Evidence of Caspase-Mediated Apoptosis Induced by L-Amino Acid Oxidase Isolated from *Bothrops atrox* Snake Venom. *Comparative biochemistry and physiology. Part A, Molecular & integrative physiology* **2008**, *151*, 542–550, doi: 10.1016/j.cbpa.2008.07.007.

179. Zhang, H.; Yang, Q.; Sun, M.; Teng, M.; Niu, L. Hydrogen Peroxide Produced by Two Amino Acid Oxidases Mediates Antibacterial Actions. *J Microbiol* **2004**, *42*, 336–339.
180. Wei, X.-L.; Wei, J.-F.; Li, T.; Qiao, L.-Y.; Liu, Y.-L.; Huang, T.; He, S.-H. Purification, Characterization and Potent Lung Lesion Activity of an L-Amino Acid Oxidase from *Agkistrodon blomhoffii ussurensis* Snake Venom. *Toxicon* **2007**, *50*, 1126–1139, doi: 10.1016/j.toxicon.2007.07.022.
181. Izidoro, L.F.M.; Alves, L.M.; Rodrigues, V.M.; Silva, D.A.O.; Mineo, J.R. Bothrops Pirajai Snake Venom L-Amino Acid Oxidase: In Vitro Effects on Infection of *Toxoplasma gondii* in Human Foreskin Fibroblasts. *Revista Brasileira de Farmacognosia* **2011**, *21*, 477–485, doi:10.1590/S0102-695X2011005000108.
182. Du, X.-Y.; Clemetson, K.J. Snake Venom L-Amino Acid Oxidases. *Toxicon* **2002**, *40*, 659–665, doi:10.1016/s0041-0101(02)00102-2.
183. Belisario, M.A.; Tafuri, S.; Di Domenico, C.; Squillacioti, C.; Della Morte, R.; Lucisano, A.; Staiano, N. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Activity on Platelet Adhesion to Fibrinogen and Protein Tyrosine Phosphorylation. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res* **2000**, *1495*, 183–193, doi:10.1016/S0167-4889(99)00160-3.
184. Pignatelli, P.; Pulcinelli, F.M.; Lenti, L.; Gazzaniga, P.P.; Violi, F. Hydrogen Peroxide Is Involved in Collagen-Induced Platelet Activation. *Blood* **1998**, *91*, 484–490.
185. Bregge-Silva, C.; Nonato, M.C.; de Albuquerque, S.; Ho, P.L.; Junqueira de Azevedo, I.L.M.; Vasconcelos Diniz, M.R.; Lomonte, B.; Rucavado, A.; Díaz, C.; Gutiérrez, J.M.; et al. Isolation and Biochemical, Functional and Structural Characterization of a Novel L-Amino Acid Oxidase from *Lachesis muta* Snake Venom. *Toxicon* **2012**, *60*, 1263–1276, doi: 10.1016/j.toxicon.2012.08.008.
186. Izidoro, L.F.M.; Sobrinho, J.C.; Mendes, M.M.; Costa, T.R.; Grabner, A.N.; Rodrigues, V.M.; da Silva, S.L.; Zanchi, F.B.; Zuliani, J.P.; Fernandes, C.F.C.; et al. Snake Venom L-Amino Acid Oxidases: Trends in Pharmacology and Biochemistry. *Biomed Res Int* **2014**, *2014*, 196754, doi:10.1155/2014/196754.
187. Wiesel, G.A.; Rustiguel, J.K.; Morgenstern, D.; Zoccal, K.F.; Faccioli, L.H.; Nonato, M.C.; Ueberheide, B.; Arantes, E.C. Insights into the Structure, Function and Stability of Bordonein-L, the First L-Amino Acid Oxidase from *Crotalus durissus terrificus* Snake Venom. *Biochimie* **2019**, *163*, 33–49, doi: 10.1016/j.biochi.2019.05.009.
188. Rey-Suárez, P.; Acosta, C.; Torres, U.; Saldarriaga-Córdoba, M.; Lomonte, B.; Núñez, V. MipLAAO, a New L-Amino Acid Oxidase from the Redtail Coral Snake *Micrurus mipartitus*. *PeerJ* **2018**, *2018*, e4924, doi:10.7717/peerj.4924.
189. Zhang, L.; Wei, L.-J. ACTX-8, a Cytotoxic L-Amino Acid Oxidase Isolated from *Agkistrodon acutus* Snake Venom, Induces Apoptosis in Hela Cervical Cancer Cells. *Life Sci* **2007**, *80*, 1189–1197, doi: 10.1016/j.lfs.2006.12.024.
190. Tan, K.K.; Bay, B.H.; Gopalakrishnakone, P. L-Amino Acid Oxidase from Snake Venom and Its Anticancer Potential. *Toxicon* **2018**, *144*, 7–13.
191. Bhattacharjee, P.; Mitra, J.; Bhattacharyya, D. L-Amino Acid Oxidase from Venoms BT - Toxins and Drug Discovery. In; Cruz, L.J., Luo, S., Gopalakrishnakone, P., Eds.; Springer Netherlands: Dordrecht, **2017**; pp. 295–320 ISBN 978-94-007-6452-1.

192. Huang, T.F.; Holt, J.C.; Lukasiewicz, H.; Niewiarowski, S. Trigramin. A Low Molecular Weight Peptide Inhibiting Fibrinogen Interaction with Platelet Receptors Expressed on Glycoprotein IIb-IIIa Complex. *J Biol Chem* **1987**, *262*, 16157–16163.
193. Calvete, J.J. The Continuing Saga of Snake Venom Disintegrins. *Toxicon* **2013**, *62*, 40–49, doi: 10.1016/j.toxicon.2012.09.005.
194. Calvete, J.J.; Moreno-Murciano, M.P.; Theakston, R.D.G.; Kisiel, D.G.; Marcinkiewicz, C. Snake Venom Disintegrins: Novel Dimeric Disintegrins and Structural Diversification by Disulphide Bond Engineering. *Biochemical Journal* **2003**, *372*, 725–734, doi:10.1042/BJ20021739.
195. Bilgrami, S.; Tomar, S.; Yadav, S.; Kaur, P.; Kumar, J.; Jabeen, T.; Sharma, S.; Singh, T.P. Crystal Structure of Schistatin, a Disintegrin Homodimer from Saw-Scaled Viper (*Echis carinatus*) at 2.5 Å Resolution. *J Mol Biol* **2004**, *341*, 829–837, doi: 10.1016/j.jmb.2004.06.048.
196. Carbajo, R.J.; Sanz, L.; Perez, A.; Calvete, J.J. NMR Structure of Bitistatin – a Missing Piece in the Evolutionary Pathway of Snake Venom Disintegrins. *FEBS J* **2015**, *282*, 341–360, doi:10.1111/FEBS.13138.
197. Arruda Macedo, J.; Fox, J.; Souza Castro, M. Disintegrins from Snake Venoms and Their Applications in Cancer Research and Therapy. *Curr Protein Pept Sci* **2015**, *16*, 532–548, doi:10.2174/1389203716666150515125002.
198. Calvete, J.; Juárez, P.; Sanz, L. Snake Venomics. Strategy and Applications. *Journal of Mass Spectrometry* **2007**, *42*, 1405–1414, doi:10.1002/jms.1242.
199. Jang, Y.J.; Jeon, O.H.; Kim, D.S. Saxatilin, a Snake Venom Disintegrin, Regulates Platelet Activation Associated with Human Vascular Endothelial Cell Migration and Invasion. *J Vasc Res* **2007**, *44*, 129–137, doi:10.1159/000098519.
200. Kuo, Y.J.; Chung, C.H.; Huang, T.F. From Discovery of Snake Venom Disintegrins to A Safer Therapeutic Antithrombotic Agent. *Toxins (Basel)* **2019**, *11*, doi:10.3390/TOXINS11070372.
201. Lazarovici, P.; Marcinkiewicz, C.; Lelkes, P.I. From Snake Venom's Disintegrins and C-Type Lectins to Anti-Platelet Drugs. *Toxins 2019, Vol. 11, Page 303* **2019**, *11*, 303, doi:10.3390/TOXINS11050303.
202. Sánchez, E.E.; Galán, J.A.; Russell, W.K.; Soto, J.G.; Russell, D.H.; Pérez, J.C. Isolation and Characterization of Two Disintegrins Inhibiting ADP-Induced Human Platelet Aggregation from the Venom of *Crotalus scutulatus scutulatus* (Mohave Rattlesnake). *Toxicol Appl Pharmacol* **2006**, *212*, 59–68, doi: 10.1016/j.taap.2005.07.004.
203. Sánchez, E.E.; Rodríguez-Acosta, A.; Palomar, R.; Lucena, S.E.; Bashir, S.; Soto, J.G.; Pérez, J.C. Colombistatin: A Disintegrin Isolated from the Venom of the South American Snake (*Bothrops colombiensis*) That Effectively Inhibits Platelet Aggregation and SK-Mel-28 Cell Adhesion. *Arch Toxicol* **2009**, *83*, 271–279, doi:10.1007/s00204-008-0358-y.
204. Gan, Z.R.; Gould, R.J.; Jacobs, J.W.; Friedman, P.A.; Polokoff, M.A. Echistatin. A Potent Platelet Aggregation Inhibitor from the Venom of the Viper, *Echis carinatus*. *Journal of Biological Chemistry* **1988**, *263*, 19827–19832, doi:10.1016/s0021-9258(19)77710-2.
205. Scarborough, R.M.; Rose, J.W.; Hsu, M.A.; Phillips, D.R.; Fried, V.A.; Campbell, A.M.; Nannizzi, L.; Charo, I.F. Barbourin: A GPIIb-IIIa-Speci-

- fic Integrin Antagonist from the Venom of *Sistrurus m. barbouri*. *Journal of Biological Chemistry* **1991**, 266, 9359–9362, doi:10.1016/s0021-9258(18)92826-7.
206. Selistre-de-Araujo, H.S.; Pontes, C.L.S.; Montenegro, C.F.; Martin, A.C.B.M. Snake Venom Disintegrins and Cell Migration. *Toxins* **2010**, 2, 2606–2621, doi:10.3390/toxins2112606.
207. Swenson, S.; Ramu, S.; Markland, F. Anti-Angiogenesis and RGD-Containing Snake Venom Disintegrins. *Curr Pharm Des* **2007**, 13, 2860–2871, doi:10.2174/138161207782023793.
208. Uzair, B.; Atlas, N.; Malik, S.B.; Jamil, N.; Ojuolape, S.T.; Rehman, M.U.; Khan, B.A. Snake Venom as an Effective Tool Against Colorectal Cancer. *Protein Pept Lett* **2018**, 25, 626–632, doi:10.2174/0929866525666180614112935.
209. Kini, R.M.; Doley, R. Structure, Function and Evolution of Three-Finger Toxins: Mini Proteins with Multiple Targets. *Toxicon* **2010**, 56, 855–867, doi: 10.1016/j.toxicon.2010.07.010.
210. Rey-Suárez, P.; Floriano, R.S.; Rostelato-Ferreira, S.; Saldarriaga-Córdoba, M.; Núñez, V.; Rodrigues-Simioni, L.; Lomonte, B. Mipartoxin-I, a Novel Three-Finger Toxin, Is the Major Neurotoxic Component in the Venom of the Redtail Coral Snake *Micrurus mipartitus* (Elapidae). *Toxicon* **2012**, 60, 851–863.
211. 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, 7–18, doi:10.1111/jnc.13975.
212. Aird, S.D.; da Silva, N.J. Chemistry of Coralsnake Venoms. In *Advances in Coralsnake Biology: With an Emphasis on South America*; Eagle Mountain Publishing, L.C., **2021**; pp. 399–484 ISBN 9780972015462.
213. Nastopoulos, V. Structure of Dimeric and Monomeric Erabutoxin a Refined at 1.5 Å Resolution. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* **1998**, 54, 964–974, doi:10.1107/S09074444998005125.
214. Scarselli, M.; Spiga, O.; Ciutti, A.; Bernini, A.; Bracci, L.; Lelli, B.; Lozzi, L.; Calamandrei, D.; Maro, D. Di; Klein, S.; et al. NMR Structure of R-Bungarotoxin Free and Bound to a Mimotope of the Nicotinic Receptor. *Methods* **2002**, 1457–1463.
215. Chung, C.; Wu, B.N.; Yang, C.C.; Chang, L.S. Muscarinic Toxin-Like Proteins from Taiwan Banded Krait (*Bungarus multicinctus*) Venom: Purification, Characterization and Gene Organization. *Journal of Biological Chemistry* **2002**, 383, 1397–1406, doi:10.1023/A:1019760401692.
216. Lukyanova, E.N.; Shenkarev, Z.O.; Shulepko, M.A.; Paramonov, A.S.; Chugunov, A.O.; Janickova, H.; Dolejsi, E.; Dolezal, V.; Utkin, Y.N.; Tsetlin, V.I.; et al. Structural Insight into Specificity of Interactions between Nonconventional Three-Finger Weak Toxin from *Naja kaouthia* (WTX) and Muscarinic Acetylcholine Receptors. *Journal of Biological Chemistry* **2015**, 290, 23616–23630, doi:10.1074/jbc.M115.656595.
217. Nickitenko, A. V.; Michailov, A.M.; Betzel, C.; Wilson, K.S. Three-Dimensional Structure of Neurotoxin-1 from *Naja naja oxiana* Venom at 1.9 Å Resolution. *FEBS Lett* **1993**, 320, 111–117, doi:10.1016/0014-5793(93)80073-4.
218. Pawlak, J.; Mackessy, S.P.; Fry, B.G.; Bhatia, M.; Mourier, G.; Fruchart-Gaillard, C.; Servent, D.; Ménez, R.; Stura, E.; Ménez, A.; et al.

- Denmotoxin, a Three-Finger Toxin from the Colubrid Snake *Boiga dendrophila* (Mangrove Catsnake) with Bird-Specific Activity. *Journal of Biological Chemistry* **2006**, *281*, 29030–29041, doi:10.1074/jbc.M605850200.
219. Roy, A.; Zhou, X.; Chong, M.Z.; D'Hoedt, D.; Foo, C.S.; Rajagopalan, N.; Nirthanan, S.; Bertrand, D.; Sivaraman, J.; Manjunatha Kini, R. Structural and Functional Characterization of a Novel Homodimeric Three-Finger Neurotoxin from the Venom of *Ophiophagus hannah* (King Cobra). *Journal of Biological Chemistry* **2010**, *285*, 8302–8315, doi:10.1074/jbc.M109.074161.
220. Pawlak, J.; Mackessy, S.P.; Sixberry, N.M.; Stura, E.A.; Le Du, M.H.; Ménez, R.; Foo, C.S.; Ménez, A.; Nirthanan, S.; Kini, R.M. Irditoxin, a Novel Covalently Linked Heterodimeric Three-Finger Toxin with High Taxon-Specific Neurotoxicity. *The FASEB Journal* **2009**, *23*, 534–545, doi: <https://doi.org/10.1096/fj.08-113555>.
221. Aoki-Shioi, N.; Jobichen, C.; Sivaraman, J.; Kini, R.M. Unusual Quaternary Structure of a Homodimeric Synergistic-Type Toxin from Mamba Snake Venom Defines Its Molecular Evolution. *Biochemical Journal* **2020**, *477*, 3951–3962, doi:10.1042/BCJ20200529.
222. Anadón, A.; Martínez-Larrañaga, M.R.; Valerio, L.G. Onchidal and Fasciculins. In *Handbook of Toxicology of Chemical Warfare Agents: Second Edition*; Elsevier Inc., **2015**; pp. 411–420 ISBN 9780128001592.
223. Utkin, Y. Last Decade Update for Three-Finger Toxins: Newly Emerging Structures and Biological Activities. *World J Biol Chem* **2019**, *10*, 17–27.
224. Kleiz-Ferreira, J.M.; Cirauqui, N.; Trajano, E.A.; Almeida, M. da S.; Zingali, R.B. Three-Finger Toxins from Brazilian Coral Snakes: From Molecular Framework to Insights in Biological Function. *Toxins (Basel)* **2021**, *13*, 1–19, doi:10.3390/toxins13050328.
225. Castillo-Beltrán, M.C.; Hurtado-Gómez, J.P.; Corredor-Espinel, V.; Ruiz-Gómez, F.J. A Polyvalent Coral Snake Antivenom with Broad Neutralization Capacity. *PLoS Negl Trop Dis* **2018**, *13*, 1–14, doi: 10.1371/journal.pntd.0007250.
226. Rey-Suárez, P.; Saldarriaga, M.; Torres, U.; Marin-villa, M.; Lomonte, B.; Núñez, V. Novel three-finger toxins from *Micrurus dumerilii* and *Micrurus mipartitus* coral snake venoms: Phylogenetic relationships and characterization of Clarkitoxin-I-Mdum. *Toxicon* **2019**, *170*, 85–93.
227. Lomonte, B.; Sasa, M.; Rey-Suárez, P.; Bryan, W.; Gutiérrez, J.M. Venom of the Coral Snake *Micrurus clarki*: Proteomic Profile, Toxicity, Immunological Cross-Neutralization, and Characterization of a Three-Finger Toxin. *Toxins (Basel)* **2016**, *8*, doi:10.3390/toxins8050138.
228. Bertoni, M.; Kiefer, F.; Biasini, M.; Bordoli, L.; Schwede, T. Modeling Protein Quaternary Structure of Homo- and Hetero-Oligomers beyond Binary Interactions by Homology. *Sci Rep* **2017**, *7*, 10480, doi:10.1038/s41598-017-09654-8.
229. Utkin, Y.N. Three-Finger Toxins, a Deadly Weapon of Elapid Venom - Milestones of Discovery. *Toxicon* **2013**, *62*, 50–55, doi: 10.1016/j.toxicon.2012.09.007.
230. Kini, R.M.; Koh, C.Y. Snake Venom Three-Finger Toxins and Their Potential in Drug Development Targeting Cardiovascular Diseases. *Biochem Pharmacol* **2020**, *181*, 114105, doi: 10.1016/j.bcp.2020.114105.

231. Zaqueo, K.D.; Kayano, A.M.; Domingos, T.F.S.; Moura, L.A.; Fuly, A.L.; da Silva, S.L.; Acosta, G.; Oliveira, E.; Albericio, F.; Zanchi, F.B.; et al. BbrzSP-32, the First Serine Protease Isolated from *Bothrops brazili* Venom: Purification and Characterization. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* **2016**, *195*, 15–25, doi: 10.1016/j.cbpa.2016.01.021.
232. Roldán-Padrón, O.; Castro-Guillén, J.; García-Arredondo, J.; Cruz-Pérez, M.; Díaz-Peña, L.; Saldaña, C.; Blanco-Labra, A.; García-Gasca, T. Snake Venom Hemotoxic Enzymes : Biochemical Comparison between *Crotalus* Species from Central Mexico. *Molecules* **2019**, *24*, 1–16.
233. Latinović, Z.; Leonardi, A.; Koh, C.Y.; Kini, R.M.; Bakija, A.T.; Pungercar, J.; Križaj, I. The Procoagulant Snake Venom Serine Protease Potentially Having a Dual, Blood Coagulation Factor v and X-Activating Activity. *Toxins* **2020**, *12*, 1–15, doi:10.3390/toxins12060358.
234. Stefanelli, V.L.; Barker, T.H. The Evolution of Fibrin-Specific Targeting Strategies. *J Mater Chem B* **2015**, *3*, 1177–1186, doi:10.1039/c4tb01769b.
235. Mackessy, S. Venom Composition in Rattlesnakes: Trends and Biological Significance. In *The Biology of Rattlesnakes*; Hayes, W.K., Beaman, K.R., Cardwell, M.D., Bush, S.P., Eds.; Loma Linda University Press: Loma Linda, CA, **2008**; pp. 495–510.
236. Angulo, Y.; Lomonte, B. Biochemistry and Toxicology of Toxins Purified from the Venom of the Snake *Bothrops asper*. *Toxicon* **2009**, *54*, 949–957.
237. Gutiérrez, J.M.; Calvete, J.; Habib, A.; Harrison, R.; Williams, D.; Warrell, D. Snakebite Envenoming. *Nat Rev Dis Primers* **2017**, *3*, 1–20.
238. Serrano, S.M.T.; Maroun, R.C. Snake Venom Serine Proteinases: Sequence Homology vs. Substrate Specificity, a Paradox to Be Solved. *Toxicon* **2005**, *45*, 1115–1132, doi: 10.1016/j.toxicon.2005.02.020.
239. Serrano, S.M.T. The Long Road of Research on Snake Venom Serine Proteinases. *Toxicon* **2013**, *62*, 19–26, doi: 10.1016/j.toxicon.2012.09.003.
240. Yonamine, C.M.; Kondo, M.Y.; Nering, M.B.; Gouvêa, I.E.; Okamoto, D.; Andrade, D.; Alberto da Silva, J.A.; Prieto da Silva, Á.R.; Yamane, T.; Juliano, M.A.; et al. Enzyme Specificity and Effects of Gyroxin, a Serine Protease from the Venom of the South American Rattlesnake *Crotalus durissus terrificus*, on Protease-Activated Receptors. *Toxicon* **2014**, *79*, 64–71.
241. Carvalho, D.D.; Marangoni, S.; Oliveira, B.; Novello, J.C. Isolation and Characterization of a New Lectin From the Venom of the Snake *Bothrops jararacussu*. *Biochem Mol Biol Int* **1998**, *44*, 933–938.
242. Clemetson, K.; Morita, T.; Manjunatha Kini, R. Classification and Nomenclature of Snake Venom C-Type Lectins and Related Proteins. *Toxicon* **2009**, *54*, 83.
243. Sartim, M.A.; Sampaio, S. V Snake Venom Galactoside-Binding Lectins: A Structural and Functional Overview. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases* **2015**, *21*, 1–11, doi:10.1186/s40409-015-0038-3.
244. Arlinghaus, F.T.; Eble, J.A. C-Type Lectin-like Proteins from Snake Venoms. *Toxicon* **2012**, *60*, 512–519.
245. Vonk, F.J.; Jackson, K.; Doley, R.; Madaras, F.; Mirtschin, P.J.; Vidal, N. Snake Venom: From Fieldwork to the Clinic: Recent Insights into Snake Biology, Together with New Technology Allowing High-Throu-

- ghput Screening of Venom, Bring New Hope for Drug Discovery. *BioEssays* **2011**, 33, 269–279.
246. Chakrabarty, D.; Sarkar, A. Cytotoxic Effects of Snake Venoms. **2017**, 111, 1–7.
247. Thakur, R.; Mukherjee, A.K. Pathophysiological Significance and Therapeutic Applications of Snake Venom Protease Inhibitors. *Toxicon* **2017**, 131, 37–47.
248. Girish, K.S.; Jagadeesha, D.K.; Rajeev, K.B.; Kemparaju, K. Snake Venom Hyaluronidase: An Evidence for Isoforms and Extracellular Matrix Degradation. *Mol Cell Biochem* **2002**, 240, 105–110, doi:10.1023/A:1020651607164.
249. Girish, K.S.; Shashidharamurthy, R.; Nagaraju, S.; Gowda, T. V.; Kemparaju, K. Isolation and Characterization of Hyaluronidase a “Spreading Factor” from Indian Cobra (*Naja naja*) Venom. *Biochimie* **2004**, 86, 193–202, doi: 10.1016/j.biochi.2004.02.004.
250. Jiang, D.; Liang, J.; Noble, P.W. Hyaluronan as an Immune Regulator in Human Diseases. *Physiol Rev* **2011**, 91, 221–264, doi:10.1152/physrev.00052.2009.
251. Noble, P.W. Hyaluronan and Its Catabolic Products in Tissue Injury and Repair. *Matrix Biology* **2002**, 21, 25–29, doi:10.1016/S0945-053X(01)00184-6.
252. Ohno, S.; Im, H.J.; Knudson, C.B.; Knudson, W. Hyaluronan Oligosaccharides Induce Matrix Metalloproteinase 13 via Transcriptional Activation of NFκB and P38 MAP Kinase in Articular Chondrocytes. *Journal of Biological Chemistry* **2006**, 281, 17952–17960, doi:10.1074/jbc.M602750200.
253. Frobert, Y.; Créminon, C.; Cousin, X.; Rémy, M.H.; Chatel, J.M.; Bon, S.; Bon, C.; Grassi, J. Acetylcholinesterases from *Elapidae* Snake Venoms: Biochemical, Immunological and Enzymatic Characterization. *Biochimica et Biophysica Acta - Protein Structure and Molecular Enzymology* **1997**, 1339, 253–267, doi:10.1016/S0167-4838(97)00009-5.
254. Karlsson, E.; Mbugua, P.M.; Rodriguez-Ithurralde, D. Fasciculins, Anticholinesterase Toxins from the Venom of the Green Mamba *Dendroaspis Angusticeps*. *J Physiol (Paris)* **1984**, 79, 232–240.
255. Bin Asad, M.H.H.; Iqbal, M.; Akram, M.R.; Khawaja, N.R.; Muneer, S.; Shabbir, M.Z.; Khan, M.S.; Murtaza, G.; Hussain, I. 5'-Nucleotidases of *Naja naja* Karachiensis Snake Venom: Their Determination, Toxicities and Remedial Approach by Natural Inhibitors (Medicinal Plants). *Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research* **2016**, 73, 667–673.
256. Ouyang, C.; Huang, T.F. Inhibition of Platelet Aggregation by 5'-Nucleotidase Purified from *Trimeresurus gramineus* Snake Venom. *Toxicon* **1983**, 21, 491–501, doi:10.1016/0041-0101(83)90127-7.
257. Ouyang, C.; Huang, T.F. Platelet Aggregation Inhibitors from *Agkistrodon acutus* Snake Venom. *Toxicon* **1986**, 24, 1099–1106, doi:10.1016/0041-0101(86)90136-4.
258. Trummal, K.; Samel, M.; Aaspõllu, A.; Tõnismägi, K.; Titma, T.; Subbi, J.; Siigur, J.; Siigur, E. 5'-Nucleotidase from *Vipera lebetina* Venom. *Toxicon* **2015**, 93, 155–163, doi: 10.1016/j.toxicon.2014.11.234.
259. Aird, S.D. Ophidian Envenomation Strategies and the Role of Purines. *Toxicon* **2002**, 40, 335–393, doi:10.1016/S0041-0101(01)00232-X.

260. Aloulou, A.; Rahier, R.; Arhab, Y.; Noiriél, A.; Abousalham, A. Phospholipases: An Overview. In *Methods in Molecular Biology*; Methods Mol Biol, **2018**; Vol. 1835, pp. 69–105.
261. Jiménez-Charris, E.; Montealegre-Sanchez, L.; Solano-Redondo, L.; Mora-Obando, D.; Camacho, E.; Castro-Herrera, F.; Fierro-Pérez, L.; Lomonte, B. Proteomic and Functional Analyses of the Venom of *Porthidium lansbergii lansbergii* (Lansberg's Hognose Viper) from the Atlantic Department of Colombia. *J Proteomics* **2015**, *114*, 287–299, doi: 10.1016/j.jprot.2014.11.016.
262. Mora-Obando, D.; Salazar-Valenzuela, D.; Pla, D.; Lomonte, B.; Guerrero-Vargas, J.A.; Ayerbe, S.; Gibbs, H.L.; Calvete, J.J. Venom Variation in *Bothrops asper* Lineages from North-Western South America. *J Proteomics* **2020**, *229*, doi: 10.1016/j.jprot.2020.103945.
263. Pereañez, J.A.; Preciado, L.M.; Fernández, J.; Camacho, E.; Lomonte, B.; Castro, F.; Cañas, C.A.; Galvis, C.; Castaño, S. Snake Venomics, Experimental Toxic Activities and Clinical Characteristics of Human Envenomation by *Bothrocophias myersi* (Serpentes: Viperidae) from Colombia. *J Proteomics* **2020**, *220*, doi: 10.1016/j.jprot.2020.103758.
264. Rey-Suárez, P.; Núñez, V.; Fernández, J.; Lomonte, B. Integrative Characterization of the Venom of the Coral Snake *Micrurus dumerilii* (Elapidae) from Colombia: Proteome, Toxicity, and Cross-Neutralization by Antivenom. *J Proteomics* **2016**, *136*, 262–273, doi: 10.1016/j.jprot.2016.02.006.
265. Bernheimer, A.W.; Linder, R.; Weinstein, S.A.; Kim, K.S. Isolation and Characterization of a Phospholipase B from Venom of Collett's Snake, *Pseudechis colletti*. *Toxicon* **1987**, *25*, 547–554, doi:10.1016/0041-0101(87)90290-x.
266. Yamazaki, Y.; Koike, H.; Sugiyama, Y.; Motoyoshi, K.; Wada, T.; Hishinuma, S.; Mita, M.; Morita, T. Cloning and Characterization of Novel Snake Venom Proteins That Block Smooth Muscle Contraction. *Eur J Biochem* **2002**, *269*, 2708–2715, doi:10.1046/j.1432-1033.2002.02940.x.
267. Brown, R.L.; Lynch, L.L.; Haley, T.L.; Arsanjani, R. PseudechetoXin Binds to the Pore Turret of Cyclic Nucleotide-Gated Ion Channels. *Journal of General Physiology* **2003**, *122*, 749–760, doi:10.1085/jgp.200308823.
268. Lodovicho, M.E.; Costa, T.R.; Bernardes, C.P.; Menaldo, D.L.; Zoccal, K.F.; Carone, S.E.; Rosa, J.C.; Pucca, M.B.; Cerni, F.A.; Arantes, E.C.; et al. Investigating Possible Biological Targets of Bj-CRP, the First Cysteine-Rich Secretory Protein (CRISP) Isolated from *Bothrops jararaca* Snake Venom. *Toxicol Lett* **2017**, *265*, 156–169, doi: 10.1016/j.toxlet.2016.12.003.
269. Kostiza, T.; Meier, J. Nerve Growth Factors from Snake Venoms: Chemical Properties, Mode of Action and Biological Significance. *Toxicon* **1996**, *34*, 787–806, doi:10.1016/0041-0101(96)00023-2.
270. Yamazaki, Y.; Matsunaga, Y.; Tokunaga, Y.; Obayashi, S.; Saito, M.; Morita, T. Snake Venom Vascular Endothelial Growth Factors (VEGF-Fs) Exclusively Vary Their Structures and Functions among Species. *Journal of Biological Chemistry* **2009**, *284*, 9885–9891, doi:10.1074/jbc.M809071200.
271. Osipov, A. V.; Terpinskaya, T.I.; Kryukova, E. V.; Ulaschik, V.S.; Paulovets, L. V.; Petrova, E.A.; Blagun, E. V.; Starkov, V.G.; Utkin, Y.N. Nerve Grow-

- th Factor from Cobra Venom Inhibits the Growth of Ehrlich Tumor in Mice. *Toxins (Basel)* **2014**, *6*, 784–795, doi:10.3390/toxins6030784.
272. Koh, D.C.I.; Armugam, A.; Jeyaseelan, K. Sputa Nerve Growth Factor Forms a Preferable Substitute to Mouse 7S- $\beta$  Nerve Growth Factor. *Biochemical Journal* **2004**, *383*, 149–158, doi:10.1042/BJ20040569.
273. Takahashi, H.; Hattori, S.; Iwamatsu, A.; Takizawa, H.; Shibuya, M. A Novel Snake Venom Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) Predominantly Induces Vascular Permeability through Preferential Signaling via VEGF Receptor-1. *Journal of Biological Chemistry* **2004**, *279*, 46304–46314, doi:10.1074/jbc.M403687200.
274. Flight, S.M.; Johnson, L.A.; Du, Q.S.; Warner, R.L.; Trabi, M.; Gaffney, P.J.; Lavin, M.F.; De Jersey, J.; Masci, P.P. Textilinin-1, an Alternative Anti-Bleeding Agent to Aprotinin: Importance of Plasmin Inhibition in Controlling Blood Loss. *Br J Haematol* **2009**, *145*, 207–211, doi:10.1111/j.1365-2141.2009.07605.x.
275. Masci, P.P.; Whitaker, A.N.; Sparrow, L.G.; De Jersey, J.; Winzor, D.J.; Watters, D.J.; Lavin, M.F.; Gaffney, P.J. Textilinins from *Pseudonaja textilis textilis*. Characterization of Two Plasmin Inhibitors That Reduce Bleeding in an Animal Model. *Blood Coagulation and Fibrinolysis* **2000**, *11*, 385–393, doi:10.1097/00001721-200006000-00011.
276. Morjen, M.; Kallech-ziri, O.; Bazaa, A.; Othman, H.; Mabrouk, K.; Zouari-kessentini, R.; Sanz, L.; Calvete, J.J.; Srairi-Abid, N.; El Ayeub, M.; et al. PIVL, a New Serine Protease Inhibitor from *Macrovipera lebetina* Transmediterranea Venom, Impairs Motility of Human Glioblastoma Cells. *Matrix Biology* **2013**, *32*, 52–62, doi: 10.1016/j.matbio.2012.11.015.
277. Fernández, J.; Gutiérrez, J.M.; Calvete, J.J.; Sanz, L.; Lomonte, B. Characterization of a Novel Snake Venom Component: Kazal-Type Inhibitor-like Protein from the Arboreal *Pitviper Bothriechis schlegelii*. *Biochimie* **2016**, *125*, 83–90, doi: 10.1016/j.biochi.2016.03.004.
278. Wagstaff, S.C.; Favreau, P.; Cheneval, O.; Laing, G.D.; Wilkinson, M.C.; Miller, R.L.; Stöcklin, R.; Harrison, R.A. Molecular Characterisation of Endogenous Snake Venom Metalloproteinase Inhibitors. *Biochem Biophys Res Commun* **2008**, *365*, 650–656, doi: 10.1016/j.bbrc.2007.11.027.
279. Ullah, A.; Ullah, K.; Ali, H.; Betzel, C.; Rehman, S.U. The Sequence and a Three-Dimensional Structural Analysis Reveal Substrate Specificity among Snake Venom Phosphodiesterases. *Toxins (Basel)* **2019**, *11*, doi:10.3390/toxins11110625.
280. Uzair, B.; Khan, B.A.; Sharif, N.; Shabbir, F.; Mena, F. Phosphodiesterases (PDEs) from Snake Venoms: Therapeutic Applications. *Protein Pept Lett* **2018**, *25*, 612–618, doi:10.2174/0929866525666180628160616.
281. Gao, J.F.; Qu, Y.F.; Zhang, X.Q.; He, Y.; Ji, X. Neonate-to-Adult Transition of Snake Venomics in the Short-Tailed Pit Viper, *Gloydius brevicaudus*. *J Proteomics* **2013**, *84*, 148–157, doi: 10.1016/j.jprot.2013.04.003.
282. Yuh, F.P.; Wong, P.T.H.; Kumar, P.P.; Hodgson, W.C.; Kini, R.M. Ohanin, a Novel Protein from King Cobra Venom, Induces Hypolocomotion and Hyperalgesia in Mice. *Journal of Biological Chemistry* **2005**, *280*, 13137–13147, doi:10.1074/jbc.M414137200.
283. Vejayan, J.; Khoon, T.L.; Ibrahim, H. Comparative Analysis of the Venom Proteome of Four Important Malaysian Snake Species. *Journal*

- of *Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases* **2014**, *20*, doi:10.1186/1678-9199-20-6.
284. Tan, C.H.; Tan, K.Y.; Tan, N.H. A Protein Decomplexation Strategy in Snake Venom Proteomics. *Methods Mol Biol* **2019**, *1871*, 83–92, doi:10.1007/978-1-4939-8814-3\_5.
285. Rey-Suárez, P.; Núñez, V.; Gutiérrez, J.M.; Lomonte, B. Proteomic and Biological Characterization of the Venom of the Redtail Coral Snake, *Micrurus mipartitus* (Elapidae), from Colombia and Costa Rica. *J Proteomics* **2011**, *75*, 655–667, doi: 10.1016/J.JPROT.2011.09.003.
286. Lomonte, B.; Rey-Suárez, P.; Fernández, J.; Sasa, M.; Pla, D.; Vargas, N.; Bénard-Valle, M.; Sanz, L.; Corrêa-Netto, C.; Núñez, V.; et al. Venoms of *Micrurus* Coral Snakes: Evolutionary Trends in Compositional Patterns Emerging from Proteomic Analyses. *Toxicon* **2016**, *122*, 7–25, doi: 10.1016/J.TOXICON.2016.09.008.
287. Fox, J.W.; Serrano, S.M.T. Exploring Snake Venom Proteomes: Multifaceted Analyses for Complex Toxin Mixtures. *Proteomics* **2008**, *8*, 909–920, doi:10.1002/PMIC.200700777.
288. Ghezellou, P.; Garikapati, V.; Kazemi, S.M.; Strupat, K.; Ghassempour, A.; Spengler, B. A Perspective View of Top-down Proteomics in Snake Venom Research. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **2019**, *33*, 20–27, doi:10.1002/rcm.8255.
289. Alape-Girón, A.; Sanz, L.; Escolano, J.; Flores-Díaz, M.; Madrigal, M.; Sasa, M.; Calvete, J.J. Snake Venomics of the Lancehead Pitviper *Bothrops asper*: Geographic, Individual, and Ontogenetic Variations. *J Proteome Res* **2008**, *7*, 3556–3571, doi:10.1021/PR800332P.
290. Núñez, V.; Cid, P.; Sanz, L.; de La Torre, P.; Angulo, Y.; Lomonte, B.; Gutiérrez, J.M.; Calvete, J.J. Snake Venomics and Antivenomics of *Bothrops atrox* Venoms from Colombia and the Amazon Regions of Brazil, Perú and Ecuador Suggest the Occurrence of Geographic Variation of Venom Phenotype by a Trend towards Paedomorphism. *J Proteomics* **2009**, *73*, 57–78, doi: 10.1016/j.jprot.2009.07.013.
291. Jiménez-Charris, E.; Montealegre-Sanchez, L.; Solano-Redondo, L.; Mora-Obando, D.; Camacho, E.; Castro-Herrera, F.; Fierro-Pérez, L.; Lomonte, B. Proteomic and Functional Analyses of the Venom of *Porthidium lansbergii lansbergii* (Lansberg's Hognose Viper) from the Atlantic Department of Colombia. *J Proteomics* **2015**, *114*, 287–299, doi: 10.1016/j.jprot.2014.11.016.
292. Salazar-Valenzuela, D.; Mora-Obando, D.; Fernández, M.L.; Loaiza-Lange, A.; Gibbs, H.L.; Lomonte, B. Proteomic and Toxicological Profiling of the Venom of *Bothrocophias campbelli*, a Pitviper Species from Ecuador and Colombia. *Toxicon* **2014**, *90*, 15–25, doi:10.1016/j.toxicon.2014.07.012.
293. Quintana-Castillo, J.C.; Johana vargas, L.; Segura, C.; Estrada-Gómez, S.; Bueno-Sánchez, J.C.; Alarcón, J.C. Characterization of the Venom of C. d. Cumanesis of Colombia: Proteomic Analysis and Antivenomic Study. *Toxins (Basel)* **2018**, *10*, doi:10.3390/toxins10020085.
294. Madrigal, M.; Sanz, L.; Flores-Díaz, M.; Sasa, M.; Núñez, V.; Alape-Girón, A.; Calvete, J.J. Snake Venomics across Genus *Lachesis*. Ontogenetic Changes in the Venom Composition of *Lachesis stenophrys* and Comparative Proteomics of the Venoms of Adult *Lachesis mela-*

- nocephala* and *Lachesis acrochorda*. *J Proteomics* **2012**, *77*, 280–297, doi: 10.1016/j.jprot.2012.09.003.
295. Céspedes, N.; Castro, F.; Jiménez, E.; Montealegre, L.; Castellanos, A.; Cañas, C.; Arévalo-Herrera, M.; Herrera, S. Biochemical Comparison of Venoms from Young Colombian *Crotalus durissus cumanensis* and Their Parents. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases* **2010**, *16*, 268–284.
296. Culma, M.F.; Pereañez, J.A.; Rangel, V.Ñ.; Lomonte, B. Snake Venomics of *Bothrops punctatus*, a Semiarboreal Pitviper Species from Antioquia, Colombia. *PeerJ* **2014**, *2*, 1–16, doi:10.7717/PEERJ.246.
297. Lomonte, B.; Pla, D.; Sasa, M.; Tsai, W.C.; Solórzano, A.; Ureña-Díaz, J.M.; Fernández-Montes, M.L.; Mora-Obando, D.; Sanz, L.; Gutiérrez, J.M.; et al. Two Color Morphs of the Pelagic Yellow-Bellied Sea Snake, *Pelamis platurus*, from Different Locations of Costa Rica: Snake Venomics, Toxicity, and Neutralization by Antivenom. *J Proteomics* **2014**, *103*, 137–152, doi: 10.1016/j.jprot.2014.03.034.
298. Lazarovici, P.; Marcinkiewicz, C.; Lelkes, P.I. From Snake Venom's Disintegrins and C-Type Lectins to Anti-Platelet Drugs. *Toxins (Basel)* **2019**, *11*, 1–15, doi:10.3390/toxins11050303.
299. Karapetian, H. Reptilase Time (RT). *Methods Mol Biol* **2013**, *992*, 273–277, doi:10.1007/978-1-62703-339-8\_20.
300. Rodríguez-Vargas, A.; Franco-Vásquez, A.; Bolívar-Barbosa, J.; Vega, N.; Reyes-Montaño, E.; Arreguín-Espinosa, R.; Carbajal-Saucedo, A.; Angarita-Sierra, T.; Ruiz-Gómez, F. Unveiling the Venom composition of the Coral Venom Snakes *Micrurus helleri*, *M. medemi*, and *M. sangilensis*. *Toxins* **2023**, *15*, doi:10.3390/toxins15110622.
301. Garrido Garrido, M.B.; Herráez, A. *Guía de Jmol*. Available online: <https://biomodel.uah.es/Jmol/jmolguia/otrasopciones.html> (accessed on 12/04/2023).
302. González Mañas, J.M. *Curso de Biomoléculas*. Universidad del País Vasco. Available online: <https://www.ehu.eus/biomoleculas/index.htm> (accessed on 12/04/2023).
303. Protein Data Bank (PDB). Available online: <https://www.rcsb.org/> (accessed on 12/04/2023).
304. Blender. Available online: <https://www.blender.org/> (accessed on 12/04/2024).
305. Jmol: An Open-Source Java Viewer for Chemical Structures in 3D. Available online: <http://jmol.sourceforge.net/> (accessed on 12/04/2023).
306. Sketchfab. Website for Visualizing and Sharing 3D Content Online. Available online: <https://sketchfab.com/> (accessed on 12/04/2023).

# Capítulo 6

## Tratamiento contra mordeduras de serpientes en Colombia: antivenenos como respuesta fundamental

**Ariadna Rodríguez-Vargas, Jaime Andrés Pereañez, María Carlina Castillo-Beltrán, Camila Figueredo-Salinas, Adrián Marcelo Franco-Vásquez, Teddy Angarita-Sierra**

**Resumen:** Desde la época del Dr. Albert Calmette (década de 1890), los antivenenos derivados de animales hiperinmunizados, como ovejas o caballos, han sido el principal tratamiento para los envenenamientos por mordeduras de serpientes. Sin embargo, se han logrado avances significativos en las presentaciones farmacéuticas y los formatos moleculares de los antivenenos, lo que ha optimizado su desempeño cinético y farmacodinámico, ha prevenido o revertido los efectos clínicos y ha reducido los efectos adversos posteriores a su uso. Actualmente, la investigación se centra en la neutralización de componentes proteicos específicos mediante antivenenos. Además, se están explorando técnicas complementarias de inmunorreconocimiento para mejorar el desarrollo de antivenenos, haciéndolos más eficientes, efectivos y rentables. En este capítulo, se presenta una breve revisión histórica de la producción de antivenenos en el Instituto Nacional de Salud de Colombia, así como un detallado recuento del marco normativo y legal que regula y aborda la producción de antivenenos en Colombia. Asimismo, se exploran técnicas complementarias de inmunorreconocimiento dirigidas a mejorar el desarrollo de antivenenos para hacerlos más eficientes, efectivos y rentables. Finalmente, se destaca que la alta variabilidad de los venenos de serpiente impulsa la investigación científica orientada a mejorar la comprensión de los accidentes ofídicos y su tratamiento, así como a la implementación de mejores herramientas de manejo.

**Palabras clave:** Tratamiento para mordeduras de serpientes, antivenenos, antisueros, anticuerpos.



Citación: Rodríguez-Vargas A; Pereañez A; Castillo-Beltrán MC; Figueredo-Salinas C; Franco-Vásquez, AM; Angarita-Sierra T. Capítulo 6. Tratamiento contra mordeduras de serpientes en Colombia: antivenenos como respuesta fundamental. En el libro: *Mordeduras, venenos y serpientes venenosas de Colombia*; Angarita-Sierra, T., Ruiz-Gómez, FJ, Eds.; Instituto Nacional de Salud: Bogotá D.C., Colombia, 2024; pp. 295–324. doi: 10.33610/053642ffbzczy



Copyright: © 2024 por los autores. Publicación de acceso abierto bajo los términos y condiciones de licenciamiento Creative Commons Atribución (CC BY-NC-ND 4.0) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Ilustraciones por:  
Oscar A. Ramírez Ruiz

## **1. Tratamiento contra mordeduras de serpientes en Colombia**

### **1.1 ¿Qué es un antiveneno?**

Aunque no hay consenso sobre la definición exacta de un antiveneno, generalmente se entiende como un medicamento o tratamiento que contrarresta los efectos nocivos atribuidos a un veneno o enfermedad [1]. Los humanos han desarrollado antídotos específicos para defenderse contra estas sustancias, incluyendo el grupo de antivenenos también conocidos como sueros, antisueros y antiofídicos. Históricamente, los anticuerpos purificados (terapias basadas en inmunoglobulinas) han jugado un papel fundamental en la desactivación de toxinas de venenos específicos [2–4].

De acuerdo con el marco regulatorio colombiano para la obtención de registro sanitario para antivenenos está descrito en el Decreto 386 de 2018 [10], los antiofídicos se definen como «fracciones purificadas de inmunoglobulinas o fragmentos de inmunoglobulinas del plasma obtenidos de animales inmunizados con un veneno o una mezcla de venenos». Los antivenenos se preparan hiperinmunizando animales, como ovejas o caballos, por medio de la inoculación de pequeñas dosis de veneno que estimulan la producción de anticuerpos que desactivan toxinas. Los anticuerpos se obtienen extrayendo sangre del animal [3–5]. Una vez que los anticuerpos son aislados de una fracción purificada de sueros hiperinmunes de origen equino, se produce el antiofídico el cual es empleado como tratamiento terapéutico contra el envenenamiento causado por mordeduras de serpientes. El tratamiento consiste en administrar vía endovenosa estos anticuerpos los cuales neutralizan las toxinas del veneno. Este es el único modo de salvar la vida de las personas que accidentalmente han sido envenenadas [5,6,7].

Es importante reconocer que, aunque los antiofídicos son medicamentos esenciales para tratar los envenenamientos causados por serpientes, especialmente en países tropicales y subtropicales [8], desafortunadamente su distribución es inadecuada y muy limitada. Solo unos pocos países en latitudes tropicales cumplen con los estándares de calidad adecuados para fabricar estos medicamentos. Además, algunos países carecen de una regulación y control adecuados sobre su producción, lo que dificulta en gran medida la evaluación e intervención en el control de la calidad y efectividad de los antiofídicos [9].

### **1.2 Breve historia de la producción de antivenenos en el Instituto Nacional de Salud de Colombia**

El Instituto Nacional de Salud (INS) es una entidad gubernamental científica y técnica que ha estado produciendo formalmente suero antiofídico polivalente desde la década de 1970 (ver Capítulo 7). Este suero se elabora a partir de plasmas hiperinmunes obtenidos mediante esquemas de inmunización estandarizados, utilizando venenos de especies de serpientes de importancia médica provenientes de las diferentes regiones biogeográficas de Colombia. La producción de antiofídicos cumple con el marco regulatorio vigente y aplicable [11].

Con base en los registros de producción del INS, las primeras extracciones de plasma hiperinmune de origen equino para la producción de antiofídicos datan del siglo XX a comienzos de los años 70's. Durante este periodo, también se realizaron los primeros registros de la producción de plasma hiperinmune antirrábico. Posteriormente, en febrero de 1972, se registró la producción de plasmas hiperinmunes botrópicos y crotálicos, así como los primeros ensayos de producción de antiofídicos en el INS. En ese momento, hubo dificultades debido a la falta de experiencia en el manejo de venenos de serpientes, protocolos de inmunización, técnicas de titulación y procedimientos de producción. El primer lote consistió en aproximadamente 150 viales, pero debido a las dificultades, la producción fue interrumpida (ver Capítulo 7).

Dos años después, los médicos Augusto Corredor, Miguel Guzmán y Ernesto Barbosa del INS asistieron al Congreso de Medicina Tropical en Medellín. El Dr. Roger Bolaños, conocido por su amplia experiencia en la producción de antivenenos y el manejo de mordeduras de serpientes, también asistió al evento. Los médicos del INS contactaron al Dr. Bolaños a través de la Organización Panamericana de la Salud (OPS) para contratarlo como consultor para el laboratorio de sueros del INS. El Dr. Bolaños capacitó al equipo de producción conformado por Juan Manuel Rengifo, Guiomar Caicedo de Pardo y Carlos Cáceres en la elaboración de antivenenos (ver Capítulo 7). Produjeron exitosamente un lote experimental de plasma hiperinmune de caballos inmunizados con el veneno de *Bothrops asper*, el cual fue aprobado por su capacidad neutralizante. Esta victoria temprana permitió el desarrollo de nuevos protocolos de producción y esquemas de inmunización, consolidando así el inicio de la producción formal de antiofídicos en Colombia.

Posteriormente, Juan Manuel Rengifo y Guiomar Caicedo de Pardo recibieron capacitación complementaria en el Instituto Clodomiro Picado, donde adquirieron conocimientos sobre el manejo de serpentarios, esquemas de inmunización y procesos de producción. Como resultado de esta capacitación, el INS pudo fabricar el primer lote oficial de suero antiofídico polivalente (Lote No. 4) en su historia. Esta producción permitió comenzar oficialmente el 23 de junio de 1975. Actualmente, el INS trabaja con una diversidad de venenos (ver Capítulo 8). Los lotes previamente producidos No. 1, No. 2 y No. 3 se utilizaron para estandarizar la producción y el control de calidad para la producción de antiveneno botrópico-crotálico (AV B/C).

En 1975 se produjeron un total de 4.020 viales de suero antiofídico, consistiendo en 2.800 viales de suero antiofídico polivalente (SAP) y 1.220 viales de suero monovalente (SAM). De 1978 a 1990, el INS produjo un total de 120.472 viales de SAP y 20.334 viales de SAM. La producción de SAP alcanzó su punto más alto en la década en 1980 con 14.811 viales.

En 1993, la Ley 100 (de 1993) mediante el artículo 245 creó el Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (INVIMA). Su principal objetivo es implementar políticas de vigilancia sanitaria y asegurar

el control de calidad de medicamentos, productos biológicos, alimentos, bebidas, cosméticos, dispositivos médico-quirúrgicos y odontológicos, productos homeopáticos, naturales, generados por biotecnología, de aseo, higiene y limpieza de uso doméstico. En 1994, el Decreto 1290 estableció las funciones del INVIMA, las cuales incluyen la implementación de las políticas formuladas por el Ministerio de Salud de Colombia para la vigilancia sanitaria y el control de calidad de productos descritas en el artículo 245 de la Ley 100 de 1993, así como otras regulaciones pertinentes y recomendaciones de la Comisión Revisora mencionada en el artículo 9.

En 1995, el Decreto 677 reguló parcialmente el régimen de registro y licenciamiento, control de calidad y vigilancia sanitaria para medicamentos, cosméticos, preparaciones farmacéuticas basadas en recursos naturales, productos de aseo, higiene y limpieza y otros productos de uso doméstico. También se emitieron otras disposiciones sobre el tema. El artículo 2 define específicamente el medicamento como: «*una preparación farmacéutica obtenida a partir de ingredientes activos con o sin sustancias auxiliares presentada en forma farmacéutica que se usa para la prevención, alivio, diagnóstico, tratamiento, cura o rehabilitación de la enfermedad*». Los contenedores, etiquetas y empaques también se consideran partes integrales del medicamento, ya que garantizan su calidad, estabilidad y uso adecuado. Esta clasificación incluye los sueros o antivenenos.

En el año 2002, el Grupo de Sueros del INS desarrolló, produjo y entregó, 182 viales de suero poliespecífico panafricano al Centro Colaborador de la OMS para el Control de Antivenenos (WHO CCCA) en la Escuela de Medicina Tropical de Liverpool, demostrando su capacidad para fabricar suero antiofídico destinado en este caso al continente africano. Durante ese período, el INS enfrentó intermitencias en la producción, lo que llevó al Ministerio de Salud a emitir la resolución 122 de 2002, declarando una emergencia sanitaria para garantizar el abastecimiento de biológicos en el país, incluyendo vacunas y antivenenos. Ante esta situación, el Ministerio solicitó al Fondo Rotatorio de la OPS/OMS los recursos necesarios para reactivar la producción de antiofídicos, en cumplimiento de lo dispuesto en el párrafo b del artículo 96 del Decreto 677 de 1995.

En 2004, los accidentes ofídicos fueron incluidos como eventos de notificación obligatoria, por lo tanto, los casos comenzaron a ser reportados en el Sistema de Vigilancia Epidemiológica de Colombia (SIVIGILA). La Resolución 2934 (2004) declaró una emergencia sanitaria en el territorio nacional debido a la escasez de suero antiofídico por un período de seis meses. Sin embargo, la declaración de emergencia se extendió hasta el 31 de diciembre de 2010, ya que las condiciones que llevaron a su declaración no se superaron. Esta extensión se realizó de acuerdo con la resolución 2672 (2010) y las resoluciones modificatorias 613 y 5078 (2005), resolución 2325 (2006), resolución 2198 (2007), resolución 2413 (2008) y resolución 2206 (2009).

Desde 1991 a 2011, la producción de SAP acumuló 133.869 viales y 19.898 viales de SAM, con un máximo de 16.206 viales de SAP en 1998 (Figura 1).

En 2005, se registró la producción final de SAM, resultando en un total de 1.662 viales. En 2014, el INS aumentó la capacidad de producción, logrando liberar aproximadamente 3.500 viales, así como establecer un tamaño estándar de lote de  $9.500 \pm 500$  viales de SAP. Además, en 2017, el INS llevó a cabo una actualización tecnológica para incrementar y mantener la capacidad de producción, asegurando la disponibilidad de SAP para el país.

A principios de la década de 2010, el INS buscó mejorar su producción de antiofídicos y ampliar la cobertura a especies de serpientes de importancia médica. Para ello, desarrollaron el antiofídico anticoral polivalente (PAA). El lote inicial de antiveneno identificado como 15AMP01, fue liberado por el INVIMA el 4 de octubre de 2016. Esto marcó un hito en la producción de antivenenos en Colombia, ya que se desarrolló un tratamiento terapéutico polivalente para tratar envenenamientos por mordeduras de serpientes coral (género *Micrurus*), incluyendo las cuatro especies de mayor importancia médica: *Micrurus dumerilii* (mónadas), *M. isozonus*, *M. surinamensis* (triadas) y *M. mipartitus* (bicolor), así como *M. helleri*, *M. medemi*, *M. sangilensis* y *M. obscurus* mediante neutralización cruzada [12]. El INS ha mantenido una producción permanente de PAA desde el 2016, superando los 2.000 viales por año. Además, realiza el seguimiento farmacológico activo en los pacientes que reciben este antiofídico como terapia para neutralizar los envenenamientos causados por serpientes del género *Micrurus* (Figura 1).

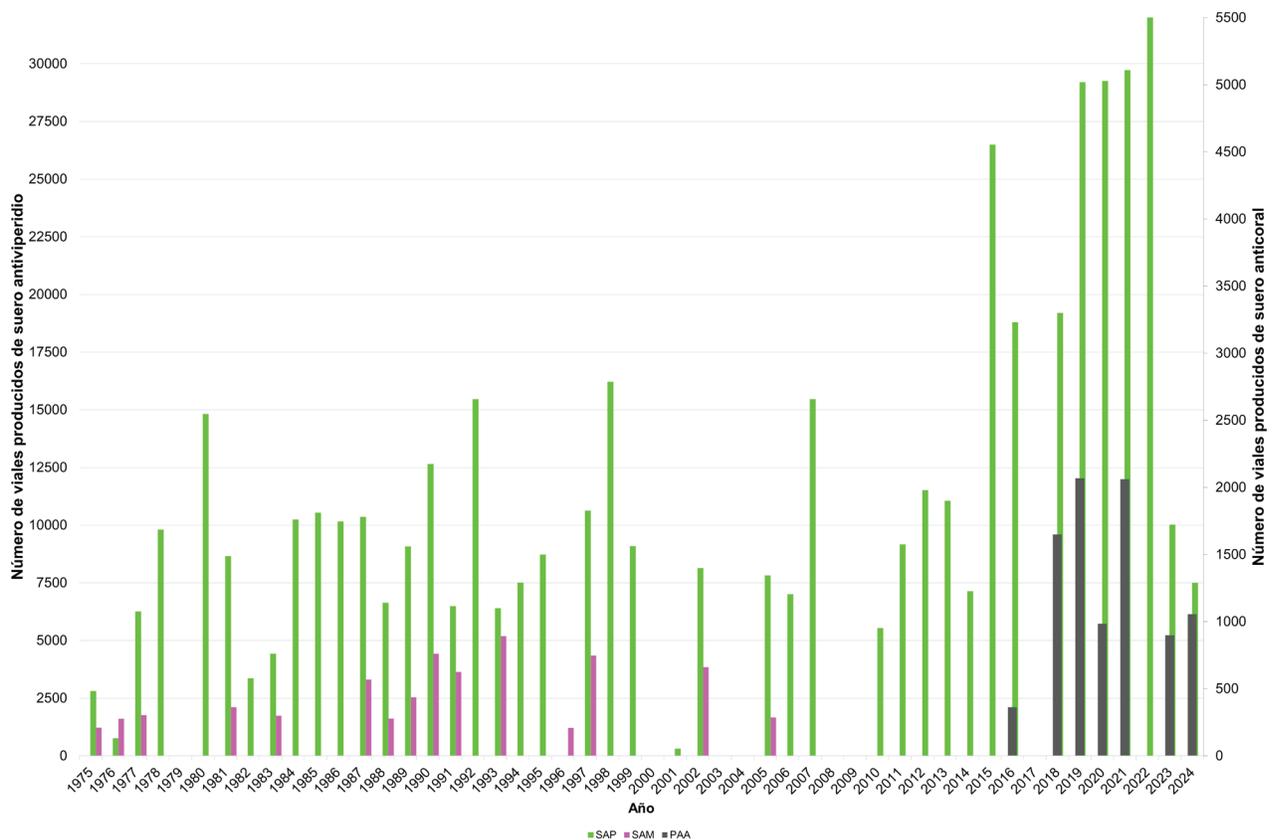
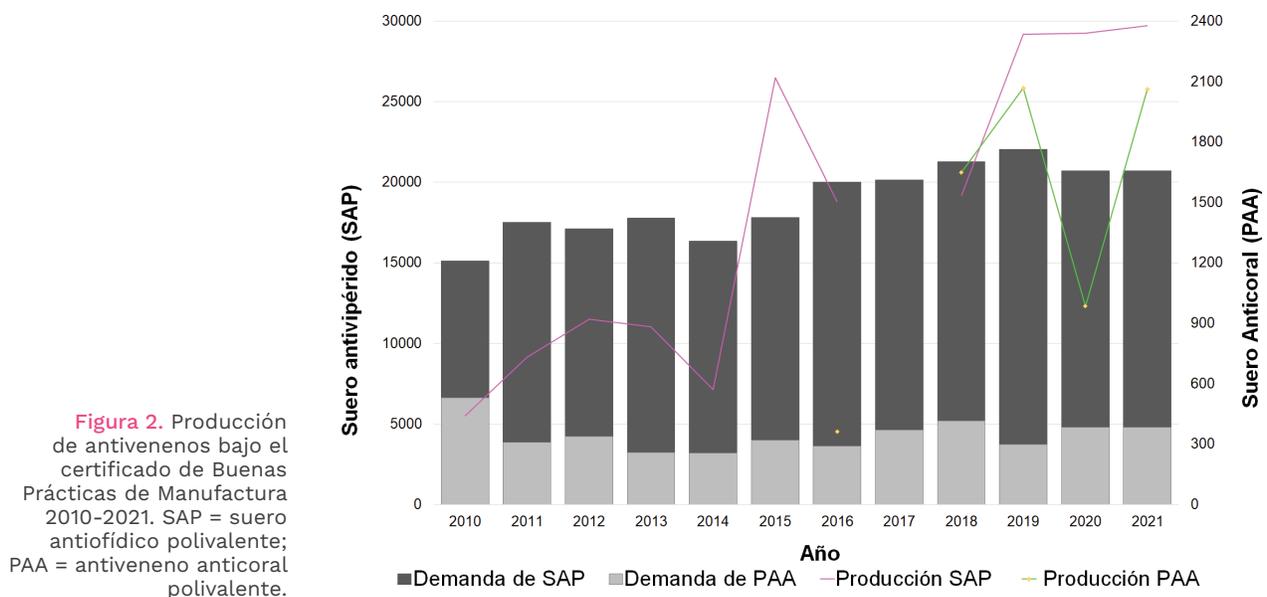


Figura 1. Producción histórica de antivenenos del Instituto Nacional de Salud de Colombia

A pesar de los enormes esfuerzos realizados por el INS para garantizar la producción de antiofídicos, las resoluciones 1300 y 1301 del 14 de abril de 2014 declararon una emergencia sanitaria para evitar la escasez de SAP. En el mismo año, el decreto 1375 del 22 de julio estableció los requisitos sanitarios para la fabricación e importación de sueros antiofídicos y antilonómicos (usados como terapia para el envenenamiento causado por las orugas de las polillas del género *Lonomia*) durante la declaración de una emergencia nacional en salud pública. Posteriormente, la Resolución 1209 del 21 de abril de 2017 extendió la emergencia sanitaria declarada por las Resoluciones 1300, 1301 y 1302 de 2014, que ya habían sido extendidas por las Resoluciones 1241 (2015) y 1478 (2016), por doce meses.

Finalmente, en diciembre de 2017, la planta de producción del INS fue certificada en buenas prácticas de manufactura, y se autorizó la fabricación de SAP y PAA. Además, el INVIMA autorizó al INS a fabricar lotes piloto de antivenenos laquésico, escorpiónico y lonómico. Debido a la escasez de antiveneno lonómico (ALP), cuyo único productor era el Instituto Butantan en Brasil, el INS desarrolló el ALP y envasó un total de 1.663 viales entre diciembre de 2017 y octubre de 2018.

Desde 2012 hasta el presente, el INS ha producido un total de 182.333 viales de SAP y 7.127 viales de PAA. La producción máxima por tipo de antiofídico se logró en 2022 con 49.931 viales de SAP y 2.068 viales de PAA en 2019, siendo la máxima producción de antivenenos en la vigencia 2022 con un total de 50.525, de los cuales 594 correspondieron a antilonómico (Figura 2). La capacidad máxima de producción de la planta se estima en aproximadamente 100.000 viales con los atributos de calidad del SAP, que tiene la mayor capacidad de neutralización entre todos los antivenenos disponibles en Centro y Suramérica [13].



La eficacia y calidad del SAP producido por el INS se optimizó desde inicios de la década del 2000, al incorporar a los esquemas de inmuniza-

ción nuevos venenos de serpientes de importancia médica que abarcan todas las ecorregiones del país. Esto permitió aumentar su versatilidad, así como asegurar que los antiofídicos mantuvieran el mismo antígeno que activa la respuesta inmune del equino. Desde 2011, el INS ha incrementado la representatividad de los venenos de serpientes de varias especies y regiones biogeográficas (ver Capítulo 7 y 8). Esto ha creado un robusto banco de venenos, garantizando su disponibilidad para la producción antiofídicos e investigación. El INS cuenta con un programa de estudio de estabilidad para la producción de antivenenos, en el cual periódicamente se realizan pruebas de control de calidad para verificar letalidad ( $DL_{50}$ ) de los venenos empleados en la producción, así como evaluaciones de la dosis efectiva media ( $DE_{50}$ ) todos los antivenenos producidos para asegurar su estabilidad en el tiempo.

La producción de antivenenos del INS cumple con el marco regulatorio vigente y aplicable. Desde 2010, los antivenenos se han fabricado en una nueva planta para sueros hiperinmunes. La planta cuenta con la certificación de Buenas Prácticas de Manufactura (BPM). Esta certificación permite al INS producir sueros antiofídicos polivalentes (SAP), antiveneno anticoral polivalente (PAA) y antiveneno antilonómico polivalente (ALP).

El suero antiofídico polivalente tiene el número de registro sanitario INVIMA 2012M-0013350 desde 2012, otorgado por la Resolución 2012019512 (13 de julio de 2012) y renovado con el número 2019M-0013350-R1 por la Resolución 2019034649 del 12 de agosto de 2019. Es importante destacar que el INS gestiona toda la cadena de producción, desde la colecta de serpientes, la obtención y caracterización de venenos, hasta la obtención del producto terminado, cumpliendo con todos los parámetros de calidad autorizados por INVIMA.

El INS garantiza y asegura la producción de antivenenos mediante el cumplimiento de los protocolos de fabricación y control de calidad. Se verifica el cumplimiento de todas las especificaciones y parámetros de calidad establecidos en cada etapa de la cadena de producción. Además, el control de calidad lleva a cabo un programa de estudio de estabilidad y farmacovigilancia activa. Cada lote fabricado es certificado por INVIMA antes de su comercialización (Tabla 1).

**Tabla 1.** Producción de antivenenos realizada en el Instituto Nacional de Salud de Colombia entre 1975 y 2024.

Producción histórica	Producción de antivenenos		
	Viales de SAP	Viales de SAM	Viales de PAA
1975 a 1990	120.472	20.334	0
1991 a 2011	133.869	19.898	0
2012 a 2024	249.771	0	9.082

SAP: Suero Antiofídico Polivalente, PAA: Antiveneno Anticoral Polivalente, SAM: Suero Antiofídico Monovalente.

Para estimar el número requerido de viales de SAP y PAA producidos por el INS, se considera que la neutralización mínima de toxicidad es de

7 mg/mL para el veneno de *Bothrops* spp., 1 mg/mL para el veneno de *Crotalus durissus*, y 0,2 mg/mL para el veneno de *M. dumerilii*, *M. isozonus*, *M. surinamensis*, y *M. mipartitus* [14]. El número de viales se determinó con base en el criterio establecido por el Ministerio de Salud y Seguridad Social en la «*Guía para el Manejo de Emergencias Toxicológicas*», y considerando el número de accidentes ofídicos reportados entre 2010 y 2021 en Colombia. La Figura 2 ilustra la producción de suero antiofídico polivalente (SAP) y antiveneno anticoral polivalente (PAA) durante el periodo 2010-2021, evidenciando que la capacidad de producción del INS es suficiente para cubrir las necesidades del país.

### 1.3 Regulación sobre la producción de antivenenos

El Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (INVIMA) es una entidad gubernamental en Colombia con la misión de proteger la salud individual y colectiva de los colombianos. El INVIMA regula y monitorea el consumo de alimentos, el uso de medicamentos, dispositivos médicos y otros productos que requieren vigilancia sanitaria.

Según las regulaciones del INVIMA para medicamentos y productos biológicos, los antivenenos se clasifican como productos de origen biológico [15]. El INVIMA realiza vigilancia sobre productos biológicos para verificar sus estándares de calidad y seguridad de manera sistemática. El Programa Nacional de Farmacovigilancia del INVIMA tiene por objeto vigilar la seguridad, efectividad y calidad de los medicamentos durante la etapa de comercialización, es decir, luego de obtener la autorización de comercialización por parte del INVIMA. Estas actividades complementan el control y monitoreo de los productos a lo largo de la cadena de producción, minimizando los riesgos e impactos en la salud humana [11].

Se requiere autorización del INVIMA para la comercialización, importación o fabricación de antivenenos. Este permiso se concede solo después de cumplir con todos los requisitos establecidos en las regulaciones sanitarias vigentes, validados por INVIMA [11]. Los principales requisitos incluyen la estandarización y validación de los procesos productivos y métodos de ensayo, la evaluación farmacológica, la certificación de manufactura, el registro sanitario (RS) y el cumplimiento de los estándares de estabilidad de los antivenenos a comercializar. No es posible comercializar un producto biológico en Colombia, como los antivenenos, sin cumplir con cada uno de estos requisitos. Sin embargo, el Ministerio de Salud y Protección Social es responsable de garantizar la salud y seguridad de todos los habitantes del país. Por lo tanto, debe tomar las medidas necesarias para prevenir y controlar cualquier contingencia que pueda afectar a la población, como una posible escasez de antivenenos. En circunstancias excepcionales, como se describió anteriormente, el Ministerio en varias ocasiones ha declarado una emergencia sanitaria nacional debido a la escasez de antivenenos.

En Colombia, hay pocas normas que regulan la producción de antivenenos. El Decreto 821 de 2017 «*establece el Reglamento Técnico de Emergencia para la obtención del Registro Sanitario de Antivenenos y adoptó la Guía de*

*Buenas Prácticas de Manufactura para su fabricación*». Sin embargo, este decreto fue parcialmente derogado por el Decreto 386 de 2018; este indica que se debe hacer un «*dibujo a escala de los borradores de etiquetas y proyectos de los envases y embalajes, que deben incluir: nombre del producto, nombre del fabricante, número de lote, forma farmacéutica, volumen etiquetado, especificidad (veneno neutralizado incluyendo el nombre común de los animales contra los cuales el producto es efectivo), potencia neutralizadora, condiciones de almacenamiento (incluidas las del producto reconstituido cuando se aplique), descripción del proceso de reconstitución, vía de administración, dosis recomendada, contraindicaciones, advertencias y fecha de vencimiento*». El anexo técnico del decreto corresponde a la «*Guía de Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) para la fabricación de antivenenos*».

El Decreto 386 de 2018 incluye la descripción del «*procedimiento para obtener, renovar o modificar el registro sanitario de antivenenos, e incluye medidas para garantizar su disponibilidad*». Países como México y Brasil tienen sus propias farmacopeas, que contienen monografías específicas para cada tipo de antiveneno. Estas monografías direccionan los parámetros de calidad que deben cumplir los diferentes antiofídicos producidos y/o comercializados en cada país. En México, este documento se conoce como «*La Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos*» y es emitido por la Secretaría de Salud. Para Brasil, se llama «*Farmacopeia Brasileira*» que es emitida por la Agencia nacional de vigilancia sanitaria - ANVISA.

En estos países es obligatorio cumplir con las disposiciones de cada monografía, que especifica la capacidad neutralizadora mínima que debe tener cada tipo de antiveneno y contra qué especies es efectivo. En Colombia, no hay sueros o venenos de referencia, ni existe una normativa farmacológica que establezca la capacidad neutralizante mínima que deben tener los antiofídicos, ni contra qué especies de veneno se debe llevar a cabo esta prueba. Este vacío legal, técnico y regulatorio debe ser superado para mejorar los procedimientos de obtención del registro sanitario de antivenenos. Estas normas permitirían asegurar que todos los antivenenos disponibles en el mercado colombiano cumplan con la capacidad neutralizante mínima requerida para los envenenamientos causados por especies de importancia médica en el país.

## **2. Desarrollo y producción de antiofídicos**

Los métodos tradicionales para la fabricación de antiofídicos, implican inducir la producción de anticuerpos en un huésped mediante inoculaciones seriadas de veneno de serpiente, considerando su dosis letal media ( $DL_{50}$ ) [16,17]. El caballo es el animal más comúnmente utilizado debido a su capacidad de producir una gran cantidad de inmunoglobulinas contra el veneno, poseer gran volumen sanguíneo y resistencia [18–20]. No obstante, es bien conocido que los caballos u organismo huéspedes a ser inmunizados, no toleran la inoculación directa del veneno crudo [20]. Por lo tanto, es necesario utilizar adyuvantes durante la aplicación del veneno para formar depósitos del antígeno, y así, promover una liberación que preserve la inmunogenicidad de los toxoides purificados y estimule la respuesta inmune. [21].



**Figura 3.** Procedimiento de inmunización y producción de plasma hiperinmune.

(A) Ordeño de las serpientes para la obtención de veneno. (B-C) Inoculación de veneno de serpiente con adyuvantes en un caballo como modelo animal. (D) Cateterización de la vena yugular para recolección de sangre. (E) Sangre colectada aproximadamente ocho litros. (F) Sedimentación celular luego de 18-24 horas de almacenamiento. (G) Separación mecánica del plasma. (H) Cuatro litros de plasma hiperinmune obtenido luego de la separación. (I) Bolsas con plasma hiperinmune (materia prima para la producción de antiofídicos) y paquete celular reconstituido en solución salina para ser reinfundido a los caballos. (J) Plasma en cuarentena destinado a la planta de procesamiento. Fotos por: (A) Javier Crespo; (B)-(J) Germán Díaz.

El esquema de inmunización varía según la  $DL_{50}$  del veneno [22], la especie utilizada para producir inmunoglobulinas y la técnica de purificación de proteínas [23]. Es importante analizar el título de anticuerpos al final del ciclo de inmunización para evaluar la producción de las inmunoglobulinas deseadas [5,24]. Una vez obtenido el título de anticuerpos deseado, los caballos se someten a sangrados de producción, que permiten la recolección de aproximadamente ocho litros de sangre de cada animal a lo largo de un período de tres a cuatro días, dependiendo de la condición corporal del animal. El plasma se separa mediante sedimentación o centrifugación; los glóbulos rojos se reinfunden por medio de aféresis manual para reducir el riesgo de anemia en los caballos [25,26]. Históricamente, la producción y

comercialización de antivenenos a través de formas farmacéuticas ha evolucionado durante cuatro generaciones [27]. La metodología descrita por Pope [28,29] sirve como base para la elaboración de antivenenos.

Los antiofídicos de primera generación consisten en suero no purificado separado de la sangre de animales que han sido hiperimmunizados con venenos [30,31]. Los antivenenos de segunda generación son inmunoglobulinas completas purificadas utilizando técnicas de precipitación con sulfato de amonio o ácido caprílico [32]. La composición de antiofídicos de segunda generación consiste en inmunoglobulinas G (IgG) completas con un peso molecular aproximado de 150 kDa. Es importante destacar que algunas fracciones de otras proteínas, como la albúmina, también pueden estar presentes [33,34].

Los antiofídicos de segunda generación son compuestos de IgG purificadas sin proteínas séricas. Contienen una pequeña cantidad de proteínas de peso molecular medio y alto, que varían entre 1% y 5% [35–37]. Comercialmente, los antivenenos de primera y segunda generación se conocen como sueros, mientras que aquellos compuestos por fracciones F(ab')<sub>2</sub> o Fab se denominan faboterapéuticos [38].

Los antivenenos de tercera generación consisten en fracciones de inmunoglobulinas de aproximadamente 100 kDa que se obtienen al digerir las proteínas plasmáticas de IgG completas utilizando pepsina (una proteasa aspártica). Esto separa el fragmento F(ab')<sub>2</sub> de las cadenas pesadas y divide el fragmento Fc de las inmunoglobulinas. Luego, el F(ab')<sub>2</sub> se purifica mediante un segundo proceso de precipitación con sulfato de amonio [31]. Los fragmentos F(ab')<sub>2</sub> impiden que el sitio activo del veneno interactúe con su receptor, neutralizando así los efectos del veneno y promoviendo su eliminación [39]. El tamaño de las moléculas disminuye como resultado de la digestión del Fc mediante clivaje proteolítico, el cual hidroliza más del 50% de las regiones constantes de IgG [40]. El tipo de enzima utilizada y la termocoagulación de IgG pueden afectar el rendimiento de este proceso [23,26]. Métodos adicionales para eliminar lipoproteínas y purificar F(ab')<sub>2</sub> incluyen la cromatografía de intercambio iónico y los procesos de precipitación con ácido caprílico. Estos métodos a veces se emplean en la purificación de F(ab')<sub>2</sub> [25].

Los antivenenos de cuarta generación son inmunoglobulinas que han sido digeridas por papaína a pH neutro [41,42]. Sin embargo, para cortar los anticuerpos en la región bisagra y romper los enlaces disulfuro, se requiere la incubación con un agente reductor (reducción leve con mercaptoetilamina) [43], lo que resulta en la generación de dos fragmentos Fab y un fragmento Fc [44]. El fragmento Fc puede ser eliminado de la molécula de IgG mediante métodos cromatográficos [45], o mediante tratamiento con pepsina, lo que produce fragmentos Fab monovalentes purificados [43,44]. La reducción de los enlaces disulfuro que unen los fragmentos F(ab) los deja como estructuras individuales con sus sitios de reconocimiento intactos. Cada fracción tiene un peso molecular aproximado de 50 kDa, lo que facilita su eliminación del cuerpo del paciente [37].

Dependiendo del proceso de digestión enzimática o de la técnica de ADN recombinante utilizada, se pueden obtener diferentes conformaciones de los anticuerpos según el propósito [46,47]. Una vez producido el antiofídico, se realiza la primera verificación de inmunogenicidad utilizando técnicas de electroforesis en gel o western blot [48,49]. Un antiofídico con inmunogenicidad positiva es aquel que reacciona con todas las fracciones proteicas del veneno [50–54]. Además, la calidad microbiológica y la eficacia del producto deben medirse mediante la técnica de dosis efectiva media ( $DE_{50}$ ) para determinar su capacidad neutralizante [55–57]. Después de realizar evaluaciones de seguridad y eficacia, el antiveneno se envasa en viales en forma líquida o liofilizada [25,58,59].

Los antiofídicos se clasifican en mono-específicos o poliespecíficos, dependiendo de si en la inmunización del animal se utiliza el veneno de una sola especie de serpiente, o veneno de múltiples especies de serpientes, respectivamente. No obstante, en ambos casos, los venenos son obtenidos de más de una población de las especies de serpientes de importancia médica que habitan el territorio o país para el cual fue diseñado el antiofídico [33,60].

La producción de antivenenos mono-específicos ha sido prácticamente discontinuada a nivel mundial. Sin embargo, algunos fabricantes continúan produciendo antiofídicos monovalentes. Por ejemplo, en Perú, el Centro Nacional de Productos Biológicos produce dos tipos de suero mono-específico contra mordeduras de serpiente [7]. El suero anticrotálico inyectable se utiliza para tratar envenenamientos causados por *Crotalus durissus* (serpiente cascabel suramericana), y el suero antilaquésico inyectable para tratar envenenamientos causados por *Lachesis muta* (matabuey o verrugoso amazónico) [61]. En contraste, la mayoría de los fabricantes producen antiofídicos poliespecíficos que neutralizan el veneno de vipéridos o elápidos, como el antivipérido y anticoral producidos en Colombia por el INS [62,63].

Se han presentado propuestas experimentales utilizando diferentes formatos de anticuerpos para crear nuevos antiofídicos que buscan constituir tratamientos farmacéuticos más eficientes y efectivos [64,65]. Esto se puede lograr no solo mediante la digestión enzimática de inmunoglobulinas, como se mencionó anteriormente, sino también a través de otros métodos. Por ejemplo: (1) mediante la generación de anticuerpos monoclonales o recombinantes contra componentes específicos de los venenos [66]; (2) empleando cadenas epítopes sintéticas para la inmunización [67]; (3) mediante la generación de antígenos recombinantes a partir del consenso de toxinas específicas que son pobres inmunógenos, pero que pueden enriquecer posteriormente antivenenos existentes, o producir nuevos antivenenos con especificidad exclusiva [68].

Actualmente, existen desarrollos biotecnológicos internacionales en curso que han alcanzado experimentación *in vivo* e *in vitro* con resultados prometedores [69,70]. Sin embargo, aún deben ser evaluados estos resultados en ensayos clínicos. Recientemente en Colombia, Romero-Giraldo

et al. [71] clonaron y expresaron la fosfolipasa A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>) más abundante del veneno de *Micrurus dumerilii* y generaron IgGs contra la toxina recombinante, los cuales lograron neutralizar las actividades miotóxicas producidas por las PLA<sub>2</sub>, así como las inducidas por el veneno completo. Si bien estos resultados son promisorios, aun se requieren ensayos clínicos para validar su eficacia y eficiencia.

En Colombia aún es incipiente la implementación de estas tecnologías modernas para la mejora de antiofídicos como tratamiento terapéutico contra los envenenamientos causados por serpientes. No obstante, alentamos a los investigadores a explorar estos senderos para el desarrollo de nuevos antiofídicos.

### **3. Evaluación preclínica de los antivenenos**

Para que un medicamento de origen biológico de uso humano entre estos los antiofídicos, cumpla con los requisitos de calidad, deben someterse a una rigurosa evaluación que permita demostrar su capacidad neutralizante contra las toxinas del veneno, así como su efectividad en el control o reversión de las manifestaciones clínicas causadas por el mismo. La Organización Mundial de la Salud (OMS) propone metodologías para evaluar este tipo de medicamentos. Esto se debe a que la administración parenteral de los antiofídicos derivados de inmunoglobulinas animales es la base para tratar los envenenamientos causados por serpientes, que constituyen un serio problema de salud pública en las regiones tropicales del mundo [72].

Para garantizar la efectividad y seguridad de los antiofídicos para uso humano, es necesario evaluar su capacidad neutralizante y seguridad a nivel preclínico. Esto se debe a la gran variación en la composición del veneno y los tipos de veneno utilizados para la inmunización (ver Capítulos 2, 3, y 5), así como a la heterogeneidad en la eficacia clínica [73]. La evaluación preclínica de los antiofídicos de serpiente proporciona información valiosa para seleccionar los antiofídicos apropiados para su uso en diversos países del mundo [74,75]. La OMS sugiere que los ensayos preclínicos esenciales para determinar la capacidad neutralizante del antiveneno frente a la letalidad inducida por el veneno son: la dosis efectiva media del antiveneno (DE<sub>50</sub>); y la dosis letal media (DL<sub>50</sub>), respectivamente. No obstante, dado que los venenos inducen otras actividades tóxicas que también pueden ser evaluadas, a continuación, la Figura 4 presenta los pasos más relevantes para determinación de la eficacia preclínica de un antiofídico durante su proceso de producción.

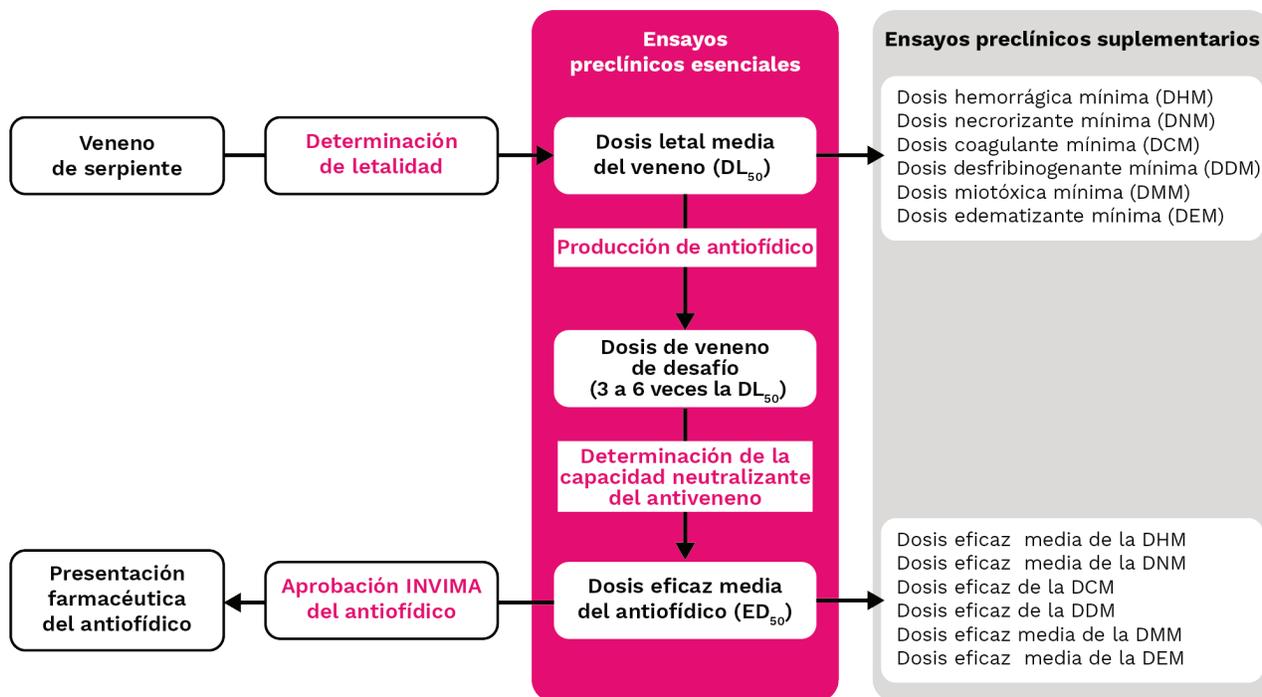


Figura 4. Proceso de evaluación preclínica de antiofídico: Ensayos esenciales y suplementarios.

### 3.1 Determinación de las actividades biológicas de los venenos

#### **Determinación de la dosis letal media**

La dosis letal media ( $DL_{50}$ ) de un veneno se define como la cantidad de veneno que causa la muerte en el 50% de los ratones inoculados. La prueba para determinar la  $DL_{50}$  se realiza de la siguiente manera [76]. Se preparan diferentes dosis de veneno en solución salina y se inyectan por vía intraperitoneal (i.p., máximo 0,5 mL) o intravenosa (i.v., máximo 0,2 mL) en grupos de 4-6 ratones. La OMS [76] recomienda una muestra de cinco ratones (misma cepa y rango de peso definido, generalmente de 18-22 g). Las muertes se registran a las 24 horas (para ensayos con inyecciones intravenosas) o a las 48 horas (cuando se usan inyecciones intraperitoneales). Los ratones de control se inyectan con solución salina. Finalmente, la  $DL_{50}$  se calcula usando métodos estadísticos, como Spearman-Kärber, función Probit u otros métodos no paramétricos [77-80].

#### **Determinación de la dosis efectiva media del antiveneno**

La dosis media efectiva del antiveneno ( $DE_{50}$ ) se define como la cantidad de antiveneno, o la relación veneno/antiveneno, que resulta en la supervivencia del 50% de los ratones inyectados con una mezcla de antiveneno y una cantidad letal de veneno [76]. Primero, se debe elegir una dosis de veneno de desafío. La OMS indica que la dosis de reto debe presentar de tres a seis veces la letalidad media (3 a 6  $DL_{50}$ ) del veneno previamente evaluado. Luego, la dosis seleccionada de veneno se mezcla con diferentes volúmenes de antiveneno, ajustados a un volumen final constante con solución salina. Las muestras se incuban durante 30 minutos a 37°C.

Posteriormente, se inoculan alícuotas por la vía seleccionada (i.v. o i.p.) establecidas en la prueba de reto, y se registra la sobrevivencia según las diluciones preparadas. Se emplean dos grupos de control, el primero se inocula con solución salina (control negativo) y el segundo grupo solo con veneno (control positivo). Finalmente, la  $DE_{50}$  se calcula utilizando los métodos estadísticos descritos anteriormente para estimar la supervivencia del 50% de ratones inoculados. El resultado de la  $DE_{50}$  se presenta comúnmente como la cantidad de mg de veneno neutralizado por mililitro de antiveneno.

Adicionalmente a la evaluación preclínica esencial que determina la capacidad de inhibir la actividad letal de los venenos, los antiofídicos pueden ser sometidos a otros ensayos preclínicos suplementarios que buscan determinar su capacidad neutralizante frente a actividades biológicas específicas de los venenos. Sin embargo, estos ensayos son opcionales y dependen del veneno empleado en la producción del antiofídico, el laboratorio donde es producido, y las leyes particulares de cada país. Por ejemplo, en el marco normativo colombiano, el decreto 386 de 2018, establece realizar ensayos específicos (estudios preclínicos) que soporten técnicamente la capacidad neutralizante contra el veneno involucrado. El INS en cumplimiento de la norma, cuenta con pruebas biológicas estandarizadas y validadas para soportar los ensayos preclínicos esenciales con las pruebas de  $DL_{50}$  y  $DE_{50}$ , así como pruebas preclínicas suplementarias de eficacia de los antiofídicos frente a otras actividades biológicas de los venenos como miotoxicidad, hemorragia, necrosis dérmica, actividad coagulante y edematizante, entre otras (Figura 4).

### ***Determinación de la dosis mínima hemorrágica y dosis media de neutralización***

La dosis mínima hemorrágica (DMH) se define como la cantidad de veneno capaz de inducir una lesión hemorrágica con un diámetro de 10 mm. Para determinar esto, se preparan diferentes dosis de veneno en solución salina con un volumen final de inyección de 50  $\mu$ L. Luego, se inyecta intradérmicamente en la piel ventral de ratones rasurados. Finalmente, después de 2-3 horas, los ratones se eutanasian de manera ética, se disecciona la piel y se mide el diámetro de la lesión hemorrágica resultante. Se recomienda usar cinco ratones por dosis, mientras que el grupo de control debe inyectarse con solución salina.

El ensayo de neutralización se realiza usando una dosis de desafío de 1-5 DMH a la que se adicionan diferentes dosis de antiofídico. Las muestras se incuban durante 30 minutos a 37°C. Luego, se inocula alícuotas de 50  $\mu$ L intradérmicamente y los ratones se eutanasian de manera ética 2-3 horas después. La piel se disecciona y se mide el diámetro de la lesión hemorrágica. El grupo de control experimental se inocula con veneno. La dosis efectiva media para DMH ( $DMH_{50}$ ) se define como el volumen de antiveneno, en microlitros, o la relación veneno/antiofídico, que reduce el diámetro de las lesiones hemorrágicas en un 50% en comparación con el diámetro de la lesión en los animales inyectados con la mezcla de veneno/salina de control [76].

### ***Determinación de la dosis mínima necrotizante y dosis media de neutralización***

La dosis mínima necrotizante (DMN) de un veneno se define como la menor cantidad de veneno que, cuando se inocula intradérmicamente en ratones, induce lesiones necróticas de 5 mm de diámetro tres días después. El método utilizado para determinar la DMN es el mismo que para la DMH, excepto que la piel se examina tres días después de la inoculación del veneno.

El ensayo de neutralización se realiza usando una dosis de 1-2 DMN, que se mezcla con diferentes dosis de antiofídico. Las muestras se incuban durante 30 minutos a 37°C. Luego, se inocula alícuotas de 50 µL intradérmicamente y se mide el diámetro de las lesiones necróticas resultantes tres días después de la inyección. La dosis efectiva media para DMN (DMN<sub>50</sub>) se define como el volumen de antiofídico, en microlitros, o la relación veneno/antiofídico, que reduce el diámetro de las lesiones necróticas en un 50% en comparación con el diámetro de la lesión en los ratones inyectados con la mezcla de veneno/salina de control [76].

### ***Determinación de la dosis mínima coagulante (procoagulante) y dosis de neutralización***

La dosis mínima coagulante (DMC) se puede calcular utilizando una solución de fibrinógeno bovino (2,0 g/L) (DMC-F) o una solución citratada estándar de plasma humano (DMC-P). La DMC se define como la menor cantidad de veneno que coagula una solución de fibrinógeno bovino (2,0 g/L) en 60 segundos a 37°C (DMC-F) y/o una solución citratada estándar de plasma humano (contenido de fibrinógeno 2,8 g/L) bajo las mismas condiciones (DMC-P). Para medir la DMC, se añaden 50 µL de veneno (que varían de 240 a 0.5 mg/L) a 0,2 mL de fibrinógeno bovino o plasma humano citratado estándar en tubos de coagulación de vidrio a 37°C. Se mezclan las soluciones y se registra el tiempo de coagulación en 60 segundos.

El ensayo de neutralización consiste en mezclar una dosis de MCD-P o MCD-F con diferentes dosis de antiofídico. Luego, las muestras se incuban durante 30 minutos a 37°C y se registra el tiempo de coagulación. Se estima el volumen mínimo de antiofídico, o la relación veneno/antiofídico, necesario para prevenir la coagulación completamente, conocido como la dosis efectiva MCD-F (MCD-F<sub>100</sub>) o la dosis efectiva MCD-P (MCD-P<sub>100</sub>) en 30 minutos [76].

### ***Determinación de la dosis mínima miotóxica y dosis media de neutralización***

La dosis mínima miotóxica (DMM) se define como la cantidad de veneno que induce un aumento en la actividad de creatina quinasa (CK) en suero o plasma, equivalente a cuatro veces la actividad en suero o plasma de animales control inyectados solo con solución salina. Para medir la DMM, se inyectan 50 µL de veneno en el músculo gastrocnemio derecho. Después de 3 horas, se toman muestras de sangre mediante un corte en la cola y se determina la actividad de CK en suero o plasma utilizando kits de diagnóstico comerciales.

El ensayo de neutralización se realiza retando una dosis de 3 DMM con diferentes dosis de antiveneno. Las muestras se incuban durante 30 minutos a 37°C y se inoculan en el músculo gastrocnemio derecho. Después de otras 3 horas, se toman muestras de sangre mediante un corte en la cola y se determina la actividad de CK en suero o plasma. La dosis efectiva mediana de DMM ( $DMM_{50}$ ) se estima determinando el volumen de antiofídico en microlitros, o la relación veneno/antiofídico, que reduce la actividad de CK en suero o plasma en un 50% en comparación con la actividad de los animales control inyectados con veneno incubado solo con solución salina [76].

### 3.2 Ensayos de neutralización

La evaluación de la efectividad del antiofídico es crucial para el tratamiento de los accidentes ofídicos. La Organización Mundial de la Salud [76] especifica que cada lote de antiofídico debe ser probado para determinar su capacidad de neutralizar el efecto letal de los venenos relevantes, utilizando un método de prueba aprobado por la autoridad nacional de control del país donde se fabrica el antiofídico [81]. La investigación sobre antiofídicos tiene como objetivo mejorar el tratamiento de los envenenamientos causados por serpientes mediante ensayos de letalidad. Como se describió anteriormente, estos ensayos incluyen el  $DL_{50}$ , que cuantifica la letalidad por veneno, y el  $DE_{50}$ , que estima el potencial neutralizante *in vivo* de un antiofídico [81,82].

No obstante, existen varias técnicas *in vitro* que se han utilizado para cuantificar la letalidad del veneno, así como la capacidad neutralizante de su correspondiente antiveneno, las cuales incluyen pruebas inmunoquímicas que evalúan la capacidad inmunológica resultante de la interacción entre los antiofídicos y los venenos [57,82,83]. Métodos inmunoquímicos, como el ensayo inmunoadsorción ligado a enzimas (ELISA), pueden combinarse con métodos de electroforesis, como el western blot, y estudios de antivenómica, para proporcionar una detección específica. Las técnicas proteómicas pueden utilizarse para identificar las proteínas del veneno y sus epítomos reconocidos por un antiofídico [86]. Estas técnicas también permiten cuantificar el reconocimiento de un anticuerpo hacia uno o varios antígenos y minimizar la experimentación con animales [83,87,88].

#### **Ensayos ELISA**

El principio de esta técnica se basa en la unión de antígenos o anticuerpos solubles a una fase sólida insoluble, como los pocillos de una placa de microtitulación, que preserva la reactividad de los componentes inmunológicos [59]. Un complejo antígeno-anticuerpo se detecta utilizando un anticuerpo específico conjugado con una enzima, seguido de una etapa de lavado. Luego, se añade un sustrato específico para la enzima utilizada, y la cantidad de hidrólisis (cambio de color medido visual o espectrofotométricamente) es proporcional a la cantidad de antígeno presente en la muestra de prueba [87,88]. El ensayo ELISA es altamente sensible ya que detecta niveles de proteínas tan bajos como 1 a 400 ng/mL. La especificidad del ensayo está determinada por la calidad de los reactivos utilizados [82,89].

Estudios preliminares han demostrado que el sistema ELISA puede servir como una alternativa *in vitro* al ensayo  $DE_{50}$  en ratones, con una correlación significativa entre el  $DE_{50}$  *in vivo* y el  $DE_{50}$  *in vitro* [90]. Por ejemplo, el  $DE_{50}$  de 38 lotes diferentes de antiveneno fue estimado para cuatro venenos de serpientes de importancia médica en África y comparado con el  $DE_{50}$  *in vivo* [90]. Las placas ELISA fueron recubiertas con los mismos venenos utilizados para las curvas de referencia. Se observó una correlación significativa ( $p < 0,001$ ) entre los métodos *in vitro* e *in vivo* cuando los resultados de  $DE_{50}$  de los antisueros se relacionaron con sus densidades ópticas [87].

Para servir como un control positivo, los antídotos de referencia (aquellos con un  $DE_{50}$  establecido en ratones) deben ser probados en cada placa ELISA y mantenidos como alícuotas estériles a 4 °C. Generalmente, las opacidades se desarrollan antes de que se pierda la potencia. Los antiofídicos liofilizados y congelados han demostrado gran estabilidad a largo plazo. Sin embargo, estandarizar y distribuir antiofídicos de referencia para cada veneno es impráctico, lo cual es una desventaja significativa [82].

### **Western blot**

El término western blot (WB) fue acuñado por primera vez por Dr. W. Neal Burnette [91,92]. Este investigador observó que la electroforesis facilitaba la transferencia de proteínas desde geles SDS-PAGE a membranas de papel de nitrocelulosa y que este método parecía funcionar mejor que el papel químicamente modificado [92].

El proceso de Western Blot comienza con la separación electroforética de una mezcla de antígenos utilizando poliacrilamida con dodecil sulfato de sodio (SDS-PAGE). Este método se basa en la electrotransferencia del veneno a una membrana de nitrocelulosa, que finalmente se trata con dos anticuerpos. Uno de estos anticuerpos está acoplado a una enzima que permite visualizar los componentes de interés.

Los componentes unidos a la nitrocelulosa son accesibles para la interacción con anticuerpos u otras moléculas [59]. El primer anticuerpo es el antiveneno que debe unirse a las proteínas del veneno, mientras que el segundo anticuerpo está acoplado a una enzima que degrada un sustrato y produce una señal colorida que indica los componentes reconocidos por los antivenenos [59]. Esta técnica no puede observar el reconocimiento de epítomos estructurales que podrían ser relevantes, ya que las proteínas del veneno en el gel están desnaturalizadas. La técnica ELISA es la más adecuada para este propósito. Sin embargo, la ventaja del Western Blot radica en que se realiza a partir de geles SDS-PAGE, que pueden detectar la mayoría de las bandas de proteínas en el veneno y proporcionar información sobre el peso molecular de los antígenos reconocidos [84,93].

### **3.3 Antivenómica**

La existencia de variaciones en la composición del veneno entre distintas poblaciones geográficas, etapas de desarrollo, e individuos de la

misma especie muestra la importancia de llevar a cabo investigaciones proteómicas, toxicológicas e inmunológicas tanto dentro de las poblaciones como entre ellas (ver Capítulos 2, 3, y 5). Estos estudios son esenciales para formular una mezcla óptima de veneno y desarrollar un antiofídico eficaz contra las mordeduras de serpiente causadas por cualquier miembro de la especie [94].

Los ensayos antivenómicos son una herramienta valiosa para evaluar la capacidad de los antiofídicos de reconocer componentes específicos del veneno previamente identificados por espectrometría de masas [52,95]. Esta tecnología utiliza una plataforma centrada en la proteómica, como la antivenómica de inmunoreactividad de los antiofídicos (Figura 5). Proporciona un análisis cuantitativo de las moléculas de anticuerpos terapéuticos y de unión a toxinas presentes en un antiveneno [96]. Este análisis complementa los ensayos de actividad neutralizante del veneno *in vivo* e *in vitro*, y podría sustituir a los métodos inmunológicos tradicionales, como ELISA y WB [97].

### **Antivenómica de primera generación**

Estas técnicas se basan en la inmunoprecipitación de toxinas de unión al antiveneno. El veneno completo se incuba con el antiveneno, seguido de la adición de un anticuerpo secundario, como anti-IgG de caballo [86,98]. Los complejos antígeno-anticuerpo inmunoprecipitados contienen aquellas toxinas reconocidas con suficiente afinidad por los anticuerpos del antiveneno. Las toxinas no inmunoprecipitadas son los componentes del veneno que permanecen en el sobrenadante. Estas toxinas representan las proteínas que no son reconocidas, o bien no generaron anticuerpos en el antiveneno, o bien sólo desencadenaron la producción de anticuerpos con muy baja afinidad [99]. Para identificar estos componentes, basta con comparar los cromatogramas de fase reversa de la fracción no inmunoprecipitada con el veneno previamente caracterizado por venómica [99].

### **Antivenómica de segunda generación**

Existen valoraciones de antivenenos basadas en F(ab')<sub>2</sub> y Fab, que no pueden evaluarse mediante inmunoprecipitación [98]. Se rellena una columna de cromatografía de afinidad con Sepharose y se añade un tampón de acoplamiento. Tras un periodo de incubación, las moléculas de IgG, F(ab')<sub>2</sub>, Fab', o Fab de un antiveneno se unirán covalentemente [100]. Luego, la matriz se incuba con una cantidad de veneno fija, las fracciones que contienen las moléculas no retenidas y las que contienen las proteínas que quedaron retenidas en la columna debido a su afinidad con las moléculas del antiveneno se analizan por separado mediante cromatografía de fase reversa [100]. Los antiofídicos usan un enfoque de cromatografía de afinidad para comparar las fracciones retenidas y no retenidas del veneno completo, con el fin de cuantificar el grado en que un antiveneno reconoce las proteínas individuales del veneno [97,101].

La fracción de proteína no unida a la matriz de anticuerpos inmovilizados «i» se estima utilizando la Ecuación 1 [101].

$$\%NRi = 100 - \left( \left[ \frac{Ri}{Ri + NRi} \right] \times 100 \right) \quad (1)$$

**Ecuación 1.** El área del pico cromatográfico de la proteína «i» en la fracción retenida y eludida de la columna de afinidad se presenta mediante «Ri». Este valor se utiliza para determinar la «capacidad antivenómica».

Un valor de %NRi de  $\geq 25\%$  indica un buen resultado en las pruebas de neutralización *in vivo* [8].

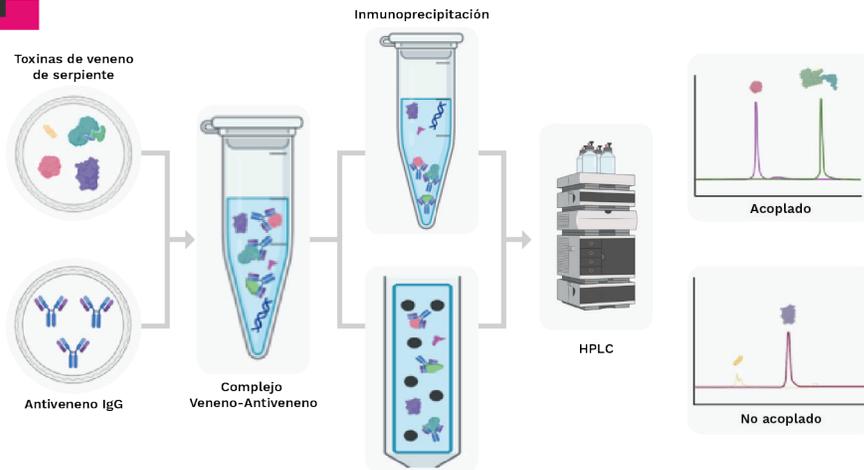
### **Antivenómica de tercera generación**

La antivenómica de tercera generación se basa en el mismo principio operativo que la segunda generación, que implica la cromatografía de afinidad en una matriz de antiveneno inmovilizada. Sin embargo, en lugar de utilizar una única concentración de veneno incubada en una única columna de concentración de antiveneno incubada en la matriz de antiveneno, se utiliza una serie de columnas de afinidad idénticas (Figura 5). Cada columna se incuba con cantidades crecientes de veneno. Esta modificación permite determinar la capacidad máxima de unión de cada toxina del veneno al antiofídico inmovilizado [95,102].

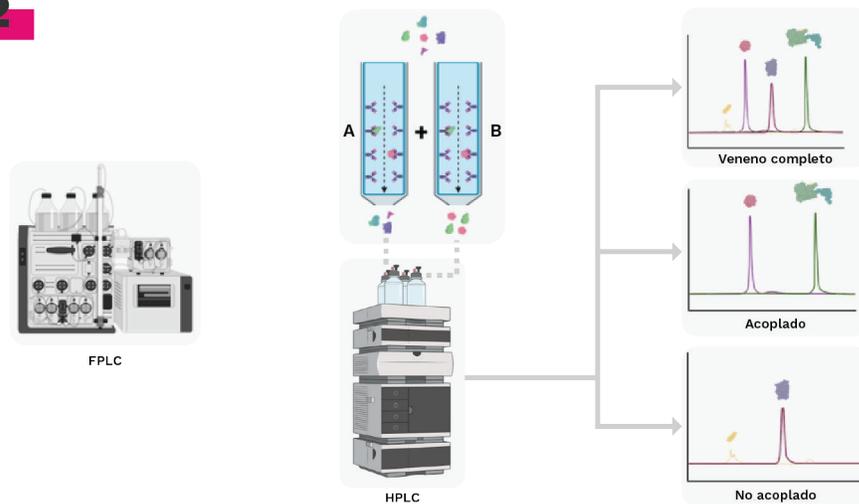
Sin embargo, la antivenómica sólo puede proponer razones potenciales para la reactividad cruzada observada, como la existencia de subfamilias idénticas de toxinas cruciales en dos venenos, uno de los cuales se emplea en la fabricación de antivenenos. La antivenómica carece de capacidad para dilucidar la reactividad cruzada a nivel de epítipo [98].

A pesar de ello, los antivenenos son la única terapia científicamente validada para las intoxicaciones por mordeduras de serpiente. Un aspecto urgente que requiere atención en las instituciones que producen antivenenos es la aplicación de Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) para garantizar la sostenibilidad de los proyectos de producción y la disponibilidad y accesibilidad de antivenenos seguros y eficaces. Así como la implementación y ensayo de nuevas tecnologías como la producción de nanocuerpos.

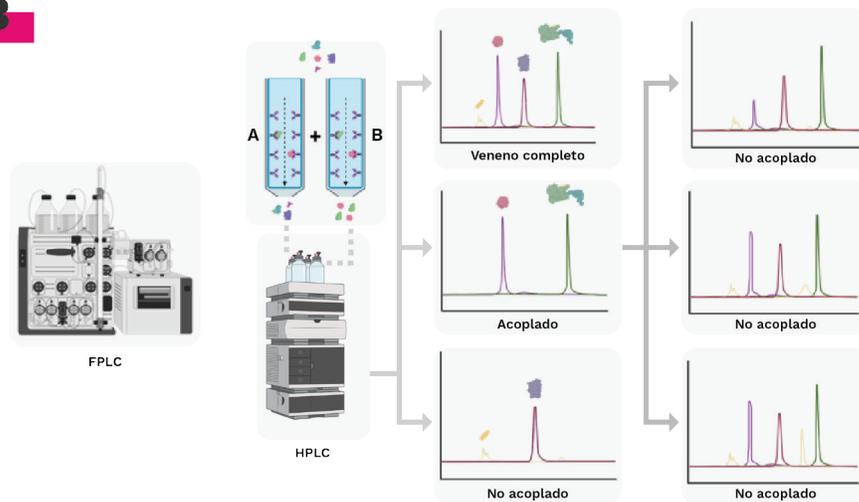
**G1**



**G2**



**G3**



**Figura 5.** Evolución de la metodología de antivenómica de inmunoreactividad. G1. Antivenómica de 1<sup>o</sup> generación, inmunoprecipitación de toxinas. G2. Antivenómica de 2<sup>o</sup> generación, columna de inunoafinidad con las moléculas de antiveneno. G3. Antivenómica de 3<sup>o</sup> generación, determinación de capacidad de unión y cuantificación de fracciones con inunoafinidad. Elaborada en BioRender.

#### **4. Retos y acciones en el tratamiento de mordeduras de serpientes**

A diferencia de otras amenazas para la salud pública, el envenenamiento causado por las mordeduras de serpiente no es susceptible de erradicación debido a la inevitable coexistencia entre humanos y serpientes, particularmente en regiones tropicales, y al incremento en los encuentros con estos reptiles como consecuencia de la expansión de los territorios humanos. A pesar de esta realidad, los esfuerzos orientados al desarrollo de alternativas terapéuticas para el manejo del envenenamiento ofídico siguen en marcha, con un enfoque en la optimización y modernización de los procesos de producción de antivenenos.

La implementación progresiva de normativas de bienestar animal en diversas regiones del mundo plantea desafíos significativos, entre ellos la potencial disminución del número de países con capacidad para producir antivenenos a gran escala. En consecuencia, resulta imperativo revisar y actualizar los protocolos de ensayos clínicos que emplean modelos animales, tomando en consideración la relación sufrimiento/beneficio inherente a los métodos actuales. Asimismo, es crucial fomentar el desarrollo y la validación de plataformas alternativas, como ensayos *in vitro* e *in silico*, diseñadas para generar resultados sólidos, reproducibles y clínicamente relevantes. Estas herramientas no solo facilitarán la transición hacia un paradigma más ético en la investigación y producción de antivenenos, sino que también garantizarán la sostenibilidad de su fabricación y el acceso universal a este insumo biológico estratégico para la salud pública.

Finalmente, aunque los antivenenos siguen siendo la terapia estandarizada de referencia para el tratamiento de los envenenamientos por mordedura de serpiente, es necesario que la producción de estos se oriente a la generación de antivenenos ampliamente específicos, asequibles, seguros y eficaces. Esto contribuiría a lograr una mayor homogeneidad de los antivenenos en todas las regiones, reduciendo el coste de producción y estabilizando el mercado de estas biomoléculas. Para ello, es fundamental contar con buenos inmunógenos, elegir correctamente el huésped de producción, mejorar los métodos de purificación de anticuerpos, realizar pruebas de antivenenos, incluidos modelos animales alternativos, ensayos *in vitro* e *in silico*, así como designar cadenas y sistemas de distribución apropiados para asegurarse que los antivenenos estén disponibles en cualquier localización, especialmente aquellas más cercanas y propensas a una mordedura de serpiente.

## Referencias

1. Dalefield, R. Antidotes. In *Veterinary Toxicology for Australia and New Zealand*; Elsevier, **2017**; pp. 33–39 ISBN 978-0-12-420227-6.
2. The Smithsonian Institution Antivenom Available online: <https://www.si.edu/spotlight/antibody-initiative/antivenom> (accessed on 1 May **2022**).
3. The University of Melbourne What Is Antivenom? Available online: <https://biomedicalsciences.unimelb.edu.au/departments/department-of-biochemistry-and-pharmacology/engage/avru/discover/what-is-antivenom> (accessed on 1 May **2022**).
4. Espino-Solis, G.P.; Riaño-Umbarila, L.; Becerril, B.; Possani, L.D. Antidotes against Venomous Animals: State of the Art and Prospectives. *J Proteomics* **2009**, *72*, 183–199, doi:10.1016/j.jprot.2009.01.020.
5. Waghmare, A.B.; Salvi, N.C.; Deopurkar, R.L.; Shenoy, P.A.; Sonpetkar, J.M. Evaluation of Health Status of Horses Immunized with Snake Venom and Montanide Adjuvants, IMS 3012 (Nanoparticle), ISA 206 and ISA 35 (Emulsion Based) during Polyvalent Snake Antivenom Production: Hematological and Biochemical Assessment. *Toxicon* **2014**, *82*, 83–92, doi:10.1016/j.toxicon.2014.02.012.
6. Bogado, F.; Núñez, S.; Mussart, N.B.; Leiva, L.; Acosta, O.C. Cambios Clínicos, Hemáticos y Coagulativos Consecuentes al Aumento de Anticuerpos En Equinos Productores de Suero Antiofídico. *Revista Veterinaria* **2013**, *24*, 3–9, doi:10.30972/vet.2411141.
7. Fan, H.W.; Vigilato, M.A.N.; Pompei, J.C.A.; Gutiérrez, J.M. Situation of Public Laboratories Manufacturing Antivenoms in Latin America. *Revista Panamericana de Salud Pública/Pan American Journal of Public Health* **2019**, *43*, doi:10.26633/RPSP.2019.92.
8. World Health Organization *Guidelines for the Production, Control and Regulation of Snake Antivenom Immunoglobulins*; **2017**.
9. WHO Issues New Recommendation on Antivenom for Snakebites Available online: <https://www.who.int/news/item/19-08-2018-who-issues-new-recommendation-on-antivenom-for-snakebites> (consultado 1 May **2022**).
10. Ministerio de Salud y Protección, C. *Decreto 386 de 2018*; Ministerio de Salud y Protección social: República de Colombia, **2018**; pp. 1–9.
11. INVIMA Sistema de Tramites En Línea - Consultas Públicas disponible en línea: [http://consultaregistro.invima.gov.co/Consultas/consultas/consreg\\_encabcum.jsp](http://consultaregistro.invima.gov.co/Consultas/consultas/consreg_encabcum.jsp) (consultado el 5 mayo **2022**).
12. Castillo-Beltrán, M.C.; Hurtado-Gómez, J.P.; Corredor-Espinel, V.; Ruiz-Gómez, F.J. A Polyvalent Coral Snake Antivenom with Broad Neutralization Capacity. *PLoS Negl Trop Dis* **2018**, *13*, 1–14, doi:10.1371/journal.pntd.0007250.
13. Gutiérrez, J.M.; Fan, H.W.; Silvera, C.L.M.; Angulo, Y. Stability, Distribution and Use of Antivenoms for Snakebite Envenomation in Latin America: Report of a Workshop. *Toxicon* **2009**, *53*, 625–630, doi:10.1016/J.TOXICON.2009.01.020.
14. Minsalud *Guía Para El Manejo de Emergencias Toxicológicas*; **2017**; ISBN 978-958-5401-33-4.
15. Oficina de laboratorios y control de calidad del INVIMA *Guía de Liberación de Lotes de Vacunas, Hemoderivados y Sueros de Origen*

- Animal (Suero Antiofídico)*; <https://www.invima.gov.co/sites/default/files/el-instituto/laboratorio/Guia%20Liberacion%20de%20Lote%20LPB%202021-03-26.pdf> (consultado el 1 May **2022**).
16. Jiménez-Charris, E.; Montealegre-Sánchez, L.; Solano-Redondo, L.; Castro-Herrera, F.; Fierro-Pérez, L.; Lomonte, B. Divergent Functional Profiles of Acidic and Basic Phospholipases A<sub>2</sub> in the Venom of the Snake *Porthidium lansbergii lansbergii*. *Toxicon* **2016**, *119*, 289–298, doi:10.1016/j.toxicon.2016.07.006.17.
  17. Posada Arias, S.; Rey-Suárez, P.; Pereáñez J, A.; Acosta, C.; Rojas, M.; Delazari Dos Santos, L.; Ferreira, R.S.; Núñez, V. Isolation and Functional Characterization of an Acidic Myotoxic Phospholipase A<sub>2</sub> from Colombian *Bothrops asper* Venom. *Toxins* **2017**, *9*, E342, doi:10.3390/toxins9110342.
  18. Fernandes, C.M.; Zamuner, S.R.; Zuliani, J.P.; Rucavado, A.; Gutiérrez, J.M.; Teixeira, C. de F.P. Inflammatory Effects of BaP1 a Metalloproteinase Isolated from *Bothrops asper* Snake Venom: Leukocyte Recruitment and Release of Cytokines. *Toxicon* **2006**, *47*, 549–559, doi:10.1016/j.toxicon.2006.01.009.
  19. Clissa, P.B.; Laing, G.D.; Theakston, R.D.; Mota, I.; Taylor, M.J.; Moura-da-Silva, A.M. The Effect of Jararhagin, a Metalloproteinase from *Bothrops jararaca* Venom, on pro-Inflammatory Cytokines Released by Murine Peritoneal Adherent Cells. *Toxicon* **2001**, *39*, 1567–1573, doi:10.1016/s0041-0101(01)00131-3.
  20. Vargas, L.J.; Londoño, M.; Quintana, J.C.; Rua, C.; Segura, C.; Lomonte, B.; Núñez, V. An Acidic Phospholipase A<sub>2</sub> with Antibacterial Activity from *Porthidium nasutum* Snake Venom. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol* **2012**, *161*, 341–347, doi:10.1016/j.cbpb.2011.12.010.
  21. Kini, R.M.; Evans, H.J. A Model to Explain the Pharmacological Effects of Snake Venom Phospholipases A<sub>2</sub>. *Toxicon* **1989**, *27*, 613–635, doi:10.1016/0041-0101(89)90013-5.
  22. Sanjuán, J.; Vargas, J.; Ortiz, F.; Gonzalez-Herrera, L.; Watanabe-Minto, B.; Granja-Salcedo, Y. Determinación de la DL<sub>50</sub> del Veneno de serpientes adultas de la especie *Bothrops atrox* en ratones albinos. *Momentos de Ciencia* **2015**, *9*, 147–152.
  23. Segura, Á.; Herrera, M.; Villalta, M.; Vargas, M.; Gutiérrez, J.M.; León, G. Assessment of Snake Antivenom Purity by Comparing Physicochemical and Immunochemical Methods. *Biologicals* **2013**, *41*, 93–97, doi:10.1016/j.biologicals.2012.11.001.
  24. Vázquez, H.; Olvera, F.; Alagón, A.; Sevcik, C. Production of Anti-Horse Antibodies Induced by IgG, F(Ab')<sub>2</sub> and Fab Applied Repeatedly to Rabbits. Effect on Antivenom Pharmacokinetics. *Toxicon* **2013**, *76*, 362–369, doi:10.1016/j.toxicon.2013.09.004.
  25. Chippaux, J.P. Guidelines for the Production, Control and Regulation of Snake Antivenom Immunoglobulins. *Biol Aujourdhui* **2010**, *204*, 87–91, doi:10.1051/jbio/2009043.
  26. De Roodt; Rafael, A.; Eduardo, G.; Jorge, A.; Malbrán, I.N.P.B.A.N.L.I.S.C.G.; Vélez, A.; Aires, C.D.B.; Adolfo, C.O.S.; Roodt, R. De; Litwin, S.; et al. Comparación Entre Dos Métodos de Producción Para La Elaboración de Antivenenos Ofídicos. *Acta Toxicol. Argent* **2010**, *18*, 10–20.
  27. Amazonas, D.R.; Portes-Junior, J.A.; Nishiyama-Jr, M.Y.; Nicolau, C.A.; Chalkidis, H.M.; Mourão, R.H.V.; Grazziotin, F.G.; Rokyta, D.R.; Gibbs,

- H.L.; Valente, R.H.; et al. Molecular Mechanisms Underlying Intraspecific Variation in Snake Venom. *J Proteomics* **2018**, *181*, 60–72, doi:10.1016/j.jprot.2018.03.032.
28. Pope, C.G. The Action of Proteolytic Enzymes on the Antitoxins and Proteins in Immune Sera: I. *Brit. J. exp. Path* **1939**, *20*, 132–149.
  29. Pope, C.G. The Action of Proteolytic Enzymes on the Antitoxins and Proteins in Immune Sera: II. *Br J Exp Pathol* **1939**, *20*, 201–212.
  30. Rojas, G.; Jiménez, J.; Gutiérrez, J. Caprylic Acid Fractionation of Hyperimmune Horse Plasma: Description of a Simple Procedure for Antivenom Production. *Toxicon* **1994**, *32*, 351–363, doi:10.1016/0041-0101(94)90087-6.
  31. Simsiriwong, P.; Eursakun, S.; Ratanabanangkoon, K. A Study on the Use of Caprylic Acid and Ammonium Sulfate in Combination for the Fractionation of Equine Antivenom F(Ab')<sub>2</sub>. *Biologicals* **2012**, *40*, 338–344, doi:10.1016/j.biologicals.2012.05.002.
  32. Calvete, J.J.; Sanz, L.; Angulo, Y.; Lomonte, B.; Gutiérrez, J.M. Venoms, Venomics, Antivenomics. *FEBS Lett* **2009**, *583*, 1736–1743, doi:10.1016/j.febslet.2009.03.029.
  33. Valenta, J. *Venomous Snakes-Envenoming Therapy*; Nova Science, **2010**; ISBN 6312317269.
  34. Casewell, N.R.; Jackson, T.N.W.; Laustsen, A.H.; Sunagar, K. Causes and Consequences of Snake Venom Variation. *Trends Pharmacol Sci* **2020**, *41*, 570–581.
  35. Casewell, N.R.; Wagstaff, S.C.; Wüster, W.; Cook, D.A.N.; Bolton, F.M.S.; King, S.I.; Pla, D.; Sanz, L.; Calvete, J.J.; Harrison, R.A. Medically Important Differences in Snake Venom Composition Are Dictated by Distinct Postgenomic Mechanisms. *Proc Natl Acad Sci U S A* **2014**, *111*, 9205–9210, doi:10.1073/pnas.1405484111.
  36. Engmark, M.; Lomonte, B.; Gutiérrez, J.M.; Laustsen, A.H.; De Masi, F.; Andersen, M.R.; Lund, O. Cross-Recognition of a Pit Viper (Crotalinae) Polyspecific Antivenom Explored through High-Density Peptide Microarray Epitope Mapping. *PLoS Negl Trop Dis* **2017**, *11*, e0005768, doi:10.1371/journal.pntd.0005768.
  37. Chippaux, J.P.; Goyffon, M. Venoms, Antivenoms and Immunotherapy. *Toxicon* **1998**, *36*, 823–846, doi:10.1016/S0041-0101(97)00160-8.
  38. Mackessy, S. *Handbook of Venoms and Toxins of Reptiles*; Mackessy, S., Ed.; CRC Press, **2016**; ISBN 9780429186394.
  39. Vázquez, H.; Chávez-Haro, A.; García-Ubbelohde, W.; Mancilla-Nava, R.; Paniagua-Solís, J.; Alagón, A.; Sevcik, C. Pharmacokinetics of a F(Ab')<sub>2</sub> Scorpion Antivenom in Healthy Human Volunteers. *Toxicon* **2005**, *46*, 797–805, doi:10.1016/j.toxicon.2005.08.010.
  40. Andrew, S.M.; Titus, J.A. Purification of Immunoglobulin G. In *Current Protocols in Cell Biology*; **2001**; Chapter 2: Unit 2.7. doi: 10.1002/0471142735.im0207s21
  41. Virtual Amrita lab Fragmentation of IgG Using Papain Available online: <https://vlab.amrita.edu/?sub=3&brch=70&sim=1349&cnt=1> (Consultado el 3 May **2022**).
  42. Ismail, M.; Abd-Elsalam, M.A. Pharmacokinetics of 125I-Labelled IgG, F(Ab')<sub>2</sub> and Fab Fractions of Scorpion and Snake Antivenins: Merits and Potential for Therapeutic Use. *Toxicon* **1998**, *36*, 1523–1528, doi:10.1016/S0041-0101(98)00144-5.

43. Stowers, R.S.; Callihan, J.; Bryers, J. Optimal Conditions for F(Ab)<sub>2</sub> Antibody Fragment Production from Mouse IgG2a. *Undergraduate Research in Bioengineering* **2008**, 16–20.
44. Otero-Patiño, R.; Segura, Á.; Herrera, M.; Angulo, Y.; León, G.; Gutiérrez, J.M.; Barona, J.; Estrada, S.; Pereañez, A.; Quintana, J.C.; et al. Comparative Study of the Efficacy and Safety of Two Polyvalent, Caprylic Acid Fractionated [IgG and F(Ab')<sub>2</sub>] Antivenoms, in *Bothrops asper* Bites In Colombia. *Toxicon* **2012**, 59, 344–355, doi:10.1016/j.toxicon.2011.11.017.
45. Otero, R.; León, G.; Gutiérrez, J.M.; Rojas, G.; Toro, M.F.; Barona, J.; Rodríguez, V.; Díaz, A.; Núñez, V.; Quintana, J.C.; et al. Efficacy and Safety of Two Whole IgG Polyvalent Antivenoms, Refined by Caprylic Acid Fractionation with or without  $\beta$ -Propiolactone, in the Treatment of *Bothrops asper* Bites in Colombia. *Trans R Soc Trop Med Hyg* **2006**, 100, 1173–1182, doi:10.1016/j.trstmh.2006.01.006.
46. Mendes, T.M.; Oliveira, D.; Figueiredo, L.F.M.; Machado-de-Avila, R.A.; Duarte, C.G.; Dias-Lopes, C.; Guimarães, G.; Felicori, L.; Minozzo, J.C.; Chávez-Olortegui, C. Generation and Characterization of a Recombinant Chimeric Protein (RCpLi) Consisting of B-Cell Epitopes of a Dermonecrotic Protein from *Loxosceles intermedia* Spider Venom. *Vaccine* **2013**, 31, 2749–2755, doi:10.1016/j.vaccine.2013.03.048.
47. Gutiérrez, J.M.; León, G.; Burnouf, T. Antivenoms for the Treatment of Snakebite Envenomings: The Road Ahead. *Biologicals* **2011**, 39, 129–142, doi:10.1016/j.biologicals.2011.02.005.
48. Rucavado, A.; Núñez, J.; Gutiérrez, J.M. Blister Formation and Skin Damage Induced by BaP1, a Haemorrhagic Metalloproteinase from the Venom of the Snake *Bothrops Asper*. *Int J Exp Pathol* **1998**, 79, 245–254.
49. Queiroz, L.S.; Santo Neto, H.; Assakura, M.T.; Reichl, A.P.; Mandelbaum, F.R. Pathological Changes in Muscle Caused by Haemorrhagic and Proteolytic Factors from *Bothrops jararaca* Snake Venom. *Toxicon* **1985**, 23, 341–345, doi:10.1016/0041-0101(85)90158-8.
50. Krifi, M.N.; El Ayeb, M.; Dellagi, K. The improvement and standardization of antivenom production in developing countries: comparing antivenom quality, therapeutical efficiency, and cost. *Journal of Venomous Animals and Toxins* **1999**, 5, 128–141, doi:10.1590/s0104-79301999000200002.
51. Seifert, S.A.; Boyer, L. V. Recurrence Phenomena after Immunoglobulin Therapy for Snake Envenomations: Part 1. Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Immunoglobulin Antivenoms and Related Antibodies. *Ann Emerg Med* **2001**, 37, 189–195, doi:10.1067/mem.2001.113135.
52. Núñez, V.; Cid, P.; Sanz, L.; De La Torre, P.; Angulo, Y.; Lomonte, B.; Gutiérrez, J.M.; Calvete, J.J. Snake Venomics and Antivenomics of *Bothrops atrox* Venoms from Colombia and the Amazon Regions of Brazil, Perú and Ecuador Suggest the Occurrence of Geographic Variation of Venom Phenotype by a Trend towards Paedomorphism. *J Proteomics* **2009**, 73, 57–78, doi:10.1016/j.jprot.2009.07.013.
53. Gutiérrez, J.M.; Lomonte, B.; León, G.; Alape-Girón, A.; Flores-Díaz, M.; Sanz, L.; Angulo, Y.; Calvete, J.J. Snake Venomics and Antivenomics: Proteomic Tools in the Design and Control of Antivenoms for the Treatment of Snakebite Envenoming. *J Proteomics* **2009**, 72, 165–182, doi:10.1016/j.jprot.2009.01.008.

54. Gutiérrez, J.M.; León, G.; Lomonte, B. Pharmacokinetic-Pharmacodynamic Relationships of Immunoglobulin Therapy for Envenomation. *Clin Pharmacokinet* **2003**, *42*, 721–741, doi:10.2165/00003088-200342080-00002.
55. Casewell, N.R.; Cook, D.A.N.; Wagstaff, S.C.; Nasidi, A.; Durfa, N.; Wüster, W.; Harrison, R.A. Pre-Clinical Assays Predict Pan-African Echis Viper Efficacy for a Species-Specific Antivenom. *PLoS Negl Trop Dis* **2010**, *4*, e851, doi:10.1371/journal.pntd.0000851.
56. Fernandes, I.; Assumpção, G.G.; Silveira, C.R.F.; Faquim-Mauro, E.L.; Tanjoni, I.; Carmona, A.K.; Alves, M.F.M.; Takehara, H.A.; Rucavado, A.; Ramos, O.H.P.; et al. Immunochemical and Biological Characterization of Monoclonal Antibodies against BaP1, a Metalloproteinase from *Bothrops asper* Snake Venom. *Toxicon* **2010**, *56*, 1059–1065, doi:10.1016/j.toxicon.2010.07.014.
57. Maria, W.S.; Cambuy, M.O.; Costa, J.O.; Velarde, D.T.; Chávez-Olortegui, C. Neutralizing Potency of Horse Antithropic Antivenom. Correlation between *in vivo* and *in vitro* Methods. *Toxicon* **1998**, *36*, 1433–1439, doi:10.1016/S0041-0101(98)00077-4.
58. Kapp, R.W. *Clarke's Analysis of Drugs and Poisons*, 3rd ed.; Moffat, A.C., Osselton, M.D., Widdop, B., Eds.; Pharmaceutical Press: London, UK, 2004; Vol. I, pp. 1–480; Vol. II, pp. 1–1176; ISBN 0-853-69473-7. *Int. J. Toxicol.* **2006**, *25*, 81–82.
59. Lomonte, B. Manual de Métodos Inmunológicos. *Métodos Inmunológicos* **2007**, 138.
60. World Health Organization *Guidelines for the Clinical Management of Snake Bites in the South-East Asia Region*; New-Delhi, **2005**.
61. Instituto Nacional de Salud de Perú Sueros Antiponzoñosos disponible en línea: <https://web.ins.gob.pe/es/productos-biologicos/productos> (consultado el 1 mayo **2022**).
62. Scanes, C.G. Animals and Human Disease: Zoonosis, Vectors, Food-Borne Diseases, and Allergies. In *Animals and Human Society*; Academic Press, **2017**; pp. 331–354 ISBN 9780128052471.
63. Sarmiento, K.; Rodríguez, A.; Quevedo-Buitrago, W.; Torres, I.; Ríos, C.; Ruiz, L.; Salazar, J.; Hidalgo-Martínez, P.; Diez, H. Comparación de La Eficacia, La Seguridad y La Farmacocinética de Los Antivenenos Antiofídicos: Revisión de Literatura. *Universitas Médica* **2019**, *61*, doi:10.11144/javeriana.umed61-1.anti.
64. Isbister, G.K. Antivenom Efficacy or Effectiveness: The Australian Experience. *Toxicology* **2010**, *268*, 148–154.
65. Laustsen, A.H.; María Gutiérrez, J.; Knudsen, C.; Johansen, K.H.; Bermúdez-Méndez, E.; Cerni, F.A.; Jürgensen, J.A.; Ledsgaard, L.; Martos-Esteban, A.; Øhlenschläger, M.; et al. Pros and Cons of Different Therapeutic Antibody Formats for Recombinant Antivenom Development. *Toxicon* **2018**, *146*, doi:10.1016/j.toxicon.2018.03.004.
66. Espino-Solis, G.P.; Riaño-Umbarila, L.; Becerril, B.; Possani, L.D. Antidotes against Venomous Animals: State of the Art and Prospectives. *J Proteomics* **2009**, *72*, 183–199, doi:10.1016/j.jprot.2009.01.020.
67. Laustsen, A.; Solà, M.; Jappe, E.C.; Oscoz, S.; Lauridsen, L.P.; Engmark, M. Biotechnological Trends in Spider and Scorpion Antivenom Development. *Toxins* **2016**, *8*, doi:10.3390/toxins8080226.

68. de la Rosa, G.; Olvera, F.; Archundia, I.G.; Lomonte, B.; Alagón, A.; Corzo, G. Horse Immunization with Short-Chain Consensus -Neurotoxin Generates Antibodies against Broad Spectrum of Elapid Venomous Species. *Nat Commun* **2019**, *10*, 1–8, doi:10.1038/s41467-019-11639-2.
69. Kadkhodazadeh, M.; Rajabibazl, M.; Motedayen, M.; Shahidi, S.; Veisi Malekshahi, Z.; Rahimpour, A.; Yarahmadi, M. Isolation of Polyclonal Single-Chain Fragment Variable (ScFv) Antibodies Against Venomous Snakes of Iran and Evaluation of Their Capability in Neutralizing the Venom. *Iran J Pharm Res* **2020**, *19*, 288–296, doi:10.22037/ijpr.2019.14400.12358.
70. Kazemi-Lomedasht, F.; Yamabhai, M.; Sabatier, J.-M.; Behdani, M.; Zareinejad, M.R.; Shahbazzadeh, D. Development of a Human ScFv Antibody Targeting the Lethal Iranian Cobra (*Naja oxiana*) Snake Venom. *Toxicon* **2019**, *171*, 78–85, doi:10.1016/j.toxicon.2019.10.006.
71. Romero-Giraldo, L.E.; Pulido, S.; Berrío, M.A.; Flórez, M.F.; Rey-Suárez, P.; Nuñez, V.; Pereañez, J.A. Heterologous Expression and Immunogenic Potential of the Most Abundant Phospholipase A<sub>2</sub> from Coral Snake *Micrurus dumerilii* to Develop Antivenoms. *Toxins* **2022**, *14*, doi:10.3390/TOXINS14120825.
72. Gutiérrez, J.M.; Calvete, J.J.; Habib, A.G.; Harrison, R.A.; Williams, D.J.; Warrell, D.A. Snakebite Envenoming. *Nat Rev Dis Primers* **2017**, *3*, 17063, doi:10.1038/nrdp.2017.63.
73. Resiere, D.; Arias, A.S.; Villalta, M.; Rucavado, A.; Brouste, Y.; Cabié, A.; Névière, R.; Césaire, R.; Kallel, H.; Mégarbane, B.; et al. Preclinical Evaluation of the Neutralizing Ability of a Monospecific Antivenom for the Treatment of Envenomings by *Bothrops lanceolatus* in Martinique. *Toxicon* **2018**, *148*, 50–55, doi:10.1016/j.toxicon.2018.04.010.
74. Theakston, R.D.G.; Reid, H.A. Development of Simple Standard Assay Procedures for the Characterization of Snake Venoms. *Bull World Health Organ* **1983**, *61*, 949–956.
75. WHO/SEARO: Guidelines for the clinical management of snake bites in the Southeast Asian region *The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*; **1999**.
76. World Health Organization: Guidelines for the Production, Control and Regulation of Snake Antivenom Immunoglobulins. *World Health Organization* **2010**, *204*, 87–91.
77. World Health Organization: The Biological Potency Assay for Antivenom Preparations. *Expert Committee on Biological Standardization* **1990**.
78. World Health Organization: Progress in the Characterization of Venoms and Standardization of Antivenoms. *World Health Organization Offset Publication* **1981**, 1–44.
79. Meier, J.; Theakston, R.D.G. Approximate LD<sub>50</sub> Determinations of Snake Venoms Using Eight to Ten Experimental Animals. *Toxicon* **1986**, *24*, 395–401, doi:10.1016/0041-0101(86)90199-6.
80. Ramakrishnan, M.A. Determination of 50% Endpoint Titer Using a Simple Formula. *World J Virol* **2016**, *5*, 85, doi:10.5501/WJVV.5.12.85.
81. World Health Organization: *Requirements for Biological Substances No. 21, WHO Technical Report Series No. 463, Annex 1. WHO Expert Committee on Biological Standardisation, 23rd Report*; **1971**.

82. Sells, P.G. Animal Experimentation in Snake Venom Research and *in vitro* Alternatives. *Toxicon* **2003**, *42*, 115–133, doi:10.1016/S0041-0101(03)00125-9.
83. Engvall, E.; Perlmann, P. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) Quantitative Assay of Immunoglobulin G. *Immunochemistry* **1971**, *8*, 871–874, doi:10.1016/0019-2791(71)90454-X.
84. Mahmood, T.; Yang, P.C. Western Blot: Technique, Theory, and Trouble Shooting. *N Am J Med Sci* **2012**, *4*, 429–434, doi:10.4103/1947-2714.100998.
85. Gavini, K.; Parameshwaran, K. Western Blot. StatPearls [Internet]; StatPearls Publishing: Treasure Island, FL, USA, 2025. Available online: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK542290/> (Consultado el 1 noviembre **2023**).
86. Lomonte, B.; Escolano, J.; Fernández, J.; Sanz, L.; Angulo, Y.; Gutiérrez, J.M.; Calvete, J.J. Snake Venomics and Antivenomics of the Arboreal Neotropical Pitvipers *Bothriechis lateralis* and *Bothriechis schlegelii*. *J Proteome Res* **2008**, *7*, 2445–2457, doi:10.1021/pr8000139.
87. Theakston, R.D.G.; Jane Lloyd-Jones, M.; Reid, H.A. Micro-elisa for detecting and assaying snake venom and venom-antibody. *The Lancet* **1977**, *310*, 639–641, doi:10.1016/S0140-6736(77)92502-8.
88. Theakston, R.D.G. The Application of Immunoassay Techniques, Including Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA), to Snake Venom Research. *Toxicon* **1983**, *21*, 341–352, doi:10.1016/0041-0101(83)90090-9.
89. Voller, A.; Bartlett, A.; Bidwell, D.E. Enzyme Immunoassays with Special Reference to ELISA Techniques. *J Clin Pathol* **1978**, *31*, 507–520, doi:10.1136/jcp.31.6.507.
90. Theakston, R.D.G.; Reid, H.A. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) in Assessing Antivenom Potency. *Toxicon* **1979**, *17*, 511–515, doi:10.1016/0041-0101(79)90284-8.
91. Burnette, W.N. “Western Blotting”: Electrophoretic Transfer of Proteins from Sodium Dodecyl Sulfate-Polyacrylamide Gels to Unmodified Nitrocellulose and Radiographic Detection with Antibody and Radioiodinated Protein A. *Anal Biochem* **1981**, *112*, 195–203, doi:10.1016/0003-2697(81)90281-5.
92. Sawyer, A. What Is Western Blotting? The Story of the Western Blot - BioTechniques Available online: <https://www.biotechniques.com/biochemistry/south-north-east-and-west-ern-the-story-of-how-the-western-blot-came-into-being/> (Consultado el 4 May **2022**).
93. Isbister, G.K. Antivenom Efficacy or Effectiveness: The Australian Experience. *Toxicology* **2010**, *268*, 148–154.
94. Calvete, J.J.; Lomonte, B.; Sanz, L.; Pérez, A.; Rodríguez, Y.; Gutiérrez, J.M.; Pla, D. Venómica y antivenómica: herramientas proteómicas para hacer frente a la patología desatendida del envenenamiento ofídico. In *Estrategias y Avances en el Estudio de Toxinas de Interés para la Biomedicina*; Calvete, J.J., Ed.; Instituto de Biomedicina de Valencia: Valencia, España, **2015**; pp. 79–97.
95. Calvete, J.J.; Rodríguez, Y.; Quesada-Bernat, S.; Pla, D. Toxin-Resolved Antivenomics-Guided Assessment of the Immunorecognition Landscape of Antivenoms. *Toxicon* **2018**, *148*, 107–122, doi:10.1016/j.toxicon.2018.04.015.

96. Gutiérrez, J.M.; Solano, G.; Pla, D.; Herrera, M.; Segura, Á.; Vargas, M.; Villalta, M.; Sánchez, A.; Sanz, L.; Lomonte, B.; et al. Preclinical Evaluation of the Efficacy of Antivenoms for Snakebite Envenoming: State-of-the-Art and Challenges Ahead. *Toxins* **2017**, *9*, 163, doi:10.3390/toxins9050163.
97. Pla, D.; Gutiérrez, J.M.; Calvete, J.J. Second Generation Snake Antivenomics: Comparing Immunoaffinity and Immunodepletion Protocols. *Toxicon* **2012**, *60*, 688–699, doi:10.1016/j.toxicon.2012.04.342.
98. Ledsgaard, L.; Jenkins, T.P.; Davidsen, K.; Krause, K.E.; Martos-Esteban, A.; Engmark, M.; Andersen, M.R.; Lund, O.; Laustsen, A.H. Antibody Cross-Reactivity in Antivenom Research. *Toxins* **2018**, *10*.
99. Calvete, J.J. Proteomic Tools against the Neglected Pathology of Snake Bite Envenoming. *Expert Rev Proteomics* **2011**, *8*, 739–758.
100. Calvete, J.J.; Lomonte, B.; Sanz, L.; Pérez, A.; Rodríguez, Y.; Gutiérrez, J.M.; Pla, D. Venómica y Antivenómica: Herramientas Proteómicas para Hacer Frente a la Patología Desatendida del Envenenamiento Ofídico. In *Estrategias y Avances en el Estudio de Toxinas de Interés para la Biomedicina*; Calvete, J.J., Ed.; Instituto de Biomedicina de Valencia: Valencia, España, **2015**; pp. 79–97; ISBN 978-607-525-046-5.
101. Gutiérrez, J.M.; Lomonte, B.; Sanz, L.; Calvete, J.; Pla, D. Immunological Profile of Antivenoms: Preclinical Analysis of the Efficacy of a Polyspecific Antivenom through Antivenomics and Neutralization Assays. *J Proteomics* **2014**, 340–350, doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.jprot.2014.02.021.
102. Pla, D.; Rodríguez, Y.; Calvete, J.J. Third Generation Antivenomics: Pushing the Limits of the *in vitro* Preclinical Assessment of Antivenoms. *Toxins* **2017**, *9*, doi:10.3390/toxins9050158.

# Capítulo 7

## De venenos, amores y odios

**Amira Abultaif Kadamani**

**Resumen:** Este capítulo presenta la historia de la producción de suero antiofídico en Colombia por parte de las entidades públicas de salud. Los registros encontrados señalan que este proceso empezó en la década de 1930 por el llamado Instituto Nacional de Higiene Samper Martínez, cimiento del hoy Instituto Nacional de Salud. Se realizó una revisión exhaustiva de documentos oficiales y no oficiales; entrevistas a algunos de los principales protagonistas involucrados en la producción de estos biológicos. Como resultado se presenta una contextualización histórica sobre la concepción y estudio científico de los venenos y antivenenos, así como una línea de tiempo que realiza y explica los hechos más significativos en ese proceso, el cual no se ejecutó de manera continua, sino que tuvo interrupciones a lo largo de distintas décadas debido a diversas circunstancias.

**Palabras claves:** Venenos, suero antiofídico, Instituto Nacional de Salud, antivenenos, suero polivalente, suero monovalente, serpientes.



Citación: Abultaif Kadamani, A. Capítulo 7: De venenos, amores y odios. En el libro: *Mordeduras, venenos y serpientes venenosas de Colombia*; Angarita-Sierra, T., Ruiz-Gómez, F.J, Eds.; Instituto Nacional de Salud: Bogotá D.C., Colombia, 2024; pp. 325–372. doi: 10.33610/733425auativ



Copyright: © 2024 por los autores. Publicación de acceso abierto bajo los términos y condiciones de licenciamiento Creative Commons Atribución (CC BY-NC-ND 4.0) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Ilustraciones por:  
Oscar A. Ramírez Ruiz

## 1. Introducción

*«Gilgamesh, viniste aquí, penando y esforzándote. ¿Qué te entregaré para que regreses a tu tierra? Revelaré, oh Gilgamesh, una cosa oculta, y [un secreto de los dioses] te diré: Esta planta, como el cambrón es [su ...]. Sus espinas pin [charán tus manos] como la rosa. Si tus manos obtienen la planta, [tú hallarás nueva vida]».*

Los ojos se le abrieron de par en par a este guerrero, quien se sumergió en las profundidades del mar para coger unas ramas, decidido a comerlas una vez arribara a la muralla de Uruk y con la ilusión de hacerse joven por siempre. Pero sucedió algo inesperado...

*«Gilgamesh vio un pozo cuya agua era fresca. Bajó a bañarse en el agua. Una serpiente olfateó la fragancia de la planta; Salió [del agua] y arrebató la planta. Al retirarse mudó de piel. A esto Gilgamesh se sienta y llora, las lágrimas se deslizan por su cara. [Cogió la mano] de Urshanabi, el barquero: “¿[Para] quién, Urshanabi, mis manos trabajaron? ¿Por quién se gasta la sangre de mi corazón? No obtuve una merced para mí”» [1].*

Y así, fugaz y esquiva, una serpiente se robó el sueño de inmortalidad de Gilgamesh, el héroe sumerio de Uruk cuyas hazañas, escritas sobre tablillas de piedra en letra cuneiforme, constituyen la primera epopeya de la humanidad.

No es el único episodio en el que el anhelo de trascendencia queda hecho trizas por cuenta de una sinuosa criatura. Es bien sabido el dolo que este reptil carga en el Génesis, donde es el primer y único animal mencionado en aquella historia bíblica que, entre otras, exalta su astucia y habilidad para ocultarse.

Aunque para los antiguos israelitas era un símbolo de la renovación del ciclo de la vida —por lo que su imagen era empleada en algunos amuletos de sanación—, para los cristianos fue el animal del pecado original, y ese estigma ha marcado buena parte de su odiosa reputación en la cultura occidental, al punto de ser tildado de demonio.

Pero como todo en la naturaleza es perfectamente circular y contingente —al fin de cuentas, espejo de la vida— en las serpientes anida no solo la maldición, sino también la bendición: veneno y antídoto en un mismo ser que alberga la esperanza de la salvación y que por eso se erige incólume en el báculo de Asklepios, dios griego de la Medicina y, más tarde, en el de Esculapio, su versión romana (ver Capítulo 10). De Roma proviene también el nombre castizo de su ponzoña, *venenum*, concebida entonces como aquella «poción mágica para hacerse amar o para despertar en uno mismo o en los demás el deseo sexual» [2]. ¿Y por qué se llama así? Porque le rinde honores a Venus, la deidad del amor.

Los ofidios, tan cilíndricos ellos, han sido a lo largo de los siglos un símbolo de privilegio al estar asociados con la renovación, la fecundidad, la longevidad, la prudencia, la sabiduría, la fortaleza y la inmortalidad. De

ahí su presencia como logo-símbolos en múltiples entidades de salud, desde la academia —en facultades médicas u odontológicas— hasta asociaciones de profesionales dedicadas a esta rama del saber y del hacer, pasando por organizaciones multilaterales, como la Organización Mundial de la Salud (ver Capítulo 10).

Y esa bondad de estos reptiles es la que aquí nos ocupa: la ciencia detrás de los sueros antiofídicos. Estas sustancias capaces de neutralizar los efectos devastadores de los venenos serpentinos se elaboran empleando las mismas toxinas de sus ponzoñas. Parece magia, pero es más que eso: en este caso, el acto de ilusionismo no contradice los hechos naturales, sino que los corrobora con probada nitidez.

El origen de cómo los sueros empezaron a cambiar el curso de la historia para una víctima por mordedura de culebra se le atribuye al microbiólogo e infectólogo francés Albert Calmette, un muy disciplinado, brillante y estructurado discípulo de Louis Pasteur. Como se narra en una publicación de la Real Sociedad de Londres para el Avance de la Ciencia Natural (conocida en inglés como Royal Society), en las postrimerías del siglo XIX, Calmette fue enviado a Saigón —hoy, Ho Chi Minh— para instaurar la sede del naciente Instituto Pasteur en la península Indochina. Abrumado por la cantidad de personas que morían al ser atacadas por cobras, decidió hacer un experimento: aplicar pequeñas y repetidas dosis de veneno de cobra en aves de corral y conejos, esperando a que adquirieran resistencia a este; se inspiró en lo que otros investigadores habían hecho con el bacilo causante de la difteria y el tétanos, los cuales, al ser inoculados en cantidades mínimas en distintos animales generaron en ellos sustancias neutralizantes [3].

Y, ¡eureka!, la hipótesis de Calmette fue comprobada y apoyada con experimentos realizados, simultáneamente, por otros científicos de la época, particularmente Henry Sewall con cascabeles y Gabriel Bertrand, Césaire Phisalix y su esposa Marie con el vipérido europeo común, *Vipera berus* [4]. Así, desde distintas orillas, pero un foco común, en 1894 nació la seroterapia como mecanismo de abordaje de los accidentes ofídicos. Con el brío y los recursos del Instituto Pasteur, a finales de ese año Calmette fue un paso más allá al demostrar exitosamente cómo se debería crear dicho suero: con la inoculación de veneno a caballos, animales vigorosos y capaces de desarrollar suficientes anticuerpos en su sangre para, a la postre, ser usados en humanos como remedio contra el veneno de serpientes [3].

Cuando, del otro lado del Atlántico, el médico brasileiro Vital Brazil (Figura 1) conoció el trabajo de Calmette, no dudó en acoger esos hallazgos para aplicarlos en su natal Brasil, tierra fecunda de ofidios de múltiples tipos. Según describe la revista Pesquisa de la Fundación de Apoyo a la Investigación Científica del Estado de São Paulo (FAPESP) [5], Brazil probó el suero desarrollado por el Instituto Pasteur en Francia, pero para su sorpresa no tuvo efecto alguno en cobayos atacados por las llamadas jararacas (*Bothrops jararaca*) o las cascabeles de esta zona del mundo

(*Crotalus durissus*); estas eran «las especies causantes del mayor número de incidencias en el estado de Sao Pablo», donde dirigía el Instituto Serumtherapico do Estado de São Paulo.



**Figura 1.** Billete de diez mil cruzeiros con el retrato del Dr Vital Brazil, Vital Brazil Mineiro da Campanha. (Tomada del libro Traumas, ponzoñas y venenos de origen animal en Colombia, de Hugo Sotomayor, Fundación Universitaria de Ciencias de la Salud, 2017, pg. 57).

¿La razón de esa ineffectividad? El suero francés era producido a partir del veneno de cobras de la *india* o cobra de anteojos (*Naja naja*), y todo indicaba que ese antídoto no podía ser universal. En otras palabras, «a veneno específico, suero específico», conforme lo consagró Brazil, y ese hallazgo reforzó un principio valiosísimo para la inmunología: la especificidad antigénica, aquella según la cual el sistema inmune de un ser humano responde de manera diferente a cada toxina o antígeno [5].

Con eso en mente, a principios del siglo XX el célebre científico brasileño se dedicó a la producción de sueros antiofídicos —entre otros productos biológicos— a partir de ponzoñas obtenidas de especies regionales. Pero no contento del todo, este sagaz investigador decidió hacer una combinación de venenos para obtener de ellos un suero que sirviera en múltiples casos de envenenamiento [6], pensando en que sería muy complejo para cualquier víctima advertir qué tipo de serpiente era la causante de su sufrimiento. Así, a finales de 1901, el Instituto Serumtherapico do Estado de São Paulo —que tiempo después sería rebautizado con el nombre de Instituto Butantán— desarrolló el suero antiofídico polivalente,

elaborado con ponzoñas de los ejemplares más desafiantes para la salud pública del gigante sudamericano: la jararaca y la cascabel [7].

Esa creación fue la punta de lanza para que otras instituciones en otras latitudes generaran productos semejantes, a base de venenos locales. Fue el caso del Instituto Clodomiro Picado, otro referente de América para el mundo. Esta entidad costarricense, adscrita a la Facultad de Microbiología de la Universidad de Costa Rica, se fundó formalmente en 1970. No obstante, los primeros lotes de antiveneno en suelo tico se produjeron en 1967 por parte de un grupo de entusiastas y estudiosos del proceso, quienes estructuraron el Programa de Sueros Antiofídicos, que estuvo bajo la administración inicial del Ministerio de Salubridad [8]. El caldo de cultivo que permitió materializar ese anhelo se cocinó décadas atrás y estuvo liderado por el prestigioso científico Clodomiro Picado (Figura 2) quien, pese a que nació en Nicaragua, se crió y se educó en Costa Rica, país natal de sus padres.



**Figura 2.** Billeto de 20 colones con la imagen de Clodomiro Picado (Costa Rica 1964-1970) Tomado del libro *Traumas, ponzoñas y venenos de origen animal en Colombia* por Hugo Sotomayor, Fundación Universitaria de Ciencias de la Salud, 2017, Pag. 58.

Formado en distintas disciplinas —entre ellas, farmacia, zoología, microbiología, inmunología y química—, Picado empezó a explorar el universo de los ofidios estando en el laboratorio de análisis clínico del Hospital San Juan de Dios, en Costa Rica, adonde llegaban múltiples accidentados de mordedura de serpientes, especialmente campesinos. Se puso en contacto con el Instituto Butantán de Brasil, con el que entabló una relación colaborativa y comenzó una intensa labor de investigación y estudio sobre serpientes y sus venenos, en su propio país. Paralelamente, abonó el terreno para lograr la elaboración y aprobación de la Ley # 13 de 1926,

conocida como Ley de Defensa contra el Ofidismo, que fue una legislación pionera en el continente porque, entre otras razones, estipulaba que el suero antiofídico fuera gratuito para las personas más desfavorecidas [9].

Décadas más tarde, quien fundaría el Instituto Clodomiro Picado fue Roger Bolaños, el microbiólogo y químico costarricense que instruyó a funcionarios del Instituto Nacional de Salud de Colombia en el desarrollo de suero antiofídico; su capacitación y guía fue fundamental para la creación de antivenenos colombianos, proceso que se formalizó y robusteció en 1974.

## 2. A vuelo de pájaro perspica

Antes de que Colombia elaborara sus propios antídotos de manera regular, en esta nación se emplearon los antivenenos producidos en Brasil y en Costa Rica, siendo el primero el de mayor uso (Figura 3). Sin embargo, para muchas comunidades, no era ni es la forma —o al menos, no la única— de abordar la mordedura de una serpiente. Dentro de la sabiduría ancestral de etnias indígenas y negras existieron múltiples mecanismos para hacerles frente, y hoy, en algunas zonas, se conservan como herencia [10].

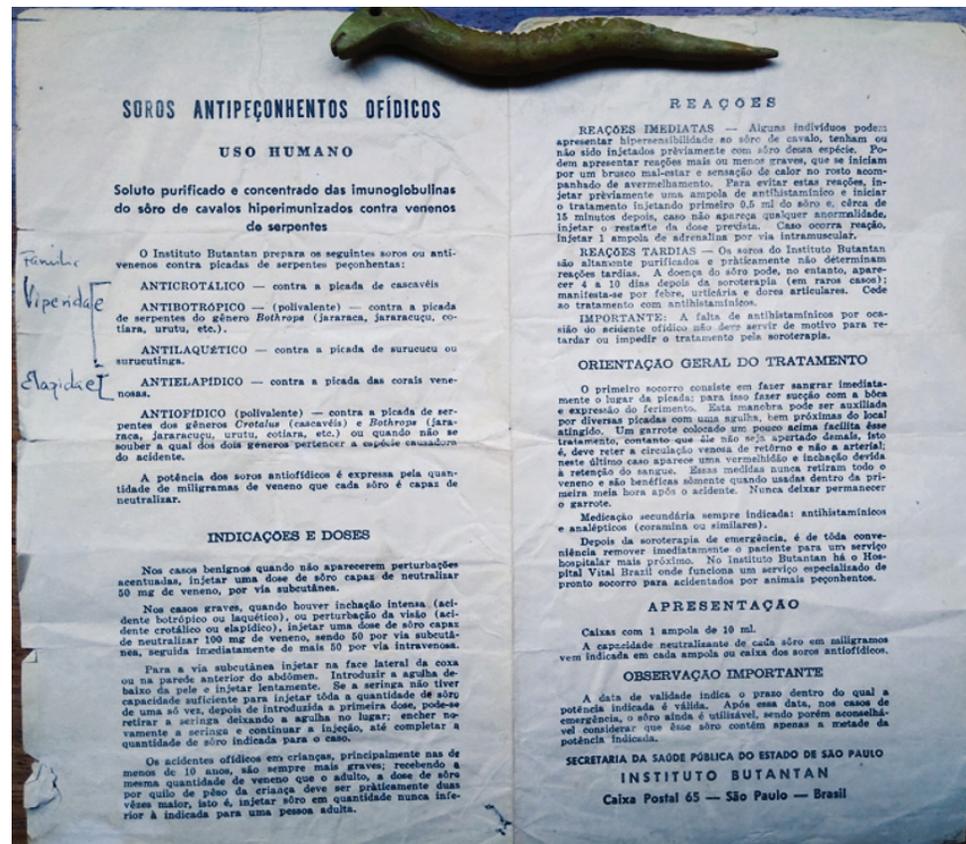


Figura 3. Foto del instructivo de uso del suero antiofídico producido por el Instituto Butantán de Brasil. Esta copia original fue usada en 1974 en Puerto Asís, Putumayo, por Hugo Sotomayor, durante su estancia rural en este municipio del sur del país, en aras de completar sus estudios de medicina en la Universidad Nacional. Cortesía: Colección del Dr. Hugo Sotomayor.

¿Que si existió un preservativo de culebras? Sí, y en el siglo XVIII. Así fue bautizado el bejuco del guaco, la planta más popular hace poco más de 200 años a la que se le atribuyó el increíble poder de curar al doliente

de una culebra ponzoñosa, y preservarse de su veneno —es decir, protegerse de este obteniendo inmunidad— al tomar su zumo con frecuencia. El filósofo, abogado y acólito de la Expedición Botánica Pedro Fermín de Vargas fue quien se apresuró a poner el apelativo, tras aventurarse a probarlo. En 1791 publicó el Estudio sobre el Guaco contra el veneno de las culebras [11], en el que relata las propiedades antiofídicas del género *Mikania* (principalmente *Mikania laevigata* y *M. glomerata*, las cuales reciben el nombre común de guaco).

Corría el año de 1788, cuando este ilustre neogranadino, estando en Mariquita, dispuso una digna misión de medicina experimental para tal fin:

*«Destinamos para esta operación el 30 de mayo; habiendo hecho venir desde la tarde antes un negro de un hacendado (...) que pasaba por el más diestro en aquellas peligrosas experiencias. El negro traxo (sic) consigo una culebra ponzoñosa, conocida allí por el nombre de Talla Equis, a causa de las manchas blancas que tiene sobre el lomo, y son algo semejantes a la letra X. En el día destinado cogió el negro la culebra entre sus manos, y habiéndole dado varios movimientos, sin que se inquietase, ni le mordiese, juzgué que el negro le había quitado antes los colmillos, o que la culebra era de la especie de las que no son venenosas. Hicela abrir la boca; pero notando en ella los dientes caninos, y asegurando todos ser de las más venenosas de aquella tierra, no me quedó duda de la eficacia del preservativo, y consiguientemente determiné hacer por mí mismo sujetándome a la práctica con que los negros hacen sus curaciones, para lograr la temible satisfacción de manosear las culebras.*

*La operación, pues, que se hizo conmigo fue la siguiente. Exprimió el negro en un vaso el zumo de algunas hojas de la yerba del guaco, me hizo tomar dos cucharadas de él, y pasó a inoculármele por la piel, haciéndome seis incisiones: en cada pie una, otra en el índice y el dedo pulgar de cada mano, y las dos últimas en los dos lados del pecho. En saliendo la sangre por estas pequeñas heridas, se derrama encima un poco del zumo dicho, y se frotan con la misma hoja. Después de lo cual se reputa el sugeto (sic) como verdaderamente curado, y en estado de coger cualquier culebra sin peligro alguno, como lo executé (sic) yo inmediatamente.*

*Aquel día no solo me inicié yo en estos ministerios, sino también otros varios sujetos que se hallaron en casa del Sr. Mutis. (...) Para satisfacerme de un modo indubitabile de la eficacia de la yerba del Guaco cogí yo con mis propias manos la culebra que se manifestó un poco inquieta; pero sin apariencia de morder, y perdido una vez el miedo, la volví a coger por dos veces en presencia del citado D. Joseph Mutis (...) y de muchísimas otras gentes que se hallaron presentes a la novedad».*

Narra el ilustre que, en vista de los buenos oficios atribuidos a la planta, otros se atrevieron a repetir la osadía, entre ellos, el pintor Francisco Matis, quien en la maniobra culebrera resultó herido en su mano derecha. No obstante, el episodio no pasó a mayores porque el negro en cuestión le frotó la yerba en su cuerpo y detuvo toda consecuencia maligna.

Y así quedó, a juicio de Vargas, conjurado el mito, ahora convertido en verdad, de las bondades del guaco, que debe su nombre, conforme se narra en su estudio, a un pájaro del mismo nombre que consumía esta yerba al momento de perseguir y cazar serpientes de zonas cálidas (probablemente el halcón *Herpetotheres cachinnans* el cual es conocido por alimentarse de serpientes, y en Colombia uno de sus nombres comunes es guaco). Se dice que fueron los afrodescendientes del Chocó quienes se percataron del comportamiento de estas aves, las cuales apelaban al peculiar bejuco con dos propósitos: o bien para repeler los efectos venenosos en los que pudieran incurrir si resultaban mordidas durante la brega de la caza o bien para adormecer a sus potenciales presas y lograr su rendición en el combate.

Según se describe, el olor repugnante que emana del cuerpo de quien la come, enajena las culebras para que no muerdan o para debilitar su veneno. No queda claro, sin embargo, «si el vapor de la yerba obra a fuerza del fastidio que causa (...), como verdaderamente anguicida (sic), o en virtud de una sensación agradable que las enajena (sic) y hace olvidar su natural ferocidad». Para los curanderos lo que sí es un hecho es que su extracto debe ser consumido de manera constante —al menos por cinco o seis días cada mes— y que sirve como antídoto contra todo tipo de serpientes.

Quien tampoco se privaría de exhibir sus visiones al respecto sería otro naturalista de excepción: Jorge Tadeo Lozano, quien dentro de sus estudios científicos publicó, en 1808, el libro *Sobre las serpientes* [12], en el que ofrece apuntes de historia natural sobre esta clase de reptiles en el Nuevo Reino de Granada y remedios para hacerle frente a sus mordeduras. Su entrada a este universo no podría ser menos acendrada:

*«Entre las varias y amenas partes de que se compone la zoología, no hay quizá otra más bella e importante que la herpetología o estudio de los reptiles; y entre éstos, el de las serpientes, pues en tal orden de animales, que el vulgo no contempla sino con el mayor espanto y horror, el naturalista admira la profusión con que la naturaleza acumuló portentos sobre portentos, y reunió las cosas más contradictorias en la apariencia. Aquí es donde se ve un cuerpo, al parecer inerte y privado en realidad de miembros motores, que goza de la ligereza del rayo, y con igual facilidad corre por la superficie de la tierra, atraviesa los más anchos lagos y caudalosos ríos, y se eleva a la cima de los más encumbrados árboles; aquí es donde, bajo el aspecto de un animal indefenso y que parece entregado a la merced de sus enemigos, se halla el gigantesco buio (güio o boa), que sin más armas que su desmesurada longitud y su fuerza, libra combate a nuestros más atrevidos y grandes animales [...], y no solo los vence, sino que enteros se los traga para su sustento; aquí es donde en varias especies del género Colube (Familia Colubridae) y en todas las del Crotallus (Crotalus = serpientes de cascabel), se halla escondido el dardo venenoso, cuya herida es mortal aunque tan pequeña, y que por el lugar que ocupa en la boca se llama colmillo, y por ser movable y retráctil y por su figura puede compararse a la uña de un gato; aquí es que, sin órganos propios para la masticación, se halla la más activa virtud digestiva; aquí se ven como con-*

*fundidas y mezcladas la generación ovípara y vivípara; y finalmente, aquí es donde el arte reconoce su impotencia para imitar los brillantes fugitivos matices que engalanan a las serpientes y que de algún modo disminuyen el horror que inspira su vista con la consideración de los funestos efectos que causa el veneno de aquellas especies que están provistas de arma tan mortal y terrible».*

Con gran vena literaria, este marqués que hizo parte de la Real Expedición Botánica de Santafé de Bogotá y fue encargado de la parte zoológica, describe y clasifica algunas de las características más sorprendentes de estos reptiles; también hace una radiografía sobre las reacciones fisiológicas que tienen los mordidos por culebras de distintas especies y su forma de afrontarlo, según los testimonios de víctimas de mordedura o de quienes las asistieron. Así mismo, ofrece sus conjeturas sobre la materia, entre ellas, que la humedad y el clima cálido empeoran el panorama al intensificar el poder activo del veneno y que este no solo sirve para que las culebras se defiendan o ataquen y coman, sino también para digerir las presas que engullen.

Vendarse un poco más arriba del área mordida, sepultar el miembro afectado dentro de un hoyo en la tierra y permanecer así durante 7 u 8 horas o succionar con la boca el veneno y luego escupirlo (manobra realizada por curanderos que mascan algunas hierbas como contra para evitar su propio envenenamiento) son algunos de los mecanismos primarios descritos en el libro para capotear un accidente ofídico. La estocada final y definitiva propuesta es la amputación de la parte afectada (práctica realizada por los afrodescendientes bozales, resalta el ilustre santafereño), previo análisis de la severidad con el que actúa el que llama «licor mortal».

A estos remedios mecánicos, cuyo propósito esencial es limitar cuanto más se pueda la circulación del veneno en el torrente sanguíneo y aliviar en algo la carga para la víctima, se le suelen sumar otras tácticas terapéuticas no médicas como la administración de sustancias con un efecto químico sobre la ponzoña, la sangre u otra parte del cuerpo (ver Capítulo 9). El objetivo de éstas es «desorganizar» el veneno, neutralizar su actividad, retardar su dispersión por el cuerpo, reponer «la irritabilidad del sistema nervioso» —que se indica como el principal afectado—, combatir la inflamación y/o resistir la putrefacción de los tejidos; puede ser una, alguna o todas las anteriores. Hoy en día sabemos que todas estas prácticas actúan en contra de la supervivencia del paciente, generando graves lesiones, empeorando su estado o, en el peor de los casos, causando su muerte (ver Capítulo 9).

En la paleta de opciones criollas él menciona, no sin antes recelar el capricho y la ignorancia con la que los curanderos charlatanes ofrecen milagros terapéuticos, el uso de aceite, aguardiente, caña con pólvora y una caterva de plantas como la *Polygala senega* (planta de la que dice que es eficaz contra el veneno de cascabel, originaria de Norte América [13]), la hoja del tabaco y el popular guaco, al que no solo se

le atribuyen propiedades curativas sino preventivas, tras beberlo en zumo o cocinado, como también lo explicó Pedro Fermín de Vargas en su escrito. «Sin embargo de esta aseveración que, dicen, está fundada en repetidas observaciones, y sin embargo de que se asegura que hay personas curadas que manejan impunemente las culebras, sé de cierto que a una negra que fue picada por una taya en la hacienda de Bajamón se le aplicó el guaco por dentro y por fuera en porciones muy considerables, y a pesar de las decantadas virtudes de este específico, murió miserablemente a las treinta horas de haberle sucedido aquella desgracia», afirma el marqués, versado en química por sus estudios en el Real Laboratorio de España.

Aunque exalta el trabajo del abate Fontana en sus estudios sobre el veneno de víboras europeas y su experimentación con potasa cáustica como poderoso antídoto, Jorge Tadeo Lozano reconoce la dificultad de acogerlo como remedio universal ante el gran desconocimiento sobre la naturaleza de los venenos y su variabilidad acorde a la procedencia del animal, la edad, el sexo y otras condiciones que pudieran incidir en su ponzoña (ver Capítulo 5). Con ello atisba el principio de «a veneno específico, suero específico», postulado casi un siglo más tarde por Vital Brazil.

Exalta, eso sí, la quina roja (*Cinchona oblongifolia*) y apunta que podría usarse para contrarrestar los efectos causados por el veneno de serpientes dado que, conforme a las «observaciones del inmortal Mutis, posee en supremo grado la virtud antipútrida, es un poderoso tónico astringente y febrífugo». Aclara, sin embargo, que esa es solo una conjetura suya que debe ser validada por la experiencia.

Finalmente, ofrece algunas orientaciones para quienes quieran estudiar con finura a estos animales que, aunque se han ganado el odio de los mortales, tienen honorabilidad: por un lado, porque cumplen una función dentro del ecosistema en el que habitan —como contener la proliferación de ciertas plagas—, y por el otro, porque atacan al hombre solo si han sido provocadas, voluntaria o involuntariamente.

Décadas más tarde, salieron a la luz otros textos sobre ofidismo, toxinología, efectos clínicos y estudios de casos de víctimas, en el país. Dentro de ese acervo literario se destacan las publicaciones del médico Andrés Posada Arango, sus homólogos Manuel Uribe Ángel y Evaristo García, los monjes Nicéforo María, Apolinar María y Daniel Julián González, el herpetólogo Federico Medem y los médicos Rodrigo Ángel, Rafael Otero y Santiago Ayerbe. Estos últimos tres galenos se formaron en toxinología (la ciencia que estudia las toxinas, que son producidas por organismos vivos como microorganismos, plantas y pequeños vertebrados, a diferencia de los tóxicos, que son sustancias sintéticas nocivas para un ser vivo) y fueron los precursores de dos de los programas académicos de estudio e investigación sobre el tema más robustos en el país: el Programa de Ofidismo/Escorpionismo de la Facultad de Medicina de la Universidad de Antioquia y el Grupo de Investigaciones Herpetológicas y Toxinológicas de la Universidad del Cauca.

### 3. Entre saberes ancestrales, ciencia y memorias vivas

Lo descrito anteriormente apenas son unas puntadas de cómo distintas poblaciones, desde siglos atrás, han afrontado las mordeduras de serpientes o su posible ocurrencia, en Colombia. Aunque algunas prácticas se conservan porque hacen parte de la idiosincrasia de las comunidades, muchas han acogido con gran receptividad las opciones que la ciencia ha desarrollado en las últimas décadas, principalmente el suero antiofídico, pero también, la investigación científica sobre la efectividad de extractos vegetales.

De hecho, esa es una de las líneas de estudio del Programa de Ofidismo/Escorpionismo de la Universidad de Antioquia, que en la década del 2000 inició varios estudios etnobotánicos con plantas usadas por curanderos en Antioquia y Chocó (uno de ellos fue presentado en el XV Congreso Internacional de Medicina Tropical y Malaria, realizado en Cartagena en el 2000 [14]). Se identificaron 101 especies vegetales, de las cuales 74 fueron sometidas a pruebas de neutralización del veneno de la serpiente Talla X (*Bothrops asper*), y de ellas, siete resultaron ser las más promisorias al inhibir completamente sus efectos letales en ratones [15].

La llamada medicina tradicional sigue teniendo un gran arraigo en poblaciones indígenas y afrocolombianas, especialmente en zonas rurales apartadas y cálidas, donde ocurre la mayor cantidad de accidentes ofídicos en el país. Oficialmente se reportan alrededor de 4.700 casos al año (ver Capítulo 9), con una mortalidad del 1%. Conforme al análisis de las estadísticas clínicas en Colombia, del total de las personas mordidas por culebras venenosas en la última década, el 56% presenta un grado de envenenamiento leve; el 36 %, moderado, y el 8 % restante, grave (ver Capítulo 9).

Vale aclarar que no todos los accidentes en los que una serpiente muerde a una persona hay envenenamiento; primero, porque en muchos eventos las culebras no son venenosas o porque tienen mecanismos de mordida poco eficiente y venenos de muy baja toxicidad para los humanos (ver Capítulos 5 y 9); y segundo, porque alrededor del 60% de las mordidas de las especies que sí son ponzoñosas, son señales de aviso [10], es decir, se hacen solo para disuadir a sus predadores o ahuyentar amenazas, no para inyectar veneno.

Aunque en 2009 la OMS incluyó el envenenamiento por serpientes dentro del listado de enfermedades tropicales desatendidas (tiempo después la retiró de esa clasificación pero en 2017 la reincorporó [16]), en Colombia ha habido un gran interés por subsanar esa situación, a través de tres mecanismos distintos: (1) producción local de antivenenos —proceso del que desde la década de 1930 hay registros[17]); (2) capacitación del personal de salud en la atención clínica de los accidentes ofídicos, impartida por autoridades sanitarias y galenos apasionados por el tema que se han formado y han extendido su saber, y (3) investigación y estudio de las especies presentes en nuestro país, el segundo más megadiverso del planeta.

Desafortunadamente no todas las naciones tienen la capacidad de producir antídotos para tratar los envenenamientos por serpientes; Colombia sí la tiene y hoy sus sueros antiofídicos sobresalen en el conti-

nente americano por su calidad. Gracias a nuestra riqueza biológica, los antivenenos que produce el Instituto Nacional de Salud acogen ponzoñas de diversas especies de serpientes provenientes de las distintas regiones colombianas, y con ellas se formulan sueros que, por reacción cruzada, neutralizan el efecto de los venenos de la mayoría de las serpientes de interés médico del país (ver Capítulo 6).

A continuación, el recuento de cómo ha sido toda esta odisea culebrera, documentada y contada por los protagonistas de cada etapa. En esta línea de tiempo, constituida, cómo no, por una *Bothrops asper* —la causante de la mayor cantidad de envenenamientos en el país— se refieren los hechos puntuales más relevantes de esta historia de venenos, amores y odios. ¡Bienvenidos!

### 3.1. Línea de tiempo

**-1916-**: El gobierno nacional, presidido por José Vicente Concha, compra la Hacienda Santo Domingo, donde décadas después funcionará el Serpentario de Armero.

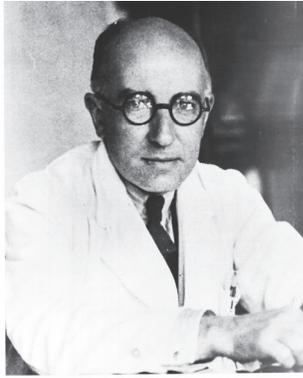
*Detalle:* Según el acta notarial de compraventa, esta hacienda pertenecía a la jurisdicción del municipio de San Lorenzo, que años después se llamaría Armero en honor al prócer de la independencia José León Armero. Este predio, de 1.141 hectáreas ubicado en el departamento del Tolima, fue adquirido por un valor de 40.00 pesos oro legal.

**-1925-**: Se promulga la Ley 15 de 1925, en la que el Congreso de Colombia autoriza al gobierno la compra del Laboratorio Samper-Martínez por ser una entidad privada capaz de atender necesidades de salud pública, entre ellas, la de producir suero antiofídico.

*Detalle:* En el artículo 69 de dicha ley se establece: «En este Laboratorio se prepararán de preferencia los sueros, vacunas y demás productos biológicos para combatir las enfermedades infecciosas reinantes en Colombia: la rabia, las mordeduras de serpientes y epizootias, como el carbunco bacteridiano, el carbunco sintomático, etc. Todos estos productos se venderán a principal y costo, con excepción de los que se destinen a combatir las enfermedades infecciosas en las clases pobres, y para las epidemias, casos en los cuales esos productos se suministrarán gratuitamente. A los productos biológicos de este Laboratorio que se exporten se les fijara el precio comercial».

**-1937-**: El gobierno colombiano emite el Decreto 1578 de 1937, que en su artículo 78 asigna 15.000 pesos para la construcción, dotación y funcionamiento de un serpentario destinado a la producción de suero antiofídico.

**-1937-**: El doctor Bernardo Samper Sordo, fundador del Instituto de Higiene Samper-Martínez (Figura 4), cimiento del posterior Instituto Nacional de Salud, dio un vigoroso impulso a la producción de sueros y robusteció el Serpentario de Armero. Se estableció el desarrollo de suero antiofídico polivalente.



DOCTOR BERNARDO SAMPER

República de Colombia  
MINISTERIO DE SALUD  
INSTITUTO NACIONAL DE SALUD

Reseña Histórica  
del  
Laboratorio Nacional de Salud  
"Samper-Martínez"

1917 - 1982



DOCTOR JORGE MARTÍNEZ SANTAMARÍA

Figura 4. Fotos del libro "Reseña Histórica del Laboratorio Nacional de Salud Samper Martínez, 1917-1982. (Derecha) Dr. Bernardo Samper. (Izquierda) Dr. Jorge Martínez Santamaría.

**-1966-**: El ministro de Salud de la época, Juan Jacobo Muñoz, solicita a la Dirección de Servicios Administrativos la adjudicación formal de un terreno de tres hectáreas, ocupados por el Serpentario de Armero, para la producción de suero antiofídico (Figura 5). En ese documento se establece que hubo producción de suero antiofídico hasta 1964.

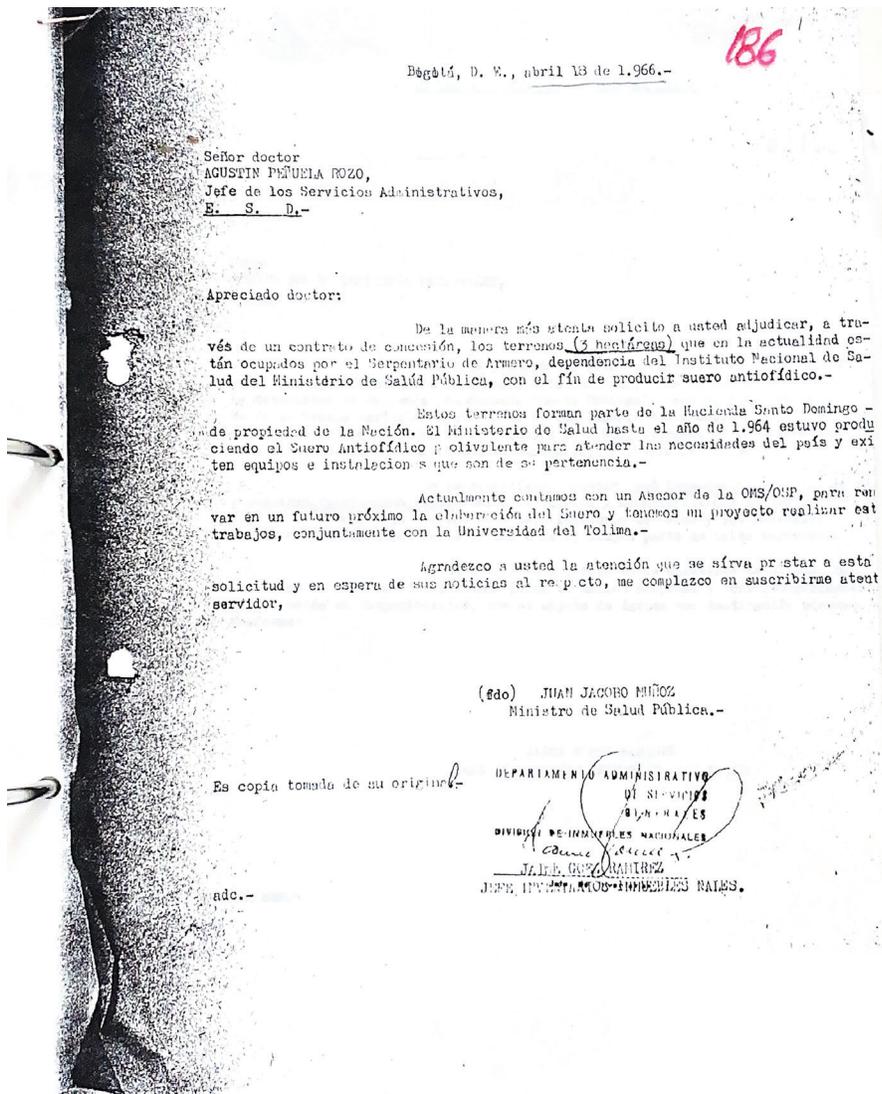


Figura 5. Carta dentro del dossier de documentos sobre el serpentario en poder del INS.

**-1967-**: El Congreso de la República promulga la Ley 39 del 9 de octubre de 1967, por medio de la cual la nación cede al Departamento del Tolima un terreno que a la postre será traspasado en comodato al Instituto Nacional de Salud para ser usado por el Serpentario de Armero.

*Detalle:* En la publicación oficial del acta de promulgación de la Ley 39 de 1967, fechada en octubre 9 de ese año, consta: la nación cede al «departamento del Tolima el lote de terreno de 350 hectáreas que formó parte de la antigua Hacienda Santo Domingo, ubicada en el municipio de Armero, que fue reservado a favor de la nación con destino a la Remonta del Ejército». En ese mismo documento también se hace la cesión al departamento de «los derechos que puedan corresponderle a la Nación en las edificaciones e instalaciones construidas para la Granja Experimental de Armero en los terrenos cedidos por aquélla al Departamento, y que fueron parte también de la antigua Hacienda Santo Domingo».

Casi tres meses después, el 29 de diciembre, el Departamento del Tolima concede a la Universidad del Tolima los derechos de propiedad y dominio de 200 hectáreas del predio en mención, con el compromiso de destinar ese bien a «funciones exclusivamente educativas, investigativas y de extensión que adelante la misma universidad», conforme se señala en la escritura pública # 2638 de 1967, notaría segunda de Ibagué (Figura 6).

En 1969, la Universidad cede, a su vez, a título de enajenación perpetua, un lote de ocho hectáreas y 59 metros que se desprende de la Hacienda Santo Domingo al llamado Instituto Armero, señalado como un establecimiento oficial de educación con personería jurídica de 1966 y regido por Carlos Alberto Rada Echeverry.

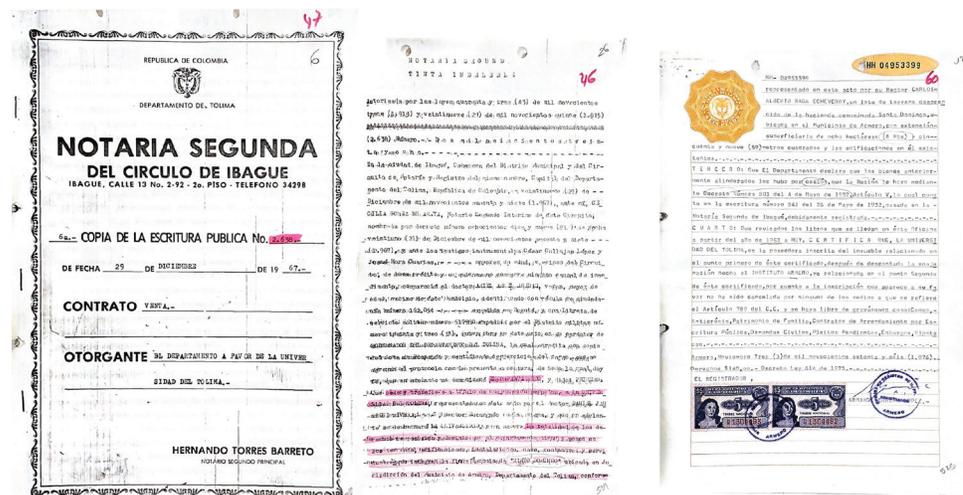


Figura 6. Fotos del título de enajenación perpetua, un lote de ocho hectáreas y 59 metros que se desprende de la Hacienda Santo Domingo.

**-1969-**: Se remodela el Serpentario de Armero, obra que incluyó la construcción de un laboratorio para la investigación epidemiológica regional —con secciones de parasitología, entomología y arbovirus— y un bioterio de ratones para la alimentación de las culebras.

**-1972-**: En la sección de Productos Biológicos del llamado en ese entonces Instituto Nacional para Programas Especiales de Salud (INPES), posteriormente Instituto Nacional de Salud (INS), se desarrollaron sueros terapéuticos —incluido el antiofídico— y se hicieron pruebas de laboratorio (electroforesis) para determinar la potencia de los venenos y los anti-venenos. Se creó un lote de 150 viales, pero meses después se suspendió la producción ante la falta de experiencia y conocimiento en el manejo de venenos, protocolos de inmunización y técnicas de titulación y producción. Surgió la necesidad de recibir capacitación internacional.

**-1974-**: Se desarrolla en Medellín un congreso de medicina tropical con renombrados invitados internacionales, entre ellos, Roger Bolaños, microbiólogo y químico costarricense que fue ponente de una conferencia sobre ofidismo en Costa Rica.

### **Testimonio de Juan Manuel Renjifo, biólogo, ex coordinador del Grupo de Sueros del Instituto Nacional de Salud**

«Ese congreso fue vital porque tendió sobre el tapete un reencuentro muy importante: el de Miguel Guzmán y Ernesto Barbosa, investigadores del INS, con Roger Bolaños; los tres fueron compañeros de estudio del doctorado en microbiología en la Universidad de Tulane, Estados Unidos. Al Congreso también asistió el director de parasitología del Instituto, Augusto Corredor, quien al término del evento y a su regreso a Bogotá, empezó las gestiones formales ante el Instituto Clodomiro Picado de Costa Rica para convocar al profesor Bolaños —que también era consultor de la Organización Panamericana de Salud— como asesor para nuestro Laboratorio de Sueros.

Yo era apenas un recién egresado de biología de la Universidad Javeriana que hizo su tesis de grado sobre culebras; varias personas del Instituto me ayudaron en el desarrollo e, incluso, me permitieron ir varias veces al serpentario de Armero para aprender el manejo de serpientes. Desde pequeño me interesé en ellas porque mi papá siempre tuvo animales en la casa, incluyendo culebras (Figura 7). Él, Santiago Renjifo Salcedo, era médico salubrista, estaba radicado en Cali y recorrió muchas partes del país haciendo estudios de malaria, principalmente. Fue ministro de Salud entre 1963 y 1965.



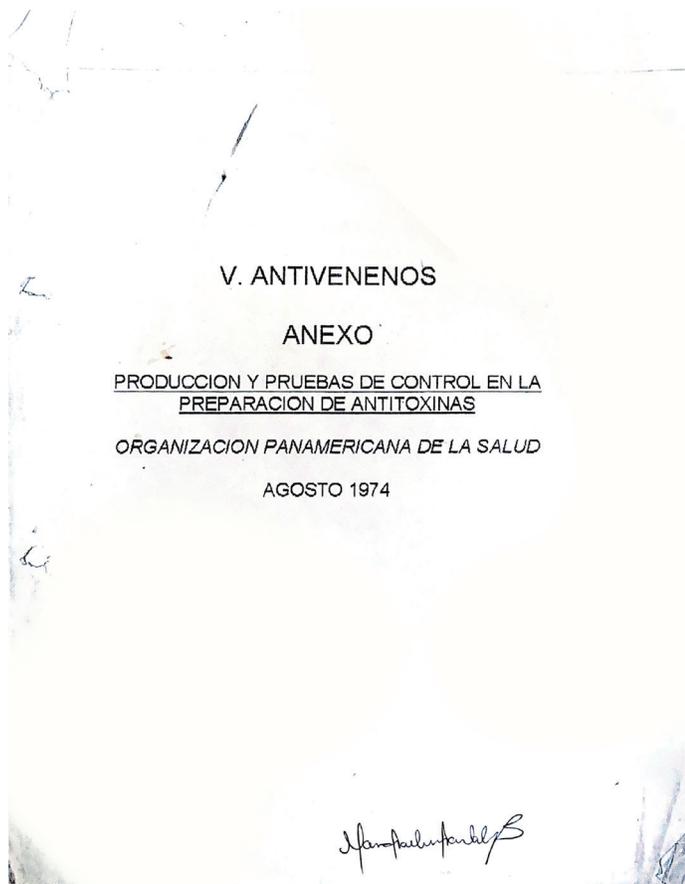


**Figura 7.** Juan Manuel Renjifo, de ocho años, mirando detenidamente a un güío (*Boa constrictor*) que deambula por su casa. Cortesía: Archivo privado de Juan Manuel Renjifo.

Muchas personas conocedoras me advirtieron que trabajar con estos reptiles era muy arriesgado y pensar en desarrollar sueros era muy complicado porque hasta la fecha los intentos habían resultado fallidos. No obstante, yo insistí por una razón fundamental: para mí no hay mejor aliado que me digan que no. Como dicen por ahí, si “a Dios se lo pido y a mí no me lo dan, ese es, entonces, mi camino”.

Entré al Instituto como auxiliar de investigación, y en vista de que me fue bien con el manejo de las serpientes de Armero, las directivas me propusieron que me encargara de la producción de sueros antiofídicos. Y así, en un abrir y cerrar de ojos, terminé siendo el coordinador del Grupo de Sueros. A pesar de que algo sabía de culebras, no tenía ni idea de la parte química ni inmunológica, y por eso en la primera persona en quien pensé para integrar el equipo fue en Guiomar Caicedo, que en ese momento trabajaba en el laboratorio de desarrollo de la vacuna contra DPT (Difteria, Tosferina y Tétanos). Cuando le conté de mis intenciones, lloró de la emoción».

**-1974-:** Roger Bolaños asesoró al Grupo de Sueros del INS dada su experiencia y profundo conocimiento en la creación de antivenenos en Costa Rica (Figura 8), donde fundó y fue el primer director del Instituto Clodomiro Picado, referente mundial en la materia.



**Figura 8.** Foto del informe realizado tras la consultoría de Roger Bolaños, en 1974.

### **Testimonio de Juan Manuel Renjifo, biólogo, ex coordinador del Grupo de Sueros del Instituto Nacional de Salud**

«La guía del Dr. Bolaños resultó crucial (Figura 8). Fue Guiomar Caicedo quien le explicó lo que hasta el momento había hecho el Instituto en producción de suero antiofídico y él, muy rápidamente, leyó el escenario y nos capacitó en qué era lo que debíamos hacer y qué no. Recorrió el laboratorio, chequeó los insumos, fue a la Hacienda Galindo para ver los caballos y entendió cómo era el proceso de inyección de veneno y extracción de sangre, entre otras cosas.

Lo que hacíamos era hacer una dilución del veneno con aceite de Freund's: cogíamos una jeringa con veneno diluido en solución salina y otra con la sustancia oleosa y, poco a poco, íbamos introduciendo, con múltiples pasos y en los dos sentidos, ambos compuestos dentro del caballo. Debía lograrse una mezcla muy homogénea con la consistencia de pasta de dientes, la cual, tras ser inyectada, quedaba como encapsulada dentro del equino y permitía la liberación progresiva y lenta del veneno y la estimulación constante del sistema inmune.

Ese proceso demoraba 20 días con una liberación máxima de veneno a los 10. Pero con las instrucciones de Bolaños lo que hicimos fue coger alginato de sodio y mezclarlo con el líquido (dilución de veneno en solución

salina); una vez teníamos una especie de gelatina le adicionábamos cloruro de calcio para crear una crema de dientes más suave que va liberando veneno ya no en 20 días sino en 10, con una liberación máxima a los cinco días. Eso no solo acortó los tiempos de producción, sino que nos permitió tener una mejor respuesta inmune.

Él también nos instruyó en la técnica del Spearman Karber (herramienta estadística de cálculo) para determinar las dosis letales y la dosis efectivas o neutralizantes y, de esta forma, determinar con certeza y muy rápidamente la respuesta inmune de los caballos intervenidos.

Durante el mes que Bolaños estuvo con nosotros en el Instituto sacamos la producción de un lote completo. Luego tuvimos una segunda fase de capacitación en Costa Rica, adonde viajamos con Guiomar para conocer y aprender del trabajo que se hacía en el Instituto Clodomiro Picado. A nuestro regreso empezamos la producción en firme».

**-1975-**: El INS produce el lote 4 de antiveneno polivalente en el país, lo que marcó el reinicio definitivo y estandarizado de la producción de suero antiofídico en Colombia. (Figura 9).

Suero Antiofídico  
Polivalente

LOTE N° 4

23/VIII/75 Plasma = 135 Lts  
plasma Poliv. Pool N° 1  
c.s.p. 18 Lts con plasma Crotalus  
pool N° 11 (Cucarrón)  
Vol. Total plasma = 18 Lts  
(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> → [11.97%] = 4.31 Kg  
→ H<sub>2</sub>O dest. c.s.p. = 18 Lts  
Fernd 90% = 80 ml → [0.25%]  
NaCl → [0.9%] = 324 g  
Toluol → [0.3%] = 54 ml  
Agitación 1hr  
pH = 6.8 más 55 ml NaOH  
pH = 7  
Reposo Tamb. durante

**Figura 9.** Imagen del documento en el que consta su producción. Esta foto muestra el registro hecho, a puño y letra por parte de la bacterióloga Guiomar Caicedo en el cuaderno de la época, de las características del plasma de Cucarrón, como se llamaba uno de los caballos empleados en la producción de suero antiofídico.

### Testimonio de Francisco Ruiz, actual líder del Serpentario del INS

«Hacia 1975, nuestro Instituto había desarrollado dos tipos de suero: el monovalente, que neutraliza el efecto tóxico de los venenos del grupo de las *Bothrops* (tayas o mapanás), y el polivalente, que contrarresta la toxicidad de los venenos de los géneros *Bothrops* y *Crotalus* (cascabeles), los más representativos en términos de ofidismo en Colombia. El veneno

es un rasgo funcional en las serpientes que ha evolucionado en función de las presas que encuentran en los hábitats en donde viven, y de esta manera su ponzoña se va haciendo específica, conforme a la zona de ubicación. En trabajos hechos por el INS hemos encontrado que el veneno de la especie *Bothrops asper* (la que más accidentes provoca en nuestro país y se distribuye en las regiones Andina, Pacífica y Caribe), tiene grados de toxicidad ligeramente distintos en la llamada dosis letal 50 ( $DL_{50}$ ), que mide la cantidad de una sustancia tóxica necesaria para provocar la muerte del 50% de un conjunto de animales de prueba.

Adicionalmente, hay diferencias marcadas en las otras pruebas biológicas que determinan los efectos que provocan hemorragia e inflamación. En la literatura científica se incluyen varias explicaciones sobre esto, entre ellas, el tipo de dieta o presa. Es más, un caso muy ilustrativo de este fenómeno es el que ocurre con el veneno de los cascabeles que moran en el sur de los Estados Unidos y en Centroamérica, el cual causa inflamación, alteraciones de la coagulación, necrosis y, en algunos casos de especies específicas, hasta parálisis (neurotoxicidad). En contraste, el veneno de las cascabeles suramericanas evolucionó y sus efectos son, principalmente, neurotóxico y ocasionalmente también miotóxico (daño muscular).

Por eso es supremamente importante que los venenos usados como inmunógeno para la producción de sueros sean regionales o locales. Desde un comienzo, nuestro Grupo de Sueros entendió que era menester cumplir con el criterio de polivalencia, y en la producción, el desarrollo y la optimización de los procesos de fabricación de antivenenos se reajustaron las mezclas de ponzoñas usadas como inmunógenos. De esta forma, hoy en día usamos venenos de vipéridos (tallas, mapanás, cuatro narices, entre otras) de las cinco ecorregiones colombianas. Así, los sueros antiofídicos del INS —el antivipérido y el anticoral— tienen mayor capacidad neutralizante frente a los que se comercializan en Colombia. De ahí que uno de los aportes más valiosos del Instituto al país es potenciar los sueros al ampliar su capacidad de respuesta ante un accidente ofídico ocurrido por una serpiente en cualquier rincón del territorio nacional».

**-1975-**: El INS adquiere el predio llamado Hacienda Galindo y Ocho Ríos, de 70 hectáreas, donde inicialmente se concentraron los caballos para la producción de suero antiofídico (además de ganado ovino y vacuno para la producción de medios de cultivo y vacunas) y, décadas después, se reubicó también el serpentario del Instituto (Figura 10).



**Figura 10.** Hacienda Galindo y Ocho Ríos, de 70 hectáreas, donde inicialmente se concentraron los caballos para la producción de suero antiofídico

**-1976-**: Primer registro detectado de exportación de suero antiofídico. Ese año hubo una producción de 2.840 frascos de 10cc., de los cuales 170 se exportaron a Ecuador (Figura 11).

## 1. 2. PRODUCTOS BIOLÓGICOS Y QUÍMICOS

La Sección de Productos Biológicos del Laboratorio Nacional de Salud elaboró durante 1976 sueros y vacunas en las cantidades que se enumeran enseguida:

Vacuna Fiebre Amarilla (dosis)	2.360.000
Vacuna Antivaricelosa (dosis)	1.190.000
Vacuna DPT (dosis)	360.000
Vacuna DT, tétanos, difteria (dosis)	117.000
Toxoide Tetánico (dosis)	243.000
Vacuna Antitifoídica (dosis)	342.000
Vacuna BCG líquida (dosis)	600.000
Vacuna BCG liofilizada (dosis)	113.000
Vacuna Antirrábica Humana (dosis)	193.000
Vacuna Antirrábica Canina (dosis)	1.452.000
Suero Antiofídico, (frascos de 10 c.c.)	2.840
Suero Antirrábico, (frascos de 10 c.c.)	3.900
Toxina para Prueba de Shick (dosis)	56.000
Prueba de Tuberculina (dosis)	462.000
Diluyentes para vacunas (dosis)	141.000

Igualmente el Instituto continuó la producción de algunos fármacos para uso restringido de entidades oficiales, y a petición de estas. Tal fue el caso de la producción de gluconato de calcio y de la vitamina B 12, preparados para el Instituto Colombiano de Seguros Socia-

les. Del primero se elaboraron 102.000 ampollas y de la segunda 376.000 ampollas. También prepararon para uso exclusivo del Ministerio de Salud 788 frascos de Clorhidrato de morfina al 3 o/o.

Durante el año se exportaron vacunas para distintos países y continentes en la siguiente forma:

Vacuna contra la Fiebre Amarilla	
Africa	15.020
Argentina	203.000
Bolivia	70.020
Curazao	9.000
Chile	3.000
Cuba	5.000
Ecuador	20.000
El Salvador	1.000
Guyana	23.000
Guatemala	10.020
Jamaica	5.000
México	40.050
Panamá	32.100
Perú	155.020
Paraguay	20.100
Surinam	100.010
Venezuela	170.020
<b>Total:</b>	<b>885.220</b> dosis

33

Figura 11. Informe de actividades del INS en 1976.

**-1978-**: Comienza el proceso de liofilización de los venenos obtenidos de distintas especies.

*Detalle:* Desde finales de la década de 1970 el veneno extraído de las serpientes empezó a liofilizarse para favorecer su conservación, transporte y mantenimiento. Este procedimiento consiste en extraer el agua del veneno mediante sublimación, es decir, congelándolo y luego evaporándolo, sometiéndolo al vacío; de esta forma se pasa del estado sólido al gaseoso sin hacer tránsito por el líquido y, como resultado, se obtiene un polvo que se mantiene estable por largos periodos. Antes de 1978, los venenos eran desecados, es decir, se les extraía el agua aplicando calor.

«El veneno está compuesto principalmente por proteínas de acción enzimática, es decir, tienen la capacidad de destruir otras proteínas o de destruirse a sí mismas. Si se deja a una temperatura ambiente entre 12 y 37 grados Celsius, empieza a desnaturalizarse y resulta siendo, como decía Juan Manuel Renjifo, un agua de panela», explica Francisco Ruiz, líder del Serpentario (Figura 12).

Producción Veneno Cauca  
helas nuevas adultas

Nº	Fecha	Tamaño mts	Peso Veneno Líquido (gr)	Peso Veneno Liofiliz (gr)
1	6/IV/78	1.20	0.55692	0.081
2	20/IV/78	0.85	0.14767	0.03936
3		0.98	0.19835	0.0451
4		0.93	0.15780	0.0335
5	18/V/78	0.83	0.23205	0.03916
6	18/V/78	1.29	0.25278	0.05916
7		1.17	0.60461	0.11941
8		0.95	0.11265	0.04198
9		0.92	0.10801	0.03067
10	17/X/78	1.15	0.33163	0.08287
11	26/I/79	1.03	0.4363	0.0933
12		1.02	0.25518	0.08133
13		0.80	0.28747	0.07246
14		0.96	0.16724	0.03928
15		1.05	0.43316	0.12035
16		(prom) 1.02	0.48202	0.15551
17		0.80	0.32887	0.08136
18		1.06	0.51265	0.14749
19		1.07	0.42917	0.06995
20		1.25	0.83309	0.2254
21		1.0	0.25877	0.06684

**Figura 12.** Foto del cuaderno de producción de ese año donde se evidencia una columna de registro del veneno liofilizado, con letra de Guiomar Caicedo.

**-1981-**: Reporte y análisis de caso de accidente ofídico en Barranquilla.

**Testimonio de Santiago Ayerbe, pediatra y toxicólogo, fundador del Grupo de Investigaciones Herpetológicas y Toxicológicas, y del Centro de Investigaciones Biomédicas, de la Universidad del Cauca**

«Desde que estaba como residente cursando mi especialización en pediatría, he estudiado el tema con una pasión febril y eso me ha permitido ayudar a salvar muchas vidas desde la distancia. Tuve una anécdota muy particular en 1981. En ese entonces estaba en el Hospital Militar Central en Bogotá y un día llaman del Hospital Departamental de Barranquilla al

Instituto Nacional de Salud solicitando suero antiofídico anticoral. Entonces Juan Manuel Renjifo (director del Grupo de Sueros en ese momento) me contacta y me dice: “Santiago, nos están pidiendo un suero anticoral desde el Hospital Departamental de Barranquilla por una mordedura, pero tengo mis dudas de que haya sido por una coral porque si bien hay neurotoxicidad, el paciente está intubado y todo, la mordedura fue en la espalda. Por favor, averigua bien cómo es la cosa”.

Hablé, entonces, no con el médico sino la enfermera jefe de la UCI del hospital:

—Buenas tardes enfermera, le habla el Dr. Santiago Ayerbe. Me contactaron del Instituto Nacional de Salud sobre un caso de accidente ofídico. Cuénteme, por favor, por qué requieren suero anticoral.

—Dr. Buenas tardes, pues el paciente está paralizado y entonces eso es un veneno de coral.

—Me acaban de informar que la mordedura es en la espalda.

—Sí, es en la espalda.

—¿De casualidad sabe cuánta es la distancia entre los colmillos?

—Espere un momentico... no, pues es como de tres a cuatro centímetros.

—Bueno, para empezar, no existe ninguna coral con ese tamaño en la Costa Atlántica; la única que de golpe podría tener una mordida tres centímetros entre colmillos se encuentra en el Amazonas. Pero como yo sé que ustedes en Barranquilla tienen un zoológico, que lo dirige Roberto Tinoco, la única posibilidad es que esta persona hubiera ido al zoológico y allá tuvieran esa serpiente. Pero sería una mordedura exótica y rarísima. Y tampoco entiendo por qué lo mordió en la espalda. ¿Ese paciente venía del zoológico?”

—No. Es un muchacho de 12 años.

—Ok, entonces eso no es una mordedura de coral sino de cascabel. Y hay más detalles: una cascabel no muerde en la espalda a no ser de que el paciente se estuviera arrastrando por el piso, como pasándose por debajo de una cerca o algo, y no se hubiera dado cuenta del animal, y apenas se acercó, lo mordió. ¿Y sabe qué? Creo que a ese animal le habrían tenido que arrancar los cascabeles porque si no el muchacho la habría escuchado... a no ser que sea sordo y por eso no oyó el sonido de advertencia. Para mí esa es la causa y no me cabe ni la más remota duda de que es una mordedura de una cascabel sudamericana, cuyo veneno es neurotóxico. Por favor, aplíqueme el suero antiofídico, porque me acaba de informar el Dr. Renjifo que en el hospital tienen suero antiofídico botrópico y anticrotálico, y ese es el que le tiene que poner. Póngale, por lo menos, unos seis frascos.

—Pero doctor, es que el médico aquí estuvo investigando y el veneno de la cascabel produce es hemorragia e hinchazón pero no parálisis.

—El médico está investigando en el libro de Harrison, de Estados Unidos, y en la parte de accidentes ofídicos habla del envenenamiento de las cascabeles, pero norteamericanas no sudamericanas. Entonces, en ese contexto él está equivocado. Esto es una cascabel sudamericana neurotóxica, así que por favor, aplíqueme el suero como le indiqué.

—Bueno doctor, yo le aviso, le agradezco muchísimo.

Al día siguiente, a las 8 de la mañana, llamé por teléfono al hospital. Pedí hablar con el médico, pero me dijeron que en ese momento estaba pasando revista, entonces pedí hablar con la enfermera con la había hablado.

—¡Qué hubo!, ¿cuénteme cómo le fue con el paciente?

—Cómo le parece que el doctor dijo que no, que eso no era una cascabel, que eso era una coral y que necesitaba el suero anticoral.

—Vea sumercé, con todo el cariño que le puedo tener, usted no tiene la culpa. Pero escúcheme lo que le voy a decir: yo estoy en el Hospital Militar Central de Bogotá, voy a intentar disponer de un avión para ir a traer a ese paciente porque allá lo van a matar. Y si a este paciente le pasa algo, créame que se va a armar un problema muy grande. La situación es de ese tamaño. El médico está a punto de cometer un asesinato por soberbia y prepotencia. Dígame eso y que si quiere hablar conmigo, que me llame.

—Bueno doctor, muchísimas gracias, así será.

A las ocho de la noche vuelvo a llamar otra vez. La enfermera estaba entregando turno, a punto ya de salir, y me dice:

—Ay doctor, ¡siquiera llamó!

—Cuénteme, ¿qué pasó?”

—Pues le dije al médico su razón, él se asustó y me mandó por el suero. Le pusieron 10 frascos.

—¿Y qué pasó?

—Pues enseguida el paciente comenzó a abrir los ojos y a moverse; estaba peleando con el tubo y lo extubamos.

—Ahh, entonces ¿se recuperó?

—Sí, se recuperó.

—Y bueno, cuénteme una cosa, ¿le preguntó de qué tamaño era la coral?

—No, cómo le parece doctor que fue así como usted dijo. El muchacho dijo que fue una cascabel a la que le habían arrancado los cascabeles, y por eso no la oyó cuando se estaba pasando por debajo de un cerco. Yo creo que al paciente lo vamos a tener un día más en observación y ya se le dará de alta.

—Bueno, le agradezco muchísimo a usted porque me hizo caso y convenció al médico.

Ese es uno de los casos más dramáticos que he tenido y hace parte de los diversos episodios en los que he apoyado al Instituto para resolver situaciones derivadas de accidentes ofídicos.

De joven, quería estudiar biología, pero en Popayán no existía esa carrera y lo más parecido era medicina, así que empecé a estudiar para ser médico. En cuarto semestre me tocó ver en el Hospital Universitario San José el primer caso de accidente ofídico. Quedé aterrado de lo que vi en ese paciente, que llegó con un envenenamiento muy avanzado. Nadie sabía qué hacer ni cómo tratar el caso; decían que había que usar el suero antiofídico que había en el hospital, que era del Instituto Butantan, pero no se sabía cómo usarlo, ni siquiera si se debía aplicar intramuscular, intravenoso o subcutáneamente. Y cuando se le consultó a un profesor él solo atinó decir que debía mirar en sus libros de medicina porque en realidad no tenía mucha experiencia. Poco más de 12 horas después el paciente murió. En ese momento entendí la preocupación de mis padres cuando de pequeño me advirtieron que debía alejarme de las serpientes.

Tiempo después empecé a hacer mi especialización en pediatría. Corría el año de 1977 y un día, mientras estaba haciendo la rotación de hematología, el jefe del departamento, el doctor Alejandro Vásquez Godoy, chileno, me dijo que debía hacer un trabajo de investigación durante los cuatro meses que duraba la rotación. Estábamos discutiendo sobre qué iba a trabajar cuando en esas entró un compañero de medicina interna que ya llevaba 15 días en el departamento y el profesor le preguntó sobre su trabajo de accidentes ofídicos. Él le respondió: “Estoy en eso profesor, yo creo que para la semana entrante le tengo algo”. Cuando escuché eso a mí se me prendieron todas las luces, y desde ese momento mi vida empieza a dar un giro de 180 grados. Me llamó poderosamente la atención y me atreví a preguntar:

—Doctor, ¿ustedes van a hacer un trabajo sobre accidentes ofídicos?

—Sí Santiago. Yo soy chileno y en Chile no hay serpientes venenosas. Cuando cursé hematología en Estados Unidos, algo aprendí sobre eso porque allí sí hay, pero desconozco totalmente lo que está pasando aquí y yo quiero que comencemos a investigar sobre ese tema.

—¿Será posible que mi compañero y yo trabajemos en eso?

—¿Por qué?, ¿te llama la atención, te gusta el tema?”

—Doctor, gustarme no. Me fascina.

—¿Y tú qué sabes de serpientes?

—Nada, absolutamente nada, pero yo, si usted me autoriza, muy pronto le estaré hablando sobre serpientes, y en otro idioma.

Entonces llamó al compañero y le preguntó si podía admitirme en su trabajo, a lo que inmediatamente él respondió que sí. Yo le agradecí al doctor, y al hablar con mi colega me dijo que la verdad no había hecho nada porque no le interesaba, le parecía un ladrillo el tema. Yo simplemente le respondí que no se preocupara, que íbamos a hacer el trabajo. Le planteé lo que tenía en mente sobre cómo llevar a cabo el estudio y a él le pareció muy bien. Fui enseguida al archivo del hospital y le pedí a la coordinadora, que era amiga mía, que me ayudara a conseguir las historias clínicas de accidentes ofídicos de los últimos cinco años. En esa época no había nada sistematizado, pero lo cierto es que en cuestión de una hora me entregó un cartapacio de 46 historias clínicas.

Recogí esos documentos y me fui al laboratorio de hematología. Cuando el doctor Vásquez Godoy me vio me preguntó que qué era lo que tenía en mis manos, y yo le dije. De repente, abrió los ojos y me dijo: «Oye Santiago, pero vas como rápido, ¿no?» Y yo simplemente le dije: “No doctor, aquí hay mucho por hacer”. A partir de ese momento, con mi compañero comenzamos a leer historia por historia. Hicimos una gran ‘sábana’ de hojas cuadriculadas tamaño oficio que pegamos con cinta y comenzamos a hacer un cuadro con diferentes variables. Me fui al Museo de Historia Natural del Cauca para ver libros y algunas revistas sobre ofidismo, y ahí empezó a desarrollarse mi pasión por el estudio del tema hasta formarme profesionalmente como toxicólogo en Brasil.

Gracias a Dios he podido ayudar a muchas personas que me consultan desde muchos lugares del país, a cualquier hora, y para mí es una gran satisfacción poder analizar cada caso y dar una orientación clínica (Figura 13)».



**Figura 13.** Izquierda: Santiago Ayerbe buscando serpientes en la selva del Vaupés con Hollman Miller (esqueleto blanco y pantalón azul) y dos guías de la comunidad de Trinidad Tiquié, el 30 de noviembre de 2006. Derecha: Santiago Ayerbe manipulando una víbora de pestaña del complejo de especies *Bothriechis schlegelii*.

**-1985-**: Se adecúa un serpentario provisional en la sede central del INS, en Bogotá, debido a las dificultades generadas para acceder y mantener el Serpentario de Armero, tras el desastre natural que afectó a este municipio tolimense (Figura 14).

*Detalle:* Las imágenes de la destrucción causada por la avalancha de lodo tras el deshielo del Nevado del Ruiz, que erupcionó en noviembre de 1985, permanecen en la memoria de todos los colombianos. Pero hay un hecho que pasó de largo: las implicaciones que ese desastre natural provocó en el Serpentario Bernardo Samper, de Armero, conocido como Serpentario de Armero, el más grande y diverso de Colombia. Este permaneció incólume porque la capa de lodo en ese punto no sobrepasó el medio metro, pero los animales allí albergados empezaron a morir de hambre porque el personal que estaba a su cargo tuvo que evacuar la zona tan pronto como pudo. El Instituto se quedó sin su fuente primaria de obtención de venenos para la producción de suero antiofídico.

«Un mes después de la tragedia se inició el traslado de los sobrevivientes: la mayoría de las serpientes y un grupo de monos *Aotus spp* utilizados para la investigación en malaria», se narra en el libro *Vigilantes de la Salud*, del INS. ¿A dónde fueron a parar? A la Avenida El Dorado en Bogotá. Allí, en la sede principal del Instituto Nacional de Salud, se adaptó un espacio para las sinuosas criaturas, ante el espanto de muchos y el regocijo de quienes tenían la noble labor de crear antídotos contra su ponzoña.

Aunque se trataba de un lugar provisional, pues no tenía las condiciones ideales de temperatura y humedad para su estadía, pasaron décadas antes de ser trasladadas, en 2011, a una casa propia: la Hacienda Galindo y Ocho Ríos, en el municipio de Bojacá, Cundinamarca (ver Capítulo 8).

**Figura 14.** Foto del serpentario provisional ubicado en las instalaciones de Bogotá del INS. En sus orígenes, las serpientes eran hospedadas en cajas de madera con puerta corrediza. Posteriormente se acondicionaron en cajas de aluminio con tapa acrílica (izquierda), un tipo de albergue que resultaba demasiado frío para los ofidios; por esta razón después se optó por acomodarlos en cajas plásticas (derecha), lo que les da mayor bienestar y permite tener una mejor asepsia de su hábitat en cautiverio.



### **Testimonio de Juan Manuel Renjifo, ex coordinador Grupo Sueros del Instituto Nacional de Salud**

«Cuando ocurrió la avalancha fuimos en helicóptero para allá. Desde que ingresé al Instituto, en 1974, tuve a mi cargo el Serpentario de Armero, pues ese era nuestro centro de acopio de culebras provenientes de esa región del país. Desde el aire noté que al serpentario como tal no le había

pasado nada. El lodo llegó solo hasta donde estaban una parte de los ratones, que, además, tenían jaulas altas; de resto, nada.

Semanas después las trasladamos a Bogotá, y con el tiempo logré que permanecieran en cajas separadas y que me pusieran aire acondicionado en la habitación en la que estaban. En Armero mi intención era albergarlas en jaulas individuales, pero no fue posible porque el serpentario estaba construido a imagen y semejanza del Instituto Butantán en Brasil: eran unos galpones cubiertos con unos domos transparentes a modo de vitrina turística, donde las culebras convivían unas entre otras; de hecho, aún existen. El problema de tenerlas así era que no se podía hacer ningún control sanitario, es decir, las enfermas se mezclaban con las sanas. No por nada uno de nuestros mayores dolores de cabeza eran las garrapatas que tenían.

En el Serpentario de Armero teníamos ejemplares de San Juan de Riseco, Lérida, Mariquita, Guayabal y toda la zona alrededor. Pero como también era crucial tener culebras de otras regiones del país —para tener variedad de venenos y, por ende, antivenenos— asumí personalmente esa labor porque no podía llamar a nadie por teléfono para decirle «¡mándeme culebras!»; si lo hacía la respuesta era obvia: «¡está loco!, venga y cójalas». Fue así como recorrí y conocí todo el país, y en unos de esos periplos hasta me encontré una cobra que tenía un señor en Manizales.

Me acuerdo de una vez que nos fuimos Rodrigo Ángel (médico antioqueño con vasto conocimiento sobre el ofidismo en Colombia), Roger Bolaños (el fundador del Instituto Clodomiro Picado) y yo. Las capturábamos y las metíamos en unas cajas de madera triplex con puerta corrediza que mandé a hacer con Silvio, el carpintero».

### **Testimonio de Santiago Ayerbe, pediatra y toxicólogo, fundador del Grupo de Investigaciones Herpetológicas y Toxinológicas del Centro de Investigaciones Biomédicas, de la Universidad del Cauca**

«A Juan Manuel Renjifo lo conocí en 1980 y él se constituyó en mi profesor y guía de investigación sobre serpientes. Juntos empezamos a hacer salidas de campo para hacer recolectas y aprendí muchísimo en términos biológicos sobre estos animales. Luego yo, desde el Cauca, empecé a enviarle por vía aérea hacia Bogotá las serpientes que recolectaba para contribuir en el proceso de producción de sueros antiofídicos, cuya capacidad de neutralización en los pacientes de esta región era una maravilla porque en su fabricación se usaban toxinas de ejemplares locales. Los despachos los hacíamos por Intercontinental de Aviación, que no nos cobraba el envío, pero las cajas había que entregarlas dos horas antes de que llegaran los pasajeros para evitar reacciones de pánico. Solo había un vuelo diario desde Popayán.

Juan Manuel fue un gran maestro para mí en el ofidismo, un tema del que desde pequeño sentí una atracción inusitada. Mi interés por la herpetología viene desde la infancia, particularmente desde 1957, cuando vi

una fotografía de un *Tiranosaurio rex* que me había traído mi papá del Museo Americano de Historia Natural. En ese proceso de indagación sobre lagartos encontré las serpientes, y me llamó mucho la atención que estos animales, pese a no tener extremidades, se desplazaban a veces más rápido que los lagartos mismos. Llevé algunas serpientes a casa y eso me generó problemas porque mis papás me dijeron que representaban un gran riesgo, que mejor me dedicara a estudiar a las aves, cosa que hice. Sin embargo, en lo profundo de mí, ese gusto permaneció intacto.

Yo siempre tuve algún grado de dificultad para el aprendizaje. Durante la carrera hubo temas médicos que me costaron mucho comprender y no era muy bueno para la memoria, pero todo lo que leía sobre ofidismo lo absorbía como una esponja, era una cosa impresionante, lo entendía con una facilidad única, como si toda la vida ese conocimiento hubiera estado esperándome».

### **Testimonio de Francisco Ruiz, líder del Serpentario**

«La primera vez que fui al serpentario tuve una reacción inesperada: las serpientes no me produjeron susto, no sentí pánico; realmente, me parecieron hasta bonitas... sus escamas, su boca, su longitud... Lo único que hice fue tomar nota. En ese entonces, 1993, yo trabajaba en el laboratorio de Inmunogenética de la Subdirección de Investigación del INS con micos del género *Aotus*. Pero un día llegó a mi oficina Juan Manuel Renjifo, fumando y rascándose la cabeza, a decirme:

—Pacho, hermano, se me están muriendo las cascabeles.

—Yo sé de micos, pero nada de serpientes.

—Pero usted es veterinario, ¿cómo no va a saber!

—Pues no, no sé.

En ese momento acababa de tomarles muestras de sangre a varios primates; me quedé mirando su cara de preocupación y le dije:

—Pero bueno, yo voy y miro con mucho gusto. No tengo idea de serpientes, pero podría consultarle a alguien.

—¡Listo manito!

Él siempre le decía a uno “manito”. Entonces me llevó al serpentario del Instituto, un espacio adecuado dizque provisionalmente en 1985 a raíz de la tragedia de Armero, pero funcionó allí hasta diciembre de 2011, o sea, 26 años. Eran dos salas: una grande y otra como un tipo de sótano pequeño, en donde además había un pequeño baño. Yo jamás había visto una serpiente, soy bogotano, ciudadano puro. Y como no sabía nada, pues consulté a quien creía que sí sabía: Jorge Gardeazábal, del zoológico de Cali, donde yo había hecho una inolvidable pasantía tras culminar la carrera de médico veterinario en la Universidad Nacional, y donde

me encontré con lo mío, los animales silvestres, porque nunca me sentí cómodo con la medicina de animales domésticos. Jorge es una persona maravillosa, brillante, un gran maestro y, para la época, el veterinario que más sabía de manejo y medicina de fauna silvestre en el país.

Lo llamé, le describí el panorama de las serpientes en el Instituto y él me dio unas instrucciones claras y precisas: 'Acuérdese de la medicina poblacional, eso es lo que hay que aplicar ahora, así que separé los animales que están en buen estado y déjelos abajo, en cajas independientes, dentro de recipientes separados y con pinzas de manejo separadas; y a los animales enfermos clasifíquelos en menos graves, más graves y moribundos. Aprovechemos que está en el Instituto y haga unos hisopados para tomar unas muestras y mándelos a microbiología. Mientras tanto, arranquemos con un antibiótico de esos que le pegan a todo, de amplio espectro'.

Pues me amarré los calzones y Juan Manuel le indicó al técnico del serpentario para que me ayudara; un gran señor, realmente a él es a quien le debo el aprendizaje de la manipulación de serpientes. Se llama Arquímedes González, un paisita veterano, muy juicioso y trabajador, amante como ningún otro de las serpientes, al punto que distinguía a cada una, les conocía su personalidad, sabía a la perfección cual era la escapista, la agresiva, la relajada y cómo se debían manipular. Con su ayuda y la guía de Jorge Gardezabal empezamos a hacerles el tratamiento. Efectivamente alcanzamos a salvar un grupo de serpientes, otras se murieron. Y por ahí comenzó mi carrera de culebrero.

Debo confesarlo con toda sinceridad: para mí fue un gran desafío aprender todo sobre serpientes, es decir, sobre especies, distribución y, por supuesto, su correcta manipulación. En el serpentario el sistema de ventilación y el humidificador eran deficientes y con fallas recurrentes, así que tocaba rociar agua en las dos salas donde estaban ubicadas, en la mañana y en la tarde, para garantizar la humedad. Iba los sábados con frecuencia a realizar esa labor y, de paso, sacaba serpientes y practicaba la forma de sujetarlas, yo solo, a riesgo. Por fortuna, nunca me pasó nada.

Poco tiempo después, en 1994, se pensionó Carlos Cáceres, el veterinario que estaba a cargo de los caballos empleados en la producción de suero. Durante dos años su labor fue asumida por otros veterinarios, pero a la postre estos también dejaron sus cargos así que Juan Manuel me buscó de nuevo, en 1996, para que lo ayudara. Me hizo una propuesta.

—Pacho, a usted le fue bien con las serpientes. Ya sabe cómo se mantienen y cómo se ordeñan. Yo quiero que haya un profesional que maneje el proceso de manera integral, es decir, los venenos, las serpientes y los caballos, y no como lo estamos manejando ahora, que es que nosotros alistamos los venenos para inyectar a los caballos, los ponemos en una nevera, el veterinario se los lleva, inyecta a los caballos, al mes y medio me trae sangre de caballo, nosotros hacemos la prueba de titulación, le decimos cuáles caballos desarrollaron respuesta inmunológica deseada

y le pedimos que le saque sangre a esos animales. Eso no es práctico y tenemos problemas de comunicación con el bioterio; para evitar eso hay que abordar el proceso de manera integral.

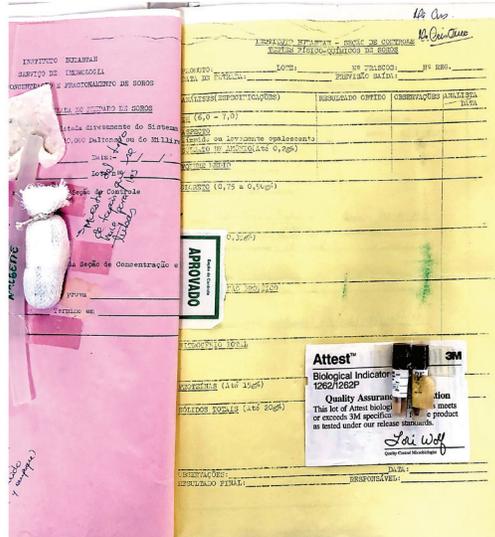
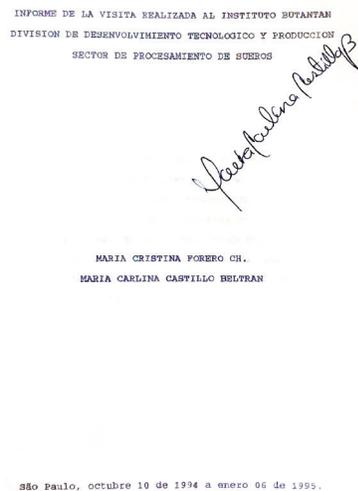
—¡Uy!, ¿será que sí?

—Sí, hágale, usted lo puede hacer, por eso es veterinario. Si ya les mete la mano a las serpientes seguro que manejar los caballos no va a ser difícil... Además, le voy contando que el proyecto de los primates se va a acabar y usted se va a quedar sin trabajo.

Me las cantó y yo quedé pensativo. No quería quedarme sin qué hacer, y aunque empezaban a apasionarme las serpientes no tenía idea del manejo de equinos porque hasta el momento me había concentrado solo en citogenética con micos nocturnos. No obstante, decidí aceptar el reto avalado por Moisés Wasserman, el director de entonces, y así llegué a la Hacienda Galindo y Ocho Ríos, a la que se accede por la Base Aérea de Madrid hasta llegar a la vereda Cortés, jurisdicción de Bojacá. No hubo tiempo de empalme con el anterior veterinario, por lo que mi entrenamiento con los caballos lo recibí del técnico, Evangelista Salazar, otro gran ser humano que había aprendido bastante bien sobre inmunizaciones, sangrías y demás fases inherentes al proceso. Cuando el Instituto compró la hacienda en 1975 él era el administrador, y decidió quedarse trabajando con el Instituto hasta pensionarse.

Yo le confesé que sabía muy poco de equinos en general y menos sobre producción de plasma hiperinmune en particular. Pero él, amable como siempre, me dijo: ‘Tranquilo doctor, yo lo apoyo en lo que usted necesite’. Lo primero que hizo fue mostrarme las historias que tenían los caballos, y yo me dediqué a leerlas con juicio. Los dos primeros años fueron de mucha lectura y de ir involucrándome poco a poco en el proceso, bajo la guía de él, cuya pericia para manejar los caballos era apabullante. Tenía los brazos fornidos como los de Mike Tyson y una fuerza increíble. Con Juan Manuel Renjifo, Jaime Ramírez y María Cristina Forero fui estructurando la parte básica de las serpientes —la toma de venenos, su manejo y control, las pruebas biológicas y la preparación de los inóculos—, mientras que el trabajo en la Hacienda Galindo con los caballos —inyectarles veneno de manera controlada para que desarrollen una respuesta inmunológica, realizar la sangría y obtener el plasma hiperinmune— se lo debo a Salazar. Mirando en retrospectiva ha sido una labor muy bonita y de la cual nos sentimos muy orgullosos»

**-1994-**: Funcionarias del INS viajan al Instituto Butantan de Brasil para recibir capacitación en la producción de sueros antiofídicos.



**Figura 15.** Funcionarias del INS viajan al Instituto Butantan de Brasil. (Izquierda) Copia del informe que realizaron las funcionarias del Grupo de Sueros del INS. (Derecha) Fotos en la que observan algunas de las muestras que trajeron desde Brasil para tomar como modelo en la producción local.

### Testimonio de María Carlina Castillo, coordinadora del Grupo de Producción y Desarrollo Tecnológico de la división de Producción de Biológicos, del INS

«Ese entrenamiento en producción y control de calidad para la producción de sueros hiperinmunes nos abrió un panorama más real y muy amplio del grado de exigencia para hacer la trazabilidad de la producción y el control de calidad, en el cumplimiento de las buenas prácticas de manufactura. Fueron tres meses en los que tuvimos la oportunidad de acompañar todas las etapas y pasos involucrados en la producción y el control de los sueros hiperinmunes.

Yo tenía 27 años cuando viajamos y fue la primera vez que a mi alrededor solo escuchaba portugués. El primer día no entendí absolutamente nada, y por supuesto en esa época no existían las herramientas tecnológicas que hoy conocemos y que están disponibles, como los traductores. De hecho, la emoción que sentí cuando recibí un mensaje en español es inolvidable: era un fax que mi familia me había enviado con un cálido saludo. Poco a poco, fui cogiendo el ritmo del idioma y ya después terminé con un portuñol bastante fluido (Figura 15).

En su momento, quien lideraba la producción en el Instituto Butantan era José Roberto Marcelino, y durante todos estos años hemos seguido conversando. Nos volvimos a encontrar en el 2010 y 2013; él siempre ha sido una persona muy amable y disponible para apoyar y atender cualquier inquietud».

**-1998-:** El INS obtiene el registro sanitario por 10 años para fabricar y comercializar sueros antiofídicos, de parte de la Dirección de Vigilancia y Control, División de Productos Bioquímicos, del Ministerio de Salud.

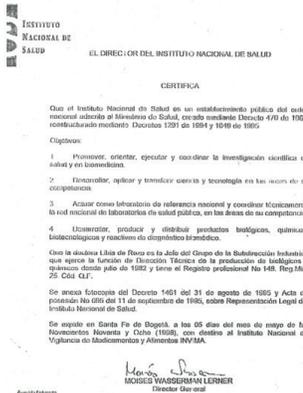
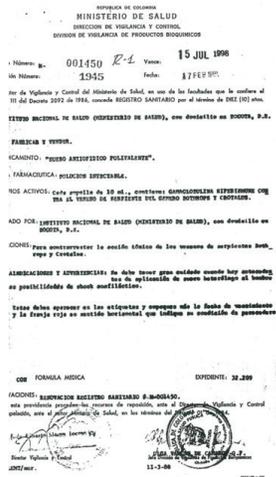


Figura 16. Foto de los documentos que certifican registro sanitario por 10 años para fabricar y comercializar sueros antiofídicos.



-2002-: El INS publica el libro Accidente por animales venenosos, editado por el médico toxicólogo Daniel Pineda, quien describe con detalle qué ocurre en los accidentes ofídicos y hace una revisión de la literatura sobre venenos, tipos de serpientes y sus conductas, tratamientos y mecanismos de prevención.

-2009-: El INS recibe de parte del Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (INVIMA) el certificado por cinco años de Buenas Prácticas de Manufactura Farmacéutica (BPM) de sueros hiperinmunes (incluido el antiofídico; Figura 17).

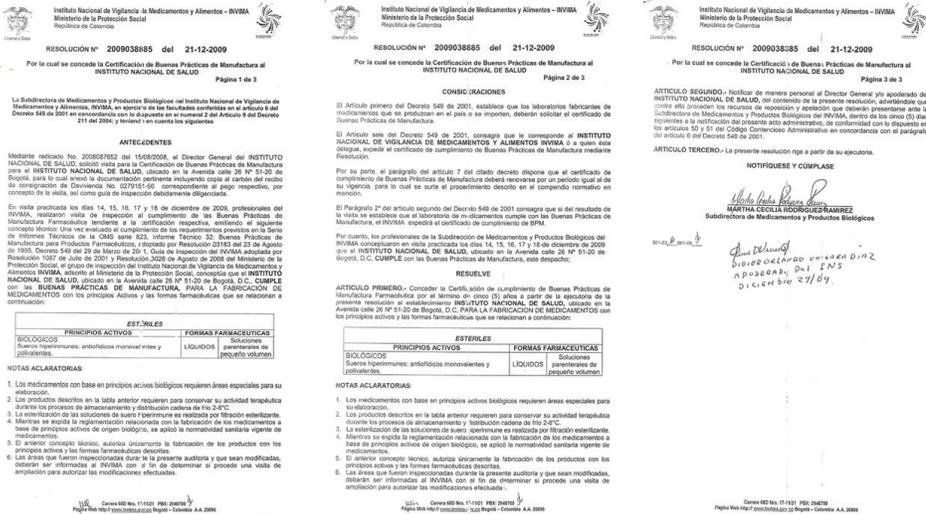


Figura 17. Foto de la resolución que otorga la certificación por cinco años de Buenas Prácticas de Manufactura Farmacéutica.

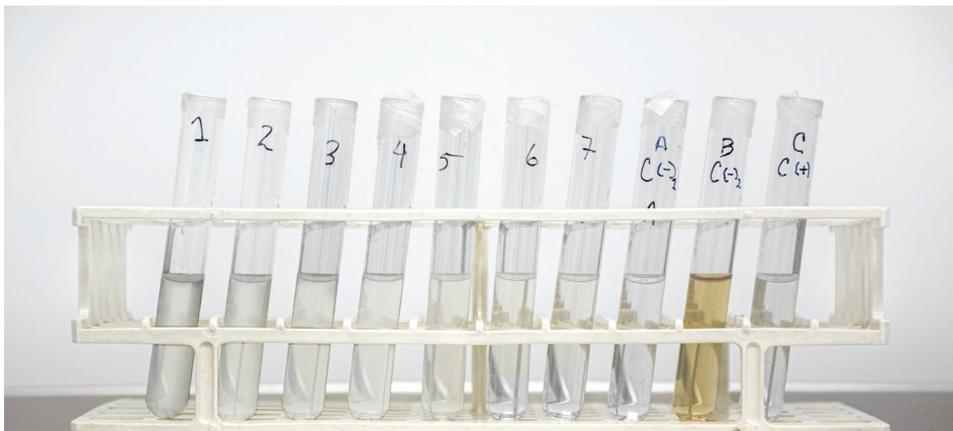
-2010-: El Grupo de Sueros implementa tener un control negativo del plasma o suero equino dentro del esquema de pruebas para determinar la eficacia de los anticuerpos producidos por los caballos

*Detalle:* En el proceso de producción de suero antiofídico es fundamental realizar las pruebas biológicas de dosis letal cincuenta ( $DL_{50}$ ), que determina la toxicidad de los venenos, y la dosis efectiva cincuenta ( $DE_{50}$ ), destinada a valorar la capacidad neutralizante del suero o plasma de un caballo frente a los venenos de control, para saber si el animal puede ser o no un donador efectivo.

Para ello se mezclan, dentro de varios tubos de ensayo, cantidades variables de solución salina y plasma equino con una misma dosis de veneno, para crear, en conjunto, diluciones seriadas. Luego se incuban a 37 grados Celsius para que se dé la reacción antígeno-anticuerpo (veneno-plasma del caballo). Posteriormente, esas mezclas se llevan al bioterio para inocular a los ratones.

De cada tubo se inoculan cinco ratones por vía intraperitoneal, y a cada uno se le inyecta la misma cantidad de sustancia. Al margen hay otros cinco ratones que ofician como controles positivos, es decir, a los que se les introduce una combinación de veneno y solución salina, y por ello, indefectiblemente, morirán. Como todos los tubos de las diluciones seriadas tienen la misma cantidad de veneno eso significa que los ratones que sobreviven lo hacen porque el suero del caballo desarrolló los anticuerpos necesarios para neutralizar el veneno. Así se logra determinar el nivel de títulos (anticuerpos) que logra producir un caballo, y esa potencia se traduce en la cantidad de veneno que neutraliza un mililitro de plasma equino.

Desde el 2010 se implementaron, adicionalmente, controles negativos, es decir, a un grupo de ratones se les inocula solución salina y a otro grupo plasma. Con esto se verifica que estas dos sustancias son inocuas para los ratones y que el operador realiza de manera correcta la inyección intraperitoneal, por lo que estos animales no deberían morir (Figura 18).



**Figura 18.** La prueba se realiza en tubos de ensayo que tienen volúmenes de 6mL, cada uno. Los del 1 al 7 son diluciones seriadas con cantidades variables de solución salina y suero equino y una cantidad fija de veneno. Esto en conjunto, forma una suspensión que se ve más lechosa en el tubo 1 y disminuye gradualmente hasta el 7 debido a reacción entre el veneno y las inmunoglobulinas (IgG) del plasma de caballo: a mayor IgG mayor apariencia lechosa. El tubo «A» tiene solo solución salina y el tubo «B» tiene solo suero equino, y ambas constituyen los controles negativos. Entre tanto, el tubo «C» tiene solo veneno, y es un control positivo.

**-2011-:** Se inaugura la nueva y definitiva casa de todas las serpientes del INS: el Serpentario de la Hacienda Galindo y Ocho Ríos (Figura 20).

**Figura 19.** Foto del momento de traslado de las serpientes desde la sede central del INS, en Bogotá (Izquierda), hacia la Hacienda Galindo y Ocho Ríos, en Bojacá (Derecha).



### Testimonio de Mónica Sarmiento, veterinaria líder del serpentario del INS

«Este serpentario fue concebido como un laboratorio, pues de aquí salen los insumos para la fabricación de suero. Por ello, todo está diseñado para mantener las condiciones de asepsia necesarias para un producto biológico. Cada serpiente vive dentro de una caja plástica que es sometida a un proceso riguroso de limpieza y desinfección cuando se requiere su cambio, como, por ejemplo, después de hacer sus necesidades fisiológicas. Dentro de sus ambientes se mantiene un recipiente con agua para su consumo y, en algunas cajas, un termohigrómetro para chequear constantemente su temperatura y humedad. Aunque en la vida silvestre muchas estarían escondidas o mimetizadas en sustratos naturales como hojarasca, troncos, arbustos y árboles, aquí en cautiverio no usamos esos elementos porque sería muy complicado desinfectarlos y cambiarlos por unos nuevos.

**Figura 20.** Panorámica de las instalaciones del Serpentario en Hacienda Galindo (izquierda). Caballos destinados a la producción de suero siendo examinado por Francisco Ruiz (derecha).



En su reemplazo utilizamos un sustrato que ya tenemos estandarizado y es una mezcla de viruta importada de álamo o de arce estéril con vermiculita, la cual es mezclada con agua para incrementar la humedad relativa en los encierros y llegar al 80% o más de humedad; para los elápidos o corales implementamos una capa más profunda del mismo sustrato. Este acondicionamiento les permite a las corales esconderse y literalmente ‘nadar’ dentro de este ambiente, el cual les asegura poder ocultarse de sus predadores, minimizando el estrés y logrando mayor confort. Si no creáramos estas condiciones estas especies tendrían problemas de retención de muda, no comerían y se enfermarían fácilmente hasta morir. Por eso, hemos hecho todas estas adaptaciones.

Para el grupo de las mapanás, tayas o *Bothrops* en general, usamos el mismo sustrato, y a las que son arborícolas les proporcionamos ramas que les sirvan de percha. Hemos evidenciado que estos ajustes han sido muy importantes porque su estancia en cautiverio ha mejorado en tiempo y bienestar animal.

En el caso de las cascabeles, como no tienen tantos reparos en estar expuestas y se encuentran en hábitats secos, los ambientes que les construimos no tienen vermiculita; así mismo, están alojadas en la zona más cálida del serpentario, que conserva una temperatura promedio de 26 grados Celsius.

Cada vez que ingresa un animal a la colección entra en cuarentena y observación, durante tres meses. Durante ese periodo se mantiene separado de la población general para evaluar si está enfermo o presenta signos y síntomas de alguna patología, si recibe o no el alimento, si hace los cambios de muda de forma correcta, entre otras situaciones. Finalizado ese trimestre, se desvenena. Si al cabo de ese tiempo manifiesta alguna condición que no compromete su vida, pero tampoco evoluciona, permanece en cuarentena. Entre tanto, si hay alguna serpiente que ya hace parte de la colección, pero presenta lesiones —generalmente de piel—, la pasamos a cuarentena hasta que se reestablezca su estado de salud.

Salvo en los días de alimentación, ordeño de veneno, chequeo médico o cambios de encierro, el serpentario permanece a oscuras o con una luz muy tenue. No obstante, todas las mañanas se hace un recorrido de inspección y registro de novedades.

Estos son animales silvestres de hábitos solitarios que no están acostumbrados a que se les manipule, se les restrinja con ganchos, pinzas o manos, se les levante, se les estire y se les opriman las glándulas para desvenenarlas. Para ellas resulta incómodo y altamente estresante, pero es una incomodidad que pasa al cabo de unas horas, cuando vuelven a su encierro primario, quedando enrolladitas y tranquilas. El éxito de la técnica consiste en manipularlas lo menos posible y en el menor tiempo para que estas intervenciones no deriven en una enfermedad o muerte. Al tener serpientes tan longevas como las que tenemos hoy en día (por ejemplo, una coral de 8 años y medio en cautiverio), podemos constatar que hemos refinado mucho el proceso de tenencia y mantenimiento de los ejemplares bajo nuestro amparo (ver Capítulo 8).

Antes de ingresar al Instituto yo no tenía ni idea de serpientes porque estaba dedicada al manejo médico veterinario de caballos, pero aprender sobre ellas ha sido increíble, muy desafiante y no exento de riesgos. De hecho, solo cuatro meses después de haber empezado a trabajar en el serpentario fui mordida por una *Bothrops asper* del Chocó, en la yema del índice izquierdo. Ocurrió el 27 de enero del 2014.

Estábamos justo en la jornada de obtención de veneno, yo la tomé, la levanté de su caja y me mordió. Fue muy rápido, no vi lo que pasó. Obviamente solté la serpiente y mi compañero Carlos se encargó de organizarla y asegurarla en su caja. Francisco me realizó el lavado del dedo y el masaje en procura de que saliera algo de sangre. Inmediatamente avisamos a la ARL (compañía aseguradora de riesgos de trabajo), alistamos el carro y el antiveneno que tenemos en el serpentario y salimos de prisa para el Hospital San Rafael de Facatativá, que es nuestro centro asistencial de referencia en caso de un accidente en el serpentario. Llegamos al cabo de unos 45 minutos y entramos derecho a urgencias. Allí, el médico que me atendió no tenía mayor conocimiento y por eso llamamos al Dr. Santiago Ayerbe, y él, por teléfono, orientó al médico sobre el manejo que debía hacer en mi caso. Por fortuna, el doctor que me atendió fue muy amable y receptivo con las indicaciones del Dr. Ayerbe.

Menos mal que la serpiente solo me clavó un colmillo. En el hospital persistía una pequeña hemorragia del dedo, era un hilo de sangre. Sin embargo, ya tenía inflamada toda la mano hasta la muñeca. Me tomaron exámenes y determinaron que no estaba coagulando, entonces me empezaron a administrar el suero del Instituto; el tratamiento fue con 10 ampollas completas. Ese día me dejaron en cuidados intensivos de manera preventiva porque estaba anticoagulada. A las seis horas me volvieron a hacer un examen y ya estaba coagulando, pero continuaba la inflamación de la mano, entonces me ordenaron una radiografía. El ortopedista determinó que había un compromiso del hueso, específicamente de la falange del dedo, por lo que me iba a programar cirugía para desbridar esa parte. Sin embargo, luego de una segunda llamada al Dr. Ayerbe, seguimos su indicación de no operar en ese momento y por eso no autorizamos el procedimiento.

Al día siguiente me bajaron a piso y completé una semana en el hospital, mientras culminaba el tratamiento antibiótico. Me dieron de alta y en mi casa tuve la enfermedad del suero, que es una reacción tardía y esperable al antiveneno; por fortuna no tuve complicaciones. Días después se me desprendió toda la piel del dedo, y en el punto de la mordedura había una costra que con el tiempo se cayó. En una evaluación por ARL determinaron que me tenían que hacer una pequeña cirugía plástica para corregir ese defecto, cosa que hicieron un mes más tarde, y al cabo de unos 45 días me quedó una pequeña cicatriz, pero pude volver a trabajar con las serpientes. ¡Prueba superada!».

### **Testimonio de Carlos Castro, zootecnista del serpentario del INS**

«Yo trabajo aquí en la hacienda hace 18 años. Cuando empecé, el serpentario funcionaba dentro del Instituto, en la sede del CAN, en Bogotá, y yo trabajaba exclusivamente en la finca en la fase de producción con los caballos, es decir, en la inoculación de veneno, las pruebas de titulación —que determinan qué tan efectivos son los anticuerpos generados por el caballo para neutralizar el veneno—, la sangría, la re-infusión de glóbulos rojos, entre otros (Figura 21).



**Figura 21.** Carlos Castro en las instalaciones actuales del Serpentario en la Hacienda Galindo listo para iniciar la jornada de ordeño (extracción de veneno).

A principios de 2011, cuando pensaron en traer el serpentario para la Hacienda Galindo me llevaron a conocer el que estaba en la sede del Instituto en el CAN. Yo estaba muy prevenido de las serpientes, no concebía la idea de sujetar una entre mis manos, pero sí tenía mucha curiosidad. Por eso miraba muy atento todos los procedimientos, la manipulación y los riesgos que implicaba. Fui dos veces y después, a finales de ese año, finalmente hicieron el traslado del serpentario a la Hacienda.

Don Francisco venía a ordeñar las serpientes y yo no me acercaba por allá ¡ni por el chiras! Pero, poco a poco, él me fue involucrando y enseñando todo el proceso hasta que aprendí el manejo de las culebras, y hoy hago los ordeños.

Al principio, para cogerlas, las inmovilizábamos con un gancho justo por encima de la cabeza y dentro de los encierros, lo que generaba que mordieran, su boca se llenara del sustrato en el que viven y el ordeño no fuera tan efectivo. A veces pasaba que, como mecanismo de defensa, ellas expulsaban el veneno antes de que alcanzáramos a poner su boca dentro del vial, y por eso terminaba regado en el piso o dentro de la caja. Para evitar ese desperdicio, modifiqué la técnica que me enseñó don Francisco, y desde hace unos años lo que hacemos es restringirla con una pinza y cogerla por la cabeza manteniéndosela cerrada para que así no suelte el veneno antes de tiempo.

Con ellas uno tiene que estar muy tranquilo y sentirse muy seguro, en todo momento. Cuando estamos en esa labor, todos en el equipo estamos muy conectados; muchas veces no necesitamos hablar para decir ‘voy a abrir la caja’, ‘ya hay que cogerla’, ‘la voy a soltar’...estamos tan sincronizados que a veces solo una mirada basta.

Desde el momento en que las manipulamos puede ocurrirles cualquier cosa: desde una herida de piel externa, muy leve, hasta una fractura de vértebras, pasando por una lesión de colmillos cuando muerden el

vial. Pero somos muy cuidadosos y esto ha ocurrido pocas veces; no por nada tenemos culebras con varios años de edad. A veces, por ejemplo, se lastiman un poco la encía durante la extracción, o como cambian constantemente de dientes (eso depende de su tamaño y de qué tanto estén comiendo) muchas veces cuando el nuevo empuja al viejo y éste ya está suelto nos toca retirárselo para evitar que se quede atascado. Después de desvenenarlas, las limpiamos con un antiséptico y, en algunos casos, aplicamos crema antibiótica.

Por higiene y protección de ellas, utilizamos guantes de látex que nos cambiamos entre serpiente y serpiente; la única consideración es que queden bien ajustados para no perder capacidad de agarre y sensibilidad. Pero con las chiquiticas, como las corales, hemos afinado mucho la técnica, así que pensando en ellas y en la persona que realiza la maniobra las manipulamos ‘a mano limpia’, no usamos ganchos, pinzas ni guantes para tener mayor motricidad y sensibilidad, lo cual minimiza el riesgo de maltratarlas y le da mayor seguridad al manipulador. Por fortuna, a la fecha no hemos tenido ningún accidente con las corales, lo que demuestra lo atinado de la técnica.

Yo viví aquí en la Hacienda con mi familia, que ya está muy habituada a todo el proceso de producción de suero antiofídico. De hecho, mis hijas, de nueve y 17 años, ya saben bastante de serpientes».

**-2016-**: El INS, la Universidad Nacional de Colombia y el Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible publican el documento del Programa Nacional para la Conservación de las Serpientes en Colombia (ver Capítulo 1), en el que abordan aspectos generales y presentan el diagnóstico de los ofidios del país, establecen cuáles son las especies en las distintas regiones ecogeográficas y proyectan cómo debe ser el programa para su conservación (Figura 22).



**Figura 22.** Portadas del Programa Nacional para la Conservación de las Serpientes en Colombia y la guía de diferenciación de serpientes venenosas de Colombia.

**-2016-**: El INS crea el primer suero anticoral polivalente; con la fabricación de 363 viales comienza la producción ininterrumpida de este suero antiofídico en el país.

### Testimonio de Francisco Ruiz, líder del Serpentario

«La producción de sueros anticoral siempre había sido un mito, como todo con las serpientes, en buena medida porque las corales son mucho más difíciles de manejar, desde su captura hasta su manipulación, pasando por su cautiverio. A estas alturas de la vida yo he colectado en campo por ahí unas 300 serpientes, y de esas, solo dos han sido corales. Hay más o menos 30 especies diferentes y son terriblemente tóxicas; si no tienes el suero al lado, es mortal.

Desarrollar este antiveneno era uno de nuestros mayores objetivos, así que empezamos haciendo dos ejercicios: el primero fue preguntarles a muchos biólogos y herpetólogos cuál es la coral más representativa en términos de accidentes ofídicos en el país, aquella especie de la que tenemos que redoblar esfuerzos para hacer el suero. El segundo fue indagar entre médicos especialistas en la materia cuál es la serpiente de este tipo que más genera accidentes según los pacientes que reciben, para lo cual acudimos a dos expertos: Santiago Ayerbe, que es caucano, y Rafael Otero, que es de San Gil (Santander) pero toda su vida profesional la llevó a cabo en la Universidad de Antioquia.

Después de hablar con muchas personas llegamos a la conclusión de que eran cuatro especies de corales: dos de la región transandina (la zona Andina, la Atlántica y la Pacífica), es decir, todo lo que está al occidente del país, donde está distribuida la mayor parte de la población colombiana, y dos de la parte oriental del país, la región cisandina (Orinoquía y Amazonía). De la primera, las dos serpientes más representativas son la *Micrurus dumerilii* y la *Micrurus mipartitus* —la famosa rabo de ají—, y de la segunda están la *Micrurus isozonus* y la *Micrurus surinamensis*. Esta última es la coral de agua, y por su tamaño y la toxicidad de su veneno es considerada una de las más mortales en Colombia.

Entonces, con los venenos que había dejado Juan Manuel Renjifo en nuestro banco de venenos sumados a los recolectados por nuestro grupo en años recientes comenzamos a pensar con María Carlina Castillo cómo los íbamos a mezclar y, lo que era más crítico, cuánto le íbamos a inocular a cada caballo.

Luego de rascarnos la cabeza, de escribirle a los brasileros, que obviamente tenían su receta y son celosos con ella, y lo mismo con los costarricenses, sacamos un número acorde a nuestros cálculos. Duramos una semana dilucidando la formulación. Inyectamos los caballos con veneno y yo estuve en la finca, desde las 6 am, por 23 días seguidos, mirando qué pasaba. Hicimos tres inyecciones de veneno, sacamos sangre, fuimos a titular y parecíamos unos niños chiquitos en secretismo: nos encerrábamos en el laboratorio y hacíamos las pruebas hasta que ¡EUREKA! Todos los cuatro caballos dieron títulos para los venenos que les inyectamos. ¡¡¡Lo descubrimos!!! Así fue como, para comienzos del 2016, hicimos el primer lote con 363 viales de suero anticoral polivalente del Instituto Nacional de Salud (Figura 22).



Figura 23. Segundo lote de suero anticoral polivalente producido por el INS.

Nos henchimos de emoción y susto porque, aunque todas las pruebas preclínicas realizadas eran fiables no sabíamos cómo sería la reacción en las personas. Sentí mucha ansiedad con el primer paciente al que le pusieron nuestro suero antiofídico. Seguimos muy de cerca su caso y tuvimos comunicación directa con él; por fortuna respondió muy bien. También vi al segundo y, además, acompañé a los toxicólogos tratantes en el Hospital San José de la FUCS, adonde había sido remitido desde La Mesa, Cundinamarca, por la mordida de una coral rabo de ají (*Micrurus mipartitus*). En 48 horas el paciente tuvo un cambio impresionantemente tras la aplicación de nuestro suero anticoral, y eso nos demostró su enorme eficacia. Desde entonces, todos los años recibimos mensajes de médicos generales, urgenciólogos y toxicólogos compartiéndonos sus experiencias exitosas en el tratamiento de accidentes ofídicos por mordedura de elápidos. Hicimos algunos ajustes y ahora estamos en la fase final del registro ante el INVIMA».

### **Testimonio de Rafael Otero, pediatra y toxicólogo, fundador del Proyecto de Ofidismo y Escorpionismo en Antioquia y Chocó, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia**

«Los venenos de corales son de acción lenta, y con lenta me refiero a dos horas después de la mordedura para que se instale el cuadro clínico, en el que gradualmente aparecen distintos síntomas: se caen los párpados, se dificulta la deglución y la respiración, hay debilidad en las extremidades y, finalmente, se presenta un paro respiratorio, que puede suceder en cuestión de seis o 12 horas, dependiendo de si es un niño o un adulto. Por eso, el tratamiento debe ser aplicado, idealmente, durante las primeras dos horas, pues así se obtienen los mejores resultados.

Los antivenenos anticoral que desde el 2016 se producen en Colombia son fruto de la experimentación de Brasil o Costa Rica con antivenenos parecidos contra *Micrurus*, que es el género de serpientes venenosas llamadas corales. Y estos sueros producidos nacionalmente no tienen nada que envidiarles a los extranjeros frente a su eficacia neutralizante. El antiveneno polivalente del INS llena un gran vacío que existía en Colombia por accidentes por corales. Es muy potente y cubre varias especies».

### **Testimonio de Santiago Ayerbe, pediatra y toxicólogo, fundador del Grupo de Investigaciones Herpetológicas y Toxicológicas del Centro de Investigaciones Biomédicas, de la Universidad del Cauca**

«El veneno de las corales es un veneno muy difícil de obtener porque son animales que tienen colmillos muy pequeños, de un milímetro o menos; solo las más grandes tienen colmillos de dos milímetros, y por eso, en general, ordeñarlas es sumamente difícil. Desde luego que son venenos potentes, pero la cantidad que se obtiene es mínima y el hospedero, que es el caballo, necesita cantidades suficientes de veneno para poder reconocerlo y producir anticuerpos, de lo contrario, escasamente puede tener uno un efecto de neutralización. Ese es el problema con las corales, y no es solo de aquí, sino de toda América.

En Brasil y Costa Rica tienen inconvenientes de reconocimiento, o sea, al hacer las pruebas *in vitro* se reconoce el veneno, pero no se produce el anticuerpo. El suero anticoral que sí demostró tener una capacidad neutralizante adecuada o reconocida fue el del veneno de la ‘coralillo’ (*Micrurus dumerilii*), que es una coral que aquí en Colombia tiene cuatro subespecies y ocupa el segundo lugar en accidentes ofídicos por corales, pues el primer lugar es de la ‘rabo de ají’ (*Micrurus mipartitus*), con 4 o 5 subespecies que próximamente van a ser elevadas a especies.

El Instituto produce el antiveneno anticoral de mayor potencia en toda América, pero sirve solamente para las especies de la zona septentrional de Suramérica —es decir, Colombia, Ecuador, Perú, Venezuela y algo de Brasil—, pues los venenos que se han utilizado en su fabricación son de esas regiones. También se usa para Panamá y Costa Rica porque hasta allá llega la *Micrurus multifasciatus*, cuyo veneno es casi idéntico al de la ‘rabo de ají’. Este suero es el que tiene mayor capacidad de neutralización».

**-2016-**: Cuarenta años después de producido, se realiza un estudio de laboratorio a una muestra del suero antiofídico del lote 12, fabricado en octubre de 1976, el más antiguo de manufactura propia que conserva el INS.

### **Testimonio de Francisco Ruiz, líder del Serpentario**

«Este es el vial más antiguo que se conserva de suero antiofídico monovalente producido por el Instituto Nacional de Salud (Figura 24). Se trata del lote 12, fabricado en 1976, cuando el grupo de sueros estaba liderado por Juan Manuel Renjifo.



**Figura 24.** (Izquierda) Suero antiofídico polivalente producido en la década de 1970, correspondiente al lote 12. (Derecha) Foto del cuaderno de producción de 1976 donde se evidencia el lote del vial que contiene el antiveneno, con letra de Guiomar Caicedo.

SUERO Monovalente  
 LOTE N° 12 <sup>de</sup> <sub>posterior</sub>  
 BOTHROPS  
 4/2/76 Plasma Bothropico  
 Pool N° 13-14-15  
 Vol Total = 54 lts  
 $(NH_4)_2SO_4 \rightarrow [12\%] = 13 kg$   
 $H_2O$  dest c.s.p.  $\rightarrow 54 lts$   
 fenol 90%  $\rightarrow [0.5\%] = 600 ml$   
 $NaCl \rightarrow [0.9\%] = 972 gts$   
 PH = 7  
 5/2/76 Filtración por papel  
 pel 3&S 1575  
 6/2/76 Vol = 100 lts  
 $(NH_4)_2SO_4 = 23.7 kg \rightarrow$   
 $50 lts H_2O$  dest  
 $+ 278 ml$  fenol 90%  $\rightarrow$

Fue recuperado gracias a que un día, hacia finales de 2009, un médico se acercó a las instalaciones del Instituto en el CAN para entregarme dos viales. Según me contó, su papá acostumbraba a comprar los sueros en el Instituto y los mantenía congelados para conservarlos mejor, y cuando él murió los encontraron dentro del refrigerador de su finca, y pensó que, en vez de botarlos, al Instituto le interesaría tenerlos. Nos trajo dos ampollas. Probamos una y después de tantos años el suero todavía neutralizaba. Juan Manuel utilizaba una frase que nunca se me olvida: ‘el suerito es muy agradecido’. Y efectivamente este frasco lo demuestra».

### **Testimonio de María Carlina Castillo, coordinadora del Grupo de Producción y Desarrollo Tecnológico de la división de Producción de Biológicos, del INS**

«A uno de los viales recibidos por el INS, en el año 2016, optimizado al máximo las pruebas, le realizamos análisis de electroforesis, cuantificación proteica, y la más crítica, la titulación o potencia de neutralización. El resultado fue concluyente, el suero aún mantenía títulos 40 años después. Yo siempre he dicho que la estabilidad de los sueros que produce el INS es muy alta porque no todo el mundo produce con la misma exigencia, con la misma capacidad neutralizante ni con el mismo cumplimiento del marco normativo. El INS no comercializa ningún lote de antiveneno si no cuenta con el certificado de aprobación del INVIMA como ente regulador (Figura 25)».

 <b>INSTITUTO NACIONAL DE SALUD</b>	<b>PROCESO PRODUCCIÓN</b>	<b>INFORME DE RESULTADOS</b>	Versión: 00
		FOR R04 6020-109	2014-Jun-09 Página 1 de 1

Grupo Aseguramiento de la Calidad  
Av. Calle 26 51-20 Teléfono 2207700 Ext.1280

1. INFORMACIÓN DEL CLIENTE	
Área solicitante	PLANTA DE SUEROS HIPERINMUNE
Responsable	Carolina Castulo
Teléfono	Extensión 1320 -1325

2. INFORMACIÓN DE LAS MUESTRAS	
Producto o Material	Producto Terminado: Antiveneno Monovalente (Bothropico)
Lote	12 de 1979
Descripción de la muestra	Líquido amarillo opalescente con presencia de pequeñas partículas de color negro.
Numero de análisis	M-1069-16
Fecha recepción:	2016-08-24
Fecha de análisis:	2016-08-24
Fecha emisión resultados:	2016-08-26

3. INFORMACIÓN DE LOS ANÁLISIS			
ANÁLISIS	MÉTODO	ESPECIFICACIÓN	RESULTADO
Neutralización Bothrops	MEN-R04.6020-012	≥7,00 mg/mL	4,25 mg/mL

Concepto de calidad  Aprobado  Rechazado  No aplica

Observaciones El presente informe es de tipo informativo para el área solicitante, en la etiqueta del vial analizado se reporta la neutralización de 50mg/10mL.

*FAB* 2016-09-20  
Control de Calidad

*M. Orjuela* 2016-10-11  
COORDINADOR (A)

\* Este informe no puede ser reproducido parcial ni totalmente sin la autorización del Laboratorio de Aseguramiento de la Calidad\*

FIN DEL INFORME

*Carolina*  
2016-10-11

**Figura 25.** Foto del resultado de la prueba de titulación realizada al lote 12. Aunque en este documento se dice que este resultado es del lote 12 de 1979, en realidad este año corresponde a la fecha de vencimiento del vial, pero su producción fue en 1976.

**-2017-:** Por segunda vez, el INS recibe de parte del Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (INVIMA) el certificado por 18 meses de Buenas Prácticas de Manufactura Farmacéutica (BPM) del suero antiofídico polivalente y antiveneno anticoral polivalente.

**-2020-:** Las Fuerzas Armadas de Estados Unidos publican una guía de manejo global en caso de que sus miembros sufran accidentes ofídicos, y en ella determinan el uso de los antivenenos creados por INS como tratamiento de primera línea, en Suramérica y Centroamérica.

*Detalle:* En la guía de evaluación y tratamiento de personas que han sufrido envenenamiento ofídico que acogen las Fuerzas Armadas de Estados Unidos se establece, en cada región del mundo, cuál es el protocolo por seguir. Según este documento, para contrarrestar los venenos neurotóxicos

en Suramérica el antiveneno anticoral polivalente producido por el Instituto Nacional de Salud de Colombia constituye la primera línea de acción recomendada para abordar un caso de cualquier severidad (página 60 y 64[18]).

**-2021-**: Una vez más, el Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (INVIMA) certifica al INS en Buenas Prácticas de Manufactura Farmacéutica (BPM) para la fabricación de suero antiofídico polivalente y antiveneno anticoral polivalente.

**-2021-**: El Instituto adelanta pruebas de liofilización de suero antiofídico polivalente. (Figura 26).



**Figura 26.** Proceso de liofilización de suero antiofídico. (A) Suero antiofídico antes del proceso de liofilización. (B) Suero antiofídico en cámara de liofilización. (C) Suero antiofídico liofilizado.

### **Testimonio de María Carlina Castillo, coordinadora del Grupo de Producción y Desarrollo Tecnológico de la división de Producción de Biológicos, del INS**

«Actualmente, estamos haciendo pruebas de liofilización, y ya casi estamos listos para hacer nuestros lotes piloto. El desafío es mantener la misma capacidad neutralizante del veneno de *Bothrops*, es decir, 7 miligramos de veneno por cada mililitro de antiveneno. Estamos proyectando fabricar una fracción liofilizada para satisfacer un pequeño mercado de personas que lo quieren en esa presentación, pero mantendremos nuestros sueros líquidos, como son hoy todos nuestros productos biológicos hiperinmunes.

Con respecto a los antivenenos puedo decir que nuestro suero, manteniéndolo a 37 grados Celsius día y noche o congelándolo, empieza a bajar el título (potencia) como a los seis meses. Lo que primero que se afecta es su apariencia, pues se pone como lechoso, pero no pierde su capacidad neutralizante. También tenemos evidencia de que a unos 20 grados a la sombra el producto se mantiene durante todo el tiempo de vida útil, que es de tres años en el caso del suero antiofídico polivalente botrópico, conforme la autorización del registro sanitario vigente.

El Instituto cuenta con un programa de estudio de estabilidades, y para ello se conservan diferentes lotes durante todo el tiempo de vida útil. Ini-

cialmente, a todos se les hacían diversas pruebas a los 0, 1, 2, 3, 6, 9, 18, 24, 36 y 48 meses de fabricación. Hoy en día las estamos distanciando un poco más —las realizamos a los 0, 3, 6, 12, 18, 24, 36 y 48 meses—, con el propósito de confirmar las características totales del producto. Se practican pruebas de esterilidad, inocuidad, de proteína, de fenol, de cloruro, entre otras, para garantizar que se mantengan las mismas condiciones de eficacia y seguridad».

#### **4. Mirando el futuro**

La liofilización es el capítulo más reciente de esta historia culebrera de la producción y optimización de sueros antiofídicos, un proceso que en el mundo tiene más de un siglo a cuestas y que en Colombia surgió en la década de 1930.

Hay tecnologías que, indudablemente, evolucionarán el desarrollo de antivenenos y permitirán emplear metodologías distintas, como la de bacteriófagos, la transcriptómica o los venenos recombinantes (ver Capítulo 6). No obstante, tomarán mucho tiempo de análisis, evaluación e implementación por su complejidad y costo. No en vano, en Brasil, Costa Rica, México, Inglaterra y Japón, por citar solo algunos países, destacan en el estudio y la elaboración de sueros, siguiendo los pasos trazados por el infectólogo francés Albert Calmette y otros científicos visionarios de finales del siglo XIX y comienzos del XX.

De ahí que el Instituto Nacional de Salud haya fortalecido, especialmente en la última década, el equipo técnico y la infraestructura necesarias para fabricar sueros biológicos seguros y eficaces contra el envenenamiento por mordedura de diversas especies de serpientes. Hoy tiene una capacidad de producción que supera 50.000 viales por año; no obstante, esta fácilmente podría duplicarse si se requiere, para cumplir con la misión de que los accidentes ofídicos ya no sean una enfermedad tropical desatendida, ni en Colombia ni el mundo.

## Referencias

1. Anonymous *La leyenda de Gilgamesh*; ©Instituto Latinoamericano de la comunicación educativa ILCE: Ciudad de México; [http://bibliotecadigital.ilce.edu.mx/Colecciones/ObrasClasicas/\\_docs/Gilgamesh.pdf](http://bibliotecadigital.ilce.edu.mx/Colecciones/ObrasClasicas/_docs/Gilgamesh.pdf)
2. Soca, R. La palabra del día Available online: [https://www.elcastellano.org/envios/2021-12-02-000000?utm\\_campaign=LaPalabraDelDía](https://www.elcastellano.org/envios/2021-12-02-000000?utm_campaign=LaPalabraDelDía) (accessed on Dec 3, **2021**).
3. Léon C.J.M. Charles Albert Calmette, 1863-1933. *Biogr. Mem. fellows R. Soc.* **1934**, 1, 1–12, doi:<https://doi.org/10.1098/rsbm.1934.0015>.
4. Bochner, R. Paths to the discovery of antivenom serotherapy in France. *J. Venom. Anim. Toxins Incl. Trop. Dis.* **2016**, 22, 1–7, doi:[10.1186/s40409-016-0074-7](https://doi.org/10.1186/s40409-016-0074-7).
5. Nassif, M.I. El vital Brazil con Z Available online: <https://revistapesquisa.fapesp.br/es/el-vital-brazil-con-z/> (accessed on Dec 3, **2022**).
6. Hawgood, B.J. Pioneers of anti-venomous serotherapy: Dr Vital Brazil (1865-1950). *Toxicon* **1992**, 30, 573–579.
7. Bochner, R.; Struchiner, C.J. Epidemiologia dos acidentes ofídicos nos últimos 100 anos no Brasil: uma revisão. *Cad. Saude Publica* **2003**, 19, 07–16, doi:[10.1590/s0102-311x2003000100002](https://doi.org/10.1590/s0102-311x2003000100002).
8. Anónimo. Historia del Instituto Clodomiro Picado Available online: <https://www.icp.ucr.ac.cr/index.php/es/sobre-el-icp/historia-del-instituto-clodomiro-picado> (accessed on Nov 10, **2021**).
9. Congreso Constitucional de la República de Costa Rica *Ley de defensa contra el Ofidismo*; Costa Rica, **1926**; p. 8.
10. Otero, R.; Núñez, V.; Barona, J.; Fonnegra, R.; Jiménez, S.; Osorio, R.; Saldarriaga, M.; Díaz, A. Snakebites and ethnobotany in the northwest region of Colombia Part III: Neutralization of the haemorrhagic effect of *Bothrops atrox* venom. *J. Ethnopharmacol.* **2000**, 73, 233–241, doi:[10.1016/S0378-8741\(00\)00243-9](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(00)00243-9).
11. Vargas, P.F. *Pensamientos políticos y memoria sobre la población del Nuevo Reino de Granada*; Biblioteca Popular Colombiana: Bogotá D.C, **1944**.
12. Lozano, J.T. No Title. *Sem. del Nuevo Reino Granada* **1808**, 117–182.
13. Welborn, J.L. Plant of the Week Available online: [https://www.fs.usda.gov/wildflowers/plant-of-the-week/polygala\\_senega.shtml](https://www.fs.usda.gov/wildflowers/plant-of-the-week/polygala_senega.shtml) (accessed on Dec 20, **2021**).
14. Núñez, V.; Otero, R.; Barona, J.; Saldarriaga, M.; Osorio, R.G.; Fonnegra, R.; Jiménez, S.L.; Díaz, A.; Quintana, J.C. Neutralization of the edema-forming, defibrinating and coagulant effects of *Bothrops asper* venom by extracts of plants used by healers in Colombia. *Brazilian J. Med. Biol. Res. = Rev. Bras. Pesqui. medicas e Biol.* **2004**, 37, 969–977, doi:[10.1590/s0100-879x2004000700005](https://doi.org/10.1590/s0100-879x2004000700005).
15. Pereañez, J.A.; Preciado, L.M.; Romero, L.E. Toxinology in colombia: Contributions of ophidism/scorpionism program and other research groups. *Vitae* **2019**, 26, 120–134, doi:[10.17533/udea.vitae.v26n3a01](https://doi.org/10.17533/udea.vitae.v26n3a01).
16. The Lancet Snake-bite envenoming: a priority neglected tropical disease. *Lancet* **2017**, 390, 2, doi:[10.1016/S0140-6736\(17\)31751-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)31751-8).

17. Ministerio de Salud-Instituto Nacional de Salud *Reseña Histórica del Laboratorio Nacional de Salud "Samper-Martínez" 1917-1982*; Instituto Nacional de Salud: Bogotá, **1982**.
18. Benjamin, J.M.; Hall, M.A.J.A.; Collazo, M.; Grisham, C.P.T.J.; Jarema, D.; Dye, S.S.G.C.; Lee, S.S.G.J.; Abo, B.; Loos, S.F.C.P.; Remley, M.S.G.M.; et al. Clinical practice guideline( JTS CPG ) Global Snake envenomation management ( CPG ID : 81 ). *Res. Gates* **2020**.



Entre las múltiples entrevistas realizadas con expertos, testigos, y protagonistas de la historia de la producción del suero antiofídico en Colombia, esta ilustración se inspirada en el encuentro de 2021 que tuvimos con Juan Manuel Renjifo y Guiomar Caicedo para recordar sus vivencias. Esta reunión se llevó a cabo en un municipio aledaño a Bogotá, particularmente en la finca de Juan Manuel Renjifo, quien hacía más de 30 años no veía a su colega de trabajo e investigación Guiomar Caicedo

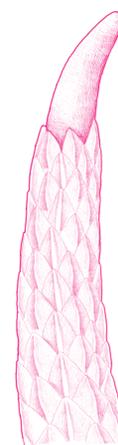
# Capítulo 8

## Serpientes venenosas en cautiverio: Una historia de lecciones aprendidas

**Teddy Angarita Sierra, Juan José Torres-Ramírez, Carlos Antonio Castro-Sandoval, Mónica Sarmiento, Francisco Javier Ruiz-Gómez**

**Resumen:** La clave para establecer un programa a gran escala para la producción de antiofídicos es mantener vivas la mayor cantidad de serpientes de importancia médica en un ambiente intensivo de cautiverio. Sin embargo, el cautiverio está asociado con factores estresantes que pueden provocar cambios fisiológicos y comportamentales crónicos y constantes en las serpientes, conllevando a niveles no adaptativos de glucocorticoides que causan el detrimento del bienestar de las serpientes. Comprender las patologías y sus impactos en las serpientes en cautiverio, así como aprender las mejores prácticas para su manejo, son los principales objetivos que busca un serpentario para la producción de antiofídicos. Sin embargo, llegar a comprender y aprender de las lecciones es un largo camino en el que los enfoques empíricos, el sentido común y la experiencia de los mayores son la mejor guía. Este capítulo resume y analiza los datos históricos disponibles desde 1990 a 2021 de las serpientes cautivas empleadas para la producción de antiofídicos alojados en el serpentario del Instituto Nacional de Salud de Colombia. Además, brindamos una breve historia de las lecciones aprendidas sobre las serpientes venenosas alojadas en el serpentario, así como la información más interesante sobre ellas.

**Palabras clave:** Serpentario; cautiverio; antiofídico, cría; manipulación; alimentación; dieta; alojamiento, Viperidae; Elapidae.



Citación: Angarita-Sierra T.; Torres-Ramírez JJ.; Castro-Sandoval CA.; Sarmiento M.; Ruiz-Gómez F.J. Capítulo 8. Serpientes venenosas en cautiverio: Una historia de lecciones aprendidas. En: *Mordeduras, venenos y serpientes venenosas de Colombia*; Angarita-Sierra, T y Ruiz-Gómez, F.J., Eds.; Instituto Nacional de Salud; Bogotá D.C., Colombia, 2024; pp. 373–410. doi:10.33610/236047mxfid



Copyright: © 2024 por los autores. Publicación de acceso abierto bajo los términos y condiciones de licenciamiento Creative Commons Atribución (CC BY-NC-ND 4.0) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Ilustraciones por:  
Oscar A. Ramírez Ruiz

## 1. Las joyas del serpentario

A pesar de la idea generalizada de que las serpientes son animales comunes en las zonas naturales y rurales, lo cierto es que son reptiles esquivos, crípticos y poco comunes, más aún en los trópicos. Encontrar serpientes en ecosistemas tropicales suele ser una tarea difícil. La mayoría de las serpientes viven en hábitats ocultos, aislados y de difícil acceso (p. ej., la selva hiperhúmeda del Chocó y la selva amazónica). Además, debido al conflicto armado en Colombia, algunas regiones del país han sido históricamente inaccesibles o altamente riesgosas para los investigadores [1,2].

Lograr un muestreo robusto de serpientes tropicales es siempre un gran desafío, y más aún si el objetivo es capturar especies venenosas para establecer un programa para la producción de antiofídicos a gran escala. Históricamente, investigadores experimentados han empleado diseños de muestreo intensivos en áreas definidas en hábitats tropicales. No obstante, sus resultados han demostrado que, aunque se invierta un enorme esfuerzo de muestreo, no se logra obtener una representatividad completa de la comunidad de serpientes [3–5].

Por lo tanto, la adquisición de serpientes vivas para la producción de antiofídicos, que incluya todas las serpientes de importancia médica con una representatividad geográfica aceptable, exige desafíos tales como: (1) construir una red sólida de colaboradores que incluya investigadores, autoridades gubernamentales y aliados no gubernamentales; (2) invertir un gran esfuerzo de muestreo realizando muestreos intensivos de serpientes; y (3) ser paciente y tener una alta tolerancia a la frustración debido a la naturaleza evasiva y críptica de las serpientes. En consecuencia, todas las serpientes para la producción de antiofídicos recolectadas y alojadas a lo largo de décadas en el Instituto Nacional de Salud (INS) de Colombia son joyas que merecen ser muy bien cuidadas y mantenidas con esmero. Este capítulo resume la historia de las lecciones aprendidas sobre las serpientes venenosas alojadas en el serpentario del INS, así como la información más destacable sobre estas joyas del serpentario.

### 1.1. Riqueza y representatividad taxonómica de las serpientes

Históricamente, el serpentario del INS ha albergado al menos 608 ejemplares de serpientes, según los registros clínicos disponibles de 1990 a 2021. Sin embargo, este número dista mucho de ser representativo de la verdadera historia del serpentario porque durante el período 1965–1985 cuando estaba ubicado en el municipio de Armero (departamento de Tolima), se albergaron alrededor de 1.000 ejemplares (*com pers. Juan Manuel Renjifo, ver Capítulo 7*). Sin embargo, los registros de estos especímenes son escasos debido a que las historias clínicas estandarizadas se establecieron a partir del año 2000 (Tabla 1).

Durante la etapa inicial del serpentario en Armero, la población en cautiverio estaba conformada principalmente por individuos de tres especies:

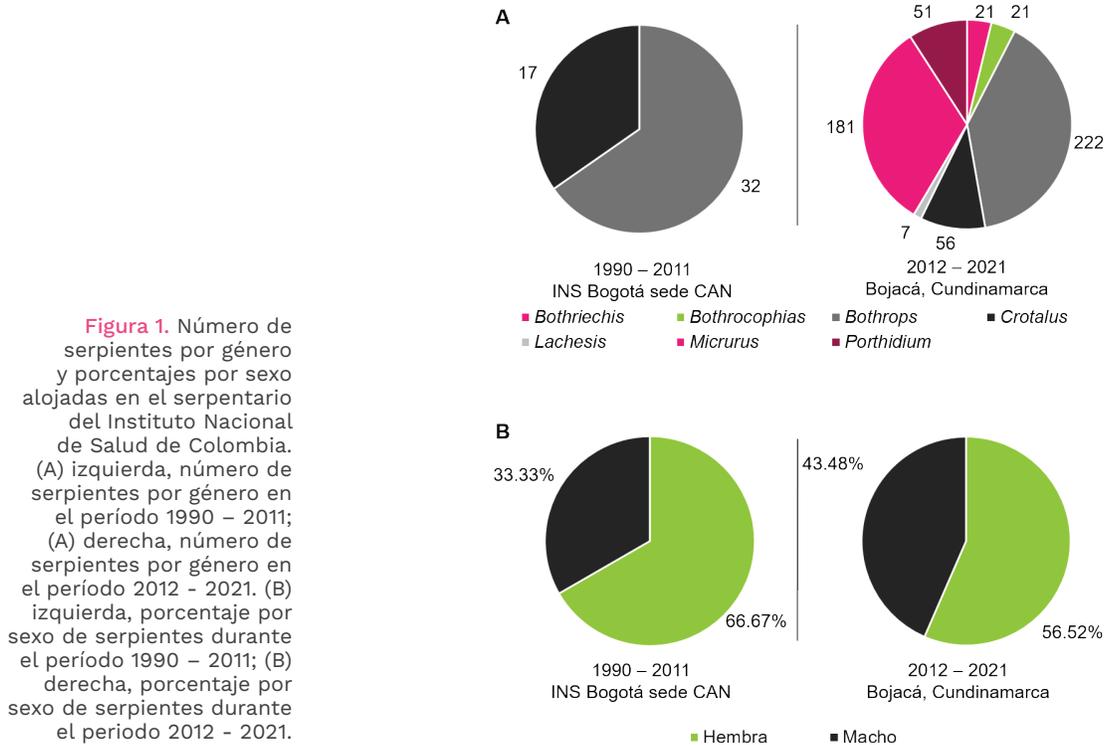
*Crotalus durissus* (cascabel), *Bothrops asper* (Talla X) y *B. atrox* (mapanare). Después de la reubicación del serpentario de Armero (ver Capítulo 7) a lo largo del tiempo, la riqueza y abundancia de especies del serpentario crecieron gradualmente, agregando ocasionalmente víboras como *Bothriechis schlegelii* (víbora de pestañas), y *Lachesis muta* (verrugoso), pero manteniendo a *Crotalus durissus*, *Bothrops asper* y *B. atrox* como el núcleo de especies para la producción de antiofídicos. Desde 2012 a la actualidad, se logró un notorio aumento en la abundancia y riqueza de especies de serpientes colombianas de importancia médica albergadas en el serpentario (Tabla 1). Asimismo, se logró incluir a la población general del serpentario serpientes coral (*Micrurus* spp.), consiguiendo que su representatividad en el serpentario se volviera permanente. Estos logros fortalecieron la producción nacional de antiofídicos, así como el establecimiento de un programa intensivo de cautiverio de serpientes a gran escala para la producción de suero anticoral [6].

**Tabla 1.** Número de serpientes venenosas alojadas históricamente en el serpentario del Instituto Nacional de Salud de Colombia.

Periodo	Familia Elapidae (Corales)	Familia Viperidae (Víboras)	Ejemplares totales
1965-1985	0	~1.000	~1.000
1990-2011	0	49	49
2012-2021	181	378	559
<b>Total</b>	<b>181</b>	<b>427</b>	<b>608</b>

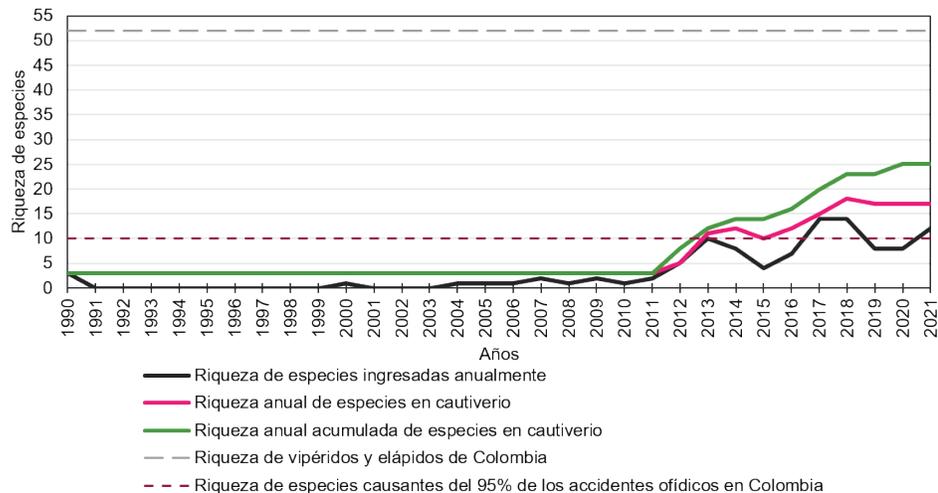
A lo largo de la última década, el serpentario ha mantenido siete de los ocho géneros de serpientes de importancia médica en el país: especies de víboras de los géneros *Bothriechis*, *Bothrocophias*, *Bothrops*, *Crotalus*, *Porthidium* y *Lachesis*; y varias especies de corales del género *Micrurus*. La serpiente marina de vientre amarillo *Hydrophis platurus* ha sido la única especie ausente en toda la historia del serpentario (Figura 1).

Curiosamente, cuando se revisó la proporción histórica de sexos de las serpientes albergadas en el serpentario, se observó un sesgo en su proporción, el porcentaje de hembras fue mayor que el de machos, independientemente del año o período histórico evaluado (Figura 1). La mayoría de las serpientes alojadas en el serpentario provienen de encuentros ocasionales o búsquedas activas de serpientes. Por lo tanto, existen numerosas explicaciones para el sesgo observado, como lo son: sesgo por tipo de muestreo, proporciones de sexos sesgadas por la especie o población, mortalidad diferencial, inmigración y emigración diferencial, y madurez diferencial de los sexos entre y dentro de las especies [7]. Debido a la carencia de estudios sobre la historia natural de la mayoría de las especies de importancia médica en Colombia, así como a la falta de conocimiento sobre las interacciones en el conflicto entre humanos y serpientes, no podemos explicar las razones de este resultado, ni indicar si alguno o varios de los factores anteriormente nombrados direccionan este sesgo.



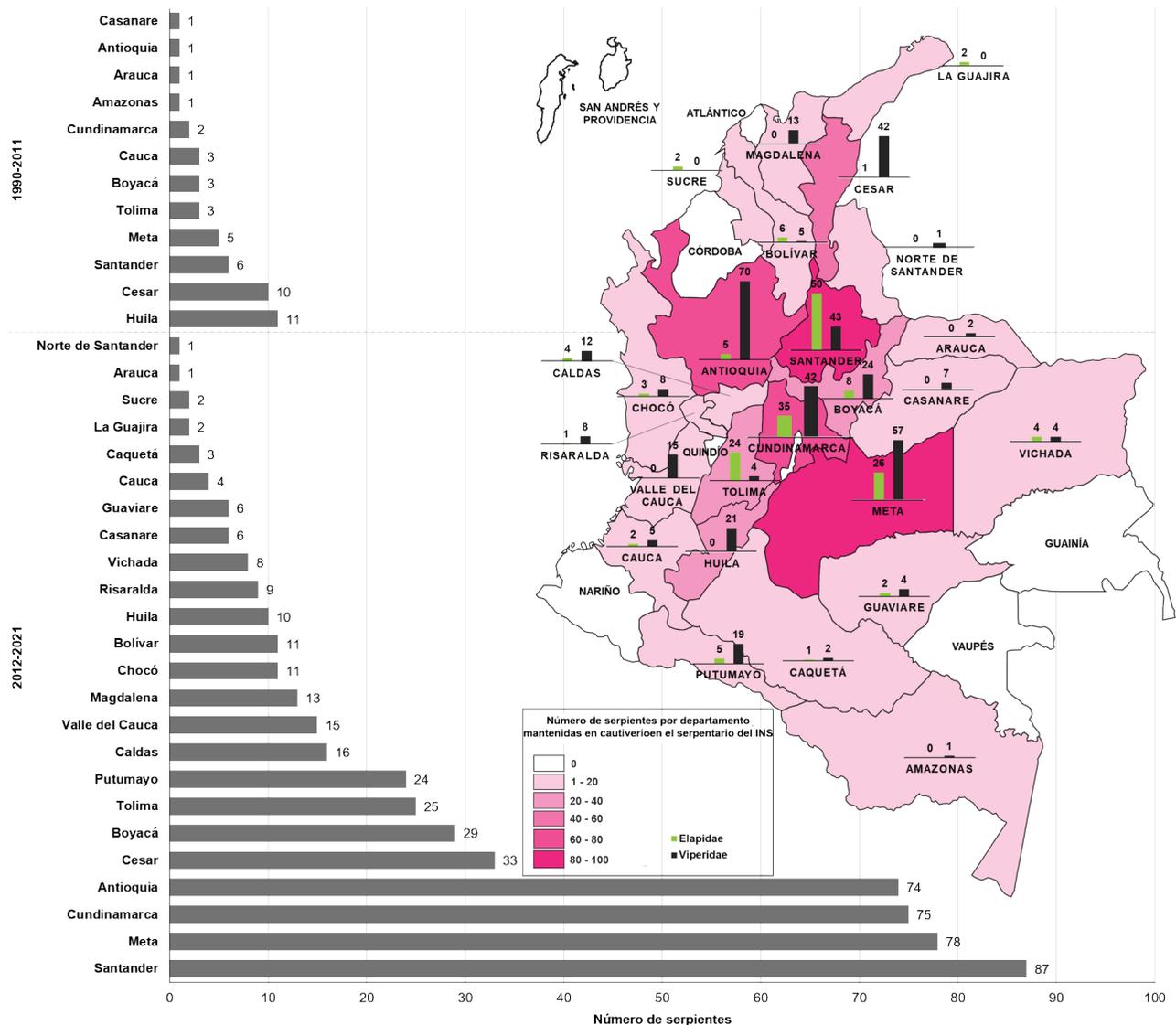
**Figura 1.** Número de serpientes por género y porcentajes por sexo alojadas en el serpentario del Instituto Nacional de Salud de Colombia. (A) izquierda, número de serpientes por género en el período 1990 - 2011; (A) derecha, número de serpientes por género en el período 2012 - 2021. (B) izquierda, porcentaje por sexo de serpientes durante el período 1990 - 2011; (B) derecha, porcentaje por sexo de serpientes durante el periodo 2012 - 2021.

Los enormes esfuerzos invertidos por el gobierno colombiano, liderado por el INS en la recolección de especímenes de serpientes de importancia médica durante la última década, con el fin de mejorar la capacidad de producción y neutralización de sus propios antiofídicos polivalentes, han tenido un enorme impacto en la riqueza de especies y la representatividad de las serpientes alojadas en el serpentario. Antes de 2011, la riqueza acumulada era menor a cuatro especies, pero durante el periodo 2012 a 2021 la riqueza acumulada de especies mostró un rápido crecimiento, alcanzando un total de 25 especies de serpientes. Estas especies representaron el 48% del total de serpientes de importancia médica en el país, y abarcan el 100% de las principales especies de serpientes venenosas que causan envenenamiento en Colombia (Figura 2).



**Figura 2.** Riqueza anual de especies de vipéridos y elápidos alojados históricamente en el serpentario del Instituto Nacional de Salud de Colombia.

Asimismo, estos esfuerzos contribuyeron a obtener un mayor número de ejemplares y especies de serpientes alojadas en el serpentario por unidad geográfica y política durante el periodo 2012-2021 (Figura 3). Por lo tanto, se fortaleció el banco de venenos utilizados para la producción e investigación de antiofídicos, aumentando el número de venenos por especie, población y ecorregión. En particular, en la última década la representatividad por unidad política creció de 12 a 23 departamentos, de tres a cinco ecorregiones, con un promedio de 3,9 a 22,6 serpientes por departamento (Figura 3).



**Figura 3.** Gráfico de barras que muestra la representación política histórica de las serpientes en cautiverio en el serpentario del Instituto Nacional de Salud (INS). Mapa que muestra la representación geográfica histórica de las serpientes mantenidas en cautiverio en el serpentario del INS.

A pesar de estos enormes esfuerzos, aún existe una escasa representatividad geográfica, así como un bajo número de ejemplares por especie en ecorregiones como la Amazonía, el Pacífico y el Caribe (en particular en

la alta Guajira). Estos vacíos se producen por los altos costos que implica realizar búsquedas de serpientes en ecosistemas aislados, no visitados o de difícil acceso como el bosque seco xerófilo (departamento de La Guajira), el bosque hiperhúmedo de la selva chocoana, las tierras bajas del norte de Amazonía, las tierras altas del Pacífico y las laderas orientales de las montañas de los Andes que abarcan los bosques montanos húmedos y bosques montanos nublados.

Además, cuando las autoridades ambientales u organizaciones aliadas tienen serpientes venenosas para donar al serpentario, existen serias limitaciones para su entrega o traslado desde su lugar origen porque las empresas de transporte y mensajería en Colombia no cuentan con los procedimientos y capacidades para transportar este tipo de carga. Además, el conflicto armado colombiano ha restringido la libre circulación en zonas naturales y rurales, lo que hace que sea riesgoso obtener serpientes para la producción de antiofídico en varios municipios del país [2].

Sin embargo, la historia reciente del serpentario mostró que la adquisición de serpientes en la última década ha fortalecido notablemente la capacidad de producción y neutralización de los antiofídicos, mostrando una tendencia creciente para superar la escasez del pasado (ver Capítulo 6), así como para consolidar un sólido programa de cautiverio de serpientes para la producción de antiofídicos.

## **2. Sobreviviendo al encierro**

Uno de los objetivos más desafiantes de cualquier serpentario es mantener vivas a las serpientes el mayor tiempo posible. Sin embargo, establecer un programa intensivo de cautiverio de serpientes a gran escala para la producción de antiofídicos, es sustancialmente diferente, a instaurar un programa de exhibición o de estudios biológicos. En este entorno de cautiverio se deben implementar numerosos protocolos estrictos y estandarizados de bienestar animal que propenden por extender lo más posible la expectativa de vida de las serpientes empleadas para la producción de antiofídicos. [8]. La supervivencia de las serpientes en cautiverio está asociada a múltiples factores como: las condiciones iniciales de la serpiente cuando llega al serpentario, el ambiente de cautiverio, la etapa de desarrollo de la serpiente, el sexo, la condición corporal, el estado de salud, la región de origen, la alimentación, así como la frecuencia y protocolos de manipulación en el laboratorio. [8].

Experiencias previas en todo el mundo han demostrado que a pesar de una cuidadosa estandarización y combinación adecuada de variables ambientales (p. ej., temperatura, humedad, luz, frecuencia de alimentación, espacio físico), así como estrictas condiciones sanitarias y cuidados veterinarios, no es posible garantizar que las serpientes se adapten al cautiverio [8–13]. Alrededor del 90% de los reptiles capturados en la naturaleza mueren en el primer año de cautiverio debido a un trauma físico previo a la captura o porque sus cuidadores no pueden satisfacer sus complejas necesidades de hábitat y nutrición [14].

El síndrome de mal adaptación, o incapacidad de la serpiente para adaptarse al cautiverio, es la principal fuente de mortalidad en los serpentarios a nivel mundial debido a los efectos patológicos del estrés [8,12,13]. El cautiverio está asociado a factores estresantes que pueden inducir cambios fisiológicos y comportamentales crónicos y constantes en las serpientes, provocando respuestas y niveles no adaptativos de secreción de glucocorticoides que perturban crónicamente sus actividades normales, lo que lleva a un deterioro del bienestar de las serpientes [13]. Por lo tanto, comprender los factores que pueden afectar la supervivencia de las serpientes en cautiverio es fundamental para lograr la implementación exitosa de un programa intensivo de cautiverio de serpientes para la producción de antiofídicos a gran escala [8].

Actualmente en Colombia existe solo un estudio que explora de manera cualitativa las condiciones de mantenimiento y los factores que afectan la supervivencia en cautiverio de las serpientes empleadas para la producción de antiofídicos [11]. Por lo tanto, se desconocen los patrones de supervivencia en cautiverio de las poblaciones de serpientes colombianas. Con base en las historias clínicas de las serpientes alojadas en el serpentario del INS durante el período 2012-2021, esta sección proporciona una perspectiva amplia de los factores intrínsecos y extrínsecos que podrían afectar la supervivencia de las serpientes de importancia médica mantenidas en cautiverio. Además, se describen los principales hallazgos clínicos, patologías y rasgos de historia natural observados en las serpientes colombianas de importancia médica en cautiverio.

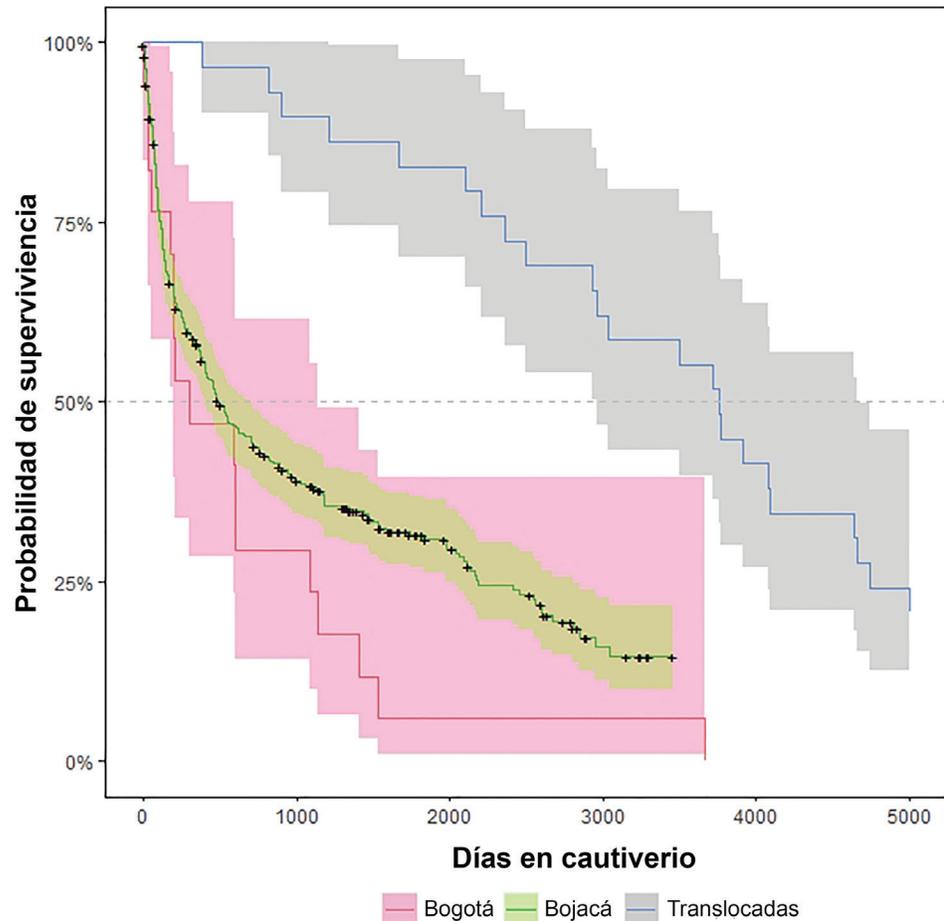
## 2.1. Tasas de supervivencia

El momento en que muere una serpiente se convierte en uno de los eventos más lamentables en un serpentario destinado a la producción de antiofídicos. Por lo tanto, comprender cómo varían las tasas de supervivencia de la población de serpientes en cautiverio, así como cuáles variables intrínsecas o extrínsecas se correlacionan con el tiempo de supervivencia de la serpiente, es imperativo. A lo largo de la historia del serpentario del INS, existieron tres etapas con diferentes esquemas de mantenimiento. Durante el período 1965-1985 las serpientes se mantuvieron en un serpentario semi-intensivo en el municipio de Armero (un serpentario que utiliza un único recinto para toda la población de serpientes, proporcionando alojamiento y refugio, pero careciendo de encierros individuales aislados y protocolos sanitarios estandarizados) el cual emulaba el esquema tradicional de cautiverio empleado por el Instituto brasileiro Butantan durante la primera mitad del siglo XX [15].

Existen pocos registros documentados sobre las tasas de supervivencia de las serpientes durante este período, pero según el personal de esa época, las búsquedas de serpientes en ecosistemas naturales eran frecuentes debido a las bajas tasas de supervivencia en cautiverio (*com pers. Juan Manuel Renjifo, ver Capítulo 7*); las cuales eran similares a la mortalidad reportada por el Butantan durante el período de manejo semintensivo de su serpentario (entre el 92% - 98% anual) [15].

Después de la tragedia de Armero en 1985, cuando la erupción del Nevado del Ruiz generó el derretimiento de los glaciares creando enorme alud de tierra que sepultó este municipio, entre diciembre de 1985 y hasta diciembre de 2011, el serpentario del INS funcionó en Bogotá (ver Capítulo 7). No obstante, con el tiempo, las instalaciones en Bogotá presentaron limitaciones técnicas y operativas, así como deficiencias para establecer un programa adecuado de cautiverio intensivo de serpientes para la producción de antiofídicos a gran escala. Por lo tanto, desde 2012, el serpentario del INS funciona en la Hacienda Galindo en el municipio de Bojacá, Cundinamarca.

Dado que existen registros disponibles desde 1990, se logró estimar las tasas de supervivencia de serpientes en cautiverio en Bogotá y Bojacá, así como de la población de serpientes trasladadas de Bogotá al serpentario de Bojacá. Sin embargo, las comparaciones de las tasas de supervivencia entre las instalaciones del INS solo consideran a *Crotalus durissus*, *Bothrops asper* y *B. atrox* ya que eran únicas poblaciones de serpientes alojada en las instalaciones de Bogotá durante el período 1990-2011.

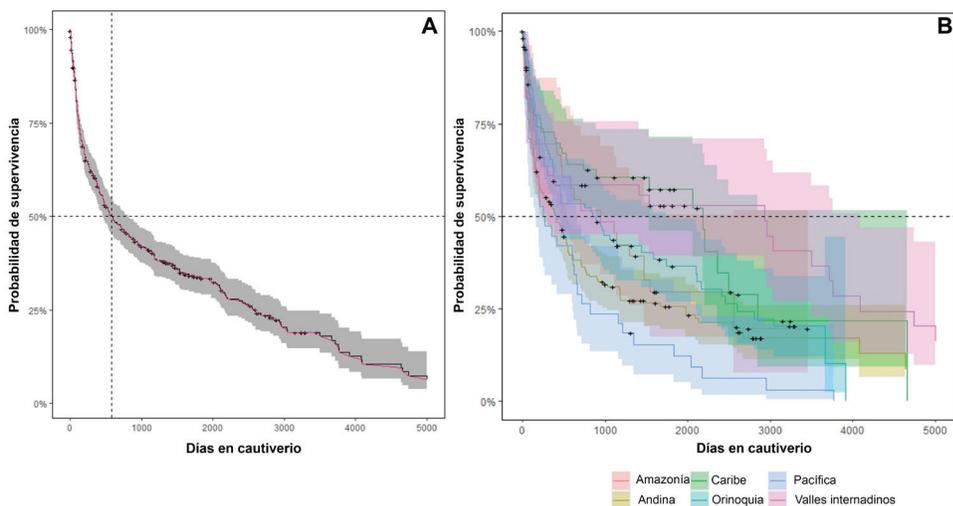


**Figura 4.** Tiempo medio de supervivencia de las serpientes alojadas en las instalaciones del serpentario del INS de Bogotá, Bojacá, y de las serpientes trasladadas entre instalaciones.

La decisión histórica de trasladar el serpentario de Bogotá a Bojacá claramente fue exitosa, representando una victoria temprana para el establecimiento adecuado de un programa de producción de antiofídicos

a gran escala. Las tasas de supervivencia fueron significativamente diferentes entre las dos instalaciones del serpentario del INS, así como en la población de serpientes traslocadas ( $\chi^2 = 31,1$ ;  $gl = 2$ ;  $P < 0,0001$ ), mostrando un notable aumento de 260 días en la vida media en la población de Bojacá, permitiendo al menos cuatro a seis ordeños de venenos por espécimen. Curiosamente, las serpientes traslocadas de Bogotá a Bojacá exhibieron un gran aumento en la esperanza de vida, con un tiempo de supervivencia medio de 3.870 días (Figura 4). La mayoría de las serpientes traslocadas fueron especímenes de *Crotalus durissus* (cascabel suramericano), indicando que las poblaciones colombianas de esta especie bajo condiciones de cautiverio presentan tasas de supervivencia con un decrecimiento bajo y constante, y una alta tasa de supervivencia una vez superado el período de adaptación al cautiverio (ver detalle más adelante).

Durante la última década, las tasas de supervivencia de las serpientes en cautiverio del serpentario del INS mostraron variabilidad según su origen, familia, género y especie. En general, la mediana del tiempo de supervivencia, que representa el tiempo en el que ha fallecido el 50% de la población de serpientes en cautiverio, fue de 580 días (Figura 5A). Esto significa que, durante la última década, cada 1,6 años se produjo un recambio poblacional. También se observaron diferencias en el tiempo medio de supervivencia en las serpientes en cautiverio según su ecorregión ( $\chi^2 = 30,9$ ;  $gl = 5$ ;  $P < 0,0001$ ). Estas diferencias significativas eran esperadas debido a la compleja geografía y topografía colombiana que configura claramente ecorregiones con biotas y climas específicos. [16]. Además, los cambios climáticos y biofísicos tienen impactos en el desempeño general de las poblaciones de serpientes silvestres y cautivas, particularmente en las tasas de supervivencia [13,17].



**Figura 5.** Tiempo medio de supervivencia de las serpientes alojadas en el serpentario del Instituto Nacional de Salud durante el periodo 2010-2021. (A) Tiempo medio de supervivencia de toda la población de serpientes. (B) Tiempo medio de supervivencia de toda la población de serpientes por ecorregión.

Las especies provenientes de ambientes altamente húmedos, como las ecorregiones del Pacífico, Amazonía y Andina tienden a mostrar un mayor síndrome de mal adaptación que resulta en tiempos de supervivencia medios más cortos en comparación con las especies de ambientes secos o moderadamente húmedos, como el Caribe, la Orinoquia y los valles inte-

randinos (Figura 5B). Este síndrome de mal adaptación o estrés fisiológico ocurre principalmente porque las condiciones ambientales del serpentario son homogéneas para todas las especies, independientemente de su ecorregión de origen (temperatura:  $26 \pm 0,2$  °C; humedad relativa (Hr):  $65 \pm 5$ ), aunque con cambios menores a lo largo del recinto del serpentario (variación vertical  $\sim 3,52$  °C/ 5,65 h; variación horizontal  $\sim 1,52$  °C/ 2,65 h).

Por lo tanto, estas condiciones pueden causar un estrés significativo para las serpientes que provienen de ambientes muy húmedos o secos, reduciendo su probabilidad de supervivencia. En particular, algunas patologías como disecdisis incompleta (patrón anormal de muda de piel), micosis (infección por hongos), dermatitis (irritación de la piel) y deshidratación están asociadas con el síndrome de mal adaptación en las serpientes debido a ambientes muy húmedos, [18,19]. Alrededor del 50% de las serpientes alojadas en el serpentario del INS, independientemente de su origen, tienen una mediana de supervivencia de más de 1 año y un promedio de 2,96 años para población general, lo que indica que las serpientes en cautiverio para la producción de antiofídicos durante la última década se han mantenido en buenas condiciones de cautiverio (Tabla 2).

**Tabla 2.** Tiempo medio de supervivencia y esperanza de vida observados durante el período 2010-2021 en serpientes cautivas para la producción de antiofídico alojadas en el serpentario del INS.

Grupo	N	Tiempo medio de supervivencia (días)	ICI (95%)	ICS (95%)	Expectativa de vida (años)
<b>Ecorregiones</b>					
Amazonia	33	963	0,34	0,69	2,83 (0,01-9,61)
Andes	177	398	0,40	0,60	2,11 (0,01-14,45)
Caribe	73	2.198	0,39	0,70	2,75 (0-12,94)
Orinoquia	86	851	0,39	0,60	2,98 (0,01-10,87)
Pacífico	38	260	0,36	0,69	1,85 (0,01-10,48)
Valles interandinos	42	2.930	0,30	0,60	4,83 (0,01-15,5)
<b>Familias</b>					
Elapidae	153	192	0,42	0,59	1,44 (0,01-8,01)
Viperidae	308	1.136	0,45	0,56	3,25 (0-15,55)
<b>Géneros de vipéridos</b>					
<i>Bothriechis</i>	12	*	*	*	3,28 (0,36-4,94)
<i>Bothrocophias</i>	8	*	*	*	1,09 (0,02-4,62)
<i>Bothrops</i>	190	1.174	0,45	0,60	3,17 (0,01-14,03)
<i>Crotalus</i>	54	3.499	0,36	0,70	5,21 (0-15,55)
<i>Lachesis</i>	6	*	*	*	0,75 (0,01-2,93)
<i>Porthidium</i>	38	198	0,45	0,70	1,70 (0,01-7,12)

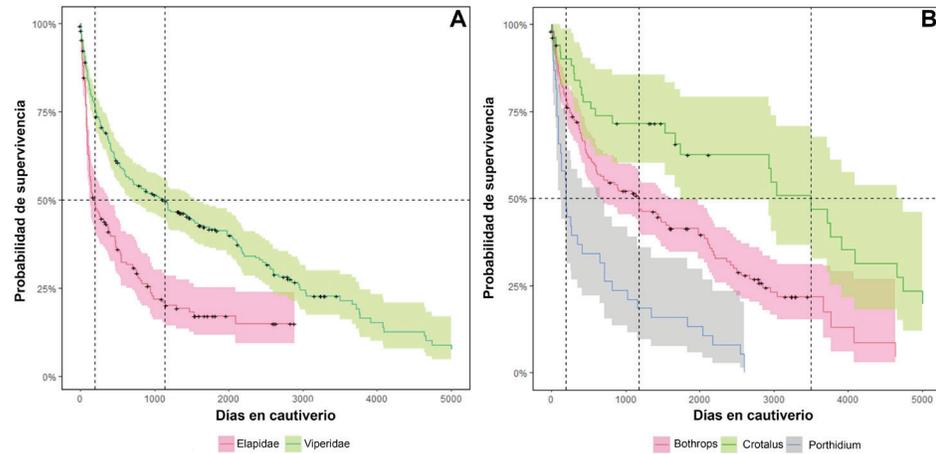
<b>Especies de vipéridos</b>					
<i>Bothriechis schlegelii</i>	12	*	*	*	3,24 (0,36-4,87)
<i>Bothrocophias tulitoi</i>	8	*	*	*	1,07 (0,02-4,56)
<i>Bothrops asper</i>	100	*			2,64 (0,01-10,33)
<i>Bothrops atrox</i>	85	2.103	0,40		3,77 (0,02-13,84)
<i>Bothrops bilineatus</i>	1	*	*	*	4,21
<i>Bothrops oligobalius</i>	1	*	*	*	3,76
<i>Bothrops punctatus</i>	1	*	*	*	0,18
<i>Bothrops venezuelensis</i>	2	*	*	*	0,52 (0,24-8,0)
<i>Crotalus durissus</i>	54	3.499	0,36	0,70	5,21 (0-15,55)
<i>Lachesis acrochorda</i>	3	*	*	*	0,51 (0,02-1,40)
<i>Lachesis muta</i>	3	*	*	*	0,98 (0,01-2,88)
<i>Porthidium lansbergii</i>	38	198	0,45	0,70	1,70 (0,01-7,12)
<b>Especies de Micrurus</b>					
<i>M. camilae</i>	1	*	*	*	0,55
<i>M. dissoleucus</i>	4	*	*	*	2,41 (0,18-4,91)
<i>M. dumerilii</i>	70	199	0,40	0,65	1,69 (0,01-7,77)
<i>M. filiformis</i>	1	*	*	*	0,17
<i>M. helleri</i>	9	*	*	*	1,66 (0,06-3,18)
<i>M. hemprichii</i>	2	*	*	*	0,90 (0,10-1,70)
<i>M. cf lemniscatus</i>	4	*	*	*	4,08 (3,53-4,38)
<i>M. medemi</i>	11	*	*	*	1,30 (0,09-2,70)
<i>M. mipartitus</i>	35	103	0,41	0,75	0,72 (0,01-4,71)
<i>M. multiscutatus</i>	1	*	*	*	0,01
<i>M. nattereri</i>	1	*	*	*	0,38
<i>M. sangilensis</i>	4	*	*	*	2,37 (0,12-7,90)
<i>M. obscurus</i>	1	*	*	*	0,04
<i>M. surinamensis</i>	9	*	*	*	0,65 (0,24-1,28)

N: Tamaño de la muestra. ICI. Intervalo de confianza inferior. ICS: Intervalo de confianza superior. \*: Datos excluidos debido al pequeño tamaño de la muestra.

Las diferencias en el tiempo de supervivencia medio entre elápidos y vipéridos son notables ( $X^2 = 36,6$ ;  $gl = 1$ ;  $P < 0,0001$ ), mostrando que las especies de elápidos exhiben tiempos de supervivencia medios más bajos que las especies vipéridos (Tabla 2). Por lo tanto, las corales son más propensas a mostrar síndromes de mal adaptación que las víboras (Figura 6A). Comparativamente, las especies de elápidos requieren cuidados y condiciones ambientales más especializadas que los vipéridos, en aspectos como tipos de sustratos, presas naturales, técnicas de alimentación,

horarios de ordeño y técnicas de manejo. [9–11,20–24]. Además, la falta de complejidad ambiental o ambientes enriquecidos se han propuesto como factores estresantes que impactan directamente las tasas de supervivencia de las serpientes en cautiverio [9].

**Figura 6.** Tiempos medios de supervivencia. (A) Comparación entre las dos principales familias de serpientes de importancia médica alojadas en el serpentario del Instituto Nacional de Salud durante el período 2010-2021 (B) Comparaciones entre géneros de vipéridos alojados en el serpentario del Instituto Nacional de Salud durante el período 2010-2021.

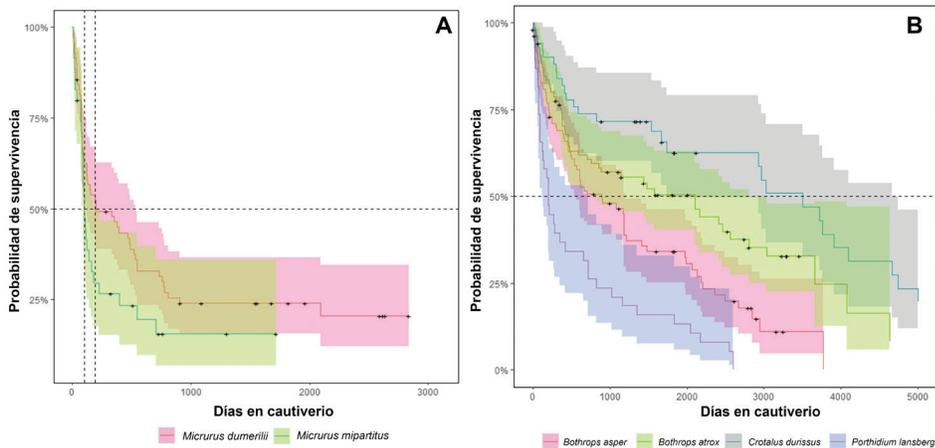


Sin embargo, el tiempo medio de supervivencia observado en las especies de corales (género *Micrurus*) alojadas en el serpentario del INS supera lo reportado en otros serpentarios para la producción de antiofídicos [23,25], indicando que el enriquecimiento ambiental realizado proporciona un bienestar adecuado para estas serpientes (ver detalle más adelante). Además, no se observaron diferencias significativas en el tiempo medio de supervivencia entre las especies de *Micrurus* ( $X^2 = 3,0$ ;  $gl = 1$ ;  $P = 0,08$ ). La expectativa de vida entre *Micrurus dumerilii* y *M. mipartitus* fueron muy similares variando en 91 días entre estas especies (Figura 7A).

En contraste, las especies de vipéridos colombianos parecen tener una mayor capacidad de adaptación al cautiverio, no obstante, muestran diferencias significativas entre géneros ( $X^2 = 47,8$ ;  $gl = 2$ ;  $P < 0,0001$ ). *Crotalus durissus* exhibe la expectativa de vida y el tiempo medio de supervivencia más extenso, seguidos por las especies de los géneros *Bothrops* y *Porthidium* (Figura 6B). Asimismo, también se observan diferencias significativas entre las especies de víboras ( $X^2 = 54,2$ ;  $gl = 3$ ;  $P < 0,0001$ ), exhibiendo un perfil de supervivencia distintivo, así como un tiempo medio de supervivencia específico (Figura 7B). *Crotalus durissus* muestra la supervivencia media más alta (3.499 días), seguido de *Bothrops atrox* (2.103 días), *B. asper* (891 días) y *Porthidium lansbergii* (198 días).

De hecho, las especies de los géneros *Porthidium* (patocos) y *Lachesis* (verrugosos) muestran una esperanza de vida en cautiverio similar a la observada en las especies de *Micrurus*, lo que indica que estas víboras también requieren cuidados y condiciones ambientales especializados. Dentro de los vipéridos alojados en el INS, estas especies son las más propensas a presentar signos extremos de mal adaptación o estrés fisiológico (Tabla 2). Curiosamente, ambos géneros representan los extremos de tamaño corporal entre las especies de vipéridos que habitan en Su-

ramérica. Las especies del género *Porthidium* son las víboras más pequeñas y las dos especies *Lachesis* son las más grandes y pesadas, sugiriendo que el tamaño corporal juega un papel clave en la capacidad de las serpientes para sobrevivir en cautiverio.



Hay pocos datos previamente documentados que evalúen la supervivencia de especies venenosas de serpientes mantenidas en cautiverio para la producción de antiofídicos en Centro y Suramérica. Sin embargo, la expectativa de vida y el tiempo medio de supervivencia de las especies alojadas en el serpentario del INS tienen estrechas similitudes con estudios previos realizados en Costa Rica, aunque existen claras diferencias. Por ejemplo, Sasa et al. [23] en el serpentario del Instituto Clodomiro Picado (ICP) de Costa Rica, establecieron cuatro perfiles de supervivencia estadísticamente distintos, que se asemejan mucho a las curvas de supervivencia encontrados para la población de serpientes cautivas del serpentario del INS. Por lo tanto, siguiendo la propuesta de Sasa et al. [23], los perfiles de supervivencia estadísticamente distintos observados en el serpentario del INS coinciden con las siguientes categorías (Figura 7B):

- *Alta supervivencia* —. Especies de serpientes en cautiverio que exhiben más del 70% de supervivencia durante los primeros 24 meses (720 días) y menos del 40% de las muertes ocurren después del mes 60 (1.800 días). Este perfil fue exhibido solo por *Crotalus durissus*.
- *Decrecimiento constante* —. Especies de serpientes en cautiverio en las que menos del 50% de los fallecimientos ocurren durante los primeros 24 meses, y seguidamente se observa una reducción gradual de la supervivencia. Este perfil fue mostrado solo por *Bothrops asper* y *B. atrox*.
- *Decrecimiento rápido* —. Especies de serpientes en cautiverio en las que aproximadamente el 40% de los individuos sobreviven durante los primeros 24 meses (720 días), y se observa que la tasa supervivencia disminuye después de 48 meses (1.440 días). Ninguna especie siguió este perfil.
- *Decrecimiento severo* —. Especies de serpientes en cautiverio en las que aproximadamente el 30% de los individuos sobreviven en los pri-

meros 24 meses (720 días), y se observa una disminución constante de la supervivencia posteriormente. Este perfil fue exhibido por *Micrurus dumerilii*, *M. mipartitus*, *Lachesis acrochorda* y *Porthidium lansbergii*.

De forma similar, especies como *Porthidium nasutum* y *Lachesis stenophrys* (los parientes cercanos de *Porthidium lansbergii*, *Lachesis acrochorda*, y *L. muta*, respectivamente) alojadas en el ICP [23], mostraron una rápida disminución en las curvas de supervivencia, así como en supervivencia media más corta, similar al observado en poblaciones cautivas de sus congéneres colombianos. Además, ambas especies costarricenses también representan los extremos de tamaño corporal [23,26].

En el caso de *Bothrops asper*, la única especie compartida por ambos serpentarios, se observaron diferencias marcadas en el tiempo medio de supervivencia, siendo 2,3 veces más largo en la población de serpientes en cautiverio colombianas que las costarricenses. Además, ambas poblaciones en cautiverio de *Bothrops asper* mostraron patrones distintos de supervivencia, donde la población colombiana exhibió un decrecimiento constante en su perfil de supervivencia, mientras que la población costarricense mostró un decrecimiento rápido.

Las diferencias observadas entre las poblaciones de *B. asper* alojadas en ICP e INS pueden ser causadas por factores intrínsecos y extrínsecos relacionados con las condiciones de cautiverio o las características de la historia natural de cada especie, así como por la variabilidad intrínseca poblacional. Por ejemplo, estudios previos sobre la supervivencia de serpientes coral en cautiverio han encontrado asociaciones significativas con la condición corporal inicial durante la admisión en el serpentario, así como con los tipos de sustratos y los esquemas de alimentación durante el cautiverio [21,22]. En Colombia, poblaciones en cautiverio de la serpiente coral *Micrurus mipartitus* (rabo de ají) han demostrado que el peso y la condición corporal al ingreso juegan un papel importante en la expectativa de vida observada [27].

Para este estudio, nos enfocamos en evaluar los factores intrínsecos de las serpientes al momento de su ingreso al serpentario del INS, como el tamaño corporal, el peso y la presencia/ausencia de patologías, ectoparásitos, disecdisis y deshidratación. Los modelos de riesgos proporcionales de Cox (CPH acrónimo en inglés) indican que las principales patologías observadas durante la última década en el serpentario del INS pueden actuar de manera independiente o sinérgica. En general, la supervivencia de las serpientes en cautiverio mostró una correlación significativa con las covariables intrínsecas evaluadas (Tabla 3). El tamaño corporal (LRC) fue la variable explicativa más frecuente, siendo significativa en el 46% de las categorías de análisis evaluadas, seguido por disecdisis (38%), peso, patologías sinérgicas y deshidratación (31% cada una), y ectoparásitos (15%). Estos resultados eran esperados, ya que el tamaño corporal y la pérdida de peso son factores de riesgo comunes en animales en cautiverio [28].

**Tabla 3.** Modelos de riesgos proporcionales de Cox. La tabla muestra los valores de p de cada modelo, indicando la significancia estadística de cada covariable. La longitud rostro-cloaca (LRC), el peso, las patologías sinérgicas, los ectoparásitos, la disecdisis y la deshidratación se incluyeron como covariables intrínsecas de las serpientes durante la admisión en el serpentario del INS. Las patologías sinérgicas ilustran los casos en los que una serpiente presentó dos o más patologías al mismo tiempo (p. ej., ectoparásitos + disecdisis).

Categorías de análisis	Grupos	N	LRC	Peso	Patologías sinérgicas	Ectoparásitos	Disecdisis	Deshidratación
Ecorregiones	Amazonia	28	0.387	0.0351	0.192	0.224	0.044	0.022
	Andina	143	<0.001	0.0926	0.0049	0.445	0.425	0.135
	Caribe	64	0.52	0.99	0.273	0.531	0.187	<0.0001
	Orinoquia	67	0.033	0.0111	0.968	0.796	NA	NA
	Pacífico	4	0.047	0.025	0.277	0.107	NA	0.909
	Valles interandinos	31	0.13	0.097	NA	NA	NA	NA
Familias	Elapidae	101	0.0068	0.736	<0.0001	0.423	0.0167	0.916
	Viperidae	209	0.245	0.265	0.429	0.203	0.06	0.0028
	<i>Bothrops asper</i>	70	0.701	0.867	0.703	<0.0001	0.131	0.0085
	<i>Bothrops atrox</i>	36	0.0147	0.0054	<0.0001	<0.0001	0.0001	1
Especies de Vipéridos	<i>Crotalus durissus</i>	20	0.884	0.976	0.15	NA	0.99	1
	<i>M. dumerilii</i>	66	0.0092	0.931	0.0011	0.381	0.019	0.861
Especies de Micrurus	<i>M. mipartitus</i>	31	0.265	0.69	0.171	NA	0.63	NA

Escala de color del P-valor  0  $P \leq 0.05$  1

NA: Datos no disponibles. Escala de colores del valor de probabilidad que ilustra la significancia estadística de las diferencias locales entre los modelos de riesgos proporcionales de Cox y las covariables intrínsecas evaluadas.

La deshidratación mostró una marcada correlación con el origen ecorregional de la serpiente o su familia taxonómica. Cuando se presenta este signo por sí solo, se correlaciona significativamente con la probabilidad de supervivencia de los vipéridos que provienen de localidades de la Amazonía y el Caribe. En cambio, cuando la deshidratación se presenta sinérgicamente con otras patologías, se correlaciona significativamente con la probabilidad de supervivencia de las serpientes que provienen de localidades Andinas, sobresaliendo *Micrurus dumerillii* al presentar una alta significancia.

Este hallazgo es interesante, ya que como se indicó anteriormente, esta especie de coral es propensa a mostrar síndrome de mal adaptación, exhibiendo tiempos medios de supervivencia muy cortos. En general, estos hallazgos sugieren que las interacciones sinérgicas podrían modular o reducir la esperanza de vida de las serpientes en cautiverio. Las interacciones sinérgicas de dos o más patologías son un tema importante para el mantenimiento de serpientes en cautiverio porque pueden generar una respuesta deletérea mayor que cuando las patologías actúan solas. Desafortunadamente, la escasez de información e investigaciones sobre las interacciones patológicas sinérgicas en serpientes tropicales sudamericanas hace que nuestra comprensión y conocimiento sea extremadamente insuficiente.

La probabilidad de supervivencia de las serpientes en cautiverio mostró una correlación significativa con la disecdisis, particularmente en especies de vipéridos y elápidos provenientes de localidades de la Amazonia. A diferencia de las interacciones patológicas sinérgicas, esta patología es bien conocida y se considera como un factor de riesgo importante en reptiles en cautiverio, debido a que deriva de causas multifactoriales, tales como: (1) manejo inadecuado de la de humedad o temperatura del encierro; (2) cicatrices de viejas heridas, cirugías o quemaduras; (3) infecciones parasitarias y enfermedades sistémicas; y (4) enfermedades subyacentes que causan deshidratación o alteración del movimiento (p. ej., vértebras fusionadas) [29].

Sin embargo, cada grupo de serpientes evaluado exhibió una combinación única de variables explicativas, pero con algunos puntos en común entre los modelos CPH. Esto sugiere que se deben realizar estudios futuros centrándose en las variables aquí exploradas como origen, localidad/ecorregión, y no exploradas como nivel de cortisol, estado de desarrollo, endoparásitos, etc. Por ejemplo, las serpientes de importancia médica de las ecorregiones de la Orinoquía y la Amazonia comparten el tamaño y peso corporal como variables explicativas. Esto era de esperarse porque ambas regiones abarcaron la distribución histórica de *Lachesis muta*, especie que representa el tamaño corporal más extremo entre las víboras sudamericanas.

### 3. Comprendiendo la muerte de las serpientes en cautiverio

Desde 2010, todas las serpientes fallecidas en cautiverio en el serpentario del INS han sido examinadas empleando un protocolo estandarizado que busca comprender las causas de la muerte. Los resultados de las necropsias se documentaron y registraron en la historia clínica de cada espécimen. La recopilación de estos registros año a año proporcionó la base de información que permitió realizar el análisis aquí expuesto, así como identificar las patologías y sus impactos en la población general del serpentario. Comprender las causas de la muerte de las serpientes en cautiverio proporciona un aporte importante para mejorar las técnicas de manejo y tenencia en un programa de cautiverio de serpientes para la producción de antiofídico a gran escala [23,30].

Las siguientes descripciones y análisis se basaron en 264 necropsias realizadas por veterinarios desde 2010 hasta enero de 2021, en serpientes que fallecieron en condiciones de cautiverio abarcando: 99 elápidos. (*M. camilae*, *M. dissolucus*, *M. dumerilii*, *M. filiformis*, *M. helleri*, *M. hemprichii*, *M. medemi*, *M. mipartitus*, *M. nattereri*, *M. obscurus*, y *M. surinamensis*) y 165 vipéridos (*Bothriechis schlegelii*, *Bothrocophias tulitoi*, *Bothrops asper*, *B. atrox*, *B. bilineatus*, *B. venezuelensis*, *Crotalus durissus*, *Lachesis acrochorda*, *L. muta*, y *Porthidium lansbergii*; Tabla 4). En su mayoría, los registros de las necropsias provinieron del serpentario del INS de la Hacienda Galindo en el municipio de Bojacá, Cundinamarca desde el año 2012 (ver Capítulo 7).

Las anormalidades en el sistema digestivo y respiratorio fueron los principales hallazgos. Representaron el 43,3% del total de hallazgos *post mortem*, seguidos por la ausencia de anormalidades (Figura 8). Las anormalidades digestivas en las serpientes son la principal causa de infecciones. Sin embargo, debido a la falta de pruebas de diagnóstico establecidas o referencias clínicas publicadas, resulta desafiante realizar una interpretación correcta de los signos clínicos para la mayoría de las especies de serpientes [31,32]. Los esfuerzos de investigación en técnicas diagnósticas, especialmente de imágenes clínicas (p. ej., radiografía de contraste y ultrasonografía) del tracto gastrointestinal, han dado lugar a avances clínicos para los veterinarios en ejercicio [32].

Sin embargo, debido a las limitadas condiciones técnicas en los serpentarios dedicados a la producción de antiofídicos, así como a la escasez de veterinarios especializados en reptiles disponibles en Colombia que podrían proporcionar un diagnóstico preciso, el tratamiento de los trastornos del sistema digestivo en serpientes en cautiverio es difícil [31]. Por lo tanto, en las clínicas veterinarias de mascotas como en las unidades de producción de animales de laboratorio, o en serpentarios como el del INS, las enfermedades digestivas son una causa común de muerte, pero esta causa en su mayoría no puede detectarse hasta el examen *post mortem*. Actualmente, no existen factores o condiciones del encierro plausibles que vinculen la muerte de una serpiente con las anormalidades observadas en el sistema digestivo. Este hallazgo requiere una investigación más detallada.

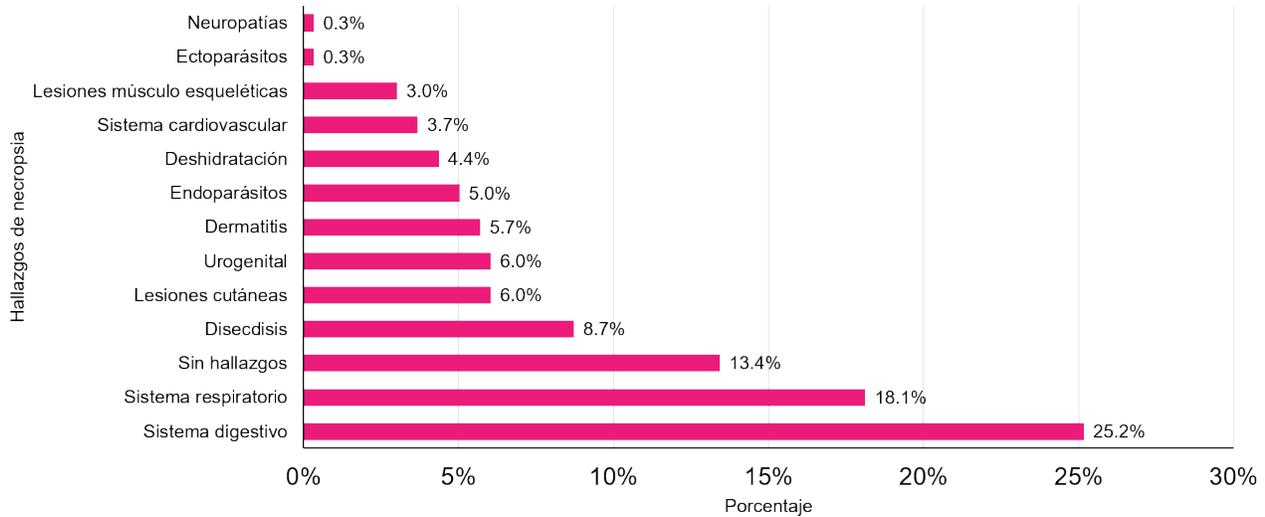


Figura 8. Principales hallazgos post mortem en especies de serpientes de importancia médica alojadas en el serpentario del INS durante 2010-2021.

Las enfermedades respiratorias en las serpientes tienen orígenes multifactoriales, incluyendo bacterias, virus, parásitos, hongos, estrés, espacio del encierro, genética, ecdisis, fisiológica, entre otras. [33]. Estas enfermedades son comunes en serpientes en cautiverio, ya que el diseño y el espacio del recinto o encierro impactan directamente en la salud de las serpientes. Estos factores afectan el comportamiento normal y la movilidad de las serpientes, así como las condiciones adicionales de cautiverio como el saneamiento y la humedad, o condiciones fisiológicas como la termorregulación. [28]. Un recinto ideal debe proporcionar un área seca y caliente; una zona cálida y húmeda; un área fresca y seca; y un área fresca y húmeda [28]. Sin embargo, como se describió anteriormente, debido al limitado espacio disponible en el serpentario del INS, todos los encierros tienen las mismas condiciones ambientales y son homogéneos. Carecen de una oferta termal diversa. Por lo tanto, la exposición prolongada a condiciones de temperatura y humedad invariantes en el ambiente en cautiverio podría explicar las anomalías observadas. Sin embargo, se deben realizar esfuerzos de investigación futuros para evaluar esta hipótesis.

El conocimiento de las enfermedades que contraen las serpientes y los agentes microbianos que portan es esencial para su manejo en cautiverio [34,35]. No obstante, hay pocos estudios científicos que se centren en las enfermedades de las serpientes tropicales de Suramérica utilizadas para la producción de antiofídicos. Sin embargo, los informes de necropsias de la última década del serpentario del INS mostraron similitudes con lo observado en serpientes en cautiverio alojadas en zoológicos [13,18,29,30].

**Tabla 4.** Principales causas de muerte en especies de serpientes de importancia médica alojadas en el serpentario del INS durante el periodo 2010-2021.

Taxon	N	MCAI	latrogenia	Muerte accidental	Síndrome de mal adaptación	Causa desconocida
<b>Elapidae</b>	99	14 (14,14%)	5 (5,05%)	6 (6,06%)	36 (36,36%)	38 (38,38%)
<i>M. camilae</i>	1					1 (1,01%)
<i>M. dissoleucus</i>	2		1 (1,01%)		1 (1,01%)	
<i>M. dumerilii</i>	46	9 (9,09%)	2 (2,02%)		15 (15,15%)	20 (20,2%)
<i>M. filiformis</i>	1		1 (1,01%)			
<i>M. helleri</i>	7	1 (1,01%)			3 (3,03%)	3 (3,03%)
<i>M. hemprichii</i>	2			1 (1,01%)		1 (1,01%)
<i>M. medemi</i>	8			1 (1,01%)		7 (7,07%)
<i>M. mipartitus</i>	24	3 (3,03%)		4 (4,04%)	13 (13,13%)	4 (4,04%)
<i>M. nattereri</i>	1		1 (1,01%)			
<i>M. obscurus</i>	1				1 (1,01%)	
<i>M. surinamensis</i>	6	1 (1,01%)			3 (3,03%)	2 (2,02%)
<b>Viperidae</b>	165	14 (8,48%)			49 (29,69%)	102 (61,82%)
<i>Bothriechis</i>						
<i>B. schlegelii</i>	4				1 (0,61%)	3 (1,82%)
<i>Bothrocophias</i>						
<i>B. tulitoi</i>	2	1 (0,61%)			1 (0,61%)	
<i>Bothrops</i>	110	6 (3,64%)			30 (18,18%)	74 (44,85%)
<i>B. asper</i>	66	4 (2,42%)			20 (12,12%)	42 (25,45%)
<i>B. atrox</i>	42	2 (1,21%)			10 (6,06%)	30 (18,18%)
<i>B. bilineatus</i>	1					1 (0,61%)
<i>B. venezuelensis</i>	1					1 (0,61%)
<i>Crotalus</i>						
<i>C. durissus</i>	15	2 (1,21%)				13 (7,88%)
<i>Lachesis</i>	4	2 (1,21%)				2 (1,21%)
<i>L. acrochorda</i>	1	1 (0,61%)				
<i>L. muta</i>	3	1 (0,61%)				2 (1,21%)
<i>Porthidium</i>						
<i>P. lansbergii</i>	30	3 (1,82%)			17 (10,3%)	10 (6,06%)
<b>Total</b>	264	28 (10,61%)	5 (1,89%)	6 (2,27%)	85 (32,2%)	140 (53,03%)

N= Tamaño de muestra. MCAI= Mala condición corporal antes del ingreso.

Por ejemplo, las cinco causas más comunes de muerte en serpientes en cautiverio, en orden de importancia, son (Tabla 4):

- *Causas desconocidas.*— Se define como la imposibilidad de establecer una causa médica de muerte a partir de los hallazgos observados en la

necropsia. Esta causa agrupa la mayor proporción de fallecimientos de serpientes en todos los estudios previos [13,18,29], y representó el 53% de las muertes en el serpentario del INS con una notable prevalencia en especies de vipéridos.

- *Síndrome de mal adaptación.*— Se observó una prevalencia del 32,2% de en las serpientes en cautiverio del serpentario del INS, exhibiendo una aparente asociación con el tamaño corporal y origen ecorregional, siendo significativamente alta en las especies del género *Micrurus*.
- *Mala condición corporal.*— Son las muertes derivadas de una condición corporal deficiente antes de su ingreso. La frecuencia observada de estos casos en el serpentario de INS fue del 10,61%. Durante los primeros 150 días de cautiverio es una de las principales causas de muerte para todas las especies, pero presenta una alta prevalencia en las especies del género *Micrurus*.
- *Muerte accidental.*— Son las muertes resultantes de un evento accidental en condiciones de cautiverio. Esta causa tuvo una baja prevalencia (2,27%), siendo el principal accidente la asfixia mecánica producida por el intento de escape del encierro.
- *Iatrogenia.*— Son las muertes relacionadas con una enfermedad o lesión causada durante el examen o tratamiento médico. Esta causa tuvo la más baja frecuencia (1,89%) entre las causas de muerte observadas en el serpentario de INS. No obstante, cuando ocurría, las corales eran las más propensas a morir por procedimientos médicos.

## 4. Lecciones aprendidas

### 4.1 Lección uno: Alimentación y nutrición

Una de las principales preocupaciones de mantener serpientes en cautiverio para la producción de antiofídico, es proporcionar una alimentación y nutrición adecuada; el objetivo es prolongar la vida saludable del animal en la medida de lo posible. La alimentación constituye una de las actividades más importantes y decisivas para el mantenimiento y la supervivencia de las serpientes en cautiverio. La mayoría de las serpientes en cautiverio prefieren presas vivas o presas que han sido recién eutanasiadas, aunque también las serpientes en cautiverio aceptan presas muertas [36]. La última opción ha sido comúnmente adoptada por cuidadores de serpientes en zoológicos o exposiciones biológicas educativas, pero las presas muertas no son compatibles con las buenas prácticas para la producción de antiofídicos.

Para alcanzar los estándares internacionales de producción, deben diseñarse procedimientos especiales, considerando los siguientes aspectos: (1) elegir una técnica de alimentación adecuada según el tipo de dieta de cada especie de serpiente; (2) establecer un esquema de alimentación de acuerdo con las necesidades de la serpiente, incluyendo los siguientes criterios: estado de salud, tamaño corporal, índice de masa corporal y etapa de desarrollo (neonato, juvenil, adulto); y (3) los procedimientos de alimentación deben ser realizados por personal con experiencia y capacitados para esta tarea.

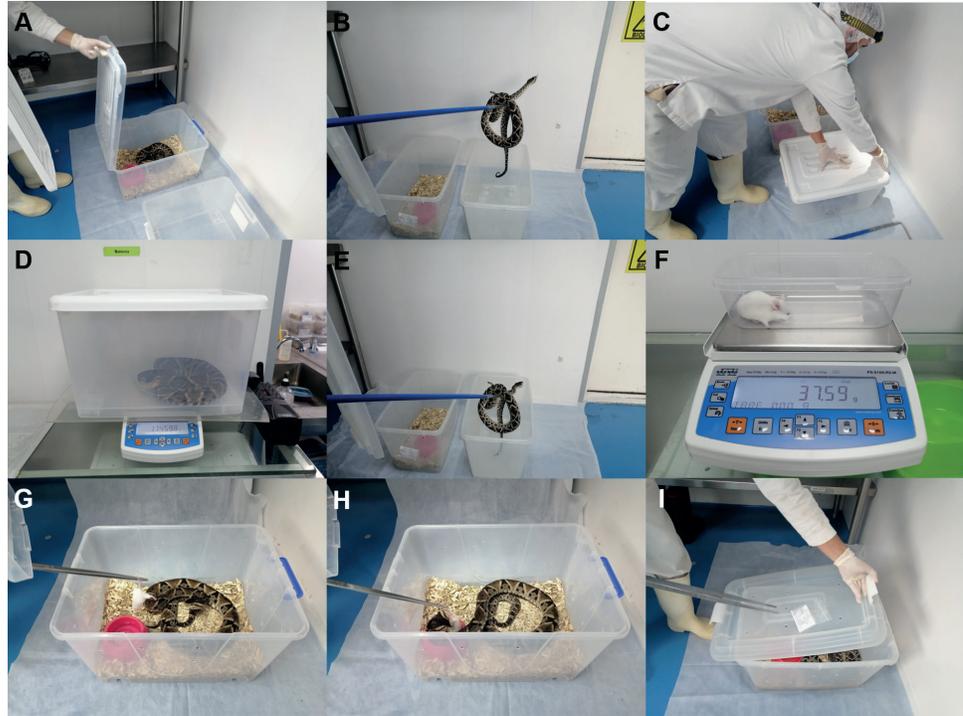
La mayoría de los problemas de alimentación y nutrición surgen de un cuidado o manejo inadecuado, combinado con una gestión deficiente de la alimentación [37]. Esta lección resume las principales conclusiones obtenidas al resolver problemas de alimentación y nutrición de serpientes tropicales a lo largo de la historia del serpentario del INS, buscando minimizar las muertes y enfermedades causadas por la desnutrición

### ***Alimentación voluntaria***

Como directriz principal, los cuidadores de serpientes deben mantener y promover, tanto como sea posible, los estímulos voluntarios de alimentación de las serpientes cuando ingresan al serpentario provenientes de su entorno natural. Mantener constantes los estímulos de alimentación voluntaria evita la aparición del síndrome de mal adaptación. Para lograr esto exitosamente, los procedimientos de alimentación deben realizarse durante el día en un recinto cálido con temperaturas que oscilen entre 26° y 30°C, proporcionando presas vivas. Tanto para elápidos como vipéridos tienden a alimentarse utilizando este enfoque; sin embargo, los pasos técnicos difieren. El enfoque técnico utilizado para alimentar a las víboras es el siguiente (Figura 9):

1. El cuidador de serpientes debe sacar la serpiente de su encierro y colocarla en una caja para pesarla; esto permite determinar la presa que se le dará. Este procedimiento debe realizarse previamente a los siguientes pasos.
2. El cuidador de serpientes selecciona un roedor acorde al peso de la serpiente (~ 10% del peso de la serpiente).
3. Se abre el encierro de la serpiente, y se utiliza la tapa del encierro como barrera de seguridad adicional. El roedor se sostiene con unas pinzas largas y se le ofrece realizando movimientos suaves a 10 o 20 cm de la cabeza de la serpiente buscando estimular a la serpiente para que muerda o ataque la presa. La distancia a la que se ofrece la presa a las serpientes varía según su tamaño corporal; recomendamos realizar movimientos suaves al ofrecer la presa a una distancia no mayor al 30% de la longitud del cuerpo de la serpiente.
4. Una vez que la serpiente muerde o ataca la presa, la presa se libera de las pinzas depositándola en el encierro, y se tapa el encierro. Si la serpiente se niega a morder la presa, esta se retira y se pospone la oferta de presas hasta la segunda ronda de alimentación. La presa debe retirarse para evitar el estrés psicológico. La presa no debe introducirse en el encierro sin verificar que la serpiente haya realizado una mordedura efectiva en la que inocule el veneno y produzca su muerte, ya que esta puede atacar la serpiente e inducir una lesión y/o infección grave o potencialmente mortal.
5. En el caso de que se necesite más de una presa para alcanzar el 10% del peso de alimentación requerido, el cuidador de serpientes debe esperar a una segunda ronda de alimentación, verificando que la serpiente haya ingerido completamente el primer roedor; luego se ofrece la presa adicional. En caso de un retraso en el consumo del primer roedor, el cuidador realiza la eutanasia a un segundo roedor y lo deja dentro del encierro. La ingestión de la presa por parte de la serpiente debe ser confirmada; de lo contrario, debe retirarse.

**Figura 9.** Pesaje y alimentación de víboras. (A) Abrir el recinto de la serpiente usando la tapa como barrera protectora. (B) Con un gancho para serpientes, trasladar la serpiente a una caja vacía para pesarla. (C) Cerrar la caja en la que se pesará la serpiente usando la misma tapa de la caja. (D) Pesar la serpiente en una balanza. (E) Devolver la serpiente a su caja y cerrarla. (F) Pesar el roedor en una balanza. (G) Ofrecer el ratón a la serpiente sosteniéndolo con unas pinzas largas y realizando movimientos suaves. (H) La serpiente muerde o ataca la presa; la presa se libera de las pinzas. (I) Se cierra la caja.



El INS cuenta con bioterio independiente del serpentario, en cual se realiza la producción de roedores certificados criados en condiciones controladas, proporcionando una dieta adecuada y libre de patógenos para las serpientes (Tabla 5). Por lo tanto, el serpentario del INS siempre tiene una amplia oferta dietaria que varía en tamaño y peso de acuerdo con las necesidades de las serpientes.

**Tabla 5.** Roedores criados en condiciones controladas utilizados para alimentar a los vipéridos alojados en el serpentario del INS.

Tipo	Cepa	Código de la cepa	Color del pelaje
Ratón	BALB/c	028	Albino
Ratón	CD1(ICR)	022	Albino
Rata	Wistar	003	Albino
Cobayos, cuy	Hartley	051	Albino
Gerbil	Mongolian	243	Agouti
Hamster	Syrian	249	Dorado

A diferencia de las víboras, alimentar a las serpientes coral con animales vivos presenta enormes restricciones y problemas técnicos que reducen la posibilidad de mantener los estímulos que propendan por la alimentación voluntaria. En primer lugar, debido a que las serpientes coral habitan entre el suelo y la hojarasca (semifosoriales), su dieta consiste principalmente en otras serpientes, lagartos sin extremidades, cecilias, anguilas de pantano y peces cuchillo [38]. En la práctica, la recolección, mantenimiento o cría en cautiverio de este tipo de presas es muy difícil y no es sostenible. Por lo tanto, alimentar a las corales con animales vivos

en el contexto de los estándares internacionales de producción de antiofídicos no es factible, o resulta muy costoso. En segundo lugar, dado que estas presas se obtienen de ambientes silvestres, no es posible garantizar que estén libres de patógenos, y sería muy difícil higienizarlas. En tercer lugar, proporcionar un alimentación programada y continua según las necesidades de las serpientes basado en presas obtenidas de ambientes silvestres, es difícil de lograr.

De manera que, en la práctica, alimentar serpientes coral con animales vivos es una actividad ocasional y oportunista. El objetivo de ofrecer presas vivas es estimular la alimentación voluntaria, evitando el manejo directo, con posibles efectos perjudiciales como la alimentación forzada con presa viva. En el serpentario del INS, la alimentación con animales vivos para serpientes coral es ocasional. La alimentación voluntaria se ha realizado con éxito en algunos individuos de *Micrurus dumerilii*, *M. mipartitus*, *M. helleri*, *M. sangilensis* y *M. hemprichi*, ofreciéndole serpientes vivas de los géneros *Ninia*, *Atractus*, *Oxyrhopus* y *Stenorrhina*; y lagartos con extremidades reducidas del género *Bachia*. El enfoque técnico utilizado para alimentar con presas vivas a serpientes coral es el siguiente:

1. El cuidador de serpientes debe sacar la serpiente de su encierro y colocarla en una caja para pesarla para determinar la presa que se le administrará. Este procedimiento debe realizarse antes de los siguientes pasos.
2. El cuidador selecciona una presa según la longitud y el peso de la serpiente (menos del 50% de la longitud de la serpiente y aproximadamente el 10% su peso).
3. La presa se libera viva en el recinto y luego se cierra. El cuidador debe hacer rondas verificando que la serpiente haya atacado e ingerido la presa. Si no ingiere la presa, esta debe retirarse. De esta manera, se estimula a la serpiente coral a buscar y usar la vista y el olfato para alimentarse.
4. El consumo de la presa debe confirmarse en un período de dos días, de lo contrario, la presa debe retirarse.

### **Alimentación forzada**

La alimentación forzada se refiere a la provisión mecánica forzada de presas o formula nutritiva. Este procedimiento es practicado por los cuidadores de serpientes cuando las serpientes rechazan repetidamente la presa durante más de cuatro meses, debido a la prevalencia de alguna condición médica o cuando las limitaciones operativas hacen que la alimentación con animales vivos no sea factible. Este procedimiento se puede realizar de dos maneras. Primero, utilizando una pinza con la cual la presa completa se introduce manualmente en el tracto digestivo de la serpiente, evitando el uso de cualquier tipo de herramienta restrictiva para sujetar a la serpiente (p. ej., tubo de restricción). La presa debe ser seleccionada según la longitud y el peso de la serpiente, como se describió anteriormente. En segundo lugar, mediante la introducción de una sonda orogástrica en el tracto digestivo de la serpiente, se inyecta suavemente una fórmula nutritiva. A continuación, se describen ambas técnicas.

*Alimentación forzada utilizando una presa entera.*— De acuerdo con la experiencia acumulada en el serpentario del INS, esta técnica se utiliza principalmente en víboras en lugar de corales, ya que estas últimas tienden a estar altamente estresadas por el manejo durante el procedimiento de alimentación. La mayoría de las víboras toleran la manipulación sin mayores dificultades durante la alimentación forzada. El enfoque técnico utilizado para alimentar a las serpientes con una presa entera es el siguiente:

1. El cuidador debe sacar a la serpiente de su encierro y colocarla en una bolsa de tela/caja para pesarla. Esto permite determinar la presa que se administrará. El procedimiento debe realizarse entre cinco y diez días antes de la alimentación.
2. El cuidador de serpientes selecciona una presa de acuerdo con el peso de la serpiente (~ 10% del peso de la serpiente).
3. La presa sacrificada se humedece con agua para su lubricación.
4. Capturar y manipular suavemente a la serpiente que se va a alimentar, se recomienda que los siguientes pasos sean realizados por dos cuidadores. El primer cuidador se encarga de capturar y sostener la serpiente, mientras que el segundo cuidador se encarga de realizar la alimentación. Evite el uso de cualquier tipo de herramienta restrictiva para sostener la serpiente durante el procedimiento de alimentación (p. ej., tubo de contención).
5. Se utiliza una pinza larga (al menos 20 cm) para sostener con las puntas de la pinza la presa previamente lubricada.
6. Inserte la presa previamente lubricada (introduciendo primero la cabeza) en la boca de la serpiente.
7. Empuje suave y lentamente la presa previamente lubricada en el tracto digestivo de la serpiente, pasando la cabeza hasta alcanzar una distancia equivalente a la longitud de la cabeza de la serpiente. Después, libere la presa de la pinza.
8. Con la mano libre, el cuidador que ejecuta la técnica de alimentación debe masajear suavemente la superficie ventral de la serpiente, desplazando lentamente la presa hasta llegar aproximadamente al final del primer tercio del cuerpo de la serpiente.
9. Liberar a la serpiente en su encierro y cerrarlo. Verificar la aceptación de la presa durante 24 horas. En caso de regurgitación de la presa, esta debe ser descartada.

*Alimentación forzada utilizando una fórmula nutritiva.*— Esta técnica representa uno de los mayores éxitos del serpentario del INS en la última década. El uso de una fórmula nutritiva como alimentación alternativa permitió consolidar una población estable de serpientes *Micrurus* que supera la esperanza de vida promedio de 1,4 años y un tiempo mediano de supervivencia de 91 días, incluyendo ejemplares en cautiverio con una esperanza de vida de 8 años.

La experiencia acumulada nos enseña que los dos principales factores de éxito fueron: (1) La composición de la fórmula nutritiva; y (2) la mejora progresiva de la técnica y la experiencia adquirida por los cuida-

dores para realizar este procedimiento, que incluyen la adecuada manipulación, introducción de un catéter Nelaton en el tracto digestivo de las serpientes, y la ejecución precisa del protocolo de alimentación utilizando la fórmula nutritiva.

El desarrollo de la fórmula nutritiva fue la respuesta a las fuertes restricciones para obtener presas del medio natural que permitieran la alimentación continua y acordes a las necesidades de las serpientes coral, así como el rechazo frecuente de presas vivas en los primeros meses de cautiverio por las especies de *Micrurus*. La fórmula nutritiva es una solución hiperproteica basada en huevos de gallina criolla (criolla = una gallina criada de manera natural en el campo) mezclada con Casilan® (Composición: proteínas = 95 %, carbohidratos = 1 %; grasas = 4 %) más suplementos de vitaminas y aminoácidos. Según la experiencia de los veterinarios del serpentario del INS, el uso de huevos de gallina criolla es obligatorio. El uso de otros tipos de huevos provocó el rechazo de la fórmula nutritiva por parte de las serpientes. Debido a que Casilan® desapareció del mercado colombiano en 2021, este se sustituyó por Reptomin® (Composición: proteínas = 44 %, carbohidratos = 3 %; grasas = 5 %, humedad = 9 %, calcio = 0.3 %, fósforo = 0.4 %), obteniendo los mismos buenos resultados a los observados con el Casilan®.

La fórmula nutritiva ha mostrado excelentes resultados para la mayoría de las serpientes coral, aunque no es una solución infalible. Después de alimentar diez *Micrurus surinamensis* (serpiente coral acuática) con una fórmula nutritiva que reemplazó los huevos de gallina criolla por pescado como fuente proteica, todas las serpientes presentaron signos de enfermedad graves que amenazaban su vida, como piel opaca, ecdisis incompleta e inmovilidad. Por lo tanto, el uso de una fórmula nutritiva basada en una dieta de pescado fue contraindicado. Para el caso de *M. surinamensis*, se recomienda alimentar con una fórmula nutritiva basada en agua más Reptomin® o Casilan®. Esta ha mostrado resultados aceptables, aunque aún es un desafío alimentar corales acuáticas.

La preparación y administración de la fórmula nutritiva debe realizarse con cuidado, procurando que la consistencia de la fórmula sea muy líquida. Las consistencias densas dificultan la digestión. Los grumos o burbujas pueden causar la ruptura del tracto digestivo durante la administración. El tiempo de manipulación debe minimizarse mediante la administración rápida de la fórmula nutritiva. Por lo tanto, la introducción del catéter Nelaton debe ser rápida, empujándolo suavemente el catéter hacia el tracto digestivo de la serpiente. El calibre del catéter Nelaton debe seleccionarse según la longitud del cuerpo de la serpiente. La manipulación debe realizarse con las manos evitando el uso de pinzas u cualquier tipo de herramienta restrictiva, ya que estos elementos provocan estrés en la serpiente y el rechazo de la fórmula nutritiva.

El consumo de la fórmula nutritiva debe registrarse en la historia clínica de cada serpiente. Según la experiencia acumulada alimentando co-

rales, la proporción adecuada de fórmula nutritiva oscila entre el 10% y el 30% del peso de la serpiente, considerando una proporción de 1:1 (peso corporal g/fórmula mL). Sin embargo, la proporción de la fórmula nutritiva suministrada puede variar entre los individuos debido al desarrollo, la condición médica o la condición corporal de la serpiente. Se debe consultar la historia clínica de cada serpiente para ajustar el porcentaje según los registros históricos.

Tres cuidadores deben realizar la alimentación forzada con la fórmula nutritiva. La aproximación técnica empleada para realizar la alimentación es el siguiente (Figura 10):

1. Los cuidadores deben sacar a la serpiente de su encierro utilizando un gancho herpetológico delgado y colocarla en una bolsa de tela para pesarla y así estimar el volumen de fórmula a administrar.
2. Preparar un catéter Nelaton y una jeringa según el tamaño del cuerpo de la serpiente con fórmula nutritiva (una jeringa de 3 mL con catéter Nelaton de calibre 6 para serpientes con un tamaño corporal menor a 20 cm; una jeringa de 20 mL con catéter Nelaton de calibre 9 o 10 para serpientes con un tamaño corporal mayor a 20 cm).
3. La alimentación forzada con la fórmula nutritiva debe realizarse, evitando el uso de pinzas o cualquier tipo de herramienta restrictiva (p. ej., tubos de restricción). El primer cuidador se encarga de capturar y sostener a la serpiente, el segundo cuidador se encarga de realizar el procedimiento de alimentación, y el tercero del masaje sobre la superficie ventral de la serpiente.
4. El primer cuidador de serpientes introduce el catéter Nelaton hasta el primer tercio del cuerpo de la serpiente. Debe introducirse con un empuje suave pero rápido en el tracto digestivo.
5. Inmediatamente después de la introducción del catéter Nelaton, el segundo cuidador debe administrar de forma controlada la fórmula, mientras que el tercer cuidador sostiene el cuerpo de la serpiente, realizando un masaje suave en la superficie ventral del animal. La administración de la fórmula nutritiva debe realizarse a una velocidad de constante, controlando el embolo de la jeringa, evitando la acumulación o generación de burbujas que pueden provocar indigestión u obstrucción del tracto digestivo.
6. Una vez que se ha administrado todo el volumen de la fórmula nutritiva, el catéter Nelaton se retira lenta y suavemente del tracto digestivo. La boca de la serpiente debe lavarse con agua antes de soltarla y devolverla al encierro.
7. Devolver la serpiente a su encierro. Verificar la aceptación de la fórmula nutritiva durante 24 horas. En caso de regurgitar la fórmula, limpiar el encierro y volver a programar un procedimiento de alimentación.

Nota: Este procedimiento de alimentación no puede llevarse a cabo en ejemplares que estén mudando de piel, a menos que el veterinario sugiera que es seguro hacerlo. Si es necesario realizar algún procedimiento médico adicional, este debe llevarse a cabo antes del procedimiento de alimentación.

La frecuencia de alimentación establecida en el serpentario del INS es mensual para vipéridos y quincenal para elápidos. Sin embargo, los neonatos de serpientes de ambos grupos se alimentan cada 10 o 15 días debido a sus altas demandas metabólicas. Otras razones para realizar un cambio en la frecuencia de alimentación obedecen a decisiones médicas veterinarias específicas. Los esquemas de alimentación, establecidos a lo largo de 10 años en el serpentario del INS, han presentado muy buenos resultados. Sin embargo, recomendamos que cada serpentario, según las especies de serpiente alberga, evalúe sus recursos disponibles para establecer los esquemas de alimentación más adecuados.



**Figura 10.** Proceso de pesaje y alimentación de las especies de *Micrurus*. (A) Abrir el encierro de la serpiente utilizando la tapa como barrera protectora. (B) Usar un gancho herpetológico delgado para trasladar la serpiente de su encierro a una bolsa de tela vacía (tela de dacrón blanco). (C) Doblar la bolsa blanca y pesar la serpiente. (D-E) El primer cuidador, coloca la bolsa de tela a contraluz y localiza la cabeza de la serpiente y la restringe. (F) El primer cuidador mantiene la cabeza de la serpiente mientras el segundo cuidador sostiene suavemente el cuerpo de la serpiente. (G) Un tercer cuidador extrae el veneno utilizando dos tubos capilares. (H) El primer cuidador de serpientes introduce el catéter Nelaton hasta el primer tercio del cuerpo de la serpiente. La inserción debe realizarse con un empuje suave pero rápido en el tracto digestivo. (I) El segundo cuidador administra de forma controlada la fórmula nutritiva, mientras un tercer cuidador sostiene el cuerpo de la serpiente y realiza un masaje suave en la superficie ventral del animal. (J) El catéter Nelaton se retira lentamente del tracto digestivo. La boca de la serpiente debe lavarse con agua antes de devolverla a su encierro. (K) La serpiente se devuelve a su encierro.

## 4.2 Lección dos: Iatrogenia

A pesar de que las muertes iatrogénicas representan menos del 2% de todos los fallecimientos de serpientes en la última década en el serpentario del INS, como lección aprendida, es importante describir los eventos más relevantes a ser considerados en futuras implementaciones en el marco de un programa para la producción de antiofídicos a gran escala.

*Caso 1: rotura del tracto digestivo.*— La alimentación forzada utilizando una fórmula nutritiva administrada a través de un catéter Nelaton es una técnica adaptada de procedimientos de alimentación utilizadas en modelos murinos con fines de investigación [39]. En consecuencia, no existen referencias de su uso en serpientes en condiciones de cautiverio, por lo que nuestro aprendizaje se realizó a través de la experiencia. La alimentación forzada empleando un catéter Nelaton requiere un cuidador con experiencia, pero mientras se gana la experiencia, surgen errores y accidentes, de los cuales uno de las más comunes es la ruptura del tracto digestivo.

Los principales factores que contribuyen a la rotura del tracto digestivo son los siguientes: (1) selección inadecuada del tamaño del catéter Nelaton que no coincide con el tamaño del cuerpo de la serpiente; (2) una introducción inadecuada del catéter de Nelaton que sobrepasa el primer tercio del cuerpo de la serpiente; (3) un empujón demasiado rápido y fuerte durante la introducción del catéter de Nelaton; (4) un suministro descontrolado de la fórmula nutritiva que genera acumulación y burbujas; (5) no realizar el masaje sobre la superficie ventral de la serpiente; y (6) una extubación rápida e incontrolada. Según nuestra experiencia, la muerte por rotura del tracto digestivo se puede detectar dentro de las primeras 72 h después del procedimiento de alimentación forzada.

## 4.3 Lección tres: enriquecimiento ambiental

El enriquecimiento ambiental es el conjunto de técnicas y medidas de manejo utilizadas por los cuidadores que busca fomentar la expresión de comportamientos naturales de los animales en condiciones de cautiverio. [40]. Además, estas medidas de manejo buscan promover e incrementar la supervivencia, la salud y el bienestar de los animales en cautiverio [41].

Históricamente, el enriquecimiento ambiental de serpientes en cautiverio se ha estudiado principalmente en zoológicos y biodioramas educativos, pero poco se ha avanzado en serpentarios que tienen por objetivo la producción de antiofídicos [25]. Por ejemplo, para iniciativas públicas de educación ambiental, Cardoso et al. [42] demostraron que los ambientes enriquecidos tienen efectos significativamente positivos sobre el bienestar y el comportamiento de las poblaciones en cautiverio de *Micrurus corallinus*, reduciendo el estrés y previniendo síndromes de mala adaptación.

El enriquecimiento ambiental de serpentarios enfocados a la producción de antiofídicos es un desafío debido a la falta de investigaciones que exploren cuáles son las «mejores» prácticas. En particular, el enriquecimiento ambiental conlleva superar desafíos especiales debido a los protocolos

estandarizados de sanidad animal en el contexto de un programa intensivo de cautiverio de serpientes que busca replicabilidad y reproducibilidad [25]. Por ejemplo, para mantener altos estándares de saneamiento todos los elementos (ramas de árboles, rocas, trozos de troncos, plantas, etc.), tanto naturales como artificiales, deben ser higienizados para convertirlos en elementos asépticos y controlar los focos de patógenos. Muchos desinfectantes se inactivan en presencia de materia orgánica, por lo que lavar y desinfectar troncos y plantas es inútil para la sanidad de las serpientes.

Para un serpentario intensivo para la producción de antiofídicos, es una tarea desafiante cumplir con los requisitos de un buen enriquecimiento ambiental. Esto se debe a que diariamente se cuida y revisa el estado de salud de un gran número de serpientes, se realizan tareas de ordeño que consumen mucho tiempo, y se debe contar con personal capacitado e infraestructura especializada. Comúnmente en este tipo de serpentario existe un equilibrio entre el enriquecimiento ambiental y el manejo operativo de las serpientes. Los extremos de este compromiso entre lo natural y lo operativo son, por un lado, un biodiorama o terrario enriquecido ambientalmente que busca ser una réplica fiel del microhábitat conocido de la serpiente (como un serpentario de exhibición) y, por otro lado, un recinto básico sin elementos del que simulen el microhábitat de la serpiente, sólo proveyendo agua *ad libitum*.

La experiencia adquirida durante la historia del serpentario del INS, sugiere que el punto medio entre ambos extremos es la «mejor» opción a pesar de tener múltiples necesidades de enriquecimiento ambiental debido a la diversidad de la especie de serpientes que alberga. El serpentario del INS sigue el enfoque de Loughman [43], pero lo ajusta de acuerdo con las pautas operativas estrictas y estandarizadas del INS en materia de salud, bienestar animal, seguridad de los trabajadores, calidad del producto y trazabilidad. Estas pautas son similares a las establecidas por el Centro de Estudio de Venenos y Animales Venenosos (CEVAP) de la Universidad Estadual Paulista (UNESP) Brasil [25]; y las directrices de la Organización Mundial de la Salud (OMS) para la producción de antiofídicos [44].

### **Serpentario intensivo**

*Condiciones generales en cautiverio.*— El serpentario del INS alberga 182 ejemplares, de los cuales 146 son vipéridos y 36 elápidos. Cada ejemplar tiene un código alfanumérico que actúa como código de identificación. Los adultos de las especies que alcanzan un gran tamaño corporal llevan implantado un chip del tamaño de un grano de arroz que proporciona un código alfanumérico. El entorno cautivo mantiene condiciones físicas estables (temperatura:  $26 \pm 0,2$  C; humedad relativa  $65 \pm 5$  humedad relativa).

Sin embargo, debido al área del serpentario, la humedad relativa y la temperatura no son homogéneas en todo el recinto. Hay zonas más húmedas y otras más secas, así como zonas relativamente más cálidas y otras menos cálidas. Por lo tanto, aprovechando esta variabilidad, los encierros de las serpientes se organizan en función de la humedad relativa y la temperatura del hábitat original de las serpientes. Por ejemplo, los

recintos de *Crotalus durissus* están en las zonas más secas del serpentario, mientras que los recintos de *Micrurus surinamensis* están en las secciones húmedas. Además, en el interior de los encierros la humedad relativa y la temperatura varían, lo que indica que las cajas de polipropileno proporcionan un microclima. (Tabla 6).

**Tabla 6.** Registros de termohigrómetro dentro de los encierros de las de serpientes.

<b>Especie</b>	<b>Humedad relativa</b>	<b>Temperatura</b>
<i>Crotalus durissus</i>	60,5 (42,3-75,3)	26,6 (25,5-27,8)
<i>Bothriechis schlegelii</i>	87,0 (78,1-93,9)	26,3 (25,2-27,5)
<i>Bothrops asper</i>	62,5 (42,2-81,9)	25,6 (25,0-27,2)
<i>Bothrops atrox</i>	77,1 (45,2-96,9)	26,4 (42,3-75,3)
<i>Lachesis acrochorda</i>	64,6 (43,1-84,1)	25,1 (23,7-28,9)
<i>Micrurus surinamensis</i>	93,9 (73,4-100)	25,4 (24,5-26,4)

**Encierros.**— Las serpientes se alojan en cajas individuales de polipropileno translúcido de tamaños variados (20 cm de largo x 15 cm de ancho y 20 cm de alto, utilizadas para serpientes con una longitud inferior a 30 cm de longitud rostro-cloaca (LRC); hasta cajas de 60 cm de largo x 40 cm de ancho y 35 cm de alto, utilizadas para víboras grandes como las serpientes de los géneros *Bothrops* y *Crotalus* de hasta 2 m LRC). Las ventajas son la seguridad, la facilidad de limpieza y el mantenimiento. De esta manera, las cajas se pueden supervisar fácilmente durante la alimentación y revisión médica. En casos especiales de serpientes de gran tamaño como las especies del género *Lachesis*, el tamaño de los encierros es de 100 cm de largo x 45 cm de ancho y 35 cm de alto, construidos con estantes de acero inoxidable y paredes rígidas de acrílico translúcido.

**Sustrato.**— El sustrato que cubre el suelo de la caja debe cumplir con cuatro criterios: (1) brindar comodidad a la serpiente; (2) ayudar a mantener las condiciones de humedad en el encierro; (3) facilitar la limpieza del encierro; y (4) ser lo suficientemente profundo como para permitir que las serpientes con hábitos semifosoriales se escondan. Para ello, se emplea una mezcla 1:1 de virutas (virutas de álamo) y vermiculita inerte y desinfectada (mineral filosilicato hidratado), la cual llena el suelo de la caja con una profundidad de 2 cm, generando un lecho que permite mantener la humedad relativa de aproximadamente al 70%. En el caso de serpientes semifosoriales, el suelo de la caja se llena hasta una profundidad de 5 cm. No se recomienda el uso de otros sustratos como tierra natural, hojarasca natural o aserrín, ya que son fuentes comunes de patógenos y son difíciles de desinfectar. A diferencia de todas las demás especies alojadas en el serpentario, *Crotalus durissus* requiere un microhábitat seco, por lo que, además de colocar el recinto en la zona más seca del serpentario, se utiliza cartón corrugado como sustituto de la vermiculita, garantizando una baja humedad relativa dentro del encierro.

**Suministro de agua.**— Los encierros de serpientes adultas cuentan con un bebedero plástico circular de 15 cm de diámetro y 10 cm de altura,

mientras que los recintos de juveniles o neonatos tienen vasos plásticos desechables de 5 onzas empotrados en el sustrato y sujetos al suelo del encierro. El agua se administra *ad libitum* y se cambia cada quince días; sin embargo, este intervalo puede disminuir dependiendo de si se ensucia debido a la defecación o al sustrato.

*Ornamentación del encierro.*— La disposición de la ornamentación dentro de los encierros, además de proporcionar un ambiente similar al hábitat natural, debe permitir el manejo seguro del personal del serpentario, reduciendo siempre el riesgo de mordeduras durante los procedimientos rutinarios de limpieza, alimentación y ordeño. Por lo tanto, los elementos de ornamentación en los recintos son los mínimos necesarios según la historia natural de las serpientes. Por ejemplo, el recipiente de agua de plástico funciona como refugio para corales, neonatos y juveniles de especies de vipéridos. Además del sustrato mixto de vermiculita y el recipiente plástico de agua, en los encierros de especies arbóreas como *Bothriechis schlegelii* o *Bothrops bilineatus* se enriquece con ramas de árboles higienizadas asignadas a cada espécimen, de tal manera que cada serpiente utilice siempre el mismo juego de ramas, evitando contaminación cruzada.

En el caso de serpientes muy grandes (más de 2 m LRC) como las de la especie *Lachesis*, la experiencia nos ha enseñado que los encierros con objetos dispuestos en el suelo ayudan en el proceso de muda de piel para este tipo de serpiente. Por lo tanto, los recintos se enriquecen con troncos de madera pesados, los cuales se rocían con agua diariamente. Tanto los elementos que funcionan como refugios, así como las ramas de los árboles deben colocarse estratégicamente para permitir que la serpiente se sienta oculta, pero permaneciendo visible para el personal del serpentario.

Las serpientes de cascabel son una de las especies más representativas del serpentario del INS, ya que son las que exhiben el mayor tiempo medio de supervivencia (9,7 años) entre todas las especies alojadas en el serpentario. Además, han sido las más numerosas históricamente en el serpentario (54 especímenes). A diferencia de las demás especies de serpientes, en los encierros de *Crotalus durissus* no se utilizan elementos para enriquecer el entorno en cautiverio. Los únicos elementos dentro de su encierro son una lámina de cartón corrugado y un recipiente de plástico para el agua. La inclusión de elementos que acumulan humedad (p. ej., vermiculita, troncos de madera o refugios de plástico) se ha asociado con patologías como micosis y disecdisis. Por tanto, este es un ejemplo que ilustra que no todas las serpientes requieren un enriquecimiento ambiental complejo, algunas especies necesitan sólo unos pocos elementos para adaptarse al cautiverio y gozar de bienestar.

#### **4.4 Lección cuatro: supervivientes inesperados**

Numerosas serpientes alojadas en el serpentario del INS fueron donadas por las Corporaciones Autónomas Regionales (CARs) de Colombia, la policía ambiental, el cuerpo de bomberos; obtenidas a través de rescates, confiscaciones o decomisos. En varios casos, el manejo previo y las con-

diciones de cautiverio de las serpientes fueron inadecuadas, causando efectos deletéreos en la condición física inicial de la serpiente antes de su ingreso al serpentario. Como consecuencia, algunas de estas serpientes presentaron patologías que afectaron significativamente su supervivencia. Sin embargo, existen casos destacados de serpientes lesionadas que sobrevivieron durante mucho tiempo, a pesar de graves heridas o patologías. Esta lección ilustra los eventos más relevantes de las serpientes sobrevivientes de procedimientos de manejo inadecuados, y que, de forma inesperada, mostraron una recuperación excepcional enseñándonos que, a pesar de las condiciones precarias de salud de algunas serpientes, la voluntad de vivir nunca se rinde.

### **Caso 1: *Micrurus dumerilii* INSV-SR-109**

*Condición de salud de la serpiente durante el ingreso.*— Una serpiente hembra adulta (LRC: 680 mm; LC: 65 mm; peso: 59,8 g) proveniente de Viotá, Cundinamarca, Colombia, ingresó en julio de 2016 presentando una lesión musculoesquelética en el primer tercio del cuerpo, mostrando una herida en la piel con una depresión cóncava posiblemente causada por aplastamiento o por un golpe con objeto contundente, provocando ataxia y limitando los movimientos serpenteantes naturales del cuerpo posteriores al golpe. La serpiente permaneció en posiciones anatómicas anormales en el encierro, invirtiendo la posición del cuerpo (superficie ventral del cuerpo visible desde arriba) después de la lesión; sin mostrar comportamientos normales como esconderse en el sustrato.

*Consideraciones veterinarias en el manejo en cautiverio.*— Un mes después del ingreso, la serpiente presentó pérdida de peso (normal al principio de la cautividad). En la zona de la lesión, se observó una estructura similar a una costilla sobresaliendo de la piel, exhibiendo necrosis alrededor de la herida. De acuerdo con los criterios del médico veterinario, la serpiente fue mantenida bajo observación, no se le administró alimento, pero se proporcionó agua *ad libitum*. No se realizó ningún procedimiento médico adicional.

En el segundo mes de cautiverio, se observó una coloración amarilla en la costilla (hueso de costilla no viable) sobresaliendo de la piel, mostrando una evidente retención de piel en la zona de la herida. La piel retenida fue eliminada manualmente y se retiró la costilla. Se aplicó clotrimazol tópico, y la serpiente fue devuelta a su encierro sin evidencia de mejora en la movilidad corporal posterior a la herida.

Durante el tercer mes de cautiverio (octubre), la serpiente fue incorporada al esquema de producción, realizando procedimientos de restricción, manejo, extracción de veneno y alimentación forzada con fórmula nutritiva. En este punto, la serpiente había perdido el 36,8% de su peso inicial (peso: 43 g).

En los meses siguientes, la serpiente regurgitó, rechazando la fórmula nutritiva en varias ocasiones, causando una pérdida dramática de peso hasta el octavo mes. En el noveno mes recuperó peso, mostrando los

primeros signos de aceptación de la fórmula nutritiva; recuperando la salud y la condición corporal. En mayo de 2017 alcanzó el peso de ingreso (décimo mes).

En los siguientes cinco meses, el peso y la salud de la serpiente se recuperaron, aceptó totalmente la alimentación forzada con fórmula nutritiva, y mostró una buena adaptación cautiverio. La herida sanó sin necesidad de tratamiento médico o intervención, dejando una cicatriz marcada en la zona de la lesión. Sin embargo, la ataxia continuó sin mejoría, limitando el comportamiento normal en el encierro; la serpiente fue incapaz de esconderse en el sustrato o refugios artificiales. Debido a la lesión, la muda normal fue obstaculizada, siendo necesario que los cuidadores le ayudaran en el proceso de muda.

*Adaptación, supervivencia y expectativa de vida.*— Debido a la gravedad de las lesiones, el diagnóstico inicial fue negativo. Además, según la experiencia acumulada con especies de *Micrurus* en cautiverio, la esperanza de vida prevista era inferior a dos meses, lo que podría haber disminuido aún más después de la intervención veterinaria que desprendió la costilla. Sin embargo, en contra de todas las expectativas, la serpiente vivió durante seis años (hasta el 22 de junio de 2022) e hizo parte del esquema de producción, así como de las actividades rutinarias de extracción de veneno y alimentación.

En el momento de su fallecimiento, la necropsia no proporcionó una causa concluyente de la muerte. Sin embargo, durante los últimos diez meses antes de la muerte, la serpiente mostró un deterioro de la salud, exhibiendo pérdida de peso y retención de la muda en todo el cuerpo, así como una inmovilidad general progresiva, signos claros de envejecimiento en reptiles geriátricos [45].

### **Caso 2: *Micrurus dumerilii* INSV-SR-113**

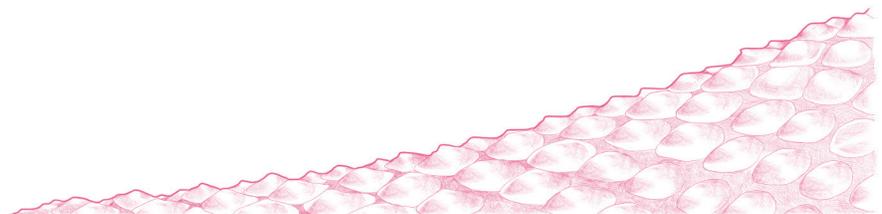
*Condición de salud de la serpiente durante el ingreso.*— Una serpiente hembra adulta (LRC: 690 mm; LC: 82 mm; peso: 60,3 g) proveniente de San Onofre, Sucre, Colombia, ingresó el 17 de septiembre de 2017, presentando buenas condiciones de salud.

*Consideraciones veterinarias en el manejo en cautiverio.*— Un mes después del ingreso, la serpiente presentó pérdida de peso (normal al comienzo de la cautividad), mostrando opacidad en las escamas internas y parietales. Sin embargo, se había observado una muda completa durante el primer mes de cautiverio, por lo que parecía improbable que la opacidad fuera debido a la retención de la muda. En los meses siguientes, la serpiente mostró signos del síndrome de mal adaptación, como rechazo de la fórmula nutritiva (regurgitación), mudas excesivas (dos eventos de muda por mes), pérdida de peso, y opacidad en las escamas de la cefálicas y dorsales.

Dado que el síndrome de mal adaptación persistía, a pesar de los riesgos de generar retención de la muda, se realizó alimentación forzada con fórmula nutritiva durante la muda para intentar detener la pérdida de

peso y la condición corporal deprimida de la serpiente. La opacidad en las escamas cefálicas y dorsales se trató clínicamente como una infección micótica; sin embargo, el tratamiento no tuvo efecto. Así, la opacidad de las escamas se convirtió en una condición crónica de la serpiente. En cada evento de muda la serpiente tuvo que ser asistida por los cuidadores. Esta técnica de manejo en cautiverio se mantuvo durante mucho tiempo. Se logró detener la pérdida de peso y la condición corporal deprimida de la serpiente, pero las mudas excesivas y opacidad de las escamas fueron crónicas.

*Adaptación, supervivencia y expectativa de vida.*— Este caso ejemplifica cómo una serpiente que ingresó al serpentario con buenas condiciones de salud y diagnóstico veterinario, desarrolló rápidamente un síndrome de mal adaptación que amenazó su supervivencia. Sin embargo, gracias a la atención veterinaria y el manejo adecuado, esta trayectoria fue revertida, prolongando su esperanza de vida, a pesar de que la serpiente nunca se adaptó adecuadamente al cautiverio. La serpiente vivió cuatro años en cautiverio y fue incluida en el esquema de producción rutinaria del serpentario del INS hasta su muerte, aunque no se observaron otros signos o patologías.



## Apéndice: Métodos

Con base en las historias clínicas disponibles desde 1990 hasta 2021 de las serpientes alojadas en el serpentario del Instituto Nacional de Salud de Colombia para la producción de antiofídicos, describimos, analizamos los datos más destacados y casos especiales. Además, para evaluar la probabilidad de supervivencia de las serpientes en cautiverio y las variables asociadas realizamos un análisis de supervivencia estándar a través del estimador de Kaplan-Meier y modelos de Cox PH (considerando covariables constantes) [46,47]. Todos los análisis se realizaron utilizando el software Rwizard 4.3 [48] y el paquete “survival” en lenguaje R [49].

La alimentación con fórmula nutritiva, así como el enriquecimiento del encierro mediante la incorporación de vermiculita como componente del sustrato, fueron aportes del biólogo Jairo Maldonado, quien durante su vinculación al INS contribuyó con su experiencia en el manejo, mantenimiento y bienestar de las serpientes coral. A partir de sus observaciones y recomendaciones, el equipo técnico del serpentario del INS ha ajustado y perfeccionado estas prácticas.



## Referencias

1. Vargas-salinas, F.; Angarita-Sierra, T.; Ospina-L, A.; Rocha-Úsuga, A.; Rueda-Solano, L. Comunicación y ecología reproductiva. In *Biología de los anfibios y reptiles en el bosque seco tropical del norte de Colombia*; **2019**; pp. 248–295 ISBN 9789586603416.
2. Ospina-Sarria, J.J.; Angarita-Sierra, T. A New Species of *Pristimantis* (Anura: Strabomantidae) from the Eastern Slope of the Cordillera Oriental, Arauca, Colombia. *Herpetologica* **2020**, *76*, 83–92.
3. Angarita-Sierra, T.; Montaña-Londoño, L.F.; Bravo-Vega, C.A. ID please: Evaluating the utility of Facebook as a source of data for snake research and conservation. *An. Acad. Bras. Cienc.* **2022**, *94*, 1–25, doi:10.1590/0001-376520220211043.
4. Duellman, W.E. *Cusco Amazónico/ the Lives of Amphibians and Reptiles in an Amazonian Rainforest.*; Comstock Publishing Associates: Ithaca, 2005;
5. Lynch, J.D. El contexto de las serpientes de Colombia con un análisis de las amenazas en contra de su conservación. *Rev. la Acad. Colomb. Ciencias Exactas, Físicas y Nat.* **2012**, *36*, 435–449.
6. Castillo-Beltrán, M.C.; Hurtado-Gómez, J.P.; Corredor-Espinel, V.; Ruiz-Gómez, F.J. A polyvalent coral snake antivenom with broad neutralization capacity. *PLoS Negl. Trop. Dis.* **2018**, *13*, 1–14, doi:10.1371/journal.pntd.0007250.
7. Lovich, J.E.; Gibbons, J.W. Age at Maturity Influences Adult Sex Ratio in the Turtle *Malaclemys terrapin*. *Oikos* **1990**, *59*, 126, doi:10.2307/3545132.
8. Braz, H.B.; Rocha, M.M.T.; Furtado, M.F.D. Maintaining rear-fanged snakes for venom production: An evaluation of mortality and survival rates for *Philodryas olfersii* and *P. patagoniensis* in captivity. *J. Venom. Anim. Toxins Incl. Trop. Dis.* **2012**, *18*, 164–172, doi:10.1590/S1678-91992012000200006.
9. Warwick, C.; Arena, P.; Steedman, C. Spatial considerations for captive snakes. *J. Vet. Behav.* **2019**, *30*, 37–48, doi:10.1016/j.jveb.2018.12.006.
10. Warwick, C. Reptilian ethology in captivity: Observations of some problems and an evaluation of their aetiology. *Appl. Anim. Behav. Sci.* **1990**, *26*, 1–13, doi:10.1016/0168-1591(90)90082-0.
11. Henao Duque, A.M.; Núñez Rangel, V. Maintenance of red-tail coral snake (*Micrurus mipartitus*) in captivity and evaluation of individual venom variability. *Acta Biológica Colomb.* **2016**, *21*, 593, doi:10.15446/abc.v21n3.51651.
12. Murphy, J.B.; Armstrong, B.L. *Maintenance of Rattlesnakes in captivity*; University of Kansas: Lawrence, **1978**; ISBN 0-89338-006-7.
13. Van Waeyenberge, J.; Aerts, J.; Hellebuyck, T.; Pasmans, F.; Martel, A. Stress in wild and captive snakes: Quantification, effects and the importance of management. *Vlaams Diergeneesk. Tijdschr.* **2018**, *87*, 59–65, doi:10.21825/vdt.v87i2.16082.
14. Rataj, A. V.; Lindtner-Knific, R.; Vlahović, K.; Mavri, U.; Dovč, A. Parasites in pet reptiles. *Acta Vet. Scand.* **2011**, *53*, doi:10.1186/1751-0147-53-33.
15. Grego, K.F.; Vieira, S.E.M.; Vidueiros, J.P.; de Oliveira Serapicos, E.; Barbarini, C.C.; da Silveira, G.P.M.; de Souza Rodrigues, F.; de Carvalho Francisco Alves, L.; Stuginski, D.R.; Rameh-De-Albuquerque, L.C.; et al. Maintenance of venomous snakes in captivity for venom production at Butantan Institute from 1908 to the present: A scoping history. *J. Venom. Anim. Toxins Incl. Trop. Dis.* **2021**, *27*, 1–11, doi:10.1590/1678-9199-JVATITD-2020-0068.
16. Rangel-Ch, O.J. *Colombia Diversidad Biotica I*; Rangel-Ch, O.J., Ed.; Institu-

- to de Ciencias Naturales. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, **1995**.
17. Dunham, A.; Grant, B.; Overall, K. Interfaces between biophysical and physiological ecology and the population ecology of terrestrial vertebrate ectotherms. *Physiol. Zool.* **1989**, *62*, 338–355.
  18. Mader, D.R. *Reptile medicine and surgery*; Saunders Elsevier, **2006**;
  19. Warwick, C. The Morality of the Reptile “Pet” Trade. *J. Anim. Ethics* **2014**, *4*, 74, doi:10.5406/janimaethics.4.1.0074.
  20. Warwick, C.; Grant, R.; Steedman, C.; Howell, T.J.; Arena, P.C.; Lambiris, A.J.L.; Nash, A.E.; Jessop, M.; Pilny, A.; Amarello, M.; et al. Getting it straight: Accommodating rectilinear behavior in captive snakes—A review of recommendations and their evidence base. *Animals* **2021**, *11*, 1459, doi:https://doi.org/10.3390/ani11051459.
  21. Chacón, D.; Rodríguez, S.; Arias, J.; Solano, G.; Bonilla, F.; Gómez, A. Maintaining Coral Snakes (*Micrurus nigrocinctus*, Serpentes: Elapidae) for venom production on an alternative fish-based diet. *Toxicon* **2012**, *60*, 249–253, doi:10.1016/j.toxicon.2012.04.332.
  22. Mendes, G.F.; Stuginski, D.R.; Loibel, S.M.C.; Morais-Zani, K. De; Da Rocha, M.M.T.; Fernandes, W.; Sant’anna, S.S.; Grego, K.F. Factors that can influence the survival rates of coral snakes (*Micrurus corallinus*) for antivenom production. *J. Anim. Sci.* **2019**, *97*, 972–980, doi:10.1093/jas/sky467.
  23. Sasa, M.; Arias Ortega, J.; Bonilla-Murillo, F. Assessing survival of wild-caught snakes in open venom production systems. *Toxicon* **2017**, *138*, 49–52, doi:10.1016/j.toxicon.2017.08.001.
  24. Castro-Sandoval, C.A. Propuesta de manejo y supervivencia en cautiverio de serpientes de género *Micrurus* para la producción de suero antiofídico en el Instituto Nacional de Salud, Universidad Nacional Abierta y a Distancia, **2021**.
  25. Santos, L.; Oliveira, C.; Vasconcelos, B.M.; Vilela, D.; Melo, L.; Ambrósio, L.; da Silva, A.; Murback, L.; Kurissio, J.; Cavalcante, J.; et al. Good management practices of venomous snakes in captivity to produce biological venom-based medicines: achieving replicability and contributing to pharmaceutical industry. *J. Toxicol. Environ. Heal. - Part B Crit. Rev.* **2021**, *24*, 30–50, doi:10.1080/10937404.2020.1855279.
  26. Campbell, J.A.; Lamar, W.W. *The Venomous Reptiles of the Western Hemisphere* (Vol. 1); Comstock Publishing: New York, **2004**; ISBN 978-0801441417.
  27. Duque Henao, A.M.; Rangel Núñez, V. Maintenance of red-tail coral snake (*Micrurus mipartitus*) in captivity and evaluation of individual venom variability. *Acta Biológica Colomb.* **2016**, *21*, 593–600.
  28. Mason, G.J. Species differences in responses to captivity: Stress, welfare and the comparative method. *Trends Ecol. Evol.* **2010**, *25*, 713–721, doi:10.1016/j.tree.2010.08.011.
  29. Goodman, G. Common dermatoses in reptiles. *In Pract.* **2007**, *29*, 288–293, doi:10.1136/inpract.29.5.288.
  30. McAloose, D.; Colegrove, K.M.; Newton, A.L. Wildlife necropsy. In *Pathology of Wildlife and Zoo Animals*; Terio, K.A., McAloose, D., Judy St., L., Eds.; Elsevier Inc., **2018**; pp. 1–20 ISBN 9780128053065.
  31. Mans, C. Clinical update on diagnosis and management of disorders of the digestive system of reptiles. *J. Exot. Pet Med.* **2013**, *22*, 141–162, doi:10.1053/j.jepm.2013.05.006.

32. Banzato, T.; Hellebuyck, T.; Van Caelenberg, A.; Saunders, J.H.; Zotti, A. A review of diagnostic imaging of snakes and lizards. *Vet. Rec.* **2013**, *173*, 43–49, doi:10.1136/vr.101450.
33. Driggers, T. Respiratory diseases, diagnostics, and therapy in snakes. *Vet. Clin. North Am. Exot. Anim. Pract.* **2000**, *3*, 519–530.
34. Ramsay, E.C.; Munson, L.; Lowenstine, L.; Fowler, M.E. A Retrospective Study of Neoplasia in a Collection of Captive Snakes Published by : American Association of Zoo Veterinarians content in a trusted digital archive. We use information technology and tools to increase productivity and facilitate new forms. **1996**, *27*, 28–34.
35. Page, L.A. Diseases and Infections of Snakes: A Review. *Bull. Wildl. Dis. Assoc.* **1966**, *2*, 111–126, doi:10.7589/0090-3558-2.4.111.
36. Kauffeld, C.F. Methods of Feeding Captive Snakes. *Methods* **2010**, *9*, 129–131.
37. Donoghue, S.; McKeown, S. Nutrition of captive reptiles. *Vet. Clin. North Am. Exot. Anim. Pract.* **1999**, *2*, 69–91, doi:10.1016/S1094-9194(17)30140-8.
38. Roze, J. *Coral Snakes of the Americas: Biology, identification, and Venoms*; Krieger Publishing Company, **1996**; ISBN 0894648470.
39. Wheatley, J.L. A gavage dosing apparatus with flexible catheter provides a less stressful gavage technique in the rat. *Lab Anim. (NY)*. **2002**, *31*, 53–56, doi:10.1038/5000176.
40. Burghardt, G.M. Environmental enrichment and cognitive complexity in reptiles and amphibians: Concepts, review, and implications for captive populations. *Appl. Anim. Behav. Sci.* **2013**, *147*, 286–298, doi:10.1016/j.applanim.2013.04.013.
41. Mellor, D.J. Enhancing animal welfare by creating opportunities for positive affective engagement. *N. Z. Vet. J.* **2015**, *63*, 3–8, doi:10.1080/00480169.2014.926799.
42. Cardoso, S.R.T.; Silva, A.G.; Pourto, G. Maintenance and reproductive behavior of *Micrurus corallinus* in captivity. In *Advances in Coralsnake Biology: with Emphasis on South America*; da Silva-Jr, N.J. da, Porras, L.W., Aird, S.D., da Costa Prudente, A.L., Eds.; PUC Goia's, Eagle mountain Publishing: Goiás, **2021**; pp. 353–369 ISBN 9780972015462.
43. Loughman, Z.J. Utilization of natural history information in evidence based herpetoculture: A proposed protocol and case study with *Hydrodynastes gigas* (false water cobra). *Animals* **2020**, *10*, 1–20, doi:10.3390/ani10112021.
44. World Health Organization Guidelines for the production, control and regulation of snake antivenom immunoglobulins. *WHO Tech. Rep. Ser.* **2013**, 964.
45. Paré, J.A.; Lentini, A.M. Reptile Geriatrics. *Vet. Clin. North Am. - Exot. Anim. Pract.* **2010**, *13*, 15–25, doi:10.1016/j.cvex.2009.09.003.
46. Bewick, V.; Cheek, L.; Ball, J. Statistics review 12: Survival analysis. *Crit. Care* **2004**, *8*, 389–394, doi:10.1186/cc2955.
47. Therneau, T. Using Time Dependent Covariates and Time Dependent Coefficients in the Cox Model. **2012**, 1–8.
48. Guisande-González, C.; Vaamonde-Liste, B.; Barreiro-Felpeto, A. Rwizard **2014**, 1–452.
49. Therneau, T. A Package for Survival Analysis in R. **2024**, 1–191.

# Capítulo 9

## Ecoepidemiología en el contexto colombiano: una mirada clínica de las mordeduras de serpientes venenosas

**Carlos Andrés Bravo-Vega, Lina María Peña Acevedo, Teddy Angarita-Sierra, Diana Marcela Walteros Acero, Katterine Isabel Urieles Sierra**

**Resumen:** Colombia es un país tropical con una inmensa diversidad de animales, plantas y culturas. Como país tropical, las mordeduras de serpientes son un problema de salud pública significativo que afecta principalmente a las comunidades menos favorecidas. No obstante, el país cuenta con un sólido sistema de vigilancia de la salud pública, en el cual la notificación de mordeduras ocasionadas por serpientes es obligatoria desde el año 2004. En Colombia, durante el período comprendido entre 2010 y 2020, se registraron en promedio 4.469 mordeduras de serpientes por año, haciendo el tercer país con mayor frecuencia en Suramérica. Con base en los datos recopilados por el Sistema Nacional de Vigilancia en Salud Pública (SIVIGILA), este capítulo presenta los resultados de un análisis ecoepidemiológico que muestra las tendencias del accidente ofídico entre los años 2010 y 2020. Se ilustra el comportamiento espacio-temporal del accidente ofídico, así como el comportamiento en la notificación del evento, su demografía, desagregación rural y urbana, características clínicas y uso de suero antiofídico. Además, ofrece sugerencias sobre cómo mejorar la recopilación de datos, empoderar a las comunidades sobre la ecología de la mordedura de serpiente y mejorar la capacitación del personal médico, para contribuir a logro de los objetivos propuestos por la Organización Mundial de la Salud (OMS) para reducir la incidencia de accidentes ofídicos.

**Palabras clave:** Mordeduras de serpiente; accidente ofídico, epidemiología; enfermedad tropical desatendida; envenenamiento; Colombia; mordeduras.



Citación: Bravo-Vega CA.; Peña-Acevedo LM; Angarita-Sierra T.; Walteros-Acero DM.; Urieles-Sierra KS. Capítulo 9. Ecoepidemiología en el contexto colombiano: una mirada clínica de las mordeduras de serpientes venenosas. En el Libro: *Mordeduras, venenos y serpientes venenosas de Colombia*; Angarita-Sierra, T., Ruiz-Gómez, FJ, Eds.; Instituto Nacional de Salud: Bogotá D.C., Colombia, 2024; pp. 411–462.  
doi: 10.33610/495502bbkacw



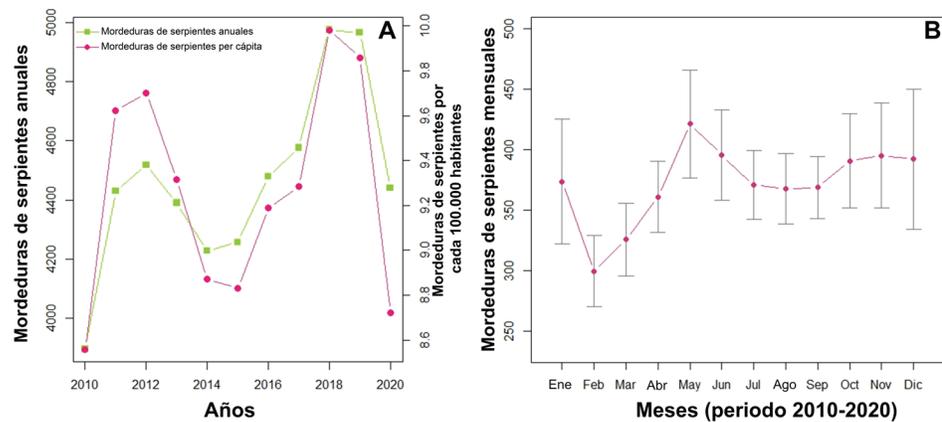
Copyright: © 2024 por los autores. Publicación de acceso abierto bajo los términos y condiciones de licenciamiento Creative Commons Atribución (CC BY-NC-ND 4.0) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Ilustraciones por:  
Oscar A. Ramírez Ruiz

## 1. Una década de mordeduras de serpiente en Colombia ¿Dónde estamos y para dónde vamos?

Entre el 2010-2020 en Colombia se presentaron aproximadamente 49.143 mordeduras de serpientes, 77% de ellas en entornos rurales, con promedio anual de 4.469 eventos reportados, y tasa de incidencia promedio de 9,27 eventos por cada 100.000 habitantes (Figura 1A). Entre los países de América del Sur, Colombia ocupa el tercer lugar en el número de casos totales por año y el sexto lugar en la tasa de incidencia, por cada 100.000 habitantes [1]. La tasa de incidencia del evento mostró un crecimiento promedio anual total del 14,72%, con una variación acumulativa anual de 1,38%, siendo 2018 y 2019 los años con mayor número de eventos reportados. Esto significa que, en este periodo de tiempo, las mordeduras de serpientes aumentaron en promedio  $65,76 \pm 6,16$  eventos por año.

**Figura 1.** Incidencia de mordeduras de serpientes en Colombia. (A) Gráfico que muestra la variabilidad anual absoluta de los casos y la tasa de incidencia por cada 100.000 habitantes durante el período 2010-2020. (B) Gráfico de líneas que muestra los casos reportados mensualmente durante el período 2010-2020. Los puntos representan la media por mes y las barras representan la desviación estándar (DE).

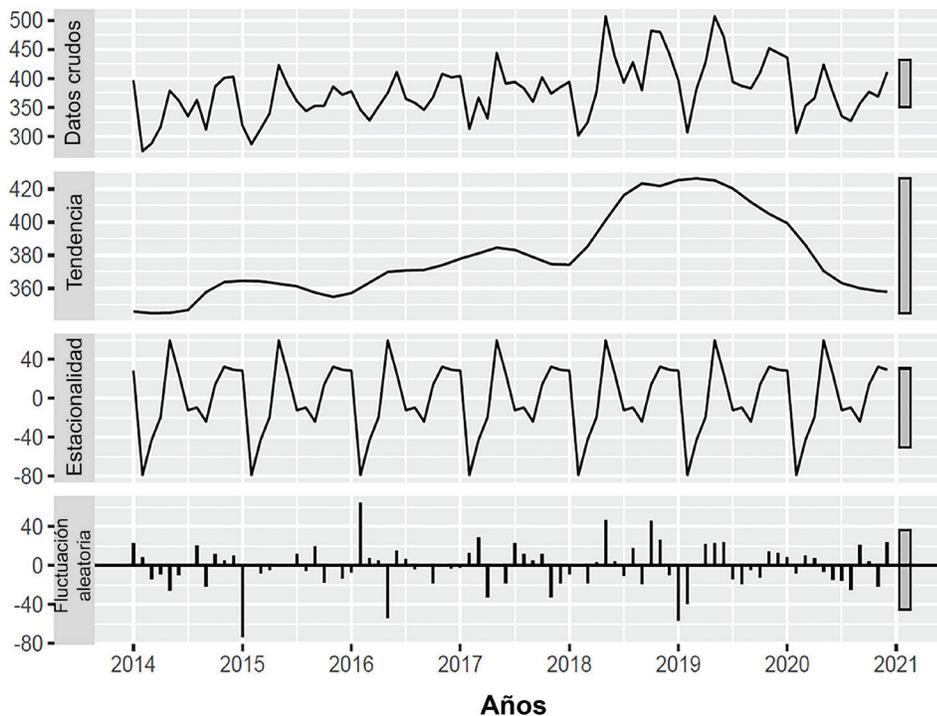


Durante enero, febrero y marzo se reportó la menor cantidad de eventos, mientras que en mayo y noviembre se registró el mayor número (Figura 1B). Este patrón coincide con el comportamiento climático bimodal de las regiones de Colombia que reportan el mayor número anual de eventos (Figura 2) [2]. Después de realizar un análisis de series temporales que incluye una descomposición estacional y de tendencia utilizando la acumulación de los eventos (STL, siglas en inglés), la cual descompone la serie de tiempo en una serie que muestra la tendencia, y otra que muestra la estacionalidad, se encontró que hay dos temporadas de mayor riesgo, una entre abril-junio y la segunda entre octubre-diciembre.

Lo anterior concuerda con el patrón bimodal de lluvias de la región andina del país (Figura 1B). Además, existe una temporada de bajo riesgo en enero, que coincide con la marcada estación seca en la mayoría de las ecorregiones del país. En Colombia, el clima bimodal agregado nacionalmente se caracteriza por dos temporadas de lluvias, (abril-junio y octubre-noviembre) y dos temporadas secas (mitad de noviembre hasta marzo y entre julio y mitad de septiembre).

Las mordeduras de serpiente anuales a nivel nacional sugieren que son estacionales, con un mayor registro de casos que inicia en las temporadas

de lluvias y disminuye al final de las temporadas secas. Esta relación entre la incidencia y las lluvias ha sido ampliamente explorada en Colombia por Bravo-Vega et al [3]. Estos autores muestran que las temporadas secas y su asociación con las temporadas de lluvias son los factores explicativos detrás de la incidencia de las mordeduras de serpiente: las lluvias actúan como un recurso limitante, disminuyendo la incidencia durante las temporadas secas marcadas. Además, el análisis de la serie temporal muestra un aumento interanual en los casos entre 2018 y 2020, que puede corresponder al fenómeno de La Niña más reciente observado, donde aumentan las precipitaciones promedio; y la disminución mostrada en la tendencia después de 2020 se puede explicar por el confinamiento como resultado de la pandemia de COVID-19 [4,5]. Finalmente, la incidencia de mordeduras de serpiente per cápita no muestra un aumento anual constante. Por el contrario, a lo largo del periodo observado, los accidentes ofídicos muestran un comportamiento heterogéneo, con dos puntos máximos en 2013 y 2019 (Figura 1), lo que sugiere una tendencia cíclica interanual que puede reflejar patrones asociados con fluctuaciones macro-climáticas como lo es el fenómeno del niño y la niña (Figura 2).



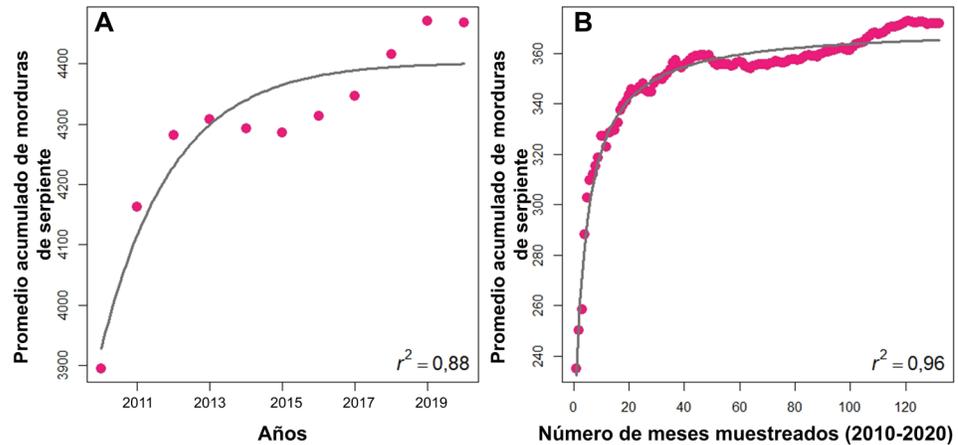
**Figura 2.** Descomposición estacional y de tendencia (descomposición STL) de la serie temporal de casos. Se utilizaron datos mensuales y una frecuencia de muestreo de datos = 12 para capturar la variación estacional entre los meses, capturando así en el componente estacional, la estacionalidad intra-anual y en la tendencia la variación interanual. Al comienzo de cada año, el componente estacional disminuye notablemente debido a la marcada estación seca a nivel nacional. Además, después de 2018, la tendencia comienza a aumentar hasta 2020, lo cual puede corresponder con el fenómeno de La Niña más reciente y con el inicio de la pandemia de COVID-19.

### 1.1 Incidencia acumulada de mordeduras de serpientes en Colombia

El promedio acumulado de la incidencia de mordeduras de serpientes ha mostrado diferencias significativas inter e intra-anales. Cada período tiende hacia dos funciones matemáticas distintas, lo que indica que pertenecen a diferentes distribuciones y muestran un comportamiento distintivo a lo largo del tiempo. La incidencia interanual se ajusta bien a una función de saturación (Figura 3A;  $r^2= 0,88$ ,  $P < 0,0001$ ), y

los residuos se ajustan a una distribución normal ( $D = 0,17$ ,  $P = 0,47$ ), lo que indica que el modelo es significativo y está bien respaldado. Por lo tanto, la incidencia teórica anual esperada de mordeduras de serpientes en Colombia es de aproximadamente 4.401 accidentes ofídicos por cada año. Sin embargo, la incertidumbre del modelo de regresión es del 12%, lo que significa que la incidencia anual puede variar entre 3.872 y 4.929 accidentes, dato que concuerda con la variabilidad observada a lo largo del periodo evaluado.

**Figura 3.** Predicciones teóricas de la incidencia de mordeduras de serpientes en Colombia. (A) Predicción de la incidencia interanual mediante el modelo de regresión por saturación. (B) Predicción de la incidencia intra-anual mediante el modelo de regresión racional. Los puntos rosados representan el promedio acumulado anual y mensual de las mordeduras de serpientes, respectivamente. La línea negra representa los modelos de regresión.



En contraste, la incidencia intra-anual se ajusta muy bien a una función racional (Figura 3B,  $r^2 = 0,96$ ;  $P < 0,0001$ ), pero los residuos no se ajustan a una distribución normal ( $D = 0,096$ ,  $P = 0,004$ ), lo que indica que el modelo es significativo, pero no está bien respaldado. Este hecho no invalida el modelo, ya que su capacidad predictiva es muy buena ( $r^2$  alto). Sin embargo, está limitada porque el modelo no puede garantizar que el valor de probabilidad encontrado sea el correcto [6]. Según el modelo de regresión racional, se espera que la incidencia teórica mensual de mordeduras de serpientes en Colombia sea de aproximadamente 365,3 eventos por mes, con una incertidumbre que oscila entre 351 y 380 eventos mensuales. Sin embargo, debido a un ajuste deficiente de los residuos, es posible que la incidencia mensual predicha por el modelo esté cerca del 96% de la real.

A pesar de las diferencias entre las incidencias inter e intra-anales, así como las limitaciones de las predicciones matemáticas, ambos modelos concluyen que el SIVIGILA ha logrado capturar en alto grado (> 88%) de completitud los accidentes ofídicos ocurridos en el país en la última década. Por lo tanto, si la notificación continúa esta tendencia o se mejora en el corto plazo, en pocos años los reportes podrían alcanzar una tendencia asintótica. Este resultado es un gran logro para el país, ya que durante el período entre 1975 y 1999 hubo gran subregistro, con un reporte de 70,8 casos por año, y antes de 2010 se reportaron en promedio 2.161 eventos por año [7,8].

## 1.2 Distribución espacial de las mordeduras de serpientes en Colombia

La regresión ponderada geográficamente (GWR, siglas en inglés) muestra que las variables bioclimáticas y socioeconómicas son responsables de la heterogeneidad espacial en la distribución de los accidentes ofídicos en Colombia (ver apéndice A y B). Además, al dividir la incidencia en casos urbanos y rurales, la capacidad predictiva del modelo aumenta (Tabla 1). Esta notable diferencia entre el coeficiente de determinación  $R^2$  de una regresión lineal múltiple ordinaria y el GWR, indica que la estructura espacial de los casos desempeña un papel importante en la distribución de la incidencia en el territorio nacional.

Tabla 1. Resultados para los modelos GWR de la incidencia

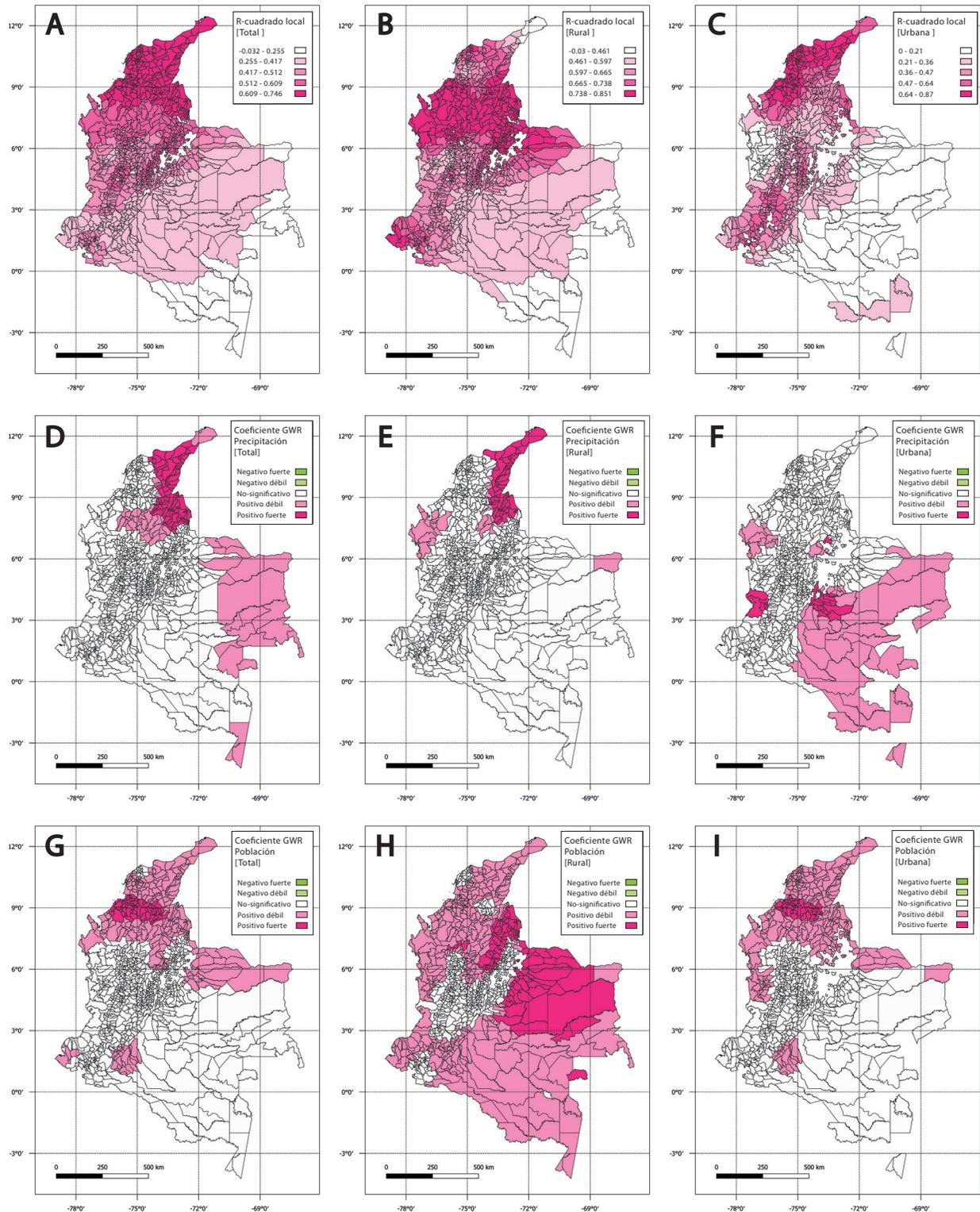
Población	R <sup>2</sup> *	GWR R <sup>2</sup>	Variables explicativas
Total**	0.19	0.56	Población, NBI, B1, B4, B7, B12, B15, B19
Urbana	0.05	0.53	Población, Índice de huella humana, B12, B18
Rural	0.36	0.67	Población, Índice de huella humana, B1, B4, B7, B12, B18, B19

\* Este valor corresponde a un modelo lineal múltiple que no tiene en cuenta la estructura espacial. B1, B4, B7, B12, B15, B18 y B19 corresponden a variables bioclimáticas obtenidas del servidor Worldclim. (Consulte el Apéndice A y B para más detalles).

\*\* El término «población total» se refiere a la suma de las poblaciones urbanas y rurales en las que ocurren las mordeduras de serpientes.

Todos los modelos se calibraron utilizando la totalidad de las variables bioclimáticas, demográficas y de perturbación humana (ver Apéndice A y B), y seleccionó el «mejor» modelo mediante el criterio de información de Akaike (AIC, siglas en inglés). Las variables independientes que mejor explicaron el accidente ofídico variaron entre las regiones del país (Tabla 1), lo cual puede estar relacionado con las diferencias entre los factores que afectan la incidencia en las poblaciones urbanas y rurales. Las únicas variables compartidas entre la incidencia urbana, rural y urbana + rural fueron: población y B12 (precipitación). La distribución del coeficiente GWR para ambas variables se puede observar en la Figura 4 (La distribución de las otras variables, así como la distribución espacial de los casos a nivel municipal se muestran en el apéndice B).

Estas diferencias resaltan la importancia de analizar datos discriminados, ya que el uso de datos agregados puede ocultar diversas asociaciones y comportamientos importantes. Por ejemplo, la huella humana no impulsa la incidencia total, pero es importante en la incidencia rural y urbana (consulte la Figura S2 en el apéndice B). De hecho, el coeficiente es negativo en los casos rurales, lo que sugiere que un aumento en este índice reducirá los casos y los aumentaría en los urbanos (Índice huella humana = 0-100, donde cero (0) indica sin impacto o huella humana y 100 impacto o huella humana total que ha transformado por completo el ecosistema original).



**Figura 4.** Distribución espacial del  $R^2$  y los coeficientes del GWR. (A-C) R-cuadrado local para el modelo GWR en las tres poblaciones (Total, Rural y Urbana). Observe la variación espacial de los valores, donde la población urbana y total se ajustan mejor en la costa Caribe, pero la población rural se ajusta mejor en el sur y norte del Pacífico, el valle medio del Magdalena y el norte de los Llanos de la Orinoquía. (D-F) Coeficiente GWR para la precipitación. Observe las diferencias en la distribución espacial, donde para la población rural la precipitación afecta en gran medida la incidencia en el norte de la costa Caribe y en la región del Catatumbo, mientras que afecta a los casos urbanos en la mayor parte de la región del Orinoco y la Amazonia. (G-I) Coeficiente GWR para la población. Observe cómo la población rural impulsa la incidencia en la mayor parte del país, mientras que la población urbana impulsa principalmente la incidencia en el norte del Pacífico y la costa Caribe.

Por lo tanto, existe una relación compleja entre la huella humana y la incidencia de los accidentes ofídicos, la cual puede explicarse por la distribución espacial del coeficiente: en las poblaciones urbanas, la asociación positiva se encuentra principalmente en el departamento del Meta (Orinoquia Colombiana). Debido a la proximidad con la capital del país, este departamento ha sufrido una acelerada expansión de las fronteras urbana y agrícola conllevado a la pérdida de hábitat para las serpientes, y como consecuencia, a la disminución de la probabilidad de sufrir un accidente ofídico dentro las urbes. Sin embargo, de forma simultánea, se ha aumentado la frecuencia de mordeduras de serpientes en la zona peri-urbana en donde se presentan la expansión de estas fronteras. Por otro lado, la asociación negativa encontrada en áreas rurales ubicadas en el norte de la región Pacífica, cuenca media del río Orinoco y Amazonia, indica que la probabilidad de sufrir un accidente ofídico aumenta al estar los asentamientos rurales cerca o inmersos en los hábitats naturales de las serpientes, así como debido a la exposición de los campesinos y trabajadores del campo al realizar actividades que perturban directamente los hábitats de las serpientes. Aun así, este efecto complejo debe ser analizado en detalle para comprender la asociación entre la intervención antrópica y la incidencia de mordeduras de serpientes, y su relevancia en la salud pública.

### 1.3 Incidencia per cápita de mordeduras de serpientes

La incidencia per cápita de mordeduras de serpientes mostró una amplia variabilidad en los departamentos y ecorregiones de Colombia (ver <https://ofidismo.ins.gov.co/>). A pesar de que los departamentos transandinos de Antioquia, Bolívar, Norte de Santander y Cesar tienen el mayor número de accidentes ofídicos por año (Figura 5), los departamentos cisandinos de Vaupés, Guaviare, Amazonas, Caquetá, Putumayo (ecorregión amazónica), Arauca, Vichada y Casanare (ecorregión de la Orinoquia) presentaron la mayor incidencia per cápita (Tabla 2).

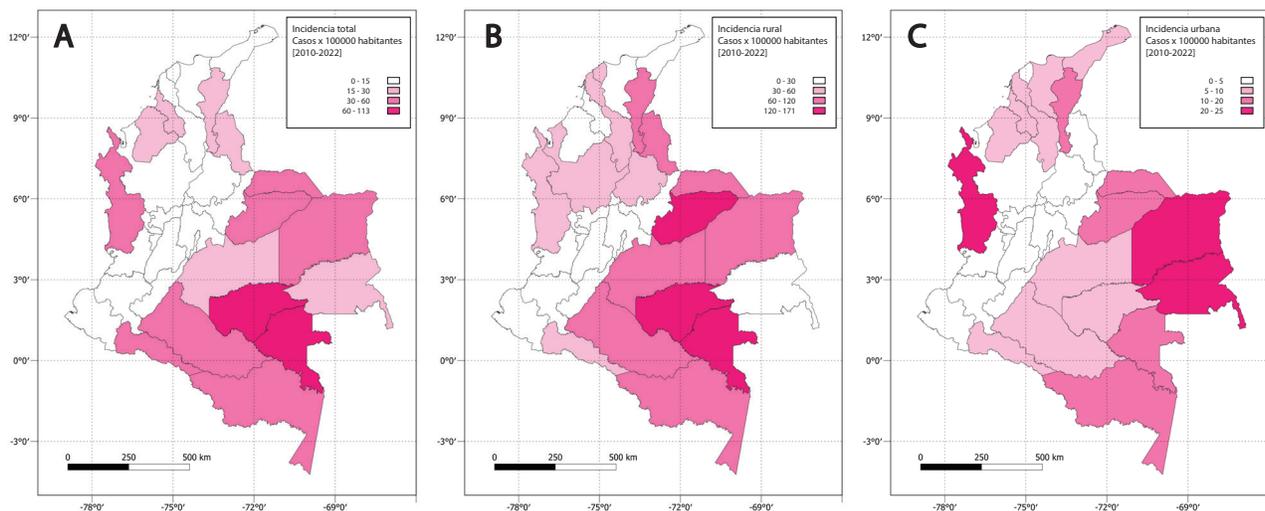


Figura 5. Incidencia de mordeduras de serpiente por cada 100.000 habitantes durante 2010-2020. (A) Incidencia total (B) Incidencia urbana (C) Incidencia rural.

**Tabla 2.** Incidencia por cada 100.000 habitantes de mordeduras de serpientes venenosas (2010-2020) dividida entre poblaciones rural, urbana y total (rural + urbana) que habitan los departamentos colombianos

Departamento	Incidencia per cápita promedio rural	Incidencia per cápita promedio urbana	Incidencia per cápita promedio total
Amazonas	82,8	19,5	59,7
Antioquia	37,1	1,5	9,3
Arauca	101,9	12,1	45,4
Atlántico	38,1	3,8	5,3
Bogotá D.C	1,1	0,0	<0,001
Bolívar	39,3	6,3	13,8
Boyacá	12,0	0,7	5,5
Caldas	18,3	1,2	6,0
Caquetá	67,6	9,2	33,0
Casanare	133,5	11,9	43,8
Cauca	11,8	2,6	8,2
Cesar	66,7	12,5	26,3
Chocó	50,4	24,0	37,5
Córdoba	25,5	6,4	15,4
Cundinamarca	6,1	0,5	2,3
Guainía	29,6	23,4	27,8
La Guajira	17,4	5,5	10,9
Guaviare	164,6	5,7	71,6
Huila	24,5	2,2	11,1
Magdalena	28,6	8,3	13,7
Meta	81,5	7,8	25,7
Nariño	10,3	1,7	11,1
Norte Santander	84,3	4,6	16,8
Putumayo	58,6	8,8	34,4
Quindío	7,3	0,8	1,6
Risaralda	17,9	0,7	4,4
San Andrés archipiélago	0,0	1,8	1,3
Santander	30,8	2,3	9,3
Sucre	27,0	9,7	15,4
Tolima	16,7	2,4	6,9
Valle del Cauca	10,1	0,7	1,9
Vaupés	170,2	19,1	111,9
Vichada	70,3	23,6	50,0
Promedio	46,7	7,3	22,3
Incidencia nacional per cápita			9,3
Incidencia nacional per cápita dividida por cada población	5,0	0,78	2,4

Todas las incidencias per cápita de cada departamento son el promedio anual de las incidencias per cápita durante el período 2010-2020. La incidencia per cápita nacional se calculó con base en la población nacional por cada 100.000 habitantes durante el período 2010-2020.

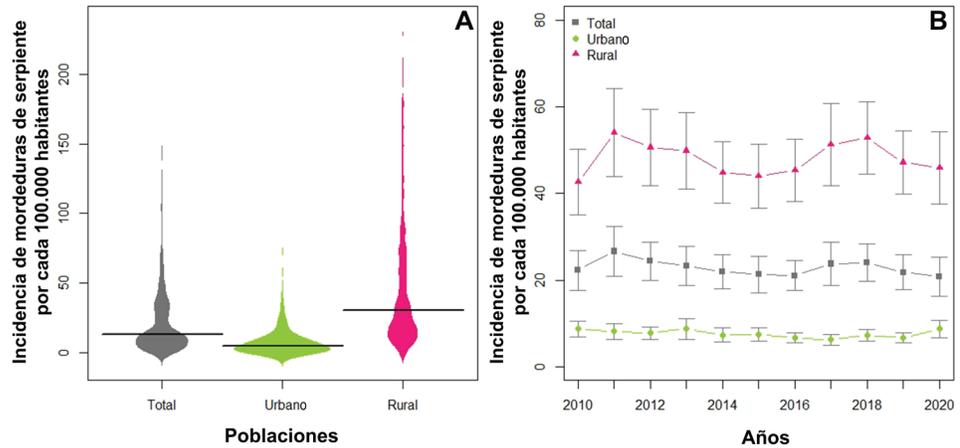
Los departamentos cisandinos comparten la población humana más baja del país, principalmente viviendo en áreas rurales (~60-63%) en lugar de asentamientos urbanos (~37-40%), teniendo una interacción cercana con los paisajes forestales intactos [9]. Por lo tanto, en un contexto demográfico, estos departamentos representan un patrón opuesto al observado a nivel nacional, donde aproximadamente el 70% de los colombianos viven en asentamientos urbanos en lugar de áreas rurales [9,10]. Este hecho, junto con la ocurrencia de mordeduras de serpientes descrita anteriormente, indica que la población rural colombiana ubicada en la Orinoquia y Amazonia es la más vulnerable a los accidentes por mordeduras de serpientes.

Sin embargo, como estándar global, en el sistema de vigilancia epidemiológica colombiano, la incidencia per cápita de accidentes ofídicos se calcula con base en la población total por cada 100.000 habitantes, en lugar de considerar por separado las poblaciones rurales y urbanas [11,12]. Dado que en Colombia la mayoría de los pacientes envenenados por mordeduras de serpientes viven en entornos rurales, calcular la incidencia per cápita siguiendo el estándar global genera un sesgo significativo respecto a la verdadera incidencia que ocurre en el país.

Estudios previos realizados en Colombia han utilizado la medida estándar de incidencia; otros presentando una lectura errada de los datos, reportando una incidencia del accidente ofídico per cápita que varía desde 6,3 eventos en poblaciones con un bajo número de habitantes, hasta una incidencia per cápita de 20 eventos en los departamentos o municipios con un alto número de habitantes [13,14]; y otros subestimaron la incidencia por departamento o ecorregión al no considerar por separado las poblaciones rurales y urbanas [15]. Después de analizar la incidencia de los accidentes ofídicos durante el período 2010-2020, encontramos que la incidencia per cápita de mordeduras de serpientes presentó diferencias significativas entre las poblaciones rurales y urbanas (Figura 6;  $H_{(2)} = 325$ ;  $P < 0,0001$ ). De hecho, en la población rural la incidencia per cápita de las mordeduras de serpientes es de dos o tres veces más alta que la observada en la población urbana. Además, la incidencia per cápita de los accidentes ofídicos por departamento varía de 0 a 170,2 ( $\bar{x} = 46,7$ ) eventos para la población rural, de 0 a 24 ( $\bar{x} = 7,3$ ) para la población urbana, y de 0 a 11,2 ( $\bar{x} = 22,3$ ) eventos para la población total por departamento.

Del mismo modo, el promedio de la incidencia per cápita nacional del accidente ofídico en áreas rurales es cinco veces mayor a la reportada por evaluaciones anteriores (9,3 eventos [13-16]). Estos resultados indican que la medida estándar subestima el impacto de las mordeduras de serpientes anuales en las poblaciones rurales vulnerables. Además, la medición estándar de la incidencia oculta la asociación entre factores ocupacionales, ambientales o conductuales que podrían estar incidiendo en la ocurrencia de los accidentes ofídicos; pero que, debido a esta falta de diferenciación entre poblaciones rural y urbana, no es posible ver su efecto.

**Figura 6.** Comparaciones de la incidencia per cápita de mordeduras de serpientes entre las poblaciones rural, urbana y total del departamento (cálculo estándar), agrupadas por años. (A) Gráfico de violín que muestra la distribución de la incidencia de mordeduras de serpientes per cápita por población. La línea negra horizontal representa la mediana. (B) Gráfico de líneas que muestra la incidencia per cápita de mordeduras de serpientes por población a lo largo del período estudiado (2010-2020). Los símbolos representan la media y las barras el error estándar (SE).



Una estimación más precisa de la incidencia anual per cápita de los accidentes ofídicos es de vital importancia para la asignación e inversión de recursos en la mejora de las acciones de prevención y control de este evento [11]. Por lo tanto, recomendamos calcular la incidencia per cápita de mordeduras de serpientes considerando por separado las poblaciones rurales y urbanas. De esta manera, las intervenciones y estrategias epidemiológicas que buscan la mitigación y prevención de los accidentes ofídicos pueden abordarse con base en una mejor comprensión de su incidencia.

Una de las limitaciones más serias en la estimación de la incidencia del accidente ofídico es la adquisición de datos sólidos. La vigilancia epidemiológica en países en desarrollo como Colombia a menudo presenta deficiencias significativas debido a la falta de recursos, personal de salud capacitado o infraestructura tecnológica. Sin embargo, desde 2004, cuando el accidente ofídico es incluido en el SIVIGILA como de reporte obligatorio [13], se han realizado mejoras continuas para acelerar la curva de aprendizaje, así como para mejorar la estrategia epidemiológica nacional [8,18]. Actualmente, el creciente número de accidentes por mordeduras de serpientes reportados entre 2010 y 2020 refleja los esfuerzos realizados para mejorar la estrategia de vigilancia epidemiológica en Colombia. Además, a lo largo del periodo estudiado, se observaron un total de 26 valores atípicos en la incidencia per cápita del accidente ofídico en los departamentos de Vaupés, Guaviare, Casanare y Atlántico. Estos eventos se asociaron negativamente con el tiempo ( $R = -0,67$ ;  $P = 0,025$ ), lo que indica que a medida que el sistema de notificación mejoró la adquisición de datos, los valores extremos disminuyeron.

Sin embargo, debido a que muchas poblaciones rurales en Colombia habitan en regiones extensas y aisladas con un limitado acceso al sistema de atención médica nacional [19], actualmente, el SIVIGILA continúa subestimando significativamente la incidencia del accidente ofídico. Aunque los datos epidemiológicos recopilados a través de registros médicos son la forma más rentable de obtener datos confiables [20], existen varios sesgos sociodemográficos (p. ej., pacientes que acuden a curanderos tradicionales o bajos ingresos familiares) que dificultan el recuento preciso

del total de accidentes ofídicos anuales reportados. Para superar estas dificultades, se han propuesto modelos matemáticos que pueden estimar los patrones geográficos de incidencia de mordeduras de serpientes, así como el subreporte [20].

Particularmente en Colombia, investigaciones recientes han desarrollado un marco de estimación bayesiana utilizando un modelo lineal generalizado de efectos mixtos basado en modelos teóricos para estimar el subreporte de los accidentes ofídicos en el país [21]. Esta herramienta se enfocó en las mordeduras causadas por *Bothrops asper* (talla X, peloegato) y *B. atrox* (cuatro-narices, mapanaré), las dos especies de serpientes venenosas de mayor importancia médica en el país, ya que causan aproximadamente el 62% de los casos anualmente [14,22,23]. Este estudio estimó que alrededor del 10% de los casos totales no se reportan, lo que equivale a aproximadamente 447 casos no reportados cada año. Esta cifra puede parecer pequeña, pero dado que la mortalidad y la morbilidad aumentarán en estos casos debido a la falta de atención médica, las amputaciones y las muertes derivadas de estos casos también resultan subestimadas.

Estos modelos mostraron que la cuenca del Orinoco y la cuenca amazónica (región cisandina) comparten el mayor riesgo de mordeduras de serpientes y el mayor subreporte en el país. Estos resultados concuerdan con la evaluación de la incidencia per cápita discutida anteriormente, así como con la alta incidencia per cápita en áreas rurales observada en los departamentos colombianos ubicados en la región cisandina (Tabla 2). Además, estos modelos demostraron que los valores más altos de riesgo de mordeduras de serpientes se ubican en departamentos caracterizados por baja densidad de población, baja cobertura de infraestructura vial, presencia de poblaciones indígenas, baja urbanización, y en los cuales *B. atrox* está distribuida (región cisandina).

Por lo tanto, a pesar de que la mayoría de los informes anuales de envenenamiento en Colombia provienen de Antioquia y la región Caribe (región transandina), áreas densamente pobladas y donde *B. asper* está distribuida, las personas que viven en departamentos ubicados en la región cisandina, donde *B. atrox* está distribuida, son más propensas a sufrir una mordedura por esta serpiente.

Los modelos de inferencia estadística surgen como una forma costo-efectiva para estimar la carga de las mordeduras de serpientes en países tropicales como Colombia, que se ven limitados por factores sociodemográficos y de infraestructura. Sin embargo, los modelos matemáticos no pueden reemplazar los datos de incidencia recopilados a través de registros médicos, ya que presentan limitaciones, como se explica a continuación.

**Muestreo de datos.**— La mayoría de los datos de ocurrencia de especies se basan únicamente en registros de presencia de las especies, lo que causa sesgos en los modelos de nicho o distribución (ver <https://ofidismo.ins.gov.co/>). Como ocurre con la mayoría de las áreas y especies tropicales, las especies de serpientes en Colombia carecen de conjuntos



de datos grandes que incluyan tanto presencias como ausencias en sus distribuciones conocidas. Por lo tanto, los modelos de nicho o distribución suelen mostrar un sesgo espacial fuerte en el esfuerzo de muestreo, lo que causa que en la mayoría de los modelos se presente autocorrelación espacial [24,25]. Este sesgo puede tener impacto profundo en la correlación espacial entre variables ecoepidemiológicas, así como en la calidad del modelo que busca explicar la variabilidad en la incidencia del accidente ofídico. Por lo tanto, los modelos de ocurrencia de especies basados en datos únicamente de los registros de presencia de las especies deben ser empleados con precaución, y ser ajustados estadísticamente para obtener el «mejor modelo» posible [24].

*Supuestos sobre la población expuesta.*— En países tropicales y andinos como Colombia, varios municipios presentan centros poblados o cabeceras municipales ubicados en altitudes elevadas en la que la presencia de serpientes es nula o muy baja. No obstante, la incidencia del accidente ofídico se calcula agrupando los casos por el nombre de la cabecera municipal sin tener en cuenta el gradiente altitudinal que abarca el municipio, o la localidad exacta en la que ocurren las mordeduras de serpiente. Esto causa un sesgo grave en la correlación entre la distribución geográfica de la incidencia de las mordeduras de serpientes y la distribución de las serpientes de importancia médica, así como en la correlación con variables ambientales asociadas con la dinámica del accidente ofídico. [21].

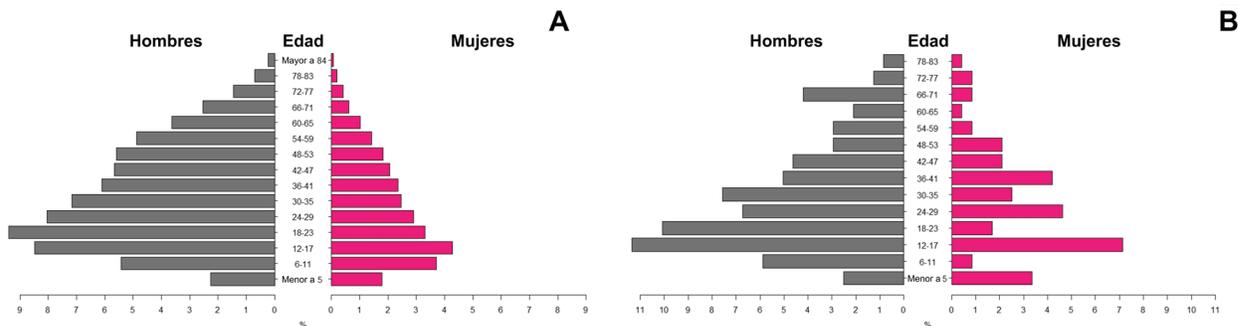
*Especies simpátricas y crípticas.*— En Colombia, al igual que en la mayoría de los países tropicales megadiversos en todo el mundo, varias especies comparten y superponen sus distribuciones geográficas (ver Capítulo 1). Por lo tanto, especies estrechamente relacionadas o que se asemejan mucho pueden generar sesgos en la identificación taxonómica de las especies durante el proceso de notificación del accidente ofídico. En particular, debido a las dificultades en la identificación taxonómica de especies por parte del médico tratante, la ficha de notificación del accidente ofídico en Colombia asocia únicamente los géneros de las serpientes venenosas que históricamente se han considerado de importancia médica (p. ej., el género *Bothrocophias* no está en la ficha de notificación), pero no permite registrar el nombre de la especie cuando se informa una mordedura de serpiente.

Por lo tanto, a pesar de que el accidente ofídico es causado por una interacción negativa con una especie de serpiente específica, el SIVIGILA no puede detectar directamente la especie involucrada. La identificación errónea de la especie de serpiente genera un sesgo significativo en la frecuencia de los accidentes ofídicos en general, así como en el número total de mordeduras de serpientes por especie. Además, debido a que los parámetros de los modelos que definen la probabilidad de que durante un encuentro con una especie de serpiente se ocasione una mordedura, es necesario realizar un ajuste a través de una regresión lineal múltiple que asocie la frecuencia de encuentro para cada especie por separado [20].

A pesar de sus limitaciones, los modelos matemáticos son herramientas predictivas poderosas cuando se utilizan como un instrumento sinérgico con los datos recopilados por sistemas de vigilancia epidemiológica el SIVIGILA, ayudando a determinar la incidencia de las mordeduras de serpientes a nivel local, regional y nacional, la demanda real de suero antiofídico y la selección de parámetros epidemiológicos importantes y factores subyacentes en la ecoepidemiología del accidente ofídico [14,20,26].

### 1.4 Demografía de las mordeduras de serpientes

En Colombia, los hombres tienen significativamente más probabilidad de sufrir mordeduras de serpiente que las mujeres ( $t_{(12,05)} = -23,68; P < 0,0001$ ), con una proporción anual de accidentados de aproximadamente 1 mujer por cada 2,3-2,7 hombres. Esto concuerda con el comportamiento general de los accidentes por género, observado en la región de las Américas debido al tipo de labores realizadas en entornos rurales, así como con el patrón observado en países en desarrollo [1,27]. En ambos géneros, la mayoría de las mordeduras de serpiente ocurren en personas entre los 12 y 29 años, que componen la fuerza laboral en las zonas rurales (Figura 7A). En Colombia las mordeduras de serpiente ocurren desde edades tempranas, como menores de 5 años (~4%), hasta en personas de edades avanzadas (<1%).



**Figura 7.** Distribución de mordeduras de serpientes según rangos de edades. (A) Gráfico de pirámide que representa la distribución por rango de edad de las mordeduras de serpiente en población colombiana durante el período 2010-2020. (B) Gráfico de pirámide que representa la distribución por rango de edad de los accidentes por mordedura de serpiente en población extranjera que recibió atención médica en instituciones de salud colombianas durante el período 2010-2020.

Durante el período 2010-2020, se registraron 239 mordeduras de serpiente en personas extranjeras que recibieron atención médica en instituciones de salud colombianas. Como puede verse en la Figura 7, estos eventos siguieron un patrón por género, similar al de los accidentes observados en la población colombiana, la mayoría ocurrieron en personas jóvenes con edades entre los 12 y 29 años. Sin embargo, la población extranjera presenta una heterogeneidad marcada en los grupos de edad de las mujeres, indicando que las mujeres de mediana edad (38 a 55 años) tienen una mayor probabilidad de sufrir una mordedura (Figura 7B).

Una revisión detallada del comportamiento del evento en poblaciones del país socialmente vulnerables muestra que, las poblaciones indígenas y afrocolombianas concentran el 97% de las mordeduras de serpiente (N =

8.888 eventos), siendo más frecuentes en la población indígena (53%) que en la afrocolombiana (44%). En los lactantes se encontró una incidencia promedio de 178,7 mordeduras por año; estos eventos ocurren principalmente en entornos rurales (74%), pertenecientes a comunidades de agricultores sin etnia declarada (78%), indígenas (14%) y afrocolombianos (8%). Aproximadamente el 4% del total de las mordeduras de serpiente reportadas en la última década ocurrieron en el resto de las poblaciones socialmente vulnerables, como discapacitados, desplazados, migrantes, prisioneros, embarazadas, indigentes, huérfanos, madres comunitarias, desmovilizados, pacientes psiquiátricos y víctimas de violencia.

La mayoría de las mordeduras de serpiente en el país ocurren en personas de los estratos socioeconómicos 1 y 2, agrupando aproximadamente el 84% y el 15% respectivamente del total de accidentes ofídicos en el país. Sin embargo, estas proporciones pueden estar subestimadas o tener sesgos debido a que cerca del 75% de los registros de notificación carecen de los datos que describan el estrato socioeconómico. En las viviendas categorizadas como estratos 1 y 2 viven personas con bajos recursos y medios de vida, y a su vez, son quienes soportan la mayor carga de mordeduras de serpiente en Colombia [28].

El 71,5% de las mordeduras de serpiente, ocurridas durante el período 2010-2020 (~49.143 eventos) involucraron a personas pertenecientes al régimen subsidiado de salud, un 11,6%, en personas que no tienen seguro médico, y el 16,9% restante correspondió a personas del régimen contributivo de salud (14,5%) o a regímenes especiales o excepcionales (1,9%: soldados, policías, entre otras). Esto significa que, además de las condiciones en que viven las personas de escasos recursos en áreas rurales, los accidentes por mordedura de serpiente representan una carga significativa para el sistema de salud porque la mayoría de las personas afectadas pertenecen a regímenes subsidiados.

De las tendencias descritas anteriormente, ninguna ha cambiado desde la evaluación nacional de la incidencia del accidente ofídico realizada en 2010 [14], lo que indica que los esfuerzos nacionales realizados en la última década para reducir los accidentes por mordedura de serpiente en Colombia y su carga en las poblaciones vulnerables y en el sistema de salud no han tenido un impacto relevante. Por lo tanto, el gobierno colombiano debe seguir fortaleciendo y mejorando sus estrategias de salud pública para enfrentar los accidentes ofídicos, ya que sigue siendo una enfermedad desatendida.

## **2. Cuadro clínico del envenenamiento por mordeduras de serpientes en Colombia**

Después de analizar la información registrada en el SIVIGILA entre los años 2010 y 2020 sobre la sintomatología de las mordeduras de serpiente, se encontró que la mayoría de las mordeduras fueron causadas por serpientes de la familia Viperidae. Los casos de mordedura de serpiente causados por especies de los géneros *Bothrops*, *Bothriechis*, *Bothrocophias* y

*Porthidium* se agruparon bajo la categoría de envenenamiento botrópico (62,4%; Tabla 3). El envenenamiento leve representó el 56-60% de los casos totales reportados al SIVIGILA, mientras que los casos graves representaron el 6,4-10% (Tabla 4). Por último, se propone un algoritmo general para el diagnóstico del tipo de envenenamiento en Colombia a partir de la sintomatología que exhiben los pacientes mordidos por una serpiente venenosa. (Figura 8).

**Tabla 3.** Frecuencia del tipo de envenenamiento por mordeduras de serpientes, según lo reportado al SIVIGILA en el periodo 2010-2020.

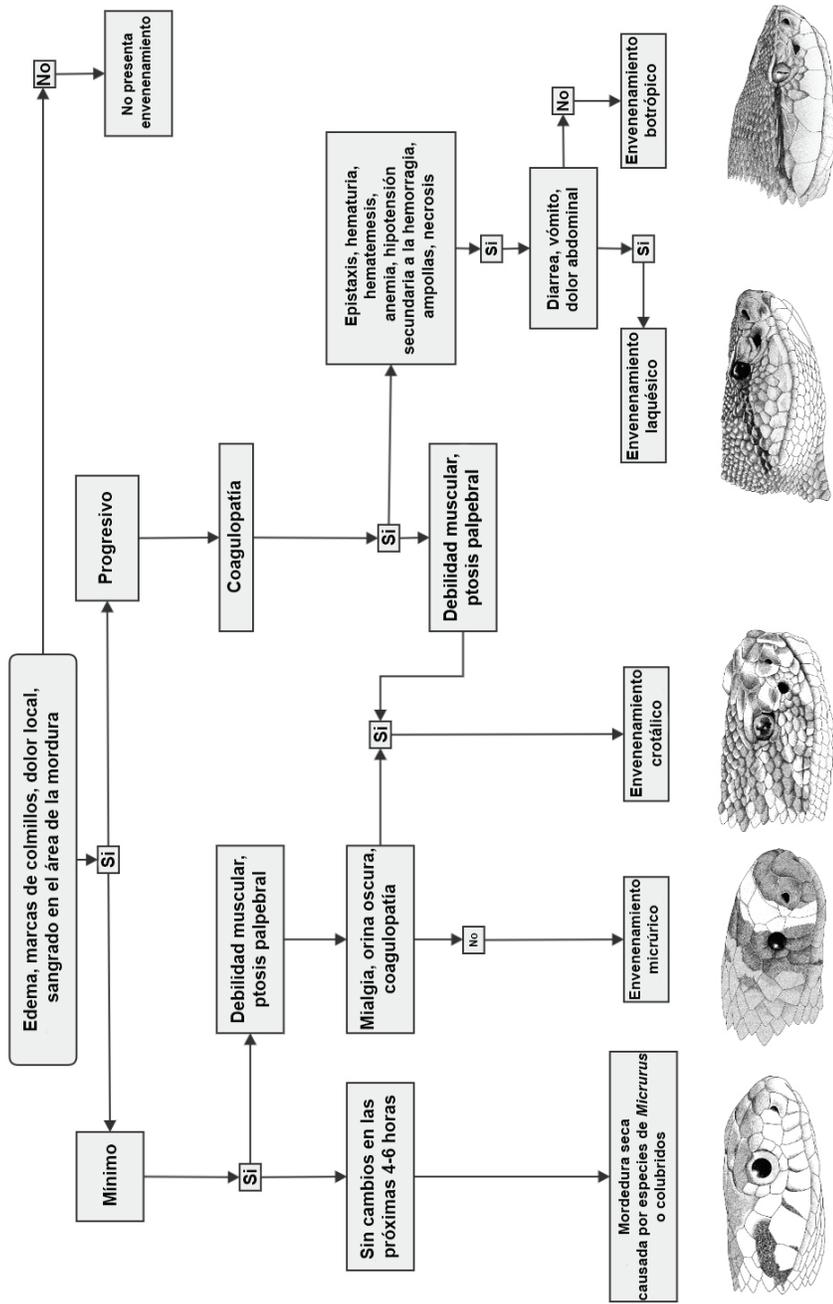
Tipo de envenenamiento	Número de casos durante 2010-2020	%
<b>Víboras</b>		
Botrópico	30.528	62,4
Crotálico	1.317	2,7
Laquésico	254	0,5
<b>Elápidos</b>		
Micrúrico	601	1,2
Hydrofíco	65	0,1
<b>Colúbridos</b>		
	345	0,7
<b>Otros</b>		
	3.004	6,1
<b>No identificado</b>		
	12.821	26,2
<b>Total</b>	<b>48.935</b>	<b>100</b>

**Tabla 4.** Tipo de envenenamiento y gravedad durante el periodo 2010-2020.

Severidad	Botrópico	%	Crotálico	%	Laquésico	%	Micrúrico	%
Leve	16.966	56	767	58	135	53,1	380	63.2
Moderado	11.138	36	461	35	73	28,7	157	26,1
Grave	2.424	8	89	6,7	46	18,1	64	10.6

Botrópico: Envenenamientos causados por los géneros *Bothrops*, *Bothriechis*, *Bothrocophias* y *Porthidium*. Crotálico: Envenenamientos causados por *C. durissus*. Laquésico: Envenenamientos causados por *L. acrochorda* y *L. muta*. Micrúrico: Envenenamientos causados por especies del género *Micrurus*.





### Algoritmo diagnóstico del accidente ofídico en Colombia

Figura 8. Algoritmo general para el diagnóstico del tipo de envenenamiento en Colombia.

## 2.1 Envenenamientos causados por vipéridos

### Envenenamiento botrópico

El veneno de las serpientes de los géneros *Bothriechis*, *Bothrocophias*, *Bothrops* y *Porthidium* contiene toxinas que al actuar conjuntamente causan un cuadro clínico similar entre ellos, lo que permite que este envenenamiento clínicamente se agrupe bajo una categoría única llamada envenenamiento botrópico. Algunas de estas toxinas, como la fosfolipasa A<sub>2</sub>, las metaloproteinasas, las proteasas de serina y la L-aminoácido oxidasa, afectan la coagulación, destruyen los tejidos y promueven la inflamación [29] (ver Capítulo 5). Según los datos del SIVIGILA, entre 2010-2020, los síntomas locales más frecuentes fueron marcas de colmillos, dolor, edema y eritema, que ocurrieron en el 91,6%, 90,9%, 85,4% y 38,4% de los casos, respectivamente (Tabla 5).

**Tabla 5.** Frecuencia de síntomas locales secundarios al envenenamiento por vipéridos durante el periodo 2010-2020.

	Envenenamiento Botrópico	%	Envenenamiento Crotálico	%	Envenenamiento Laquésico	%
Casos totales	30.528		254		1.317	
<b>Síntomas</b>						
Marca de colmillos	27.986	91,6	222	87,4	1.010	76,6
Dolor	27.762	90,9	222	87,4	1.042	79,1
Edema	26.091	85,4	199	78,3	1.113	84,5
Eritema	11.730	38,4	100	39,3	533	40,4
Equimosis	4.798	15,7	40	15,7	147	11,1
Ampollas	1.949	6,3	23	9	76	5,7
Necrosis	688	2,2	6	2,4	23	1,7

Botrópico: Envenenamiento causado por los géneros *Bothrops*, *Bothriechis*, *Bothrocophias* y *Porthidium*. Crotálico: Envenenamiento causados por *Crotalus durissus*. Laquésico: Envenenamiento causados por *Lachesis acrochorda* y *L. muta*.

Los datos sugieren que el 21,7% de los pacientes presentó síntomas sistémicos. El veneno de estas serpientes altera la coagulación y suele causar manifestaciones como epistaxis, hematuria, hematoquecia, hematemesis, anemia, hipotensión secundaria a hemorragia o redistribución de líquidos, pero la incidencia de estos síntomas fue baja, y cada uno de ellos se presentó en menos del 5% de los pacientes. El síntoma hemotóxico más común fue el sangrado gingival, que se registró en 6,2% de los casos. Un efecto sistémico importante fue la insuficiencia renal aguda, y se reportó solo en el 1,02% de los casos (312 casos). La necrosis y el síndrome compartimental, que están asociados con la gravedad local, ocurrieron en el 2,25% y el 0,75% de los casos, respectivamente. Por otro lado, las complicaciones tipo infección local más comunes fueron celulitis (20,6%) y abscesos (3,26%). La Tabla 6 muestra los resultados específicos para cada tipo de envenenamiento.

**Tabla 6.** Frecuencia de síntomas sistémicos secundarios el envenenamiento por víboras durante el periodo 2010-2020

Síntomas sistémicos	Botrópico (N)	%	Laquésico (N)	%	Crotálico (N)	%
Náuseas	8.462	27,7	70	27,6	361	27,4
Vómito	4.690	15,4	42	16,5	207	15,7
Sialorrea	764	2,5	7	2,8	40	3,0
Diarrea	421	1,4	7	2,8	16	1,2
Bradycardia	474	1,5	9	3,5	20	1,5
Hipotensión	1.091	3,6	12	4,7	43	3,3
Dolor abdominal	1.640	5,4	22	8,7	70	5,3
Facies neurotóxica	198	0,6	2	0,8	18	1,4
Trastornos visuales	490	1,6	6	2,4	26	2,0
Trastornos sensoriales	348	1,1	4	1,6	16	1,2
Debilidad muscular	2.506	8,2	20	7,9	114	8,7
Oliguria	463	1,5	4	1,6	15	1,1
Cianosis	305	1,0	4	1,6	13	1,0
Epistaxis	354	1,2	219	86,2	12	0,9
Sangrado gingival	1.902	6,2	17	6,7	46	3,5
Hematemesis	836	2,7	10	3,9	22	1,7
Hematuria	693	2,3	6	2,4	27	2,0
Hematoquecia	102	0,3	1	0,4	4	0,3
Vértigo	1.564	5,1	10	3,9	68	5,2
Ptosis palpebral	74	0,2	1	0,4	9	0,7
Disartria	409	1,3	5	2,0	24	1,8
Disfagia	111	0,4	0	0	9	0,7
Celulitis	6.294	20,6	47	18,5	277	21
Absceso	997	3,3	3	1,2	46	3,5
Necrosis	688	2,2	6	2,4	23	1,7
Mionecrosis	122	0,4	1	0,4	5	0,4
Fascitis	224	0,7	4	1,6	3	0,2
Trastornos circulatorios	648	2,1	7	2,8	27	2,0
Síndrome compartimental	228	0,7	3	1,2	10	0,8
Anemia	393	1,3	4	1,6	9	0,7
Shock hipovolémico	250	0,8	6	2,4	14	1,0
Shock séptico	146	0,5	1	0,4	3	0,2
Infección respiratoria aguda	312	1,0	6	2,4	8	0,6
Coagulación intravascular diseminada	188	0,6	3	1,2	3	0,2
Hemorragia subaracnoidea	99	0,3	2	0,8	1	0,1
Edema cerebral	99	0,3	2	0,8	7	0,5
Falla ventilatoria	173	0,6	4	1,6	18	1,4
Coma	58	0,2	0	0	1	0,1
Muerte	249	0,8	4	1,6	7	0,5
Choque séptico	6.294	20,6	47	18,5	277	21

N: Número de casos reportados al SIVIGILA

### Envenenamiento laquésico

Los síntomas de este envenenamiento son similares al del envenenamiento botrópico, pero su gravedad es mayor debido a la gran cantidad de veneno inoculado por estas especies, así como a las toxinas con efecto colinérgico presentes en su veneno; los síntomas típicos del envenenamiento son bradicardia, diarrea e hipotensión [22]. El porcentaje de casos causados por *Lachesis*, basado en los reportes al SIVIGILA entre 2010 – 2020, fue del 0,5%; El 18% fueron clasificados como graves. El 55% de las mordeduras fueron en las extremidades inferiores, el 38% en las superiores y el resto en otras ubicaciones corporales. Las manifestaciones más frecuentes fueron: marcas de colmillos (87,4%), dolor (87,4%), epistaxis (86,2%) y edema (78,3%). Hipotensión, bradicardia y diarrea, se reportaron en el 4,7%, 3,5% y 2,7%, respectivamente. El tipo más frecuente de infección local fue la celulitis, que se informó en el 18,5% de los casos (Tabla 5 y 6).

### Envenenamiento crotálico

En Colombia, el envenenamiento crotálico es causado por *Crotalus durissus*. Este evento se caracteriza por los síntomas típicos de coagulopatía observados en las mordeduras de serpiente de la familia Viperidae, pero los síntomas locales son de menor intensidad que los presentes en el envenenamiento botrópico y laquésico. A su vez, el envenenamiento crotálico presenta manifestaciones como rabdomiólisis, orina oscura, insuficiencia renal aguda secundaria y parálisis neuromuscular, que se consideran muy característicos de este tipo de envenenamiento [22].

En este reporte, los casos de envenenamiento crotálico, y las manifestaciones hemorrágicas, ocurrieron en menos del 4% de los pacientes. Los efectos neurotóxicos como falla ventilatoria, ptosis palpebral, disartria o facies neurotóxica se describieron en menos del 2% de los pacientes, mientras que la debilidad muscular se observó en 8,6% de los casos. Rabdomiólisis e insuficiencia renal aguda secundaria ocurrieron en menos del 1% de los casos. El tipo más frecuente de infección local fue la celulitis, reportada en el 21% de los casos (Tabla 6).

El porcentaje de casos de envenenamiento crotálico durante el periodo estudiado fue del 2,7%, de estos, 56% se produjo en las extremidades inferiores, 31% en las extremidades superiores y el resto en otras ubicaciones. Las manifestaciones más frecuentes fueron locales: edema (84,5%), dolor (79,1%), marcas de colmillos (76,6%) y eritema (40,4%). Se describieron equimosis, ampollas y necrosis en el 11%, 5,7% y 1,7% de los casos, respectivamente (Tabla 5).

## 2.2 Envenenamientos causados por elápidos

### Envenenamiento micrúrico e hydrófico

El veneno de los elápidos americanos es neurotóxico, sus toxinas afectan el funcionamiento de la unión neuromuscular a nivel pre y postsináptico (ver Capítulo 5). El cuadro clínico del envenenamiento se caracteriza por debilidad muscular que se observa inicialmente en los músculos más

pequeños (párpados, músculos oculomotores, fonación y deglución), progresando a grupos musculares más grandes hasta que se llega a la insuficiencia respiratoria y la muerte en pocas horas [30].

El 63% de los casos correspondieron a envenenamiento leve (solo manifestaciones locales), el 26% moderado y el 10% grave. El 50% ocurrió en extremidades inferiores y el 38% en extremidades superiores; en los dedos de las manos y los pies se presentó en el 6% y el 3% de los casos, respectivamente. Menos del 1% de los casos ocurrieron en áreas del cuerpo que tradicionalmente se consideraban poco probables para que se presente una mordedura de serpiente *Micrurus* (cabeza, cuello, tórax, espalda y abdomen) debido su tamaño reducido y limitada su apertura mandibular en su mordida (ver Capítulo 5).

En este tipo de envenenamiento, los síntomas locales son escasos, pero según los datos de SIVIGILA, en más del 75% de los casos se encontraron signos como marcas de colmillos (78,9%) y dolor (80,9%). Menos del 5% de los casos presentaron síntomas característicos como dificultad en el habla (habla arrastrada), ptosis palpebral, trastornos visuales, sialorrea, disfagia, facies neurotóxica y fallo ventilatorio (Tabla 7). La dificultad en el habla, debilidad muscular, a salivación excesiva, disfagia y trastornos visuales fueron las manifestaciones más frecuentes en el envenenamiento moderado, y el fallo ventilatorio en los casos graves (91%) (Tabla 8).

**Tabla 7.** Distribución de frecuencia para los síntomas causados por envenenamientos por *Micrurus* sp. durante el periodo 2010-2020.

Síntomas	Número de casos reportado por SIVIGILA	%
Marcas de colmillos	474	78,9
Dolor	486	80,9
Edema	350	58,2
Eritema	244	40,6
Náuseas	168	27,9
Parestesia	156	26,0
Debilidad muscular	79	13,1
Vómito	59	9,8
Sialorrea	24	4,0
Vértigo	31	5,2
Dificultad en el habla	27	4,5
Ptosis palpebral	25	4,2
Fallo ventilatorio	22	3,7
Disfagia	12	2,0
Facies neurotóxica	22	37
Ampollas	11	1,8
Sangrado gingival	6	1,0
Epistaxis	3	0,5
Trastornos visuales	28	4,0
Trastornos sensoriales	23	3,8
<b>Casos totales reportados por el SIVIGILA (2010-2020) = 601.</b>		

**Tabla 8.** Distribución de frecuencia de síntomas sistémicos causados por envenenamientos por *Micrurus* según severidad del envenenamiento durante el periodo 2010-2020.

Síntoma	Casos Moderados		Casos Graves	
	N	%	N	%
Parestesia	42	26,9	23	14,7
Debilidad muscular	32	40,5	23	29,1
Vómito	32	54,2	14	23,7
Sialorrea	10	41,7	11	45,8
Vértigo	10	32,3	2	6,4
Dificultad en el habla	13	48,1	12	44,4
Ptosis palpebral	9	36	14	56
Fallo ventilatorio	2	9,1	20	90,9
Disfagia	5	41,7	6	50
Trastornos visuales	12	42,9	7	25
Trastornos sensoriales	6	26,1	9	39,1
Facies neurotóxica	7	31,8	14	63,6

En 131 casos (21%), el nombre común de la serpiente estaba relacionado con una víbora, más que con las serpientes coral. Por lo tanto, es muy posible que los síntomas como sangrado gingival, epistaxis y ampollas se hayan reportado en el formulario de SIVIGILA debido a la identificación incorrecta de la especie o como error. Aunque el veneno de las serpientes coral contiene fosfolipasas y existen algunos informes de coagulopatía [31], estos síntomas rara vez se relacionan con sangrado.

No obstante, Rodríguez-Vargas et al. [82] demostraron que la composición de los venenos de *Micrurus helleri*, *M. medemi* y *M. sangilensis* contiene porcentajes significativos de metaloproteasas (9,8-13,8%) en su proteoma, así como una marcada actividad enzimática y proteasa. Estos hallazgos tienen serias implicaciones en la salud pública, así como en el manejo clínico de los pacientes, ya que: (1) estas serpientes habitan en zonas urbanas y periurbanas; (2) la capacidad neutralizante de los antiofídicos disponibles en el mercado es limitada; y (3) el cuerpo médico y el SIVIGILA, quienes diagnostican los casos y clasifican el accidente el envenenamiento micrúrico, basan criterio en la ausencia o leve formación de edema, ausencia de hemorragias, y ausencia o leve manifestación de coagulopatías. Por lo tanto, recomendamos que, en el futuro próximo, se deben invertir esfuerzos importantes en la caracterización de los venenos de las restantes especies endémicas de Colombia, ligando sus perfiles proteómicos con los signos clínicos observados en los pacientes, así como su distribución geográfica, ecológica y relación filogenética.

La especie *Hydrophis platurus* (serpiente marina de vientre amarillo) es la única serpiente marina presente en Colombia. A lo largo de la historia de la vigilancia epidemiológica de las mordeduras de serpiente, el envenenamiento causado por esta especie ha sido controvertido. Según los datos de SIVIGILA durante el periodo 2010-2020, se reportaron 65 casos de mordeduras causadas por esta serpiente. Sin embargo, esta información

no es confiable debido a que la ubicación geográfica de las mordeduras no correspondía con la distribución conocida de esta especie, lo que indica que se produjo una identificación errónea de la serpiente que causó el envenenamiento (ver Capítulo 1).

Por ejemplo, 61 casos reportados ocurrieron en localidades continentales dentro de la cordillera de los Andes, o en la costa caribe, que está fuera del rango de distribución histórico conocido (ver Capítulo 1). Otros cuatro casos se reportaron en localidades ubicadas sobre el océano Pacífico, que es la distribución conocida para esta especie, pero el nombre común reportado corresponde a nombres comunes de víboras locales en lugar de nombres comunes de serpientes marinas. Además, los síntomas de estos casos fueron locales, como dolor o edema, y no hubo descripciones de ningún síntoma neurotóxico como se esperaría en el envenenamiento causado por serpientes marinas [32]. Por lo tanto, concluimos que durante el periodo 2010-2020 en Colombia no hay casos oficiales de envenenamiento causado por *Hydrophis platurus*. No obstante, existen registros históricos de envenenamiento por *H. platurus* en localidades como Guapí (desembocadura del río Guapí, Cauca), Isla Gorgona; Tumaco y El Charco, municipios de la costa pacífica de Nariño [13,30,43].

### 2.3 Uso del suero antiofídico, prácticas no médicas y riesgo de mordeduras de serpientes

#### Uso del suero antiofídico

Durante el periodo analizado, la aplicación de suero antiofídico (SAO) mostró diferencias significativas tanto entre los géneros de serpientes, como dentro de las categorías de gravedad del envenenamiento por género. La «Guía para el manejo de emergencias toxicológicas» del Ministerio de Salud de Colombia indica la dosis de SAO que debe recibir cada tipo y grado de envenenamiento, según el fabricante [35]. A pesar de esto, para todos los géneros de serpientes considerados de importancia médica y disponibles en la ficha de notificación del evento (*Bothrops*, *Crotalus*, *Lachesis*, *Porthidium* y *Micrurus*), hubo un número considerable de envenenamientos en los cuales el suero antiofídico no fue aplicado (Tabla 9).

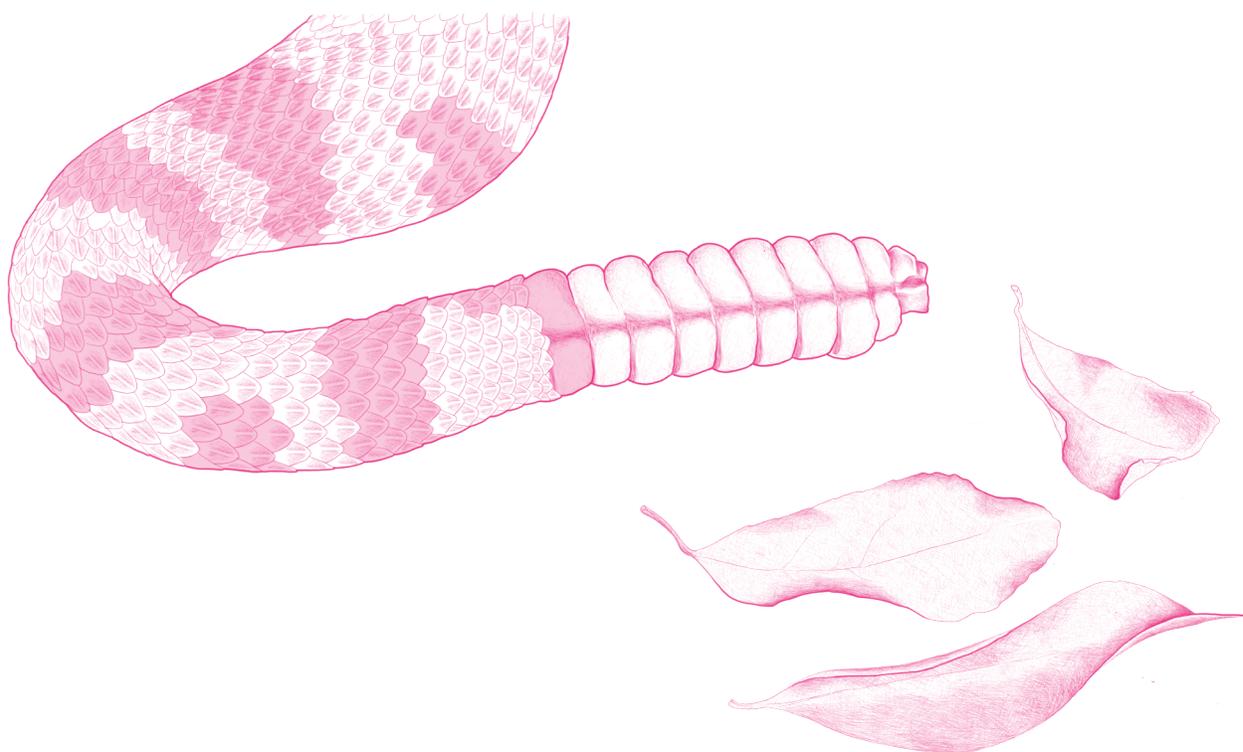
En general, los médicos han evitado el uso de la terapia con suero antiofídico cuando los pacientes son clasificados en categorías de envenenamiento leve. En contraste, se observó un número significativamente alto de casos con aplicación de suero antiofídico en el envenenamiento botrópico moderado y grave, así como en el envenenamiento laquésico grave (Figura 9). Particularmente, el envenenamiento causado por especies de *Porthidium*, que se considera y se trata clínicamente como envenenamiento botrópico, mostró un número significativamente alto de casos con aplicación de suero antiofídico cuando el paciente fue clasificado como envenenamiento leve, pero significativamente bajo cuando el paciente fue clasificado como envenenamiento moderado o grave. De manera similar, la mayoría de los envenenamientos micrúricos solo se tratan con suero antiofídico cuando los pacientes son clasificados como casos de envenenamiento mo-

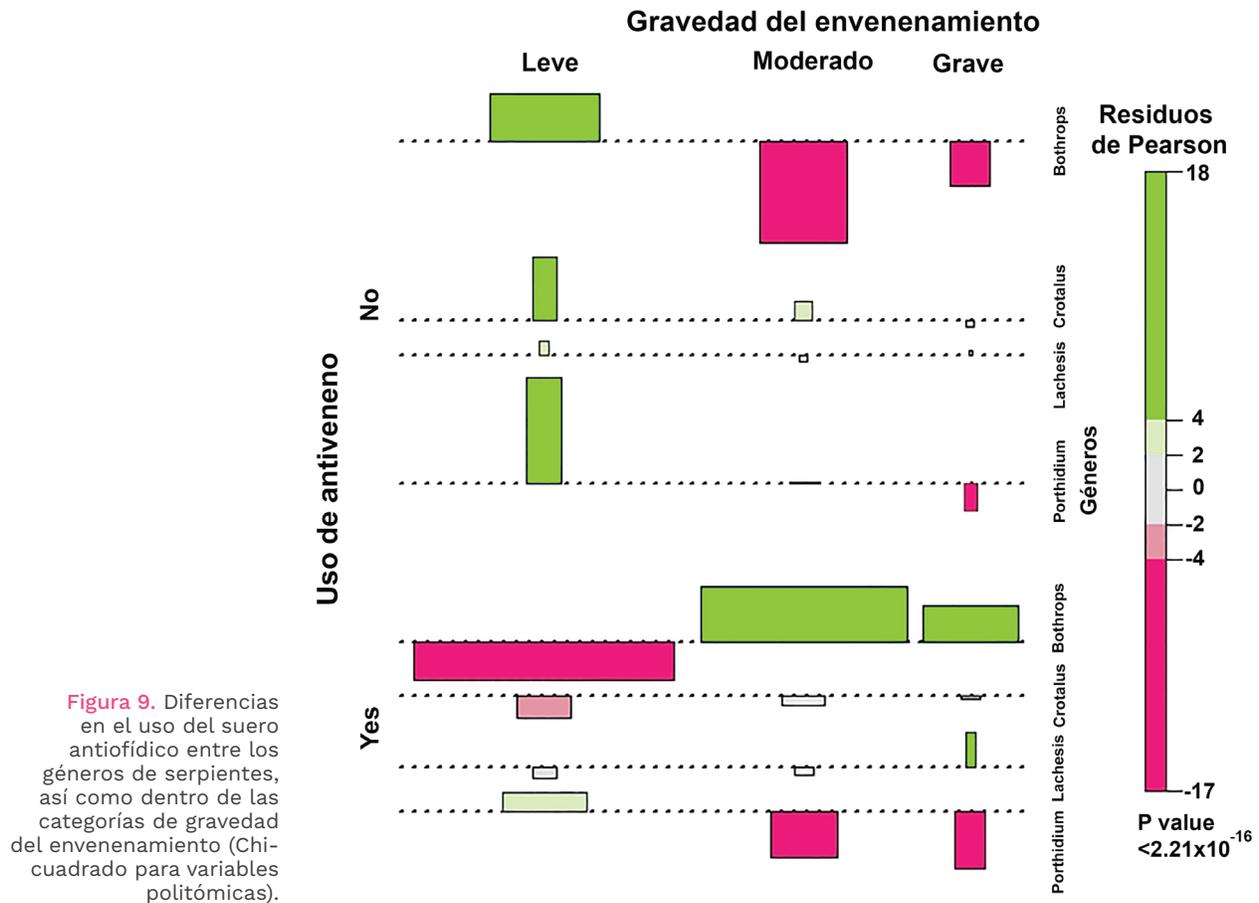
derado o grave. Sin embargo, en las mordeduras causadas por especies del género *Micrurus*, los datos proporcionados por SIVIGILA no permitieron una asociación precisa entre la gravedad del envenenamiento, el tratamiento aplicado y el resultado de la incidencia (paciente vivo/fallecido).

**Tabla 9.** Diferencias de uso de suero antiofídico entre tipo de envenenamiento y género de serpiente venenosa evaluado usando la prueba de Chi-cuadrado para variables politómicas.

Género	Severidad	Uso suero antiofídico		Chi-cuadrado
		No	Si	
<i>Bothrops</i>	Leve	3.065	13.945	585,9; df=2; p < 0,0001
	Moderado	946	10.261	
	Grave	206	2.238	
<i>Crotalus</i>	Leve	230	540	19,79; df=2; p < 0,0001
	Moderado	100	367	
	Grave	11	78	
<i>Lachesis</i>	Leve	33	103	7,89; df= 2; p < 0,019
	Moderado	9	64	
	Grave	4	42	
<i>Porthidium</i>	Leve	575	1.649	13,58; df = 2; p < 0,001
	Moderado	174	689	
	Grave	9	50	
<i>Micrurus</i>	Leve	179	204	12; df=2; p < 0,0018
	Moderado	51	107	
	Grave	20	44	

df= grados de libertad; p = probabilidad bajo el supuesto de que no hay efecto o no hay diferencia.





### Prácticas no médicas usadas contra las mordeduras de serpientes en Colombia

La mayoría de las prácticas no médicas fueron reportadas en envenenamientos botrópico, crotálico y laquésico, siendo significativamente alto el número de casos reportados en el envenenamiento botrópico moderado y grave (Tabla 10). En particular, prácticas como rezos y succión de la mordedura fueron muy frecuentes en todas las categorías de gravedad del envenenamiento botrópico, mientras que el uso de emplastos y pociones de hierbas fue significativamente alto en el envenenamiento moderado y grave. El número de casos de envenenamiento botrópico sin prácticas no médicas fue significativamente bajo. En el envenenamiento crotálico, laquésico y micrúrico no se observaron diferencias significativas entre las prácticas no médicas, independientemente del grado de envenenamiento. Particularmente, en el envenenamiento causado por especies de *Porthidium* se encontró que un número significativamente alto de uso de prácticas no médicas en todos los grados de envenenamiento.

Las prácticas no médicas son comunes en las mordeduras causadas por vipéridos, particularmente entre los pacientes con envenenamiento botrópico, las cuales representan el 21% de los casos totales reportados. De estos casos, el uso de pociones (30%), emplastos de hierbas (24%) y prácticas mágicas o rezos (22%), fueron las más frecuentes, lo

cual concuerda con lo reportado previamente por otros autores [36–39]. La mayoría de estas prácticas se consideran controvertidas, ineficaces o peligrosas, ya que se ha demostrado que los tratamientos tradicionales realizados por chamanes y curanderos son inadecuados para combatir el envenenamiento botrópico [40–42]. Estas prácticas se han contraindicado dado que retrasan el tratamiento oportuno y adecuado del paciente, así como uso de suero antiofídico que es la única terapia comprobada que reduce las complicaciones clínicas y las posibles secuelas [35,43].

Sin embargo, en la mayoría de los casos, debido a la lejanía o falta de centros de salud y asistencia médica en áreas rurales, los chamanes y curanderos son los primeros respondientes. Las medicinas tradicionales y prácticas no médicas de primeros auxilios no cuentan un efecto comprobado sobre el envenenamiento causado por mordeduras de serpiente [38]. No obstante, actualmente son escasas las investigaciones que han tenido por objeto demostrar la eficacia clínica de las medicinas y prácticas tradicionales frente a los síntomas de envenenamiento como dolor, edema, eritema, náuseas, parestesia, visión borrosa, mialgias, cefalea, debilidad y cansancio; o síntomas psicológicos como trastorno de estrés postraumático y trastorno depresivo [44–49]. Es necesario realizar más investigaciones para generar evidencia sobre la eficacia y el posible uso de la medicina tradicional en el tratamiento de los síntomas derivados de los accidentes ofídicos. Sin embargo, en la actualidad, el único tratamiento con respaldo clínico sigue siendo la administración de suero antiofídico.

**Tabla 10.** Prácticas no médicas usadas contra las mordeduras de serpientes en Colombia, según la gravedad del envenenamiento.

Género	Clasificación de gravedad	Emplastos de hierbas	Pociones	Prácticas mágicas o rezos	Succión	Otros	Chi-cuadrado
<i>Bothrops</i>	Leve	1.076	1.361	1.062	152	1.252	105,1; df= 8; p < 0,0001
	Moderado	916	1125	841	95	725	
	Grave	266	351	294	20	150	
<i>Crotalus</i>	Leve	47	75	48	16	42	10,63; df=8; p = 0,22
	Moderado	40	54	28	5	34	
	Grave	8	7	10	0	4	
<i>Lachesis</i>	Leve	8	9	5	1	13	5,79; df=8; p = 0,67
	Moderado	3	6	4	1	4	
	Grave	3	11	6	0	6	
<i>Porthidium</i>	Leve	191	273	104	14	142	37,4; df=10, p < 0,0001
	Moderado	105	122	48	15	66	
	Grave	9	7	6	2	3	
<i>Micrurus</i>	Leve	9	241	20	6	25	6,21; df=8; p = 0,62
	Moderado	6	10	12	1	9	
	Grave	5	4	5	0	5	

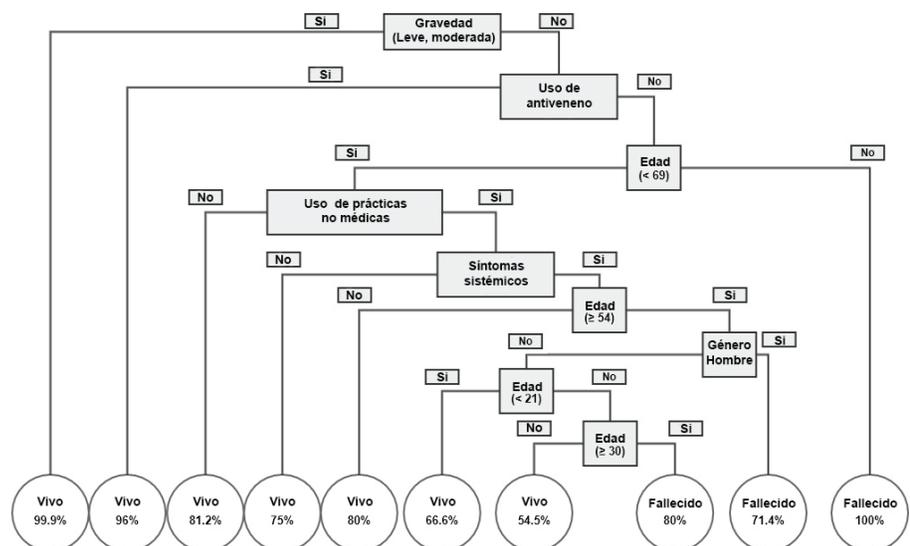
La prueba de Chi-cuadrado muestra las diferencias en el uso de prácticas no médicas entre los grados de envenenamientos por cada género. df= grados de libertad; p = probabilidad bajo el supuesto de que no hay efecto o no hay diferencia.

### Probabilidad de supervivencia durante un envenenamiento botrópico

Comúnmente, las mordeduras de serpiente en áreas rurales y periurbanas se perciben como una sentencia de muerte. Dado que el envenenamiento botrópico representa el 62% de los casos en Colombia, la estimación de la probabilidad de supervivencia durante un envenenamiento botrópico proporciona un enfoque útil para comprender las variables explicativas del riesgo de muerte debido a este tipo de envenenamiento. Realizamos una regresión logística basada en los datos de envenenamiento botrópico (2010-2020) proporcionados por SIVIGILA (ver apéndice A). El modelo logístico predice correctamente el 97.9% de todos los casos de mordeduras causadas por serpientes de foseta colombianas. Más relevante aún, pudo predecir correctamente el 99.9% de los casos en los que el paciente sobrevivió. Las variables más relevantes que funcionan como predictores de supervivencia frente a una mordedura por serpientes de foseta colombianas son: la edad ( $p < 0,0001$ ), la gravedad del envenenamiento ( $p < 0,0001$ ), la aplicación de suero antiofídico ( $p < 0,0001$ ), los síntomas sistémicos ( $p < 0,0001$ ), los síntomas locales ( $p = 0,04$ ), el género ( $p = 0,01$ ) y el uso de prácticas no médicas ( $p = 0,01$ ).

Además, según el modelo de árbol de clasificación y regresión, las variables más importantes para predecir el desenlace de un envenenamiento botrópico son: el diagnóstico de gravedad de la mordedura, seguido por la aplicación de suero antiofídico, la edad, el uso de prácticas no médicas, los síntomas sistémicos y el género del paciente (Figura 10). Ambos modelos, resaltan la importancia primordial del correcto diagnóstico médico de la gravedad del envenenamiento y la aplicación de suero antiofídico para aumentar la probabilidad de supervivencia del paciente. Asimismo, los modelos muestran cómo la realización de prácticas no médicas disminuye la probabilidad de supervivencia del paciente, reforzando el llamado a que las medicinas y prácticas no medicas tradicionales deben ser contraindicadas. Además, variables como el género y edad son indicadores determinantes de la supervivencia del paciente al momento de la aplicación de suero antiofídico, así como cuando opta por la medicina tradicional que usa prácticas no médicas.

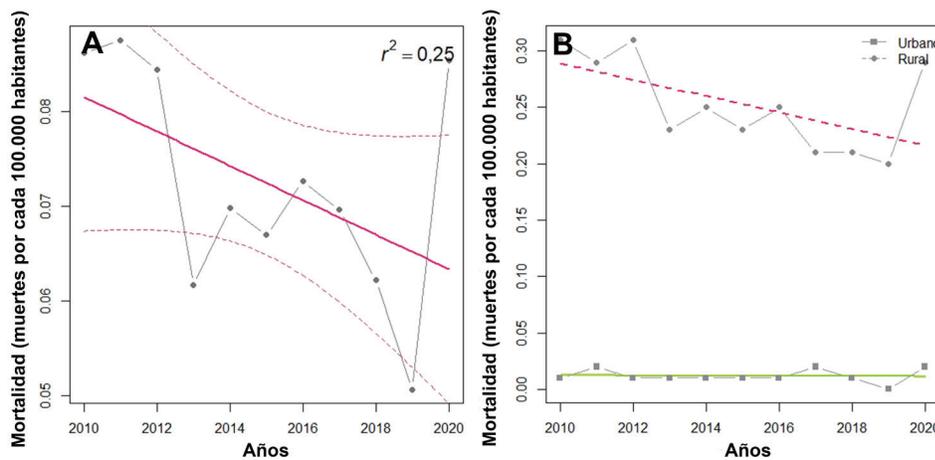
**Figura 10.** Modelo de árbol de clasificación y regresión que muestra la probabilidad de supervivencia del paciente después de mordedura por una víbora de foseta colombiana. Las respuestas negativas dobles producen una respuesta afirmativa [p. ej., Síntomas sistémicos (No)+Rama lógica (No) = Síntomas sistémicos observados (Si)].



## Mortalidad por mordeduras de serpientes

Entre 2010 y 2020, la mortalidad por mordedura de serpiente mostró tendencia decreciente, presentando la mortalidad per cápita más baja en 2019 y las más alta en 2011, con un promedio de 0,07 muertes por cada mil habitantes durante el periodo 2010-2020. Durante este periodo, el coeficiente de asimetría fue de -0,21, curtosis de -0,88 y un coeficiente de variación del 17,3%, indicando que la dinámica que explica la de mortalidad no es estable. Durante los años 2013, 2019 y 2020, las muertes causadas por mordeduras de serpiente mostraron valores extremos que superaron los intervalos de confianza (Figura 11A). El comportamiento atípico durante 2020 puede estar asociado con la pandemia de COVID-19 y el confinamiento. Este evento hizo que el sistema de salud colombiano colapsara, limitando su capacidad para vigilar las mordeduras de serpiente en el país. Por otro lado, los valores extremadamente bajos de mortalidad observados durante 2013 y 2019 requieren más investigación para explorar los posibles factores detrás de esta fuerte variabilidad reportada.

La mortalidad en entornos urbanos y rurales mostró diferencias significativas, siendo más alta en entornos rurales y representando aproximadamente el 70% - 80% de las muertes per cápita totales causadas por mordeduras de serpiente en el país (Figura 11B). Este es un resultado esperado dado el patrón conocido a nivel mundial en el que la mortalidad por mordeduras de serpiente se concentra en las poblaciones rurales [11,42]. Las poblaciones rurales mostraron tendencia decreciente durante la última década, mientras que las urbanas mostraron una tendencia estable (Figura 11B).



**Figura 11.** Tendencias de mortalidad por mordedura de serpiente durante el período 2010-2020 en Colombia. (A) Tasa de mortalidad. La línea sólida representa el modelo de regresión lineal, la línea discontinua representa los intervalos de confianza del 95%. (B) Tasa de mortalidad dividida por áreas urbanas y rurales. Las líneas sólidas y las discontinuas representan el modelo de regresión lineal.

En la última década, la tasa de mortalidad por mordedura de serpiente en Colombia fue de 0,3 muertes por cada mil habitantes, siendo Vaupés el único departamento del país que mantuvo su tasa de mortalidad por encima del promedio nacional a lo largo de toda la década (Figura 12A). Vaupés registró la tasa más alta de mortalidad por mordedura de serpiente (8,8 muertes por cada mil habitantes), así como la mayor variabilidad anual, seguido por Amazonas (4,5 muertes por cada mil habitantes), Guainía (4,2 muertes por cada mil habitantes) y Guaviare (2,7 muertes por cada mil habitantes) (Figura 12A). En contraste, departamentos o unidades

territoriales como Bogotá D.C., Quindío, Huila, Barranquilla, y el Archipiélago de San Andrés y Providencia no reportaron muertes causadas por mordeduras de serpiente en el mismo período. En conclusión, la tasa de mortalidad, junto con los resultados del análisis de incidencia de mordeduras de serpiente descritos anteriormente (ver sección 1 de este capítulo), indica que las poblaciones colombianas que habitan en la región cisandina, en particular en la región amazónica, son las más expuestas al riesgo de mordeduras de serpiente.

Debido a que la región cisandina es la región más afectada en el país por el subreporte de incidencia [21], es de esperar que la mortalidad también presente un subreporte significativo, lo que agrava aún más la veracidad y precisión de la información recopilada por el SIVIGILA. Por lo tanto, las regiones del Orinoco y la Amazonía requieren acciones urgentes para reducir, mitigar y prevenir los accidentes ofídicos, así como una priorización en los planes y programas nacionales de salud centrados en enfermedades tropicales desatendidas.

A pesar de este escenario desafortunado, lo observado durante la última década concuerdan con estudios previos que evidencian las mismas tendencias para el promedio anual y la variabilidad de la tasa de mortalidad. No obstante, se destaca la baja mortalidad en Colombia en comparación con otros países de la región como Bolivia, Panamá, Costa Rica, Nicaragua, Guyana y Guayana Francesa [1]. La tendencia observada durante 2010-2020, tanto en la tasa de mortalidad total como en la tasa de mortalidad dividida por áreas urbanas o rurales, no mostró correlación con el tiempo ( $F_{\text{total}} = 2,947$ ;  $df = 1-9$ ,  $p = 0,12$ ;  $F_{\text{rural}} = 0,22$ ;  $df = 1-9$ ,  $p = 0,88$ ;  $F_{\text{urbano}} = 4,70$ ;  $df = 1-9$ ,  $p = 0,06$ ), lo que indica que el sistema de vigilancia colombiano presenta deficiencia significativa al informar las muertes anuales per cápita causadas por mordeduras de serpientes, posiblemente debido al subreporte (Figura 12B). Por lo tanto, el SIVIGILA debe invertir esfuerzos significativos para mejorar la forma en que el sistema detecta e informa las muertes causadas por mordeduras de serpientes, así como mejorar la comprensión de los factores detrás de la dinámica del subreporte.

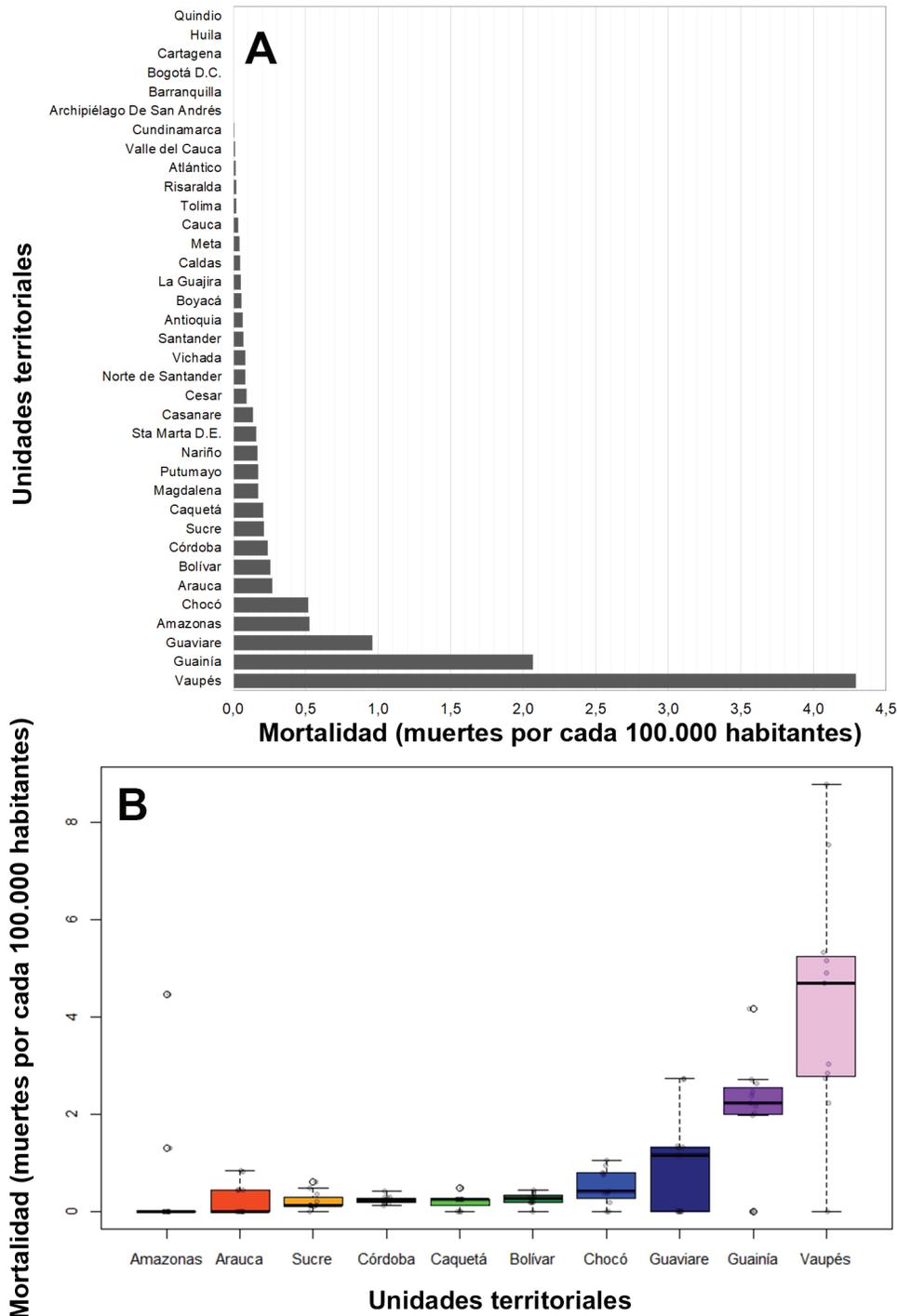
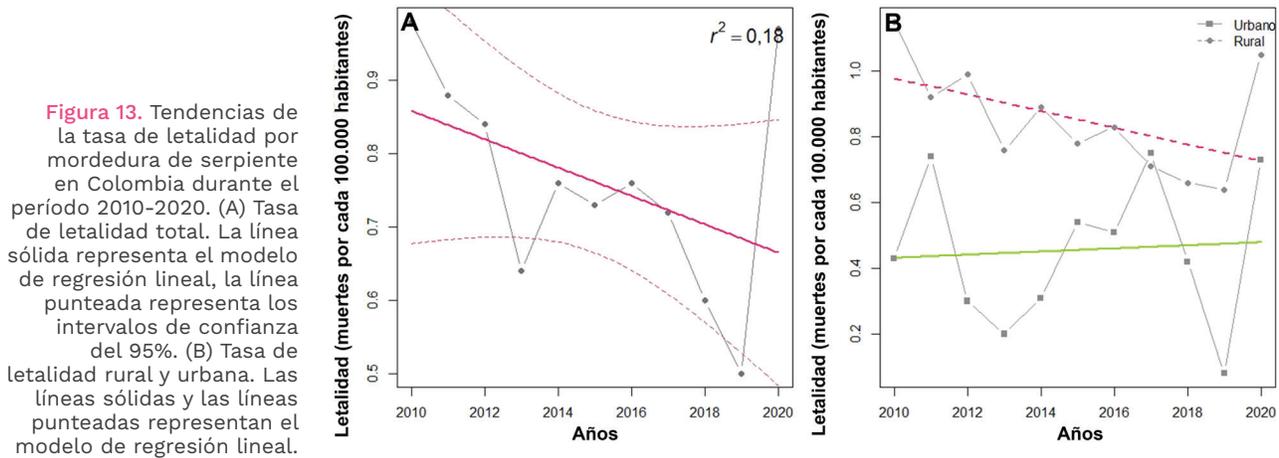


Figura 12. Variabilidad de la tasa de mortalidad por unidades territoriales. (A) Tasa de mortalidad promedio por unidades territoriales durante 2010-2020. (B) Diagrama de caja que muestra la variabilidad de la tasa de mortalidad de las diez unidades territoriales con las mayores tasas de mortalidad durante 2010-2020.

### Letalidad por mordeduras de serpientes

La letalidad por mordedura de serpiente mostró una tendencia decreciente a lo largo de la década, con promedio de 0,73% por cada mordedura de serpiente reportada en la última década (Figura 13A), presentando marcada diferencia entre áreas urbanas y rurales, siendo más alta en áreas rurales y representando aproximadamente el 70%-80% del total de muertes por mordeduras de serpiente reportadas (Figura 13B). Sin em-

bargo, cuando la tasa de letalidad por mordedura de serpiente se divide por áreas urbanas y rurales, las tendencias mostraron comportamientos opuestos, con aumento de las muertes reportadas en áreas urbanas y una disminución en áreas rurales (Figura 13B). Basándonos en los datos disponibles, es difícil explicar este comportamiento opuesto, y gran parte, puede ser atribuido a las dinámicas subyacentes del subreporte, que actualmente se comprenden deficientemente. Por lo tanto, los lectores deben tener precaución al utilizar este resultado en el análisis o toma de decisiones hasta que se realice un análisis comparativo o se disponga de datos adicionales que aclaren estas tendencias. Al igual que lo observado anteriormente en la mortalidad por mordedura de serpiente, tanto la letalidad en áreas urbanas como rurales no mostraron correlación con el tiempo, lo que indica deficiencia significativa en el informe anual, posiblemente debido al subreporte ( $F_{\text{global}} = 20,38$ ;  $df = 1-9$ ,  $p = 0,18$ ;  $F_{\text{rural}} = 3,15$ ;  $df = 1-9$ ,  $p = 0,11$ ;  $F_{\text{urbano}} = 0,4$ ;  $df = 1-9$ ,  $p = 0,83$ ).



De todos los territorios, solo 20 de los 32 departamentos colombianos (o unidades políticas de salud) reportaron muertes por mordedura de serpiente, siendo Vaupés, Nariño, Santa Marta, Caldas y Arauca las cinco unidades territoriales con la mayor tasa de letalidad, la cual osciló entre 0% y 7,9% durante 2010-2020. Una vez más, Vaupés destaca como el departamento más vulnerable. Por lo tanto, se deben realizar esfuerzos urgentes para reducir la incidencia, mortalidad y letalidad en este departamento, teniendo en cuenta que este territorio se caracteriza por altas tasas de pobreza e infraestructura vial deficiente, dos de los principales factores que aumentan el riesgo de mordeduras de serpiente, así como el subregistro [21].

### 3. Características clínicas de las mordeduras de serpiente en Colombia: aprendizajes y direcciones futuras

En su reporte, Kasturiratne et al, [50], recopila información global de diferentes gobiernos, informes de hospitales, artículos científicos y fuentes de literatura gris, y luego extrapolaron los datos. Este trabajo informó

para las Américas un promedio de 83.012 – 132.942 casos por año, y entre 547 y 2.305 muertes por año utilizando datos de 1985 a 2007.

Recientemente, Chippaux [1] presentó nuevos datos para las Américas recopilando información desde finales del siglo XX hasta el año 2016, recuperando información de publicaciones científicas, informes gubernamentales y de hospitales. Estimó un promedio de 57.500 casos cada año con 370 muertes anuales, lo cual es 30% menor que lo estimado por Kasturiratne et al. [50]. Colombia ocupa el tercer lugar en número de casos en las Américas (7,1%, N = 4082), después de Brasil (47,3%, N = 27.200) y Estados Unidos (8,7%, N = 5.000). Colombia ocupa el cuarto lugar en muertes anuales, con promedio de 20,8 muertes por año, Brasil ocupa el primer lugar (N = 145 muertes), luego México (N = 50) y el tercer lugar lo ocupa Bolivia (N = 40) [1].

Según los datos reportados por SIVIGILA, la letalidad en Colombia para 2010-2020 fue del 0,73% (365 casos), el 68% de estas muertes (245 casos) correspondieron a envenenamientos botrópicos. Como ya se mencionó, la mortalidad en el país ha disminuido significativamente en comparación con los datos recopilados entre 1992 y 1998 por estudios que informaron una tasa de mortalidad del 5% [51]. Esta reducción puede estar relacionada con mejoras en el sistema de reporte, la producción nacional confiable y una mayor distribución territorial de antivenenos. Sin embargo, la calidad de los informes puede mejorarse aún más, para aumentar la confiabilidad y obtener más información epidemiológica, lo cual es relevante y se alinea con la estrategia de la OMS que busca reducir la mortalidad por mordeduras de serpiente en un 50% para 2030 [52].

Las serpientes de la familia Viperidae causan la mayoría de los envenenamientos en Suramérica, siendo las especies del género *Bothrops* las causantes del 80% al 90% del total de los envenenamientos, de los cuales las especies *B. asper* y *B. atrox* son las responsables del 50% al 80% de estos [29,53]. Hasta 2017, los datos de SIVIGILA mostraron una incidencia en especies del género *Bothrops* que alcanzaba el 70-80%, pero después de 2018 esta incidencia cayó al 62%, lo cual es significativamente menor que lo reportado hasta 2017 en Colombia, así como en países vecinos [54]. Curiosamente, después de 2018, el 32% de los casos fueron causados por serpientes en grupos definidos como «otras especies» o «especies no identificadas». El nombre común reportado para el 33% de las mordeduras causadas por estos grupos indefinidos corresponde a la familia Viperidae. Además, la mayoría de las manifestaciones clínicas son consistentes con las esperadas para el envenenamiento causado por especies de esta familia. Por lo tanto, es plausible que esta disminución en la incidencia desde 2018 se deba a algunas modificaciones realizadas ese año en el formulario de reporte, así como a dificultades de los profesionales médicos para lograr una identificación adecuada de las serpientes venenosas.

Actualmente, en el país, existen algunas herramientas y pautas prácticas para enfrentar el envenenamiento por mordeduras de serpiente, así como manuales que ayuden a la identificación adecuada de serpientes

venenosas. Sin embargo, estos recursos han tenido baja difusión [55]. Este es un aspecto que debe mejorarse a través de decisiones políticas y acciones normativas que busquen mejorar la vigilancia epidemiológica de las mordeduras de serpiente y el conocimiento del personal de salud en este sentido [52].

### **Signos comunes de envenenamiento por mordeduras de serpientes**

Durante el envenenamiento causado por especies de la familia Viperidae, las alteraciones en la coagulación son el efecto sistémico más común, así como la principal causa de muerte [56]. Esta acción del veneno se conoce como hemotoxicidad y se explica por las toxinas que afectan la coagulación, la fibrinólisis, el endotelio vascular y la función plaquetaria [54]. Estas afectaciones eventualmente causan alteraciones en los resultados de las pruebas de coagulación, hemorragia en diferentes órganos y sistemas o ambos. Estos síntomas tradicionalmente se han clasificado como coagulación intravascular diseminada (CID). Sin embargo, recientemente se ha revisado este concepto y se ha redefinido como coagulopatía por consumo inducida por veneno (VICC, Venom-induced consumption coagulopathy por sus siglas en inglés). La VICC puede estar presente en el 54% de los casos, y la hemorragia sistémica en el 15% [57].

El diagnóstico de la VICC se realiza mediante manifestación de alteraciones en los tiempos de coagulación utilizando el tiempo parcial de tromboplastina activada (TTPa), el tiempo de protrombina (TP), la razón internacional normalizada (INR), el aumento de los niveles de Dímero D y la disminución de fibrinógeno y trombocitopenia [57,58]. Desafortunadamente, los datos de SIVIGILA no permiten conocer la incidencia de la VICC porque muchos centros médicos, especialmente aquellos ubicados en áreas remotas, no pueden cuantificar los tiempos de coagulación. Además, este dato no se registra en el formulario de recolección de datos del SIVIGILA. Como alternativa, la prueba del todo o nada a los 20 minutos se viene utilizando a nivel mundial para detectar los efectos hemotóxicos, diagnosticar la VICC y definir el uso de antiveneno. Este último método es comúnmente empleado en países o regiones apartadas donde no se dispone rutinariamente de otro tipo de pruebas de coagulación, y Colombia no ha sido la excepción [58,59].

La insuficiencia renal aguda (IRA) se define como el aumento de la creatinina sérica  $\geq 0.3$  mg/dL ( $26,5$   $\mu\text{mol/L}$ ) en 48 horas, o el incremento  $\geq 1,5$  veces de su nivel basal en los últimos 7 días, o un volumen urinario  $< 0,5$  ml/Kg/h durante 6 horas [60]. Globalmente se estima que entre el 8% y 60% de los pacientes desarrollaran IRA (snake bite-associated acute kidney injury - SAKI: por sus siglas en inglés). De ellos, el 15% a 92% requieren algún tipo de terapia de reemplazo renal. La mortalidad de la SAKI está estimada en 45% y hasta un 50% desarrollará posteriormente una enfermedad renal crónica (ERC) [61].

En América del Sur, la incidencia de SAKI varía entre el 1,4% y el 38,5% dependiendo de la especie, para *B. asper* se presenta la mayor incidencia (38,5%), para *B. atrox* es del 6% [62]. Desde finales de 1990, se ha

propuesto que el daño renal que se desarrolla por envenenamiento por serpientes, cuyo veneno es hemotóxico, se debe a la formación y acumulación de microtrombos de fibrina en los túbulos renales (microangiopatía trombótica – TMA: thrombotic microangiopathy por sus siglas en inglés). Esta entidad se define por la presencia de anemia hemolítica microangiopática (MAHA: microangiopathic hemolytic anemia por sus siglas en inglés), trombocitopenia e IRA [63].

En Colombia, los datos de SIVIGILA mostraron que la incidencia de IRA durante 2010-2020 es menor a la reportada en estudios previos [62], y la incidencia de TMA es desconocida. Esto puede deberse a: (1) la no realización de diagnósticos para TMA; (2) desconocimiento por parte del personal médico; (3) dificultad para medir la creatinina y otros parámetros de laboratorio en hospitales o centros de salud remotos; y (4) porque los datos que definen el diagnóstico no se registran en el formulario de reporte de SIVIGILA. La cuantificación estricta del volumen de orina como medida orientadora del desarrollo de insuficiencia renal, así como un frotis de sangre periférica que muestre esferocitos y microesquistocitos, y el recuento de plaquetas, son factibles en hospitales de mínima complejidad y deben realizarse de manera estricta. Del mismo modo, el formulario de recolección de datos debe ajustarse para registrar este tipo de datos.

Los datos de estudios en países vecinos, donde las características y comportamiento clínico de las mordeduras de serpiente es similar, y datos de informes anteriores para Colombia, encontraron necrosis en el 2% al 38,5% [29,51], síndrome compartimental en el 6% al 7,7% [51,64], rabdomiólisis en el 31% [65], celulitis, fascitis y abscesos en el 7% al 30,8% de los casos [29,51]. Otro estudio encontró incidencias más altas: abscesos (69,1%), fascitis necrotizante (16,4%) y celulitis (21,8%) [65]. La información obtenida de los datos de SIVIGILA es considerablemente inferior en comparación con lo que se ha reportado previamente en la literatura especializada.

En el envenenamiento por *Lachesis*, los efectos clínicos son similares a los que produce el envenenamiento botrópico. El cuadro laquésico suele tener una expresión clínica grave (60% de los casos) y mortalidad cercana al 10% [22,66]. Adicionalmente, se acompaña de efectos vagales como bradicardia, diarrea profusa, dolor abdominal e hipotensión, donde estos síntomas se consideran manifestaciones de la forma grave del envenenamiento, y a su vez, permiten hacer el diagnóstico diferencial con el envenenamiento botrópico [67].

Dada la baja incidencia del envenenamiento laquésico en Colombia, se sabe muy poco sobre las características clínicas de este tipo de envenenamiento en el país. Sin embargo, es interesante destacar que el 86% de los pacientes presentaron epistaxis (sangrado nasal), como manifestación sistémica de la coagulopatía, mientras que los envenenamientos por especies del género *Bothrops* solo ocurrió en el 1,5% de los casos. Este hallazgo podría ser un reflejo del poderoso efecto fibrinolítico del veneno de este género, así como un signo diagnóstico que ayuda a diferenciar el envenenamiento laquésico del botrópico [68].

Los datos de este análisis contrastan con lo reportado previamente en la literatura, ya que la mortalidad estimada fue muy baja (1,5%), solo el 18% de los accidentes fueron graves y las manifestaciones vagas como expresión del cuadro grave se describieron en menos del 5% de los casos [65,68]. La baja mortalidad podría deberse a mayor disponibilidad de suero antiofídico y a un cambio en las condiciones políticas del país, que han permitido que las personas se desplacen más fácilmente desde áreas remotas hacia hospitales, ya que los datos disponibles para el país en la literatura especializada son de los últimos 20 años del siglo pasado.

En comparación con otros géneros de víboras, el veneno de la cascabel suramericana (*Crotalus durissus*) tiene una capacidad baja para producir edema y hemorragia, sin embargo, rabdomiólisis, insuficiencia renal secundaria y parálisis neuromuscular son hallazgos muy característicos [22,69]. No se encontró en la literatura especializada, una descripción de la incidencia de las manifestaciones de este envenenamiento en Colombia. Sin embargo, se describe que entre 27 y 40% de los pacientes con envenenamiento grave por crotálidos desarrollan IRA [22,69], mientras que en los datos de SIVIGILA solo se informó un 0,6%. Las manifestaciones más frecuentes en este envenenamiento fueron locales, coincidiendo con los informes sobre este tipo de intoxicación en Brasil, donde el dolor y el edema ocurrieron en el 91% y el 73% de los casos, respectivamente [69]. En los datos de SIVIGILA se informó sobre equimosis, ampollas y necrosis, hallazgos que no se habían descrito previamente en el envenenamiento por crotálidos sudamericanos, ya que su veneno carece de efecto dermonecrótico [22]. No obstante, se han reportado en serpientes de cascabel de América Central y del Norte [70].

Estos hallazgos abren nuevas preguntas e hipótesis que deben ser probadas. Por ejemplo, recientemente, Rodríguez-Vargas et al. [71] evaluaron las diferencias bioquímicas y biológicas en el veneno de *C. durissus* de tres ecorregiones de Colombia, mostrando variabilidad notable en las proporciones, presencia/ausencia de las principales toxinas, así como en la intensidad de su actividad biológica. Por lo tanto, esta fuerte variabilidad geográfica del veneno podría explicar los informes atípicos de manifestaciones clínicas en el conjunto de datos de SIVIGILA.

Otra hipótesis que podría explicar estos hallazgos es una identificación errónea del espécimen por parte del paciente o una falta de conocimiento o identificación incorrecta de las manifestaciones clínicas por parte del personal de salud. Adicionalmente, dada la baja incidencia de este evento, puede que estos efectos no se hayan descrito previamente. En este análisis, las manifestaciones neurológicas y hemorrágicas tuvieron baja incidencia, en comparación con lo que se describe en la literatura, datos de SIVIGILA muestran manifestaciones como debilidad muscular o facies neurotóxica, o hemorragias en hasta una cuarta parte de los pacientes (24%) [69].

El veneno por serpientes coral del género *Micrurus* es del tipo neurotóxico, sus toxinas afectan el funcionamiento de la unión neuromuscular a nivel presináptico y postsináptico. La incidencia de este tipo de enve-

nenamiento es muy baja [72]. El comportamiento clínico en nuestro país y otras regiones de América se ha obtenido principalmente a partir de la descripción de casos clínicos. La baja incidencia se debe al hecho de que estas serpientes no son agresivas, tienen colmillos diminutos y producen e inyectan pequeñas cantidades de veneno (ver Capítulo 2 y 5). Además, son poco comunes en los ambientes silvestres lo cual hace que los encuentros entre personas y corales sean muy bajos [72] (ver Capítulo 1). Su capacidad para producir edema o proteólisis es mínima, por lo que los efectos locales son poco significativos desde el punto de vista clínico [22].

En este análisis se encontró que el dolor (80,8%) y el edema (58%) fueron los síntomas locales más comunes, y las parestesias se reportaron en el 26%, mientras que la literatura menciona que el dolor y las parestesias son los síntomas locales que ocurren con mayor frecuencia [72–74]. Las manifestaciones sistémicas de neurotoxicidad se describieron en un pequeño número de casos, debilidad muscular en el 13%, y las demás manifestaciones ocurrieron en menos del 5% de todos los casos. Tanto en Colombia como en otros países, se ha informado mayor incidencia de neurotoxicidad sistémica (50–91%) [22,72].

Según los datos de SIVIGILA, se encontraron manifestaciones como gingivorragia, epistaxis y ampollas, en un mínimo porcentaje de los casos (1%, 0,5% y 1,8%, respectivamente). Sin embargo, en 131 casos clasificados como envenenamiento por corales, el nombre común de la serpiente reportado al SIVIGILA correspondía a los utilizados para especies de la familia Viperidae. A pesar de que las serpientes corales tienen fosfolipasas en su veneno, y se han descrito casos de alteraciones de la coagulación y las plaquetas en algunas mordeduras de elápidos de la América [31], es muy raro que estas alteraciones estén relacionadas con algún grado o tipo de sangrado [31]. Sin embargo, recientemente Rodríguez-Vargas et al. [82] demostraron que dos especies de serpientes coralinas endémicas de Colombia (*Micrurus medemi* y *M. sangilensis*) tienen una cantidad considerable de metaloproteasas en la composición de veneno. Este hallazgo plantea serias implicaciones en las manifestaciones clínicas del envenenamiento causado por serpientes coral, indicando que nuestra comprensión del envenenamiento por mordedura de serpientes está lejos de ser lo suficientemente completa.

#### 4. Conclusiones

El sistema de reporte y recopilación de datos por parte de SIVIGILA ha mejorado significativamente en la última década, y en la actualidad es uno de los más sólidos en América del Sur. Se evidenció que este sistema ha logrado capturar la mayoría de los casos que se esperan de mordeduras de serpientes (96%). Este gran esfuerzo realizado por la dirección de vigilancia del Instituto Nacional de Salud nos ha permitido llegar a todas las conclusiones y aprendizajes presentados en este capítulo. Los datos de SIVIGILA muestran que se trataron 26.324 casos con antivieno (53,8%), y un total de 3.195 (12,13%) pacientes presentaron reacciones adversas al suero antiofídico. De estas reacciones, el 51% (N=1.612) fueron

generalizadas y el resto fueron localizadas, y aproximadamente el 70% de estas reacciones se observaron durante el envenenamiento botrópico.

Los análisis espaciales muestran la importancia de desagregar los casos entre población; urbana y rural. Encontramos que las variables que explican la variación espacial de la incidencia cambian entre los entornos urbanos y rurales. Esto es un hallazgo crucial porque nos está diciendo que la dinámica de los accidentes ofídicos es diferente entre los contextos espaciales donde ocurre, por lo que las estrategias de prevención y manejo deben ajustarse a esta realidad. Además, encontramos que la distribución espacial de los casos de mordeduras es un componente esencial para comprender la viabilidad de este evento de salud pública, así como su asociación con las variables ambientales y sociales que lo explican. Particularmente, los modelos GWR mostraron una mejor capacidad predictiva (valores de  $r^2$  más altos) que los modelos lineales múltiples que consideraban el mismo conjunto de variables explicativas. Como era de esperar, los municipios más cercanos compartirán la misma dinámica de los accidentes ofídicos, pero nuestras variables explicativas no son suficientes para capturar toda la heterogeneidad espacial de la distribución de los casos. Es necesario encontrar más variables que puedan explicar esta heterogeneidad, y comenzar a incluir variables relacionadas directamente con la abundancia de serpientes venenosas.

Las mordeduras de serpiente tienen tendencias temporales, con valores máximos estacionales bianuales que corresponden a las temporadas de lluvia. Este comportamiento ocurre a escala nacional, pero a una escala más fina no es homogéneo. Como se muestra en el artículo de Bravo-Vega et al. [3], la lluvia podría estar actuando como un factor limitante: la lluvia solo modula la incidencia de las mordeduras de serpiente en áreas con estaciones secas marcadas, como la cuenca del Orinoco y la Costa Caribe. El panorama es desalentador dado que no existen datos sobre la historia natural de los ciclos reproductivos de las serpientes venenosas en Colombia. Por lo tanto, es difícil explicar estos comportamientos ecológicos de las serpientes. Por otro lado, encontramos un aumento en el promedio de casos entre 2018 y 2019, el cual puede estar relacionado con el fenómeno de La Niña. Este análisis debe realizarse para comprender la variación interanual de la incidencia. Del mismo modo, después de 2019, los casos disminuyeron, lo que puede estar relacionado con la pandemia de COVID-19. Estos análisis deben ser el próximo paso para comprender la heterogeneidad temporal de la incidencia de las mordeduras de serpiente y comenzar a generar herramientas de monitoreo y predicción que permitan mejorar la forma en que enfrentamos estas enfermedades tropicales desatendidas.

Encontramos que la mayor carga asociada a accidentes ofídicos se encuentra en las ecorregiones del Orinoco y Amazonas, y recae sobre la población rural. Es importante entender porque en estas regiones existe alto riesgo de accidentes ofídicos y mortalidad asociada a este evento, ya que al ser regiones extensas y con asentamientos humanos apartados, presentan un alto subreporte, lo que hace aún más crítica la vulnerable

de las poblaciones ante este evento de salud pública [21]. Particularmente, los departamentos de Vaupés, Amazonas, Guainía, Guaviare, Arauca y Chocó deben ser priorizados para la formulación e implementación de estrategias de prevención y mitigación del accidente ofídico, ya que son los territorios del país en mayor riesgo.

Adicionalmente, fue posible observar que la letalidad y mortalidad a nivel general ha venido cayendo con el tiempo, mientras que la letalidad en la población urbana ha venido aumentando. Esto tiene que ser indagado más a fondo, pues se esperaría que el acceso al suero antiofídico en entornos urbanos sea más fácil y expedito que en zonas rurales. Otro resultado de interés es que una correcta determinación de la severidad de un envenenamiento botrópico es crucial para reducir la mortalidad. Asimismo, el no uso de suero antiofídico y realización de prácticas no médicas son las principales variables asociadas con estos desenlaces letales. Por último, es necesario recopilar más datos para años posteriores a la pandemia de COVID-19, ya que este evento desafortunado afectó tanto las dinámicas de las mordeduras como los reportes, generando datos atípicos que pueden generar confusión en los análisis presentados.

Del análisis de los datos recopilados por el SIVIGILA en los últimos años quedan algunas lecciones, que nos motivan a proponer unas recomendaciones que esperamos ayuden a explotar el potencial que tiene nuestro sistema de reporte.

En primer lugar, la ficha de reporte obligatorio de las mordeduras de serpiente debe simplificarse: se sugiere debería haber casillas excluyentes para los síntomas, de modo que los datos se puedan homogeneizar entre diferentes hospitales. En segundo lugar, el formulario actual no permite clasificar correctamente la gravedad del envenenamiento, esto lleva a que la frecuencia de aparición de síntomas graves y locales haya sido baja, comparado con lo descrito en la literatura. Es fundamental capacitar al personal médico en la identificación, características y tratamiento de las mordeduras de serpiente. Esto mejoraría la calidad de los reportes, le daría una mayor solidez al SIVIGILA y ampliaría el conocimiento sobre la distribución geográfica de estas manifestaciones clínicas. La ficha de notificación del accidente ofídico debe poder ser diligenciada en línea o una plataforma web que centralice los datos y permita una mejor vigilancia y monitoreo del evento, reduciendo la duplicidad de información, agilizando su gestión administrativa y garantizando su trazabilidad.

Otro aspecto fundamental es contar con información detallada sobre los tiempos transcurridos entre la mordedura, la atención médica y la administración de antiveneno. No pudimos determinar el tiempo transcurrido entre la mordedura y la administración de antiveneno debido a que los datos son imprecisos o están incompletos. Si bien existen espacios para diferentes dígitos en el formato, no hay una organización concisa de las unidades de estos dígitos, y el formato del tiempo (minutos, horas, días, entre otros) no es explícito o intuitivo. Por lo tanto, en la actualidad no es posible saber si la notificación de evento se refiere a días, horas o minu-

tos. Es necesario homogeneizar las escalas de tiempo de cada una de las celdas en el formulario para realizar un análisis detallado de la gravedad, los síntomas y el tiempo de administración del antiveneno. Por último, el examen de coagulación sanguínea completa de 20 minutos debería ser una prueba obligatoria para definir la presencia de VICC, lo que permitirá orientar sobre la familia de serpiente que causó el envenenamiento. Esto podría reducir el alto número de casos no identificados y ayudará a determinar cuál tipo de antiveneno se debe utilizar.

Después de caracterizar el comportamiento de los síntomas del envenenamiento por serpientes venenosas en el país, encontramos que es sustancialmente diferente de lo descrito previamente en Colombia y países vecinos. Esto resalta la necesidad de una capacitación adecuada para los profesionales médicos en el reconocimiento de los síntomas, así como en la identificación correcta de las especies de serpientes venenosas que causaron el envenenamiento. También es importante comenzar a homogeneizar los nombres comunes de las serpientes venenosas para compilar una base central de datos que pueda superar las limitaciones detectadas. Esta capacitación puede ayudar a mejorar la vigilancia, lo que a su vez permitirá detallar las causas y consecuencias de las mordeduras de serpiente en el país y así implementar las estrategias propuestas por la Organización Mundial de la Salud para reducir en 50% la mortalidad por mordeduras de serpiente [52].

## Apéndice A: Materiales y métodos

### *Modelos matemáticos*

Se obtuvo información sobre 19 variables bioclimáticas para el país con una resolución de aproximadamente 1 km x 1 km del servidor WorldClim (<https://worldclim.org/> [75]). Posteriormente, eliminamos variables colineales utilizando un umbral de correlación de Pearson de 0,8 para seleccionar capas independientes. Realizamos esta reducción utilizando el paquete «*virtualspecies*» en el entorno R [76]. Seleccionamos ocho variables: temperatura (B1), rango diario promedio de temperatura (B2), estacionalidad de temperatura (B4), rango anual de temperatura (B7), precipitación (B12), estacionalidad de precipitación (B15), precipitación del trimestre más cálido (B18) y precipitación del trimestre más frío (B19). Luego calculamos el valor promedio para cada municipio del país.

Del Departamento Administrativo Nacional de Estadística (DANE) obtuvimos datos discriminados para la población total, urbana y rural, así como estimaciones de pobreza (NBI) a nivel municipal, y utilizamos el valor promedio de 2010 a 2020 porque este período corresponde a la cobertura de datos del sistema nacional de vigilancia (SIVIGILA). Utilizamos mapas de huella humana para 2009 obtenidos de (<https://wchumanfootprint.org/> [77]), y calculamos su valor promedio para cada municipio. Por último, utilizamos los datos reportados por SIVIGILA correspondientes a los informes obligatorios nacionales de mordeduras de serpiente de 2010 a 2020.

Realizamos las regresiones ponderadas geográficamente (GWR por sus siglas en inglés) en el entorno R utilizando el paquete *GWmodel* [78] que permite comparar el modelo lineal con estructura espacial y un modelo lineal clásico nulo sin esta estructura espacial. En primer lugar, calculamos el ancho de banda para la estructura geográfica utilizando un kernel gaussiano adaptativo, basado en el criterio de información de Akaike (AIC) que selecciona el ancho de banda que minimiza este valor. Posteriormente, calculamos todos los modelos posibles resultantes de combinar las variables independientes definidas (utilizamos población y NBI total para la incidencia total, población y NBI urbanos para incidencia urbana, y lo mismo para áreas rurales), y seleccionamos el modelo con el menor AIC. Finalmente, determinamos las áreas significativas para cada coeficiente de GWR definiendo un umbral de significancia de 0.05.

### *Uso de antiveneno, prácticas no médicas y análisis del riesgo de mordedura de serpiente*

Evaluamos las diferencias en la severidad del envenenamiento entre los géneros de serpientes, así como las diferencias en las prácticas no médicas contra las mordeduras de serpiente utilizadas en Colombia, utilizando una prueba Chi-cuadrado de Pearson para variables politémicas y la prueba G de razón de verosimilitud.

Empleamos un modelo de regresión logística para estimar la probabilidad de supervivencia de un paciente después de una mordedura de

serpiente. Basándonos en el conjunto de datos de envenenamiento por serpientes botrópicas (2010-2020) proporcionado por SIVIGILA, utilizamos el resultado de la mordedura de serpiente codificado como vivo/fallecido como variable dependiente. Hipotetizamos como variables explicativas de la ocurrencia del resultado vivo/fallecido después de una mordedura por víboras, las siguientes características de los registros de mordeduras de serpiente: género, edad, hospitalización, tratamiento no médico inicial, práctica no médica, sitio de la mordedura, género de la serpiente, síntomas de envenenamiento local, síntomas de envenenamiento sistémico y gravedad de la mordedura de serpiente (Tabla 5). El conjunto de datos de mordeduras de serpiente por serpientes de fosa colombianas abarca un total de 32918 registros, sin embargo, después de la depuración de datos faltantes, utilizamos un subconjunto de 16495 registros para realizar todos los análisis estadísticos.

Antes de ejecutar el modelo, evaluamos la multicolinealidad entre las diferentes variables a través del factor de inflación de la varianza (VIF) para seleccionar variables no correlacionadas, utilizando un valor de corte de 10. Posteriormente, realizamos una regresión paso a paso para eliminar aquellas variables que no son significativas utilizando el Criterio de Información de Akaike (AIC) para definir cuáles son las variables que se excluyen. Finalmente, las variables como hospitalización, tratamiento no médico inicial, género de la serpiente y sitio de la mordedura se excluyeron mediante el VIF y el AIC; por lo tanto, realizamos el modelo de regresión logística utilizando las variables restantes seleccionadas.

Además, realizamos un modelo de árbol de clasificación y regresión para identificar las variables independientes con mayor poder de discriminación, lo que permite estimar la probabilidad de supervivencia de un paciente después de una mordedura por serpientes de fosa colombianas. Por lo tanto, el árbol se construyó utilizando cinco observaciones por partición y nodo terminal, así como una corte de complejidad de 0,0001. Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando el software Rwizard 4.3 [6] y los paquetes en R rpart [79], stat [80], y MASS [81].

**Tabla S1.** Codificación de las variables explicativas independientes utilizadas en el modelo de regresión logística y el modelo de árbol de clasificación y regresión

Variable	Codificación
Género	Hombre / Mujer
Edad	Edad en años
Hospitalización	Si / No
Tratamiento no médico inicial (Sangrado, inmovilización de extremidades, succión mecánica, inmovilización del paciente, punción, torniquete, otro)	Si / No
Práctica no médica (Cataplasmas herbales, pociones, rezos, succión, otro)	Si / No

Continúa

Variable	Codificación
Sitio de la mordedura	Abdomen, espalda, dedos de pies y manos, genitales, glúteo, cabeza, miembros inferiores, miembros superiores, cuello, tórax.
Género de la serpiente	<i>Bothrops</i> / <i>Crotalus</i> / <i>Lachesis</i> / <i>Porthidium</i>
Síntomas locales de envenenamiento	Si / No
Síntomas sistémicos de envenenamiento	Si / No
Severidad de la mordedura de serpiente	Leve / Moderado / Grave



Apéndice B

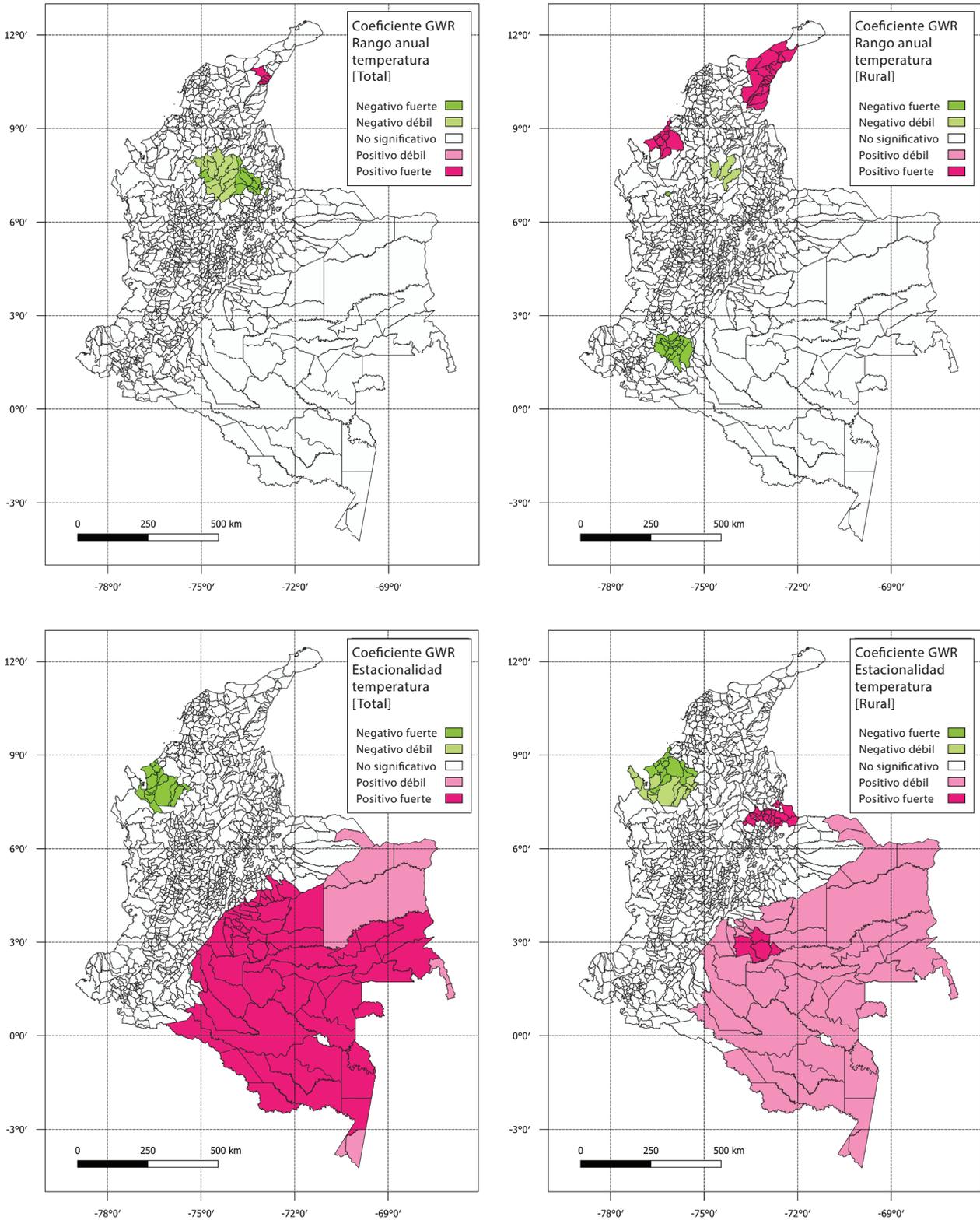


Figura S1. Coeficientes del GWR para variables compartidas entre poblaciones total y rural.

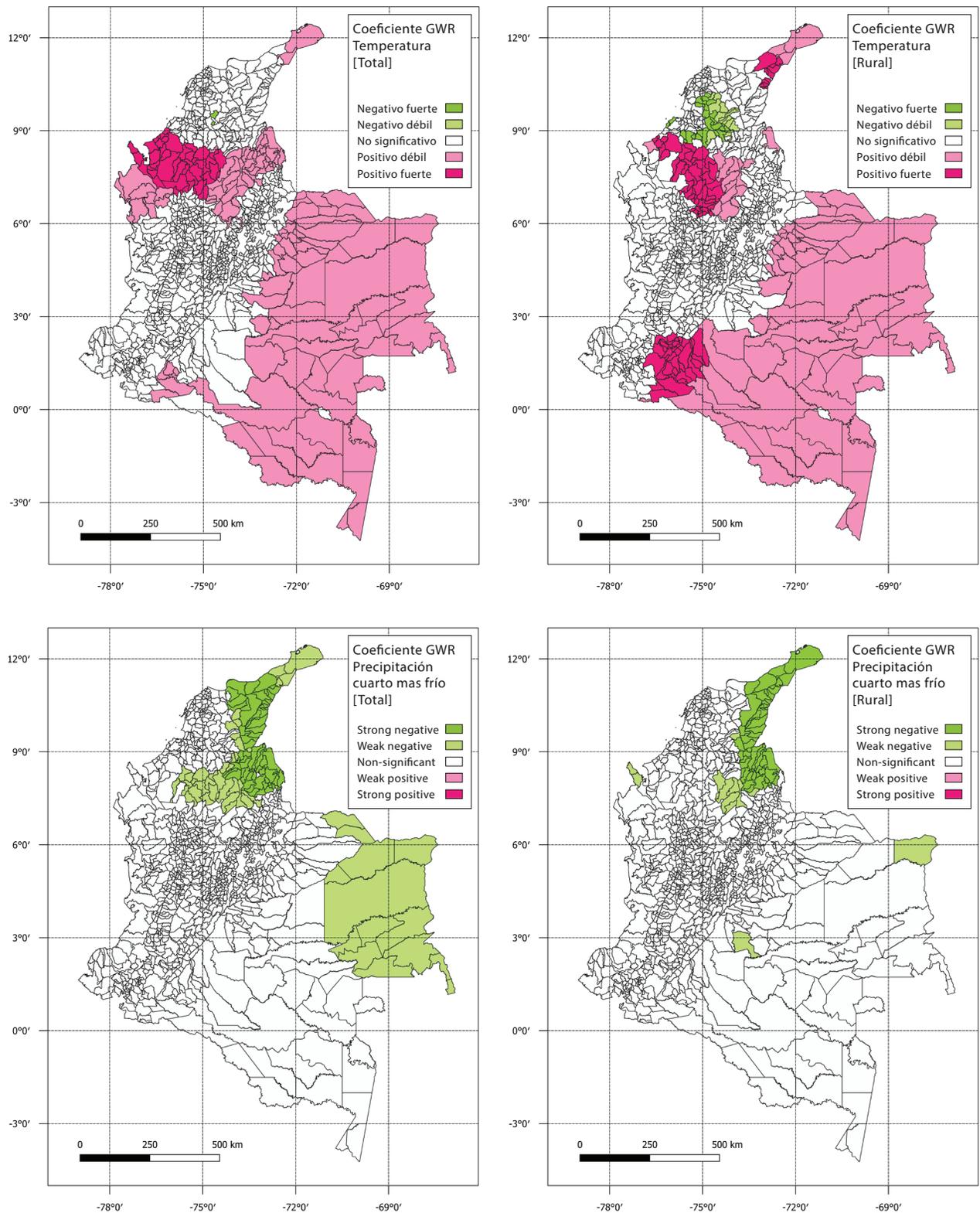


Figura S1. Coeficientes del GWR para variables compartidas entre poblaciones total y rural.

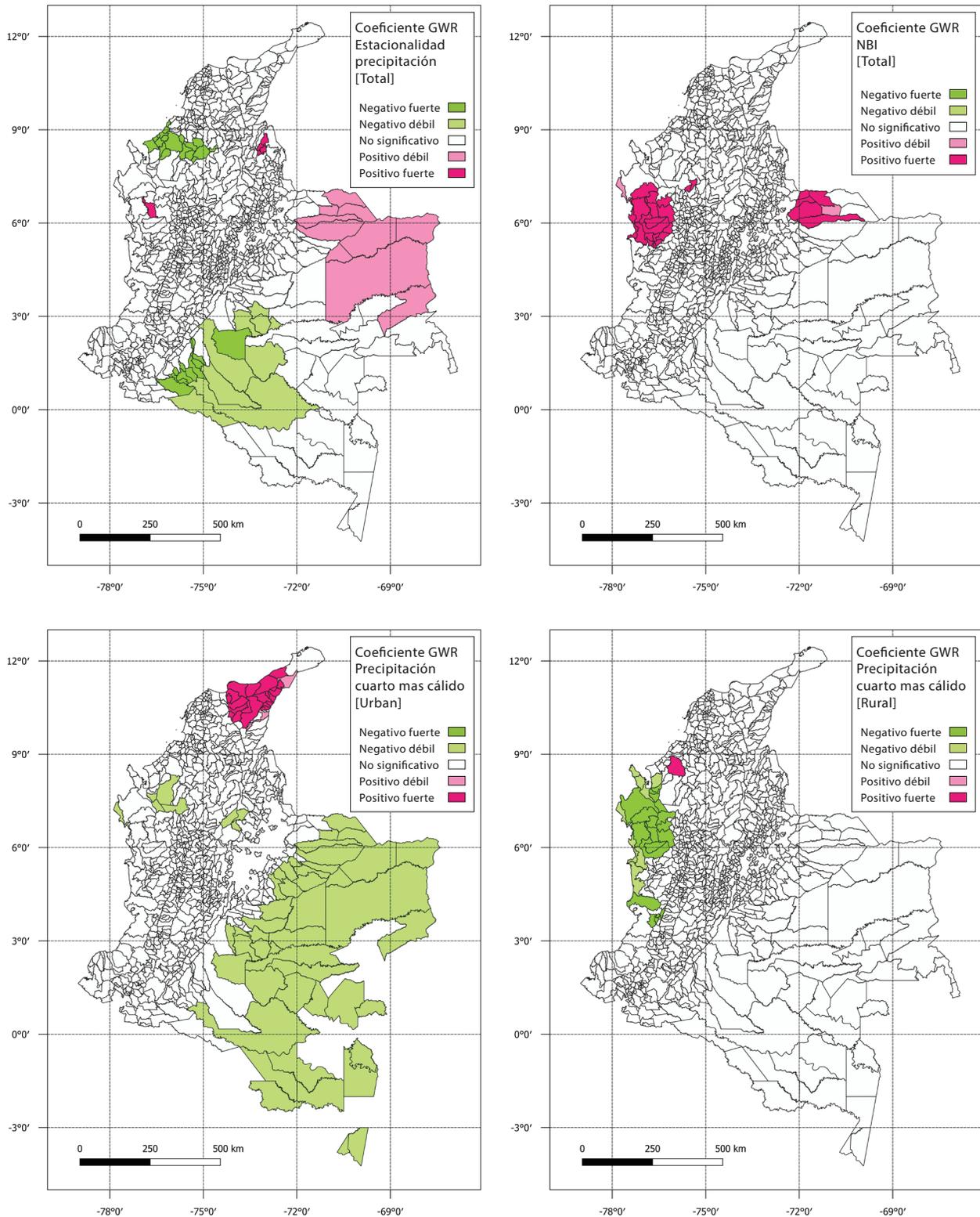


Figura S2. Coeficientes del GWR para variables presentes únicamente en población total, y variables compartidas entre áreas urbanas y rurales.

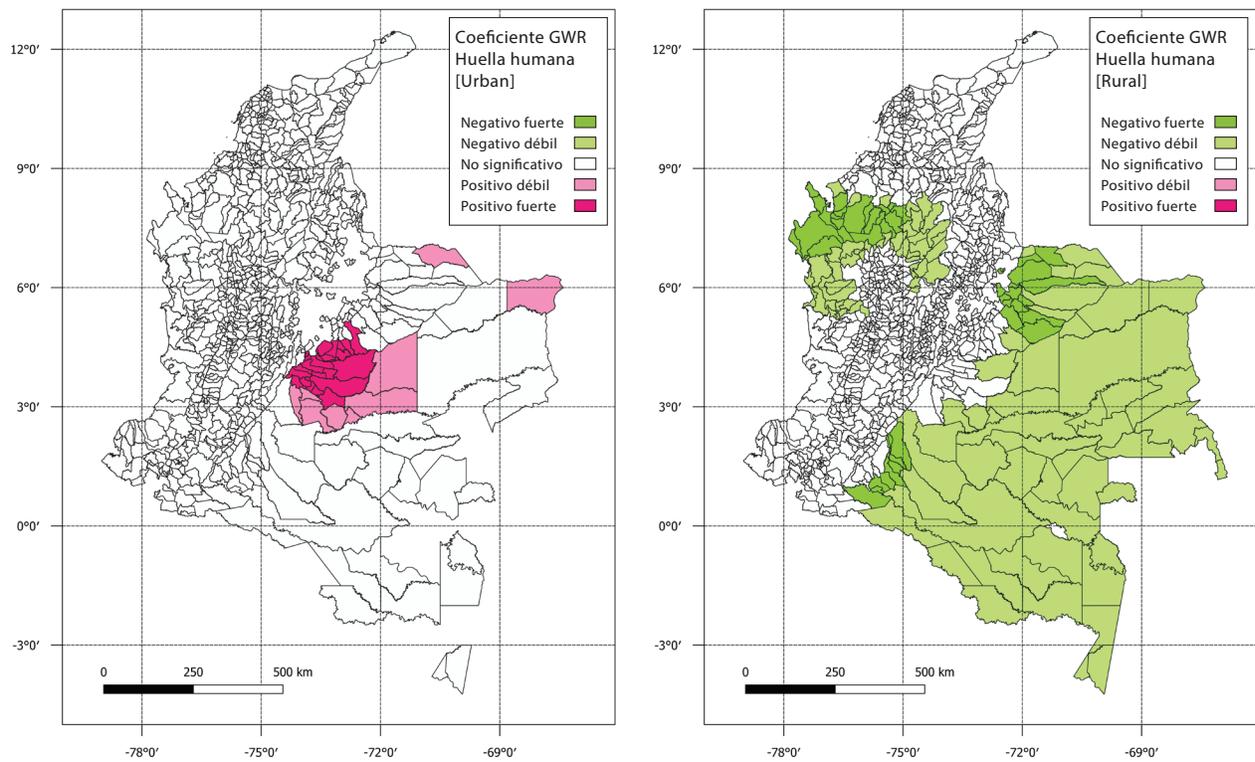


Figura S2. Coeficientes del GWR para variables presentes únicamente en población total, y variables compartidas entre áreas urbanas y rurales.

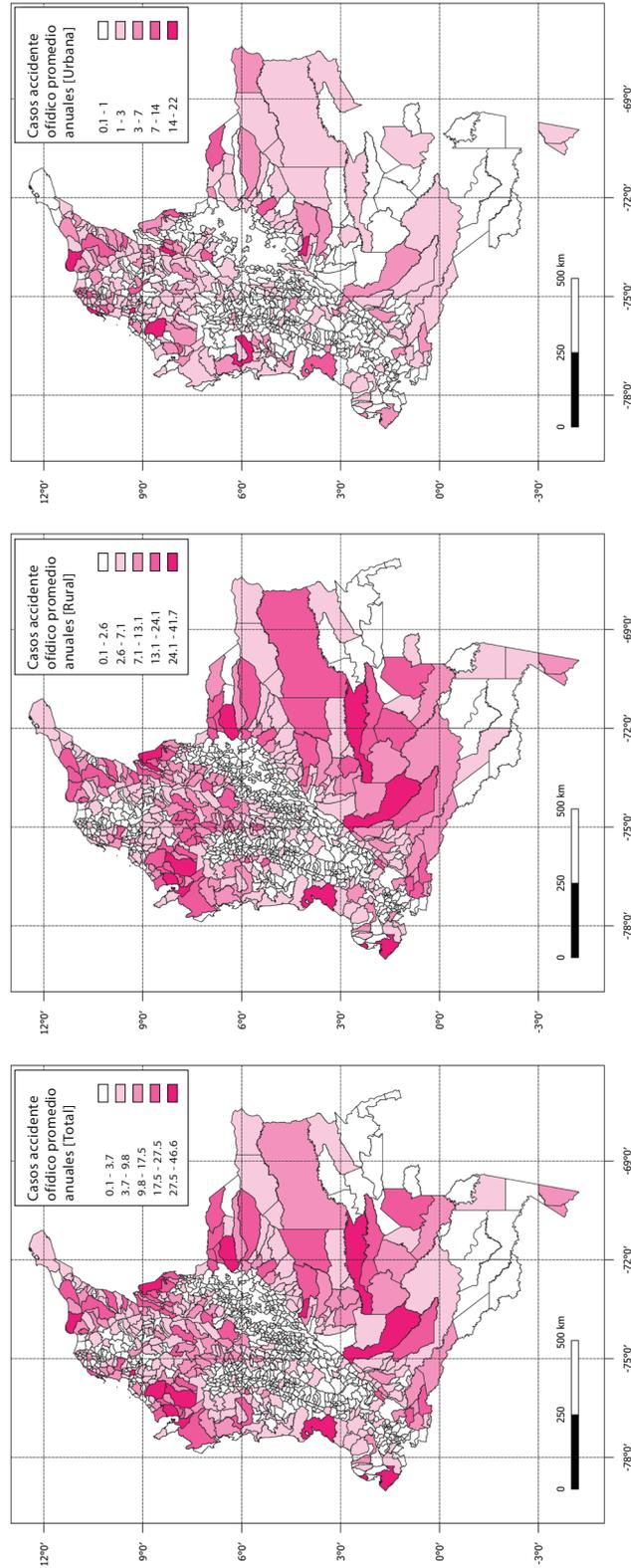


Figura S3. Distribución espacial de los casos de mordeduras de serpientes

## Referencias

1. Chippaux, J.-P. Incidence and Mortality Due to Snakebite in the Americas. *PLoS Negl. Trop. Dis.* **2017**, *11*, e0005662, doi:10.1371/journal.pntd.0005662.
2. Angarita-Sierra, T.; Lozano-Daza, S.A. Life Is Uncertain, Eat Dessert First: Feeding Ecology and Prey-Predator Interactions of the Coffee Snake *Ninia atrata*. <https://doi.org/10.1080/00222933.2019.1655105> **2019**, *53*, 1401–1420, doi:10.1080/00222933.2019.1655105.
3. Bravo-Vega, C.I.; Santos-Vega, M.I.; Manuel Cordovez, J.I. Disentangling Snakebite Dynamics in Colombia: How Does Rainfall and Temperature Drive Snakebite Temporal Patterns? *PLoS Negl. Trop. Dis.* **2022**, *16*, e0010270, doi:10.1371/JOURNAL.PNTD.0010270.
4. Chaves, L.F.; Chuang, T.-W.; Sasa, M.; Gutiérrez, J.M. Snakebites Are Associated with Poverty, Weather Fluctuations, and El Niño. *Sci. Adv.* **2015**, *1*, e1500249–e1500249, doi:10.1126/sciadv.1500249.
5. Xiang, Y.; Jia, Y.; Chen, L.; Guo, L.; Shu, B.; Long, E. COVID-19 Epidemic Prediction and the Impact of Public Health Interventions: A Review of COVID-19 Epidemic Models. *Infect. Dis. Model.* **2021**, *6*, 324–342, doi:10.1016/J.IDM.2021.01.001.
6. Guisande-González, C.; Vaamonde-Liste, B.; Barreiro-Felpeto, A. *Rwizard* **2014**, 1–452.
7. Charry-Restrepo, H. Epidemiología Del Accidente Ofídico En Colombia. *Temas de Toxinología* **2006**, 1–14.
8. Nuñez León, L.J. Informe Del Evento Accidente Ofídico, Colombia, 2016. *Inst. Nac. Salud- SIVIGILA* **2016**, 33.
9. Manuel Santos Calderón, J.; Vargas Lleras, G.; Fernando Cristo Bustos, J.; Cárdenas Santamaría Ministro de Hacienda Crédito Público Yesid Reyes Alvarado, M.; Carlos Pinzón Bueno Ministro de Defensa Nacional Aurelio Iragorri Valencia, J.; Gaviria Uribe, A.; Eduardo Garzón Ministro de Trabajo Tomás González Estrada, L.; Álvarez-Correa, C.; Parody Ministra de Educación Nacional Gabriel Vallejo López, G.; Felipe Henao Cardona Ministro de Vivienda, L.; et al. *Documento Conpes: POLÍTICA NACIONAL PARA CONSOLIDAR EL SISTEMA DE CIUDADES EN COLOMBIA*; Bogotá, **2014**.
10. DNP: DDUPA; Ministerio de Ambiente, V. y D.T. *Documento Conpes: LINEAMIENTOS PARA OPTIMIZAR LA POLÍTICA DE DESARROLLO URBANO*; Bogotá, **2004**.
11. World health organization *Snakebite Envenomation a Strategy for Prevention and Control*; WHO: Geneva, **2019**; ISBN 9789241515641.
12. World Health Organization Guidelines for the Production, Control and Regulation of Snake Antivenom Immunoglobulins. *WHO Tech. Rep. Ser.* **2013**, 964.
13. Sevilla-Sánchez, M.J.; Mora-Obando, D.; Calderón, J.J.; Guerrero-Vargas, J.A.; Ayerbe-González, S. Accidente Ofídico En El Departamento de Nariño, Colombia: Análisis Retrospectivo, 2008–2017. *Biomédica* **2019**, *39*, 715–736, doi:10.7705/BIOMEDICA.4830.
14. Nuñez León, L.J.; Camero-Ramos, G.; Gutierrez, J.M. Epidemiology of Snakebites in Colombia (2008–2016). *Rev. Salud Pública* **2020**, *22*, 1–8, doi:10.15446/rsap.V22n3.87005.

15. Estrada-Gómez, S.; Quintana Castillo, J.C.; Vargas Muñoz, L.J. Accidente Ofídico En Animales de Pastoreo: Acercamiento Epidemiológico, Clínico y de Manejo. *Rev. Med. Vet.* **2014**, *27*, 149–161.
16. Paredes Medina, A.E. *Informe del evento accidente ofídico, Colombia, 2013*; Bogotá, **2014**.
17. Rojas Bárcenas, A.M. *Informe del evento accidente ofídico, Colombia, 2017*; Bogotá, **2018**.
18. Rojas Bárcenas, A.M. *Informe de Evento Accidente Ofídico, Colombia, 2018*; **2019**.
19. Vargas-Lorenzo, I.; Luisa Vázquez-Navarrete, M.; Mogollón-Pérez, A.S. Acceso a La Atención En Salud En Colombia. *Rev. Salud Pública* **2010**, *12*, 701–712, doi:10.1590/S0124-00642010000500001.
20. Bravo-Vega, C.A.; Cordovez, J.M.; Renjifo-Ibáñez, C.; Santos-Vega, M.; Sasa, M. Estimating Snakebite Incidence from Mathematical Models: A Test in Costa Rica. *PLoS Negl. Trop. Dis.* **2019**, *13*, e0007914, doi:10.1371/journal.pntd.0007914.
21. Bravo-Vega, C.; Renjifo-Ibáñez, C.; Santos-Vega, M.; Nuñez, L.J.L.; Angarita-Sierra, T.; Cordovez, J.M. A Generalized Framework for Estimating Snakebite Underreporting Using Statistical Models: A Study in Colombia. *PLoS Negl. Trop. Dis.* **2023**, *17*, e0011117, doi:10.1371/JOURNAL.PNTD.0011117.
22. Otero-Patiño, R. Snake Bites in Colombia. *Clin. Toxicology Aust. Eur. Am. Toxicology* **2018**, doi:10.1007/978-94-017-7438-3\_41.
23. Pineda, D.; Ghotme, K.; Aldeco, M.E.; Montoya, P. Accidentes Ofídicos En Yopal y Leticia, Colombia, 1996–1997. *Biomédica* **2002**, *22*, 14, doi:10.7705/biomedica.v22i1.1135.
24. Phillips, S.J. Transferability, Sample Selection Bias and Background Data in Presence-Only Modelling: A Response to Peterson et Al. (2007). *Ecography* **2008**, *31*, 272–278, doi:10.1111/J.0906-7590.2008.5378.X.
25. Peterson, A.T.; Papes, M.P.; Muir, P.; Peterson, E.A.T.; Papes, and, M.; Papes, and, P.; Eaton, M. Transferability and Model Evaluation in Ecological Niche Modeling: A Comparison of GARP and Maxent. *Ecography* **2007**, *30*, 550–560, doi:10.1111/J.0906-7590.2007.05102.X.
26. Rodríguez-Vargas, A.L.; Rodríguez-Buitrago, J.; Díaz, G.J. Comportamiento General de Los Accidentes Provocados Por Animales Venenosos En Colombia, 2006–2010. *Rev. salud pública.* **2012**, *14*, 1001–1009.
27. Tochie, J.N.; Temgoua, M.N.; Njim, T.; Celestin, D.; Tankeu, R.; Nkemngu, N.J. The Neglected Burden of Snakebites in Cameroon: A Review of the Epidemiology, Management and Public Health Challenges. *BMC Res. Notes* **2017**, *10*, 405, doi:10.1186/S13104-017-2718-2.
28. Grupo de Estratificación, D. de G. *Metodología de estratificación socioeconómica urbana para servicios públicos domiciliarios*; **2015**.
29. Silva, F.S.; Ibiapina, H.N.S.; Neves, J.C.F.; Coelho, K.F.; Barbosa, F.B.A.; Lacerda, M.V.G.; Sachett, J.A.G.; Malheiro, A.; Monteiro, W.M.; da Costa, A.G. Severe Tissue Complications in Patients of *Bothrops* Snakebite at a Tertiary Health Unit in the Brazilian Amazon: Clinical Characteristics and Associated Factors. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* **2021**, *54*, doi:10.1590/0037-8682-0374-2020.
30. Cañas, C.A.; Castro-Herrera, F.; Castaño-Valencia, S. Envenomation by the Red-Tailed Coral Snake (*Micrurus mipartitus*) in Colombia. *J.*

- Venom. Anim. Toxins Incl. Trop. Dis.* **2017**, 23, 1–4, doi:10.1186/S40409-017-0100-4/TABLES/1.
31. da Silva, A.M.; da Fonseca, W.L.; de Araujo Valente Neto, E.; Bisneto, P.F.; Contreras-Bernal, J.; Sachett, J.; Monteiro, W.M.; Bernarde, P.S. Envenomation by *Micrurus annellatus bolivianus* (Peters, 1871) Coral Snake in the Western Brazilian Amazon. *Toxicon* **2019**, 166, 34–38, doi:10.1016/J.TOXICON.2019.05.008.
  32. Ramos-Rodríguez, V.; Montero-Carvajal, E.; Corrales, G.; Aarón Gómez. Clinical Report of a Human Bite by the Pelagic Sea Snake *Hydrophis platurus* (Serpentes: Elapidae), in the Pacific Ocean of Costa Rica. *J. Clin. Images Med. Case Reports* **2021**, 2, 1091.
  33. Hernández-Camacho, J.I.; Álvarez-León, R.; Renjifo-Rey, J.M. Pelagic Sea Snake *Pelamis platurus* (Linnaeus, 1766) (Reptilia: Serpentes: Hydrophiidae) Is Found on the Caribbean Coast of Colombia. *Mem. la Fund. La Salle Ciencias Nat. 2006* **2006**, 164, 7–16.
  34. Briski, E.; Gollasch, S.; David, M.; Linley, R.D.; Casas-Monroy, O.; Rajakaruna, H.; Bailey, S.A. Combining Ballast Water Exchange and Treatment to Maximize Prevention of Species Introductions to Freshwater Ecosystems. *Environ. Sci. Technol.* **2015**, 49, 9566–9573, doi:10.1021/ACS.EST.5B01795/SUPPL\_FILE/ES5B01795\_SI\_001.PDF.
  35. Rodríguez-Vargas, A. Accidente Ofídico. In: *Guía para el manejo de emergencias toxicológicas*; Alejandro, M.P., Álvaro, C.Q., Ana, D.A.V., Ana María, R.M., Andrés Felipe, E.A., Eds.; Ministerio de Salud y la Protección Social: Bogotá D.C, **2017**; pp. 499–507 ISBN 9789585401334.
  36. Bucarechi, F.; De Capitani, E.M.; Vieira, R.J.; Rodrigues, C.K.; Zannin, M.; Da Silva, N.J.; Casais-e-Silva, L.L.; Hyslop, S. Coral Snake Bites (*Micrurus* Spp.) in Brazil: A Review of Literature Reports. *Clin. Toxicol.* **2016**, 54, 222–234.
  37. da Silva, C.J.; Jorge, M.T.; Ribeiro, L.A. Epidemiology of Snakebite in a Central Region of Brazil. *Toxicon* **2003**, 41, 251–255.
  38. Otero, R.; Fonnegra, R.; Jimenez, S.L.; Nunez, V.; Evans, N.; Alzate, S.P.; Garcia, M.E.; Saldarriaga, M.; Del Valle, G.; Osorio, R.G.; et al. Snakebites and Ethnobotany in the Northwest Region of Colombia: Part I: Traditional Use of Plants. *J. Ethnopharmacol.* **2000**, 71, 493–504.
  39. Michael, G.C.; Aliyu, I.; Grema, A.B.; De-Kaa, N.L.P. Prehospital Care Practices for Venomous Snakebites in Resource-limited Settings: A Narrative Review. *Arch. edicine Heal. Sci.* **2017**, 7, 237–241, doi:10.4103/amhs.amhs.
  40. Otero-Patino, R. Epidemiological, Clinical and Therapeutic Aspects of *Bothrops asper* Bites. *Toxicon* **2009**, 54, 998–1011, doi:10.1016/j.toxicon.2009.07.001.
  41. Otero-Patiño, R.; Nuñez, V.; Barona, J.; Díaz, A.; Saldarriaga, M. Características Bioquímicas y Capacidad Neutralizante de Cuatro Antivenenos Polivalentes Frente a Los Efectos Farmacológicos y Enzimáticos Del Veneno de *Bothrops asper* y *Porthidium nasutum* de Antioquia y Chocó. *Iatreia* **2002**, 15, 1–15.
  42. World Health Organization *Snakebite Envenomation*; **2019**; Vol. 3; ISBN 9789241515641.
  43. Ayerbe González, S.A. *SERPIENTES | Accidentes & Soluciones*; www.ayerbedocserpientes.com: Popayán, **2021**; ISBN 9789584924872.

44. Kasturiratne, A.; Lalloo, D.G.; Janaka de Silva, H. Chronic Health Effects and Cost of Snakebite. *Toxicon X* **2021**, 9–10, 100074, doi:10.1016/j.tox-cx.2021.100074.
45. Kasturiratne, A.; Wickremasinghe, A.R.; de Silva, N.; Gunawardena, N.K.; Pathmeswaran, A.; Premaratna, R.; Savioli, L.; Lalloo, D.G.; de Silva, H.J. The Global Burden of Snakebite: A Literature Analysis and Modelling Based on Regional Estimates of Envenomation and Deaths. *PLoS Med.* **2008**, 5, e218, doi:10.1371/journal.pmed.0050218.
46. Fita, D.S.; Neto, E.M.C.; Schiavetti, A. “Offensive” Snakes: Cultural Beliefs and Practices Related to Snakebites in a Brazilian Rural Settlement. *J. Ethnobiol. Ethnomed.* **2010**, 6, 1–13, doi:10.1186/1746-4269-6-13.
47. Williams, S.S.; Wijesinghe, C.A.; Jayamanne, S.F.; Buckley, N.A.; Dawson, A.H.; Lalloo, D.G.; de Silva, H.J. Delayed Psychological Morbidity Associated with Snakebite Envenomation. *PLoS Negl. Trop. Dis.* **2011**, 5, e1255, doi:10.1371/journal.pntd.0001255.
48. Carrasco, P.A.; Grazziotin, F.G.; Cruz Farfán, R.S.; Koch, C.; Antonio Ochoa, J.; Scrocchi, G.J.; Leynaud, G.C.; Chaparro, J.C. A New Species of *Bothrops* (Serpentes: Viperidae: Crotalinae) from Pampas Del Heath, Southeastern Peru, with Comments on the Systematics of the *Bothrops neuwiedi* Species Group. *Zootaxa* **2019**, 4565, 301–344, doi:10.11646/zootaxa.4565.3.1.
49. Bhaumik, S.; Kallakuri, S.; Kaur, A.; Devarapalli, S.; Daniel, M. Mental Health Conditions after Snakebite: A Scoping Review. *BMJ Glob. Heal.* **2020**, 5, doi:10.1136/bmjgh-2020-004131.
50. Kasturiratne, A.; Wickremasinghe, A.R.; de Silva, N.; Gunawardena, N.K.; Pathmeswaran, A.; Premaratna, R.; Savioli, L.; Lalloo, D.G.; de Silva, H.J. The Global Burden of Snakebite: A Literature Analysis and Modelling Based on Regional Estimates of Envenomation and Deaths. *PLOS Med.* **2008**, 5, e218.
51. Otero, R.; Gutiérrez, J.; Beatriz Mesa, M.; Duque, E.; Rodríguez, O.; Luis Arango, J.; Gómez, F.; Toro, A.; Cano, F.; María Rodríguez, L.; et al. Complications of *Bothrops*, *Porthidium*, and *Bothriechis* Snakebites in Colombia. A Clinical and Epidemiological Study of 39 Cases Attended in a University Hospital. *Toxicon* **2002**, 40, 1107–1114, doi:10.1016/S0041-0101(02)00104-6.
52. Williams, D.J.; Faiz, M.A.; Abela-Ridder, B.; Ainsworth, S.; Bulfone, T.C.; Nickerson, A.D.; Habib, A.G.; Junghans, T.; Fan, H.W.; Turner, M.; et al. Strategy for a Globally Coordinated Response to a Priority Neglected Tropical Disease: Snakebite Envenomation. *PLoS Negl. Trop. Dis.* **2019**, 13, e0007059, doi:10.1371/JOURNAL.PNTD.0007059.
53. Mora-Obando, D.; Pla, D.; Lomonte, B.; Guerrero-Vargas, J.A.; Ayerbe, S.; Calvete, J.J. Antivenomics and in Vivo Preclinical Efficacy of Six Latin American Antivenoms towards South-Western Colombian *Bothrops asper* Lineage Venoms. *PLoS Negl. Trop. Dis.* **2021**, 15, e0009073, doi:10.1371/JOURNAL.PNTD.0009073.
54. Wedasingha, S.; Isbister, G.; Silva, A. Bedside Coagulation Tests in Diagnosing Venom-Induced Consumption Coagulopathy in Snakebite. *Toxins.* **2020**, 12, doi:10.3390/TOXINS12090583.
55. Lynch, J.D.; Angarita-Sierra, T.; Ruiz-Gómez, F.J. *Programa Nacional Para La Conservación de Las Serpientes Presentes En Colombia*; Mi-

- nisterio de Ambiente y Desarrollo Sostenible, Colombia, Universidad Nacional de Colombia - Instituto de Ciencias Naturales, Instituto Nacional de Salud.: Bogotá, **2016**; ISBN 9789588901183.
56. Albuquerque, U.P.; Fernandes Cruz da Cunha, L.V.; Paiva de Lucena, R.F.; Nóbrega Alves, R.R. *Methods and Techniques in Ethnobiology and Ethnoecology. Springer Protocols Handbooks*; Springer Protocols Handbooks. Humana Press: New York, **2013**; ISBN 9781461486350.
  57. Silva de Oliveira, S.; Campos Alves, E.; dos Santos Santos, A.; Freitas Nascimento, E.; Tavares Pereira, J.P.; Mendonça da Silva, I.; Sachett, J.; dos Santos Ibiapina, H.N.; Santos Sarraf, L.K.; Contreras Bernal, J.C.; et al. Bothrops Snakebites in the Amazon: Recovery from Hemostatic Disorders after Brazilian Antivenom Therapy. *Clin. Toxicol. (Phila)*. **2020**, *58*, 266–274, doi:10.1080/15563650.2019.1634273.
  58. Park, E.J.; Choi, S.; Kim, H.H.; Jung, Y.S. Novel Treatment Strategy for Patients with Venom-Induced Consumptive Coagulopathy from a Pit Viper Bite. *Toxins* . **2020**, *12*, doi:10.3390/TOXINS12050295.
  59. Maduwage, K.; Isbister, G.K. Current Treatment for Venom-Induced Consumption Coagulopathy Resulting from Snakebite. *PLoS Negl. Trop. Dis.* **2014**, *8*, doi:10.1371/JOURNAL.PNTD.0003220.
  60. Khwaja, A. KDIGO Clinical Practice Guidelines for Acute Kidney Injury. *Nephron. Clin. Pract.* **2012**, *120*, doi:10.1159/000339789.
  61. Sarkar, S.; Sinha, R.; Chaudhury, A.R.; Maduwage, K.; Abeyagunawardena, A.; Bose, N.; Pradhan, S.; Bresolin, N.L.; García, B.A.; McCulloch, M. Snake Bite Associated with Acute Kidney Injury. *Pediatr. Nephrol.* **2021**, *36*, 3829–3840, doi:10.1007/S00467-020-04911-X.
  62. Albuquerque, P.L.M.M.; Paiva, J.H.H.G.L.; Martins, A.M.C.; Meneses, G.C.; Da Silva, G.B.; Buckley, N.; Daher, E.D.F. Clinical Assessment and Pathophysiology of *Bothrops* Venom-Related Acute Kidney Injury: A Scoping Review. *J. Venom. Anim. Toxins Incl. Trop. Dis.* **2020**, *26*, doi:10.1590/1678-9199-JVATITD-2019-0076.
  63. Mohan, G.; Guduri, P.R.; Shastry, S.; Kandasamy, D. Thrombotic Microangiopathy in Hematotoxic Snakebites and Its Impact on the Prognosis: An Entity Often Overlooked. *J. Thromb. Thrombolysis* **2019**, *48*, 475–482, doi:10.1007/S11239-019-01868-Z.
  64. Valente-Aguiar, M.S.; Da Costa E Silva, B.G.; Magalhães, T.; Dinis-Oliveira, R.J. Compartment Syndrome Following *Bothrops* Snakebite Leads to Decompressive Fasciotomies. *Case Rep. Med.* **2019**, *2019*, doi:10.1155/2019/6324569.
  65. Houcke, S.; Resiere, D.; Lontsingoula, G.R.; Cook, F.; Lafouasse, P.; Pujo, J.M.; Demar, M.; Matheus, S.; Hommel, D.; Kallel, H. Characteristics of Snakebite-Related Infection in French Guiana. *Toxins* . **2022**, *14*, doi:10.3390/TOXINS14020089.
  66. Davidson, T.M.; Schafer, S.F.; Moseman, J. Central and South American pit vipers. *J Wilderness Med.* **1993**, *4*(4), 416–40.
  67. Diniz-Sousa, R.; Moraes, J.N.; Rodrigues-da-Silva, T.M.; Oliveira, C.S.; Caldeira, C.A. A brief review on the natural history, venomics and the medical importance of bushmaster (*Lachesis*) pit viper snakes. *Toxicon X.* **2020**, *7*.
  68. Rosenthal, R.; Meier, J.; Koelz, A.; Müller, C.; Wegmann, W.; Vogelbach, P. Intestinal Ischemia after Bushmaster (*Lachesis muta*) Snake-

- bite a Case Report. *Toxicon*, **2002**, *40*, 217–220, doi:10.1016/S0041-0101(01)00203-3.
69. Asato, M.S.; Cruz Carbonell, R.C.; Martins, A.G.; Mendonça de Moraes, C.; Chávez-Olórtegui, C.; Apolonia da Costa Gadelha, M.; Pereira de Oliveira Pardal, P. Envenomation by the Rattlesnake *Crotalus durissus ruruima* in the State of Roraima, Brazil. *Toxicon X*, **2020**, *8*, 100061, doi:10.1016/J.TOXCX.2020.100061.
  70. Corbett, B.; Clark, R.F. North American Snake Envenomation. *Emerg. Med. Clin. North Am.* **2017**, *35*, 339–354, doi:10.1016/J.EMC.2016.12.003.
  71. Rodríguez-Vargas, A.; Vega, N.; Reyes-Montaña, E.; Corzo, G.; Neri-Castro, E.; Clement, H.; Ruiz-Gómez, F. Intraspecific Differences in the Venom of *Crotalus durissus cumanensis* from Colombia. *Toxins* **2022**, *14*, 532.
  72. Bisneto, P.F.; Alcântara, J.A.; Mendonça da Silva, I.; de Almeida Gonçalves Sachett, J.; Bernarde, P.S.; Monteiro, W.M.; Kaefer, I.L. Coral Snake Bites in Brazilian Amazonia: Perpetrating Species, Epidemiology and Clinical Aspects. *Toxicon* **2020**, *175*, 7–18, doi:10.1016/J.TOXICON.2019.11.011.
  73. Bucarechi, F.; Hyslop, S.; Vieira, R.J.; Toledo, A.S.; Madureira, P.R.; De Capitani, E.M. Bites by Coral Snakes (*Micrurus* Spp.) in Campinas, State of São Paulo, Southeastern Brazil. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo* **2006**, *48*, 141–145, doi:10.1590/S0036-46652006000300005.
  74. Bisneto, P.F.; Araújo, B. dos S.; Pereira, H. da S.; Mendonça da Silva, I.; Sachett, J. de A.G.; Bernarde, P.S.; Monteiro, W.M.; Kaefer, I.L. Envenomations by Coral Snakes in an Amazonian Metropolis: Ecological, Epidemiological and Clinical Aspects. *Toxicon* **2020**, *185*, 193–202, doi:10.1016/J.TOXICON.2020.07.009.
  75. Hijmans, R.J.; Cameron, S.E.; Parra, J.L.; Jones, P.G.; Jarvis, A. Very High Resolution Interpolated Climate Surfaces for Global Land Areas. *Int. J. Climatol.* **2005**, *25*, 1965–1978, doi:10.1002/joc.1276.
  76. Leroy, B.; Meynard, C.N.; Bellard, C.; Courchamp, F. Virtualspecies, an R Package to Generate Virtual Species Distributions. *Ecography* **2015**, *39*, 599–607, doi:10.1111/ecog.01388.
  77. WCS, W.C.S.-; University, C. for I.E.S.I.N.-C.-C. Last of the Wild Project, Version 2, 2005 (LWP-2): Global Human Footprint Dataset (Geographic) **2005**.
  78. Gollini, I.; Lu, B.; Charlton, M.; Brunsdon, C.; Harris, P. GWmodel: An R Package for Exploring Spatial Heterogeneity Using Geographically Weighted Models. *J. Stat. Softw.* **2015**, *63*, 1–50, doi:10.18637/JSS.V063.I17.
  79. Milborrow, S. Plot “rpart” Models: An Enhanced Version of “Plot.Rpart” **2021**, 25.
  80. Bolar, K. STAT: Interactive Document for Working with Basic Statistical Analysis **2019**.
  81. Ripley, B.; Venables, B.; Bates, D.M.; Hornik, K.; Gebhart, A.; Firth, D. Package ‘MASS’ **2022**, 170.
  82. Rodríguez-Vargas, A.; Franco-Vásquez, A.M.; Bolívar-Barbosa, J.A.; Vega, N.; Reyes-Montaña, E.; Arreguín-Espinosa, R.; Carbajal-Saucedo, A.; Angarita-Sierra, T.; Ruiz-Gómez, F. Unveiling the Venom Composition of the Colombian Coral Snakes *Micrurus helleri*, *M. medemi*, and *M. sangilensis*. *Toxins* **2023**, *15*, 622. <https://doi.org/10.3390/toxins15110622>

# Capítulo 10

## La dosis hace al veneno: Revisión del potencial farmacológico de los venenos de serpiente

Carolina Zona, Teddy Angarita-Sierra, Jaime Andrés Pereañez

**Resumen:** Desde el inicio de la historia humana, ha existido un estrecho vínculo entre las serpientes y las percepciones de la vida y la muerte. Por ello, los venenos de serpiente se han utilizado de muchas formas, como armas hasta remedios medievales. En la actualidad, así como en las antiguas civilizaciones, los venenos de serpiente han sido útiles para descubrir nuevas moléculas y crear medicamentos, como el primer antiveneno o el captopril®. Con el objetivo de brindar un panorama amplio del potencial farmacológico de los venenos de serpiente, realizamos búsquedas en línea durante abril a junio de 2021 siguiendo la metodología Primas y sus recomendaciones. Las propiedades terapéuticas atribuidas a los venenos se pueden agrupar en los siguientes usos farmacológicos: alteraciones del sistema cardiovascular y del sistema nervioso, tratamiento del cáncer, terapia antimicrobiana y el manejo de los trastornos de la coagulación. El potencial terapéutico de los venenos de serpientes colombianas es inmenso y pueden ayudar a generar nuevos tratamientos para múltiples patologías. El uso de tecnologías “ómicas” permitirá identificar más moléculas potenciales en los venenos de serpientes colombianas. Sin embargo, debemos seguir estudiando convencionalmente los componentes del veneno, mientras las tecnologías “ómicas” se puedan realizar de forma masiva y a un costo razonable para los investigadores colombianos.

**Palabras clave:** Venenos de serpiente, actividad farmacológica, descubrimiento de fármacos, aplicaciones medicinales, *Bothrops atrox*, *Crotalus durissus*



Citación: Zona C.; Angarita-Sierra T.; Pereañez JA. Capítulo 10. La dosis hace el veneno: Revisión del potencial farmacológico de los venenos de serpiente. En el libro: *Mordeduras, venenos y serpientes venenosas de Colombia*; Angarita-Sierra T., Ruiz-Gómez FJ, Eds.; Instituto Nacional de Salud: Bogotá D.C., Colombia, 2024; pp. 463–514. doi:10.33610/047673yqihzl



Copyright: © 2024 por los autores. Publicación de acceso abierto bajo los términos y condiciones de licenciamiento Creative Commons Atribución (CC BY-NC-ND 4.0) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Ilustraciones por:  
Oscar A. Ramírez Ruiz

## **1. De las pociones antiguas a los medicamentos modernos: Un breve viaje a través del uso histórico de los venenos en la medicina**

En la historia de la humanidad siempre ha existido un vínculo entre las serpientes y la percepción de la vida y la muerte. De ahí que, los venenos de serpiente hayan sido utilizados de diferentes maneras, desde armas hasta remedios medievales. En algunas lenguas la misma palabra es utilizada para vida y serpiente. Este doble significado explica porque en diferentes culturas las serpientes eran descritas como creaturas sanadoras o como un Dios que da vida [1].

Desde las civilizaciones antiguas, las serpientes han sido vistas como un símbolo de vida y salud. Esto explica porque actualmente las serpientes son el símbolo de la medicina. En las culturas mesoamericanas, Quetzalcóatl (en náhuatl, quetzalli significa «pájaro» y «cóatl» significa serpiente); la serpiente emplumada símbolo de la tierra y el cielo, el tiempo y el espacio, la fertilidad y la creación, además de ser el guardián de la medicina [2]. Actualmente, en la Sierra de Jalisco, México, los curanderos tradicionales de la comunidad Wixárika se mantienen devotos a la serpiente emplumada a través del canto y la danza [2].

En la civilización griega, las serpientes representaban el aire, la tierra y eran ofrendas de Atenea; lo que significaba fecundidad, salud, continuidad, y eternidad. Asimismo, se decía que en los templos de *Asklepios* en Epidaurus, Rhodes, Cnides, y Cos, el toque de la lengua de una serpiente podía curar la ceguera. También se menciona que Aristóteles logró describir las propiedades y usos de los venenos de las serpientes [3]. Por ejemplo, Aristóteles mencionaba que el veneno de algunas víboras producía síntomas sépticos y muerte inmediata; y que la mordedura de otras denominadas «aps» pudría la carne. Él también pensaba que los animales venenosos obtenían su veneno al comerse otros animales venenosos. Finalmente, Aristóteles describe que las comunidades de Egipto y Libia utilizaban estos venenos para matar otros animales y a sus enemigos [4].

En África, los antiguos egipcios creían que el *Ouroboros*, la serpiente que muerde su cola, representaba el ciclo de la vida, la muerte y la resurrección [5]. Esta civilización antigua se refería a las serpientes como *Atoum*, la creadora del aire y la tierra. Además, la cobra dorada (*Naja haje*) llamada *Uraeus* era el símbolo de la vida, la sabiduría y la soberanía [5]. Se dice que Cleopatra estaba muy interesada en los efectos que causan los venenos de las serpientes [6]. Por lo cual, realizó pruebas en prisioneros condenados para ver las diferentes reacciones corporales y encontrar los límites tóxicos [6].

Adicionalmente, comparó los síntomas de envenenamiento entre especies de víboras (especies de los géneros *Cerastes* y *Echis*) y elápidos (especies de los géneros *Naja* y *Walterinnesia*). Posteriormente, esta información cumplió otro propósito cuando decidió suicidarse. Al parecer, después de muchos años de estudiar los síntomas y reacciones de numerosos venenos de serpientes en los cuerpos de prisioneros condenados,

aprendió que la muerte producida por una víbora era mucho más violenta y dolorosa que la producida por los elápidos. Razón por la cual, eligió al *Uraeus* real (*Naja haje*), la cobra de los faraones, y murió a causa de su mordedura silenciosa [6]. Sin embargo, hoy en día la muerte de Cleopatra sigue siendo objeto de controversia. Existen otras teorías, incluidas el asesinato o el suicidio utilizando su conocimiento de plantas venenosas, pero se cree que es altamente probable que su muerte fuera causada por la mordedura de una cobra [6].

Durante el cristianismo y considerando la pésima reputación de las serpientes en la Biblia, es claro por que en Europa el veneno de serpiente no se usaba frecuentemente. Al respecto se encontraron pocas referencias. Una de ellas es un relato del siglo XIX del químico alemán Kekulé (1829-1896), quien en uno de sus sueños vio una serpiente mordiéndose la cola. Posterior al sueño, relacionó la serpiente del sueño con la estructura de los anillos bencénicos (anillos aromáticos compuestos por seis átomos de carbono utilizados en la preparación de tintes o de detergentes) [3].

La fascinación por la toxicidad de los venenos de serpientes ha llevado a la humanidad a usarlo para matar y curar. Sus usos pueden resumirse en dos categorías: como arma para derrotar silenciosamente a los enemigos; y como tratamientos y remedios para curar a los moribundos. Históricamente, las flechas envenenadas son una de las armas más conocidas. Estas armas tienen su origen en la mitología griega y fueron utilizadas por primera vez por Herácles. Además, desde el sur de África hasta Siberia, muchos soldados y guerreros antiguos usaban flechas recubiertas con veneno de serpientes [3].

En el año 326 a.C., Alejandro Magno fue atacado en la India con uno de estos proyectiles letales. Los síntomas descritos por los soldados sugieren que se trataba del veneno de la víbora de Russell (*Daboia russelii*). Luego, en el siglo V a.C., los guerreros escitas utilizaron el veneno como recubrimiento de las puntas de las flechas para matar a los enemigos. Sin embargo, esta cultura fue más allá, exploraron las propiedades curativas del veneno. Algunos escritos antiguos describen la técnica empleada por los escitas para obtener los venenos para crear antivenenos y medicinas [7].

El curandero escita Agari se unió al rey Mitrídates (se menciona más adelante) para investigar los venenos de serpiente. Ellos concluyeron que el veneno podía ingerirse en pequeñas cantidades, pero era letal si ingresaba en el torrente sanguíneo [8]. Además, pensaban que toda sustancia venenosa tenía su antídoto natural. Por lo que comúnmente combinaban ingredientes como canela, miel, ricino, ajo, carbón vegetal, con veneno de serpiente para crear diferentes tratamientos. Dentro de los más comunes, se encuentran el *Electuary* una pasta hecha con miel y una pequeña cantidad de veneno, y el *Theriac* (=Theriacque), conocido como el primer antiveneno. De este último se creía que estimulaba el sistema inmunológico [9]. Finalmente, el veneno de serpiente también se utilizaba para tratar heridas de guerra y hemorragias, debido a sus propiedades anti-coagulantes [10].

El cartaginés Aníbal Barca (247-181 a. C.), general que lideró la lucha contra la República romana durante la Segunda Guerra Púnica, ordenaba a sus soldados arrojar ollas llenas de serpientes a las naves enemigas, causándoles lesiones graves. Sin embargo, este ataque biológico condujo a la creación del primer “antiveneno” al mezclar carne de serpiente con una variedad de componentes y se denominó “*Theriacque*” [7].

En el imperio del Mar Negro en el siglo I a.C., utilizando los enfoques metodológicos de Cleopatra, el rey Mitrídates VI del Ponto (120–63 a. C.), conocido como el primer toxicólogo, formuló un antiveneno universal que contenía una mezcla de toxinas y antidotos. El rey Mitrídates se auto proclamó el creador del antiveneno (*Theriacque*) útil en el tratamiento de intoxicaciones producidas por reptiles venenosos y sustancias tóxicas. También usó como método experimental prisioneros para explorar los antivenenos al someterlos a mordeduras de serpientes [11].

Además, se decía que esta sustancia «*Theriacque*» era capaz de neutralizar todos los venenos de serpientes. Esta técnica asemeja los principios de la inmunización mediante la inoculación de pequeñas cantidades de veneno y, por lo tanto, «preparaba» la respuesta del sistema inmunológico ante la mordedura de una serpiente [12]. Luego, en el año 67 a.C., Mitrídates sufrió una grave herida por el corte de una espada en la pierna, produciéndole un sangrado profuso, dejándolo en riesgo de muerte. Pero uno de sus discípulos logró detener la hemorragia usando veneno de serpiente, salvándole la vida. Este es el primer reporte del uso de venenos de serpiente como coagulante. Este descubrimiento fue utilizado recientemente por científicos en el nuevo campo de la «venómica» [12] (ver Capítulo 5).

Aunque, el «*Theriacque*» se utilizó ampliamente para múltiples enfermedades por las culturas y civilizaciones del mundo antiguo, fue hasta el siglo XVII cuando el famoso boticario francés, Moyse Charas, publicó la fórmula de *Theriacque* acabando así con su monopolio. Actualmente, la fórmula original de *Theriacque* está en desuso. Se puede encontrar en el mercado como un suplemento alimenticio de venta libre que mantiene su nombre, indicando su uso como tratamiento para intoxicaciones alimenticias, para purificar el cuerpo de la brujería, para tratar espasmos digestivos; así como para el trastorno obsesivo-compulsivo y crisis psicológicas [11]. Por favor, no usarlo nunca como antiveneno contra la mordedura de serpientes. Sin embargo, queda bajo su criterio si le es útil en caso de brujería.

Como se puede ver, a lo largo de la historia las guerras antiguas llevaron al desarrollo de varios medicamentos y sustancias curativas que usaban los venenos de serpientes como compuesto activo. Particularmente, se observó un interés casi obsesivo por las serpientes en la literatura médica medieval. Como se mencionó anteriormente, el *Theriacque* fue uno de los primeros antivenenos. Más tarde, esta sustancia fue producida en París, creándose también una nueva, mucho más simple y cuestionable llamada *Orvietan*, y otra llamada *Bezoard*, que contenían hígado y grasa de serpiente, ambas propuestas como la panacea contra los envenenamientos por mordedura de serpiente [3].

Adicionalmente, Lucien Bonaparte en 1843, obtuvo un polvo tóxico llamado *Viperine*. Al precipitar el veneno de *Vipera berus* (víbora común europea) con alcohol y éter, comparó sus efectos con los de las enzimas digestivas [13]. Posteriormente, en 1868, el estadounidense Mitchell aisló la toxina crotalina de las serpientes de cascabel y probó sus efectos en animales, obteniendo como resultado principal que producía parálisis [14]. Algunas décadas más tarde, Pelder propuso que los venenos de serpiente tenían un alto contenido proteico. Luego Wolfenden en 1886 validó esta teoría, obteniendo del veneno de serpiente una sustancia similar a la albúmina. Años después de estos descubrimientos, Martin separó el veneno de *Pseudechis porphyriacus* (serpiente negra de vientre rojo) en dos componentes principales, que al ser inoculados en animales, uno produce hemorragias, mientras que el otro detiene la respiración [14]. Estos hallazgos representan las primeras descripciones de las actividades biológicas de los venenos (Figura 1).

Otro uso importante del veneno fue la inducción de la respuesta inmune en animales. En 1890, Louis Pasteur conoció al médico francés Albert Calmette (1863–1933), quien fue invitado a crear y dirigir el primer Instituto Pasteur en la Indochina francesa teniendo como centro de operaciones la ciudad de Saigón (ahora Ho Chi Minh, Vietnam). Su objetivo fue proteger a la población local contra la rabia y la viruela. El Instituto Pasteur abrió en 1891 y Calmette realizó investigaciones sobre los venenos de serpiente. Sus primeros intentos por inducir una respuesta inmune en animales no fueron exitosos [15-16]. No obstante, en 1894 Calmette inoculó a conejos con veneno de cobra, produciendo una respuesta inmune con la que configuró el primer suero anticobra. Calmette presentó sus resultados a la sociedad francesa de biología en el mismo año [17]. Finalmente, en el Instituto Pasteur en Francia, Calmette inició la producción de suero anticobra para uso terapéutico mediante la inyección de veneno de serpiente en caballos, siguiendo lo sugerido por Sewall para lograr una producción masiva [18].

En América Latina, el pionero en la producción de antivenenos fue Vital Brazil, quien leyó el manuscrito publicado por Calmette y se empeñó en replicar sus resultados con serpientes brasileras [5]. Un año después de la publicación de Calmette, Brazil ingresó al Instituto de Bacteriología y comenzó inmediatamente a inocular animales con pequeñas dosis de venenos de serpientes brasileñas [18,19]. En 1901, Vital Brazil publicó sus hallazgos sobre los venenos de serpiente y dio inicio a la producción de suero [20,21]. En febrero de 1901, el Instituto Butantan fue inaugurado oficialmente bajo el nombre de Instituto de Sueroterapia con Vital Brazil como director [6].

Durante el siglo XX, se aislaron y conocieron los efectos fisiológicos y las composiciones de los venenos de diferentes especies de serpientes. Estos se clasificaron por sus propiedades. Por ejemplo, los venenos de *Naja naja* (cobra común), *Crotalus adamanteus* (serpiente cascabel de diamantes) y *Daboia russellii* (víbora de Russel) tienen efectos depresores y coagulantes. Además, se añadió a los diccionarios farmacológicos un

nuevo término ofiotoxina, el cual hace referencia a las sustancias presentes en los venenos de serpientes [3].

Posteriormente, se realizaron algunos experimentos que demostraron que los venenos de *Crotalus adamanteus*, *Agkistrodon piscivorus* (boca de algodón) y *Naja atra* (cobra china) podrían afectar el sistema nervioso, produciendo parálisis respiratoria. Asimismo, se validó que existen venenos con propiedades coagulantes como los de los vipéridos *Daboia russelii*, *Echis carinatus* (forsa), *Trimeresurus gramineus* (víbora del bambú) y *Crotalus adamanteus*; y los elápidos *Pseudechis porphyriacus* y *Acanthophis antarcticus* (víbora común de la muerte) [3].

En la segunda mitad del siglo XX, Sergio Ferreira reportó que una fracción del veneno de *Bothrops jararaca* (Jararaca) podía inhibir la conversión de angiotensina I a II, potenciando la acción de la bradisinina (ver detalle más adelante). Esta fracción se denominó factor potenciador de bradisinina (BPF) [22]. Simultáneamente, Ferreira se unió al laboratorio de John Vane; y Vane se convirtió en consultor de la farmacéutica Squibb. En paralelo, pero de forma independiente, Ferreira et al. [23], y Ondetti et al. [24] otro investigador de Squibb, continuaron investigando para obtener información más precisa sobre BPF, lo que condujo al aislamiento y caracterización de los péptidos activos de la fracción [23,24].

Estos péptidos no tenían suficiente potencial para ser un producto farmacéutico ya que carecían de estabilidad oral y su producción masiva era costosa. Además, Cushman et al. [25] publicaron la caracterización de algunos análogos de los péptidos originales, así como de la región específica que se une al sitio activo de la enzima convertidora de angiotensina I (ACE-I), bloqueando la conversión de angiotensina II y provocando vasodilatación. Posteriormente, Squibb invirtió millones de dólares para generar una forma oralmente activa del fármaco, así como en estudios clínicos y en animales. Finalmente, a principios de la década de 1980, la agencia estadounidense que aprueba las licencias de producción y venta de medicamentos (Food and Drug Administration, FDA) aprobó el Captopril® como fármaco para el tratamiento de la hipertensión. Esto permitió dar tratamiento y evitar las secuelas de la hipertensión arterial como lo son el daño renal, infarto, encefalopatía, entre otros [26].

Entre los años 1980 a 2000, se utilizaron dos desintegrinas derivadas de veneno de serpiente como compuestos principales para el desarrollo de dos fármacos antitrombóticos (Eptiftibatide, Integrilin®, Millenium Pharmaceuticals) y Tirofiban (Agrastat®, Merck & Co) [27]. Actualmente, las toxinas del veneno de serpiente han demostrado múltiples actividades biológicas, como lo son la acción antitumoral, antibacteriana, antiviral, hipotensora, anticoagulante, entre otras [28–30]. Asimismo, los venenos de serpientes se han empleado como herramientas en la investigación biomédica. Por ejemplo, algunas toxinas han sido esenciales para describir cómo funcionan los receptores de membrana celular o el modo de acción de las enzimas. Asimismo, las proteínas del veneno de serpiente son empleadas como reactivos esenciales en la química clínica [28,31].

Por lo tanto, disciplinas como la bioquímica, la fisiología, la farmacología y la inmunología aportan nuevos conocimientos sobre estas toxinas, particularmente sobre su estructura, efectos y reacciones sobre los sistemas orgánicos. Este conocimiento permite la síntesis de principios activos y fármacos mucho más selectivos y efectivos. Desde esta perspectiva, los venenos de serpientes son una fuente esencial de componentes moleculares que pueden modular varios procesos fisiológicos. Hoy en día, existe una variedad de principios activos derivados de los venenos de serpientes. Estos se pueden clasificar por sus efectos, como anticancerígenos, anticoagulantes, manejo del dolor, antibióticos, antihipertensivos, entre otros (Figura 2). Este capítulo aborda el asombroso potencial terapéutico y el uso biomédico de las toxinas del veneno de serpiente.

## 2. Rol farmacológico de los venenos de serpiente

El conocimiento sobre las propiedades farmacológicas de los venenos de serpiente ha surgido con el avance de la ciencia y la tecnología. Actualmente, se pueden encontrar gran variedad de principios activos derivados de estas sustancias. Los venenos de serpiente son una mezcla de sustancias activas, entre ellos enzimas, proteínas y péptidos (ver Capítulo 5). Los principales componentes de los venenos incluyen alrededor de 19 familias de proteínas, como las fosfolipasas  $A_2$ , proteasas de serina, metaloproteinasas, lectinas, L-aminoácido oxidasas, factores potenciadores de bradicinina, factores natriuréticos y antagonistas de integrinas, entre otros [32]. Además, estas sustancias tienen actividades biológicas con potencial terapéutico al interactuar con receptores endógenos (p. ej., receptores de membrana celular acoplados a proteína G y canales iónicos, entre otros), proteínas de membrana y factores de coagulación; afectando el sistema neuromuscular, cardiovascular, la coagulación sanguínea, así como causando alteraciones importantes en el organismo [33].

Adicionalmente, la especificidad, afinidad y selectividad de sus toxinas, ofrecen una excelente oportunidad para nuevas intervenciones farmacológicas, con mecanismos de acción más efectivos, menores interacciones negativas y efectos adversos. Estas características son esenciales en la elaboración del «fármaco ideal», el cual podría producirse a partir del veneno de serpiente [34]. Actualmente, existen numerosos nuevos fármacos para uso humano derivado de sus toxinas con efectos antihipertensivos, antitrombóticos, anticoagulantes, antivirales, analgésicos, neuromoduladores y fibrinolíticos (Tabla 1). Aunque estas toxinas son útiles como fármacos, también pueden ser útiles en el diagnóstico y estudios de mecanismos celulares [35].

Las propiedades terapéuticas atribuidas a los venenos se pueden agrupar en los siguientes usos farmacológicos: primero, alteraciones del sistema cardiovascular y del sistema nervioso; y otras indicaciones, como el tratamiento del cáncer, la terapia antimicrobiana, el manejo de los trastornos de la coagulación, etc. Estas propiedades terapéuticas se abordarán en las siguientes secciones (Figura 2).

# LÍNEA DE TIEMPO USOS DEL VENENO

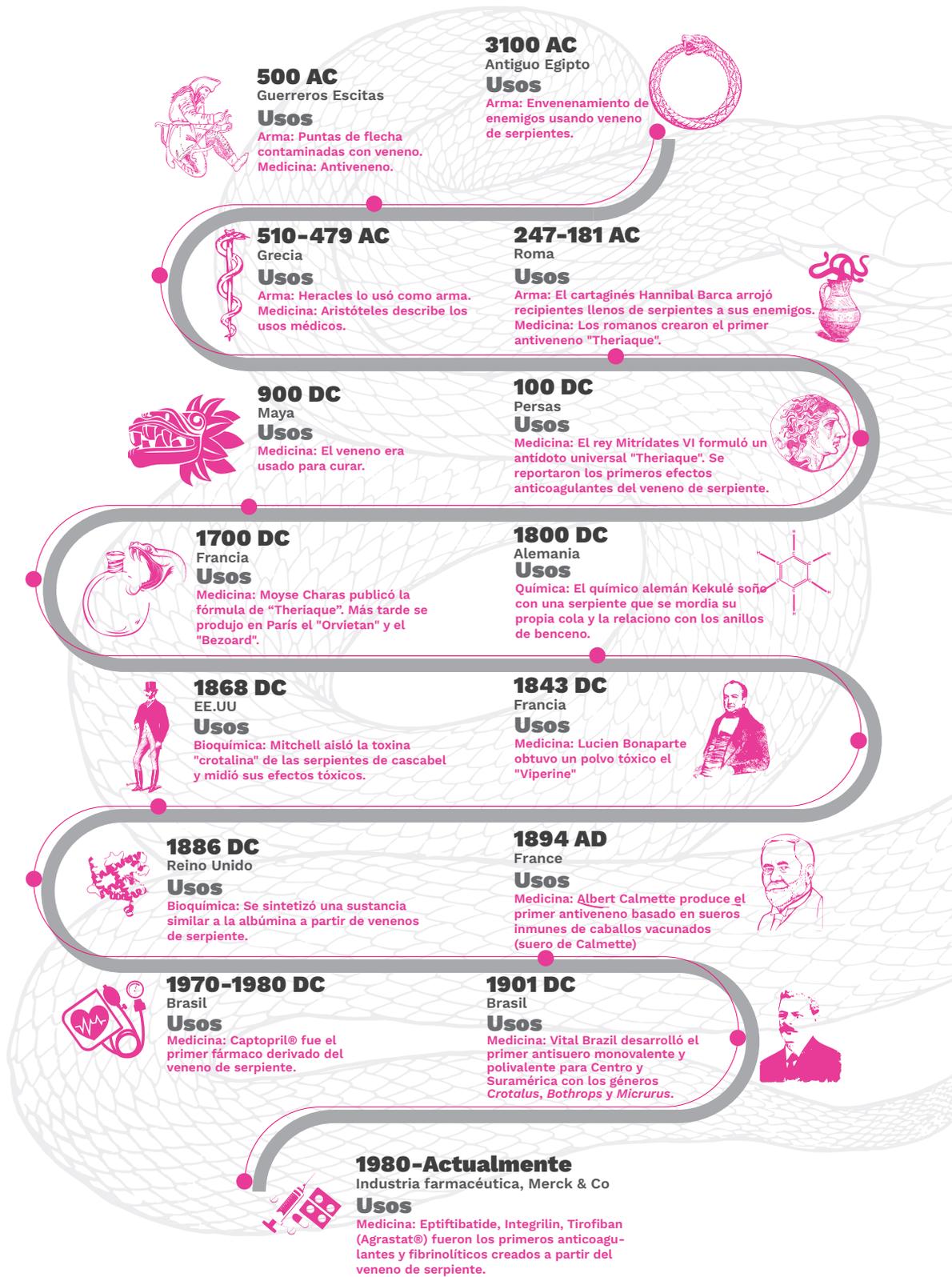


Figura 1. Infografía de línea de tiempo que muestra los principales usos del veneno de serpiente a lo largo de la humanidad.

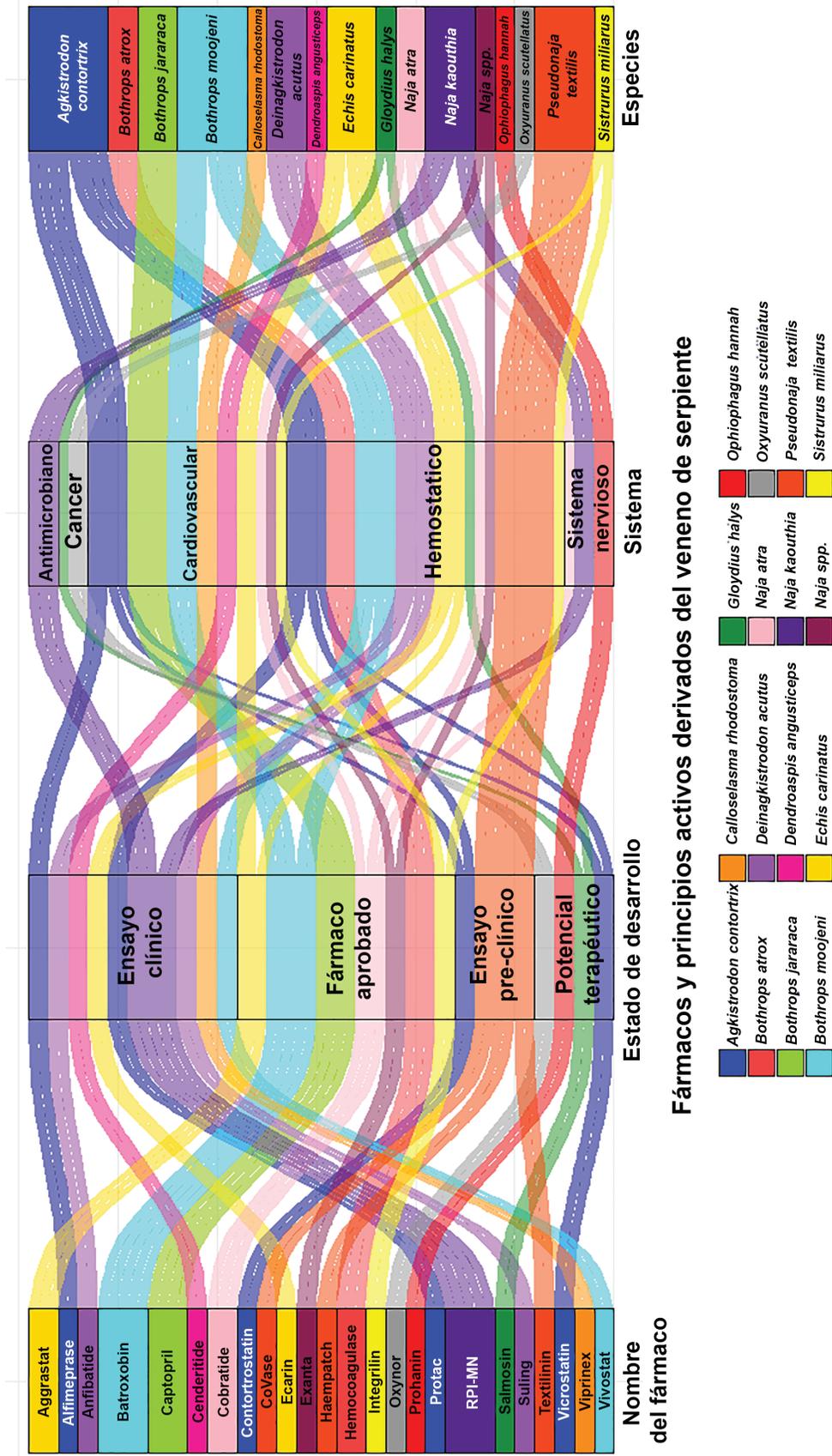


Figura 2. Diagrama aluvial que representa la relación entre los fármacos o compuestos actídrogas, el veneno de serpiente, los sistemas humanos y el estado de desarrollo del farmacológico.

**Tabla 1.** Actividades biológicas de algunas toxinas del veneno de serpiente y su potencial farmacológico.

Toxina	Actividad biológica	Potencial	Referencias
PLA <sub>2</sub>	Miotoxicidad, neurotoxicidad, modulación de la agregación plaquetaria, anticoagulación, formación de edema e hipotensión	Actividad citotóxica, antiviral y antibacterial	[36–40]
SVMPs	Hemorragia, miotoxicidad, formación de ampolla y dermonecrosis	Activación de los factores de coagulación V y X	[41–43]
SVSPs	Alteraciones hemostáticas e hipotensión	Hidrólisis de los coágulos sanguíneos, accidente cerebrovascular isquémico y reactivos en química clínica	[44–46]
LAAOs	Hemorragia, formación de edema y modulación de la agregación plaquetaria	Actividad antibacterial, antileishmania, antiviral y citotoxicidad	[47,48]
Desintegrinas	Inhibición de la agregación plaquetaria	Agentes anticáncer y antitrombóticos	[27,49]
Lectinas	Alteraciones hemostáticas y respuesta inflamatoria	Agentes anticáncer y antitrombóticos	[46,50]
3FTxs	Neurotoxicidad, cardiotoxicidad, desórdenes hemostáticos e interacción con los canales iónicos	Actividad analgésica y agentes útiles en el estudio de la estructura y función de receptores muscarínicos (receptores parasimpáticos)	[51–53]

Para conocer el mecanismo de acción de estas toxinas, consulte el Capítulo 5 de este libro. El potencial biológico se describirá en este capítulo.

### **Sistema cardiovascular**

Las alteraciones del sistema cardiovascular son unas de las enfermedades más frecuentes a nivel mundial. Estas incluyen presión arterial alta, enfermedades isquémicas cardíacas y enfermedades cerebrovasculares. Por ejemplo, entre las causas frecuentes de muertes naturales en hombres y mujeres en Colombia las cardiopatías isquémicas ocupan el 36,9 %, seguidas por enfermedades cerebrovasculares (14,7 %), e hipertensión (8,2 %) [54].

Considerando la gran variabilidad de la etiología y los mecanismos involucrados en la aparición de estas patologías, su manejo representa un desafío para los sistemas de salud. Algunas de estas enfermedades están asociadas a lesiones en los vasos sanguíneos, dislipidemias, insuficiencia cardíaca, alteraciones del ritmo y frecuencia cardíaca, y aterosclerosis, etc. [55]. Además, la aparición de estas patologías puede estar ligada a factores de riesgo genéticos o externos, así como a los hábitos de cada persona. Esto significa que el manejo de estas patologías requiere una amplia gama de medicamentos específicos para tratar la condición particular que dio lugar a la patología [55].

La hipertensión arterial sistémica es una condición crónica caracterizada por una alteración vascular que provoca presión arterial anormalmente alta. Esta enfermedad conduce a eventos vasculares aterotrombóticos (p. ej. infarto agudo de miocardio, evento cerebrovascular, etc.), insuficiencia cardíaca o insuficiencia renal. Sin embargo, en la mayoría de los casos no se logra identificar la causa y requiere un tratamiento crónico que incluye diferentes mecanismos [56,57].

En general, el abordaje para el tratamiento de la hipertensión involucra cambios en el tono vascular y el volumen sanguíneo. Esto se puede lograr inhibiendo o bloqueando los efectos de las sustancias vasoconstrictoras (p. ej., adrenalina, noradrenalina, vasopresina, angiotensina II, aldosterona, hormona antidiurética) o potenciando la acción de los agentes vasodilatadores (p. ej., óxido nítrico, histamina, bradiginina, sustancia P y péptido intestinal vasoactivo) [58]. Para modificar el volumen sanguíneo se utilizan medicamentos diuréticos. Dependiendo del fármaco seleccionado, estos medicamentos producen eliminación de agua y algunos electrolitos (sodio, potasio, magnesio, calcio, entre otros) [58].

#### *Péptidos potenciadores de bradiginina (BPP)*

Como se mencionó anteriormente, el Captopril® fue el primer fármaco aprobado por la FDA derivado del péptido potenciador de bradiginina del veneno de serpiente (*Bothrops jararaca*; Tabla 2). Desde entonces se han sintetizado una gran variedad de fármacos que pertenecen al grupo de los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina [26]. Los péptidos potenciadores de bradiginina están presentes en venenos de vipéridos y elápidos de géneros como *Agkistrodon*, *Bitis*, *Bothrops*, *Crotalus*, *Lachesis*, *Hydrophis*, *Oxyuranus*, y *Pseudonaja* [59].

El péptido potenciador de bradiquinina actúa como inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina (ECA), siendo uno de los grupos de moléculas más utilizados para tratar la hipertensión ya que produce la relajación de los vasos sanguíneos y una disminución del volumen sanguíneo [60]. Además, previenen la conversión de angiotensina I a angiotensina II, impidiendo su efecto vasoconstrictor, así como la retención de sodio y agua. Esta inhibición también potencia los efectos vasodilatadores y antifibróticos de la bradiginina, que se acumula cuando se inhibe la ACE. Este efecto es especialmente importante en pacientes con enfermedad renal [60]. Asimismo, se han observado efectos citoprotectores de fármacos derivados de BPP en el músculo cardíaco, los cuales podrían ser beneficiosos en insuficiencia cardíaca e infarto agudo de miocardio [60].

Los beneficios del BPP no se limitan a actuar como inhibidores de la ECA. Estos péptidos promueven la síntesis de óxido nítrico (agente vasodilatador endógeno). Además, la BPP puede unirse a los receptores muscarínicos M1 provocando vasodilatación al activar la respuesta del sistema parasimpático [61]. Esto conduce a una disminución sostenida de la presión arterial y a una posible nueva molécula para tratar la hipertensión [26].

Adicionalmente, BPP afecta el sistema nervioso central y modifica la liberación de neurotransmisores como GABA y glutamato. Estos efectos neurológicos podrían modular funciones autonómicas como la presión arterial, la frecuencia cardíaca y la liberación de neurotransmisores. Aunque se necesitan más estudios, estos hallazgos ofrecen nuevas oportunidades para tratar la hipertensión y otras afecciones autonómicas [26].

Gouda et al. [62] plantean la hipótesis de que un fármaco derivado de estos BPP podría ser eficaz para el tratamiento de la COVID-19, dado el rol de la ECA en el mecanismo de replicación del virus. La evidencia sugiere que el virus podría alterar la función de la ECA, afectando la producción de bradicinina. Por lo tanto, inhibir la ECA con BPP de los venenos de serpiente podría resultar en un fármaco eficaz para tratar la COVID-19. Aunque esta hipótesis requiere más evidencia, los procesos fisiológicos demuestran plausibilidad biológica [62].

#### *Péptidos natriuréticos*

Los péptidos natriuréticos (péptido natriurético auricular, péptido natriurético cerebral, y péptido natriurético tipo C) son agentes vasoactivos que provocan la alteración de la permeabilidad vascular, aumento de la capacitancia venosa (la capacidad de las venas para almacenar sangre), inhibición del sistema renina-angiotensina-aldosterona (encargado de regular la retención y eliminación de sodio y agua, tono vascular, etc.), diuresis y natriuresis. En otras palabras, los péptidos natriuréticos tienen un rol importante en la regulación del tono vascular, la retención o eliminación de agua y sodio, mediante la modificación de diferentes mecanismos [61].

Recientemente, se han encontrado péptidos natriuréticos en el veneno de la serpiente *Dendroaspis angusticeps* (mamba verde). Este péptido provoca vasodilatación estimulando la guanilato ciclasa y los canales de calcio en los miocitos aórticos, lo que provoca la relajación del músculo liso vascular [46,61]. Asimismo, se han aislado péptidos natriuréticos del veneno de *Crotalus oreganus* (serpiente de cascabel del Pacífico Norte), mostrando un efecto vasodilatador al aumentar la producción de óxido nítrico al estimular los canales de potasio. Estos péptidos también se pueden encontrar en el veneno de especies diversas y no relacionadas, como *Bungarus flaviceps* (krait de cabeza roja), *Bungarus multicinctus* (krait bandeada), *Crotalus durissus* (cascabel suramericana), *Lachesis muta* (verrugoso amazónico), *Micrurus corallinus* (coral pintada), *Oxyuranus microlepidotus* (taipan de tierra adentro), *Pseudonaja textilis* (serpiente marrón oriental), *Pseudechis australis* (serpiente mulga), *Pseudocerastes persicus* (Víbora persa cornuda), y *Protobothrops flavoviridis* (serpiente habu) [46,59].

A pesar de las diferentes fuentes de veneno de serpiente, los péptidos natriuréticos tienen los mismos efectos vasodilatadores, lo que permite estudiar y sintetizar esta molécula utilizando diferentes especies. Los medicamentos derivados de este péptido se pueden utilizar para tratar patologías del sistema cardiovascular dado que sea demostrado un efecto vasodilatador y citoprotector sobre las células cardíacas. Estas propie-

dades benefician a los pacientes con insuficiencia cardíaca congestiva y cardiopatía isquémica [46,61,63].

#### *Bloqueadores de los canales de calcio*

El calcio juega un papel esencial en la contracción muscular. Cuando este ión se libera a través de los canales de calcio, la actina y la miosina interactúan para producir la contracción muscular. Aunque existen diferentes tipos de canales de calcio (por ejemplo, T, L, N, P, Q, R), algunas moléculas del veneno de serpiente como las proteínas 3FTx y PLA<sub>2</sub> actúan específicamente en los canales de tipo L y T [40]. Por otro lado, las funciones cardiovasculares del canal de calcio tipo L incluye la contracción del músculo liso y la función de marcapasos del músculo cardíaco. Los canales de calcio tipo T están implicados en el potencial de acción de los miocitos cardíacos [38]. Al bloquear los canales de calcio (tipo L), se impide el transporte de calcio en el músculo cardíaco y en el músculo liso vascular, lo que provoca vasodilatación, disminución de la frecuencia cardíaca y contractibilidad cardíaca. Esto es especialmente útil para controlar la presión arterial alta, la angina de pecho, las arritmias y la insuficiencia cardíaca [64].

Considerando la importancia de que los medicamentos sean altamente selectivos, las toxinas del veneno de serpiente representan una gran oportunidad para desarrollar medicamentos altamente selectivos dirigidos a los canales de calcio. Este desarrollo evitaría los efectos adversos de los fármacos actualmente disponibles en el mercado, los cuales presentan una muy baja selectividad frente a múltiples alteraciones cardiovasculares y neurológicas. Por ejemplo, las proteínas 3FTx como la calciseptina, toxina FS2, C10S2C2 y S4C8 derivadas de venenos de serpientes elápidas, han mostrado una alta selectividad al unirse y bloquear los canales de calcio de tipo L.

Además, los principios activos sintetizados a partir de estas toxinas pueden utilizarse para tratar otras enfermedades del sistema cardiovascular mencionadas previamente. Por lo tanto, estas toxinas tienen un alto potencial de sustituir a fármacos como el amlodipino o el verapamilo (bloqueantes de los canales de calcio), entre otros; evitando efectos adversos como las palpitaciones, hipotensión, edemas en pies y tobillos, fatiga, vértigo, cefaleas, somnolencia, náuseas, dispepsia y boca seca [63].

#### *Receptores adrenérgicos*

Los receptores adrenérgicos son receptores de membrana acoplados a proteínas G responsables de las respuestas simpáticas a la adrenalina. Esto significa que tienen un papel clave en la regulación de la frecuencia cardíaca, la contracción cardíaca, tono vascular, lipólisis, liberación de insulina, broncodilatación, función renal, entre otros. Estos receptores se dividen en  $\alpha$  y  $\beta$  con 9 subtipos (seis para  $\alpha$ 1A,  $\alpha$ 1B, y  $\alpha$ 1D;  $\alpha$ 2A,  $\alpha$ 2B,  $\alpha$ 2C; y tres para  $\beta$ 1,  $\beta$ 2 y  $\beta$ 3). Los receptores adrenérgicos están presentes en varios tejidos e intervienen en diferentes respuestas simpáticas fisiológicas [65].

En los tejidos cardiovasculares, los receptores  $\alpha$ 1,  $\alpha$ 2 y  $\beta$ 2 están presentes principalmente en las células del músculo liso de los vasos sanguíneos [65]. De igual manera, los  $\alpha$ 1 y  $\beta$ 1 también se encuentran en el

músculo cardíaco. La activación de los receptores  $\beta$  conduce al aumento de la frecuencia cardíaca, así como al incremento de la contractilidad y velocidad de conducción cardíaca. Los receptores  $\alpha 1$  también aumentan la contractilidad cardíaca, provocando vasoconstricción, mientras que los  $\beta 2$  producen relajación del músculo liso. Como resultado, medicamentos como los bloqueadores beta (p. ej., propranolol, carvedilol, metoprolol, entre otros) en combinación con otros tratamientos, se usan ampliamente en patologías como angina de pecho, insuficiencia cardíaca congestiva, hipertensión, arritmias cardíacas, infarto de miocardio, taquicardia, enfermedad cardíaca coronaria, migraña, ansiedad y temblor esencial [65].

Por lo tanto, algunas  $\beta$ -cardiotoxinas (3FTx) del veneno de *Ophiophagus hannah* (cobra real) se han caracterizado por la unión o bloqueo de los receptores  $\beta 1$  y  $\beta 2$  provocando disminución de la frecuencia cardíaca, mostrando su utilidad en enfermedades cardiovasculares como insuficiencia cardíaca, alteraciones en el ritmo y cardiopatías isquémicas; pero careciendo de los efectos hemolíticos y líticos observados en los fármacos utilizados actualmente. Asimismo, las toxinas AdTx1 y UniProtKB P85092 (3FTx de elápidos) son bloqueadores de los receptores  $\alpha 1$  y podrían utilizarse como vasodilatadores [35,46]. Adicionalmente, toxinas como UniProtKB COHJR1, UniProtKB y COHJR2 (3FTx) presentes en el veneno de *Micrurus mipartitus* (rabo de ají) han demostrado modular el neurotransmisor GABA, reduciendo la presión arterial y la frecuencia cardíaca mediante un mecanismo central [63].

Finalmente, algunas cardiotoxinas como las que se encuentran en el veneno de *Ophiophagus hannah* aumentan la frecuencia cardíaca. Se sabe que estas sustancias causan perturbaciones en la membrana celular y tienen factores líticos. También se denominan citotoxinas y se han estudiado para el tratamiento del cáncer, así como tener algunas propiedades antimicrobianas (esto se abordará más adelante) [35].

### **Sistema nervioso**

Algunos venenos de serpientes contienen componentes neurotóxicos que interrumpen la comunicación entre el axón y la placa motora, produciendo inmovilización y pérdida de coordinación en la presa. Además, estos agentes neurotóxicos actúan sobre mecanismos fisiológicos que son importantes en la neurotransmisión, como los receptores de canales iónicos en las membranas celulares [34,66]. Efectos fatales como parálisis muscular se pueden encontrar tanto en Viperidae (especies de cascabeles del género *Crotalus*) como en Elapidae (serpientes marinas: Hydrophiinae; especies de corales del género *Micrurus*). Los venenos de las serpientes elápidas son principalmente ricos en PLA<sub>2</sub> y 3FTx, potentes neurotoxinas que interfieren en la transmisión neuromuscular a nivel presináptico o postsináptico [32,67].

#### *Neurotoxinas presinápticas*

Los efectos presinápticos se atribuyen principalmente a las  $\beta$ -neurotoxinas. Estas actúan a través de la inhibición de la liberación de acetilcolina al eliminar sus vesículas, lo que resulta en un bloqueo de la transmisión neuromuscular sin interferir con la sensibilidad de la placa motora a la

acetilcolina (ACh) [66,68]. Esta característica es útil, ya que un fármaco sintetizado a partir de estas toxinas podría ser un buen candidato para reemplazar los bloqueadores neuromusculares disponibles actualmente (p. ej., despolarizantes: succinilcolina; no despolarizante: rocuronio, vecuronio, atracurio, cisatracurio, mivacurio). Asimismo, estos nuevos fármacos podrían evitar los efectos secundarios habituales como la inestabilidad hemodinámica (taquicardia, bradicardia, hipertensión o hipotensión); broncoespasmo, hipertermia maligna, hiperpotasemia, alteración de la transmisión neuromuscular, lesiones musculares y sus interacciones [67,69].

#### *Neurotoxinas postsinápticas*

Por otro lado, las  $\alpha$ -neurotoxinas tienen actividad postsináptica, bloqueando de forma reversible los receptores colinérgicos. También, estas toxinas se unen a los receptores nicotínicos de acetilcolina postsinápticos, impidiendo la apertura de los canales iónicos e interrumpiendo la transmisión neuromuscular en la placa motora [66,68]. Este mecanismo ha sido útil para dilucidar la fisiopatología de algunas enfermedades neuromusculares como la miastenia gravis que causa debilidad en los músculos esqueléticos, la cual empeora después de períodos de actividad y mejora después de períodos de descanso [68].

#### *Toxinas analgésicas*

Otro uso de la interacción entre estas neurotoxinas y las vías colinérgicas es un efecto beneficioso antinociceptivo, útil en el tratamiento del dolor crónico. Por ejemplo, la toxina de cobra aislada del veneno de *Naja naja* (cobra común) tiene propiedades analgésicas. Esta toxina es un ligando específico para el receptor colinérgico  $\alpha 1$  nAChR $\alpha 1$ , que causa efectos analgésicos por una vía no dependiente de opioides [35,53]. Asimismo, la toxina de cobra se une con alta afinidad al nAChR $\alpha 7$ , produciendo el mismo efecto. Se ha reportado que esta toxina podría reemplazar a la morfina, ayudando a controlar el síndrome de abstinencia que causa este fármaco [70]. Actualmente, se está estudiando la posible actividad analgésica de la  $\alpha$ -neurotoxina de la *Ophiophagus hannah* (cobra real). De igual manera, la crotamina de *Crotalus durissus* (serpiente cascabel sudamericana) ha demostrado un efecto antinociceptivo más potente que el de la morfina [33,67,71].

Por otra parte, las neurotoxinas (dendrotoxina) del veneno de *Dendroaspis angusticeps* (mamba verde) se unen selectivamente a los receptores muscarínicos de acetilcolina. Los receptores muscarínicos tienen un papel fundamental en el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer y el Parkinson. El bloqueo selectivo de estos receptores podría ayudar a restablecer el movimiento normal en estas enfermedades [71,72]. Asimismo, la toxina (Glu-Val-Trp) del veneno de *Bothrops atrox* (mapaná o talla X) ha mostrado propiedades neuroprotectoras y pro-neuroplásticas. En particular, los cultivos de células dopaminérgicas tratadas con esta toxina han mostrado una disminución significativa de la viabilidad celular. Este efecto tiene el potencial de tratar la degeneración neuronal patológica, siendo potencialmente útil en las terapias utilizadas para las enfermedades de Alzheimer y Parkinson [73].

Tabla 2. Fármacos o principios activos aprobados por la FDA para su uso en humanos.

Medicamento	Mecanismo	Fase	DP	Sistema	Indicación	Origen	Referencia
Captopril	Inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina (IECA)	Aprobado por FDA	Si	Cardiovascular	Hipertensión, insuficiencia cardíaca congestiva, infarto de miocardio y neuropatía diabética	<i>Bothrops jararaca</i>	[29,32,35]
Aggrastat (Tirofiban)	Inhibidor de la glicoproteína IIb/IIIa	Aprobado por FDA	Si	Cardiovascular, hemostático	Infarto de miocardio, Enfermedad coronaria aguda, y terapia antitrombótica	<i>Echis carinatus</i>	[29,61,71]
Integrilin (Eptifibatide)	Inhibidor de la glicoproteína IIb/IIIa	Aprobado por FDA	Si	Cardiovascular, hemostático	Enfermedad coronaria aguda y terapia antitrombótica	<i>Sistrurus miliaris</i>	[29,33,35]
Defibrase/Reptilase (Batroxobin)	Convierte el fibrinógeno en fibrina	Aprobado por FDA	No	Cardiovascular, hemostático	Evento cerebrovascular, tromboembolismo pulmonar, trombosis venosa profunda e infarto de miocardio	<i>Bothrops atrox</i> y <i>B. moajeni</i>	[32,33,71]
Hemocoagulase	Cataliza los coágulos sanguíneos	Aprobado por FDA	No	Hemostático	Cirugía plástica, cirugía abdominal, y vitrectomía humana	<i>Bothrops atrox</i>	[33,35,74]
Exanta (Ximelagatran)	Inhibidor directo de trombina	Aprobado por FDA	No	Cardiovascular, hemostático	Complicaciones tromboembólicas de la fibrilación auricular	Pool de venenos de Cobra ( <i>Naja spp</i> )	[29,32,74]
Cobratide (Ketongning, cobratoxin)	Bloqueo de los receptores nicotínicos	No está aprobado por la FDA, pero está disponible para su uso en China	No	Cardiovascular, hemostático, Sistema nervioso	Ciática crónica, artralgia crónica, cefalea neuropática	<i>Naja kaouthia</i> <i>Naja atra</i>	[29,32,71]

DP: Disponible en Colombia

**Cáncer**

El cáncer es una de las enfermedades más comunes en el mundo. En Colombia, según el Ministerio de Salud y Protección Social, para el año 2020 la incidencia fue de 182 casos por cada 100.000 habitantes. La detección temprana y tratamiento adecuado reducen dramáticamente la mortalidad, por tal razón, para los sistemas de salud la medicina preventiva y la creación de nuevos tratamientos son una prioridad [75].

Por definición, el cáncer es un desorden celular, en cual las células se dividen de forma anormal, formando lesiones que crecen deteriorando los tejidos circundantes, utilizando los recursos energéticos del cuerpo y afectando negativamente la fisiología [76]. Este proceso se denomina carcinogénesis [76]. Además, las células cancerosas pueden migrar desde su tejido original invadiendo otros sistemas, provocando un crecimiento anormal en cualquier sitio. Este proceso se conoce como metástasis [77]. El crecimiento desbordado de estos tejidos anormales produce alteración que con el paso del tiempo compromete el funcionamiento normal de los sistemas del organismo, provocando complicaciones y la muerte en algunos casos [78].

En general, el crecimiento desbordado de las células se debe a una alteración genética, como resultado de la interacción entre los factores genéticos del paciente y agentes externos, tales como: carcinógenos físicos como la radiación ultravioleta e ionizante; carcinógenos químicos como el asbesto, componentes del humo del tabaco, aflatoxinas (contaminantes en los alimentos) y arsénico (contaminantes en el agua potable); y carcinógenos biológicos como virus, bacterias y parásitos [79]. El daño genético o las mutaciones provocadas por estos factores permiten que las células se dividan a mayor velocidad, generando clones con la misma mutación o daño. Posteriormente, las células «hijas» acumulan diversas mutaciones que les permiten crear diferentes tipos de clones. Estas tienen una mayor capacidad de crecimiento y proliferación, en comparación con las células sanas [80].

En condiciones normales, el sistema inmunológico puede controlar las células tumorales mediante un proceso denominado inmunovigilancia tumoral. Sin embargo, algunos clones tienen la capacidad de evadir los mecanismos de control, causando neoplasia (aumento en el número de nuevas células) [81]. También, algunas alteraciones en el sistema inmunológico pueden provocar desequilibrios entre los procesos de proliferación y reproducción celular, así como entre los mecanismos de control del crecimiento y la apoptosis (mecanismo programado de muerte celular) [82].

Por lo tanto, los procesos celulares involucrados en el cáncer son la señalización de proliferación sostenida, la evasión de supresores de crecimiento, la evasión de destrucción inmune, la evasión de la apoptosis, y la consecución de inmortalidad replicativa.

Asimismo, en estados avanzados de la enfermedad, se produce la inducción de angiogénesis (nuevos vasos sanguíneos que alimentan el tu-

mor), invasión y metástasis, mutación e inestabilidad genómica, inflamación promovida por el tumor, y la desregulación de la energía celular [83]. De ahí que el tratamiento del cáncer se centre en interrumpir los procesos de replicación celular, por medio de mecanismos como la alteración del entorno de la célula cancerosa, activación de procesos de muerte celular (apoptosis, autofagia, necrosis), o señalización para alertar al sistema inmunológico de la presencia del tumor [84,85].

Aunque la patología por sí sola causa daño significativo en el cuerpo, los tratamientos como la quimioterapia, la radioterapia e inmunoterapia, en la mayoría de los casos, también lesionan varios sistemas del cuerpo [86]. Adicionalmente, estas intervenciones médicas inhiben el crecimiento o causan la muerte de células sanas, produciendo efectos secundarios importantes (pérdida de cabello, uñas débiles, sangrado, fallas en otros sistemas como el riñón, el hígado, etc.). Dada la dificultad de producir fármacos más selectivos, actualmente existe un gran interés en encontrar fármacos específicos para tratar cada tipo de cáncer conocido [86].

Actualmente, se han creado fármacos más seguros para pacientes con cáncer al mejorar su selectividad y especificidad. Como se mencionó anteriormente, las toxinas del veneno de serpiente son candidatas prometedoras para lograr este objetivo. Numerosas investigaciones han demostrado que estas toxinas pueden provocar un efecto lítico directo sobre las células tumorales o alterar el entorno creado por el tumor para su supervivencia (p. ej., angiogénesis). Además, algunas toxinas desencadenan una respuesta inflamatoria que ayuda a alertar al sistema inmunológico sobre la presencia del tumor [87–90]. Varios estudios han demostrado que las toxinas del veneno de serpiente tienen una eficacia específica contra diferentes tipos de cáncer, como el cáncer de cuello uterino, cáncer de mama, cáncer de páncreas y cáncer de ovario [91–95]. A continuación, describimos brevemente la acción anticancerígena conocida de las toxinas del veneno de serpiente.

#### *Fosfolipasa A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>)*

Entre las toxinas presentes en los venenos de víboras sudamericanas como *Bothrops asper*, *B. jararacussu*, *B. pauloensis* y *B. moojeni* se ha encontrado que las toxinas PLA<sub>2</sub> son útiles para combatir el cáncer [84,87,89]. En particular, la actividad antitumoral de PLA<sub>2</sub> está dada por su citotoxicidad, su capacidad de hidrólisis de fosfolípidos y movilización de ácido araquidónico, lo que resulta en la inhibición del crecimiento tumoral, daño en el ADN, apoptosis, autofagia y supresión de metástasis (Tabla 3). Además, estas propiedades interfieren con la proliferación vascular, afectando la angiogénesis tumoral [88,96].

La crotoxina (un tipo de PLA<sub>2</sub>) del veneno de la serpiente de cascabel sudamericana (*Crotalus durissus*) ha mostrado actividad citotóxica específica contra las células cancerígenas [87,96]. Esta toxina interfiere con el receptor del factor de crecimiento epidérmico que es altamente selectivo. En algunos ensayos de fase I y II, la crotoxina mostró una reducción de la enfermedad en diferentes tipos de cáncer, como el cáncer de mama, melanoma y leucemia [88–90,95].

### *Cardiotoxina-3*

Como se describió anteriormente, la cardiotoxina presente en el veneno de algunos elápidos tiene propiedades citotóxicas útiles en el tratamiento del cáncer. Esta induce la muerte celular apoptótica y regula los procesos de proliferación [89]. Adicionalmente, algunos estudios han reportado que la cardiotoxina activa la apoptosis en el retículo endoplásmico y en la vía mitocondrial, siendo eficaz como fármaco antineoplásico [88]. Actualmente, la molécula VRCTC-310-Onco, compuesta por crotolina de *Crotalus durissus* y cardiotoxina *Naja atra*, está siendo probada en cáncer de piel y de mama, desmostrando una reducción del tumor hasta un 80% de los casos [88,95,96].

### *Desintegrinas*

Las desintegrinas (proteínas no enzimáticas, p. ej., Salmosin) de la víbora de Haly (*Gloydius halys*) han demostrado propiedades anticancerígenas que inhiben el crecimiento del tumor. Estas toxinas bloquean la interacción célula a célula, junto con la comunicación célula-matriz y la transmisión de señales [88], deteniendo el crecimiento de tumores metastásicos y sólidos. Este efecto también se ha encontrado en venenos de otras víboras no estrechamente relacionadas [88,89]. De forma similar, se ha demostrado que las desintegrinas contortostatina y vicrostatina extraídas de *Akistrodon contortrix* (víbora cabeza de cobre), *Echis carinatus* (Forsa) y *Eristicophis macmahoni* (víbora del desierto de McMahon) impiden la movilidad, invasión, metástasis y angiogénesis tumoral de las células cancerosas [90,92,93,96,97].

### *L-aminoácido oxidasas (LAAO)*

Se ha evidenciado que las toxina LAAOs que se encuentra en los venenos de *Ophiophagus hannah* (cobra real) y *Deinagkistrodon acutus* (víbora mocasin china) inducen la reducción de la proliferación celular y apoptosis [88,89,96]. De manera similar, las toxinas CR-LAAO del veneno de *Calloselasma rhodostoma* (víbora malaya) han mostrado propiedades anticancerígenas provocando daños en el ADN de células cancerosas. De forma similar, la toxina BjuusuLAAO-II de *Bothrops jararacussu* (víbora jararacussu) tiene efectos genotóxicos y citotóxicos en las células cancerosas [84,85,94].

Varios estudios han descrito que las LAAOs de algunas especies de los géneros *Bothrops*, *Calloselasma*, *Cerastes*, *Crotalus*, *Cryptelytrops*, *Bungarus* y *Micrurus* podrían inducir autofagia, apoptosis y necrosis en células normales y cancerosas [84]. Adicionalmente, estas toxinas también pueden activar citocinas proinflamatorias, lo que induce la muerte de células cancerosas mediante la activación del sistema inmune [84,85,90,94].

### **Defensa antimicrobiana**

Se ha reportado que varias toxinas de veneno serpiente tienen una actividad antimicrobiana muy eficaz. La defensina y catelicidina son los principales grupos de péptidos antimicrobianos naturales con potentes propiedades microbicidas contra bacterias, hongos y algunos virus. Las proteínas más comunes con actividad antimicrobiana son PLA<sub>2</sub> y LAAO (ver Capítulo 5). Estas toxinas desestabilizan la membrana del microorga-

nismo y producen concentraciones locales de  $H_2O_2$  que son tóxicas para el microorganismo (Tabla 3). Las PLA<sub>2</sub> y LAAO también han demostrado actividad contra bacterias grampositivas y gramnegativas, parásitos y otros virus [33,98–100].

Otras toxinas no enzimáticas, como las lectinas de tipo C, 3FTx y catelicidinas, se han reportado como compuestos con actividad antimicrobiana. Por ejemplo, la lectina de tipo C del veneno de *Bothrops leucurus* (cabeza de lanza de cola blanca) ha sido eficaz contra bacterias como *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* y *Bacillus subtilis* [101]. Asimismo, proteínas pertenecientes a la misma familia, aisladas del veneno del *Bothrops jararacussu* (víbora jararacussu), actúan contra *S. aureus* [102]. De manera similar, las lectinas de tipo C del veneno de *Crotalus durissus* (cascabel Suramericana) han mostrado actividad contra *Xanthomonas axonopodis* y *Clavibacter michiganensis* (bacterias inductoras de cáncer) [103].

Algunas proteínas 3FTx también han sido reportadas como agentes antimicrobianos, específicamente aquellos aislados del veneno de cobras (género *Naja*). El modo de acción de estas toxinas es unirse a los lipopolisacáridos y al ácido lipoteicoico, los principales componentes de la pared bacteriana, [104,105].

Los principales péptidos con actividad antimicrobiana son las catelicidinas, los cuales han sido identificado en varios transcriptomas de especies serpiente. Estos péptidos tienen actividad frente a *Acinetobacter baumannii* la cual es multirresistente (MRAB) y *S. aureus* resistente a meticilina. El control de estas bacterias se ha convertido en un reto para los fármacos comercializados actualmente dado a su alta resistencia. Las catelicidinas derivadas de serpientes más estudiadas son las de *Naja atra* (cobra china), *Bungarus fasciatus* (krait rayado) y *Ophiophagus hannah* (cobra real) [106–110]. Se hipotetiza que la acción microbiana de todas las toxinas anteriormente nombradas tiene como función ecológica bloquear la proliferación de microorganismos infecciosos presentes en las presas de las serpientes, facilitando así su ingesta.

### **Sistema hemostático**

#### *Agentes antitrombóticos*

El desarrollo del Captopril®, así como el diseño de los agentes antitrombóticos, son los casos más exitosos de producción de fármacos a partir de venenos de serpiente (Tabla 2). Como se mencionó anteriormente, Eptifibatide (Integrilin®, Millenium Pharmaceuticals) y Tirofiban (Agrastat®, Merck & Co) se obtuvieron a partir de desintegrinas de veneno de serpiente [20]. Estos medicamentos están disponibles para tratar el infarto agudo de miocardio, el síndrome coronario agudo y las intervenciones coronarias percutáneas (Tabla 2).

El fármaco equistatina, aislado del veneno de *Echis carinatus* (víbora forsa) es un antagonista eficaz de la agregación plaquetaria inducida por

fibrinógeno [111]. Esta desintegrina contiene un arreglo estructural RGD (ver Capítulo 5) y puede unirse a varias integrinas en el rango de nanomolar. Por lo tanto, el fármaco requiere cantidades mínimas para bloquear las integrinas e impedir la agregación plaquetaria. Sin embargo, considerando que la distancia entre la arginina (R) y el aspartato (D) es un determinante estructural de la actividad de estas toxinas, Merck & Co realizó algunas modificaciones, incluida la inserción de tirosina en el sitio de un 4- (4-piperidinil) grupo butilo en el extremo N-terminal y grupo (S)-butilsulfonilamino en el extremo C-terminal. Estas modificaciones llevaron a desarrollar un compuesto con una gran potencia, llamado MK-0383, conocido como Tirofiban, el cual puede inhibir la agregación plaquetaria (Tabla 3). Este fármaco se utiliza en el infarto agudo de miocardio, el síndrome coronario agudo y la intervención coronaria percutánea [112,113].

Del mismo modo, la barbourina, aislada del veneno de *Sistrurus miliaris* (cascabel pigmea centroamericana), presenta una alta capacidad para inhibir la agregación plaquetaria [114,115]. La barbourina tiene un motivo KGD, por lo cual, para llevarla a nivel de producto farmacológico final, requirió varias modificaciones hasta obtener el producto final llamado Eptiftibatide. Este fármaco requirió la ciclación del péptido y la derivación de la cadena lateral de lisina en el motivo KGD (Tabla 3). Este medicamento además de su capacidad antitrombótica, se usa en el infarto agudo de miocardio, el síndrome coronario agudo y la intervención coronaria percutánea [116,117].

Otro grupo de toxinas que tienen potencial como agentes antitrombóticos son las lectinas de tipo C que se unen a un receptor diferente en la superficie de las plaquetas (ver Capítulo 5). Por ejemplo, la vixapatina, aislada del veneno de la víbora otomana (*Montivipera xanthina*), tiene un gran potencial como inhibidor de la agregación plaquetaria al bloquear el receptor  $\alpha 2\beta 1$  [118]. Después de algunas modificaciones, esta toxina conduce al diseño del fármaco Vipegitide. Este ha demostrado la capacidad de antagonizar dicho receptor en la plaqueta, y se considera un nuevo tipo de plantilla de un agente antitrombótico derivado de los venenos de serpiente [119].

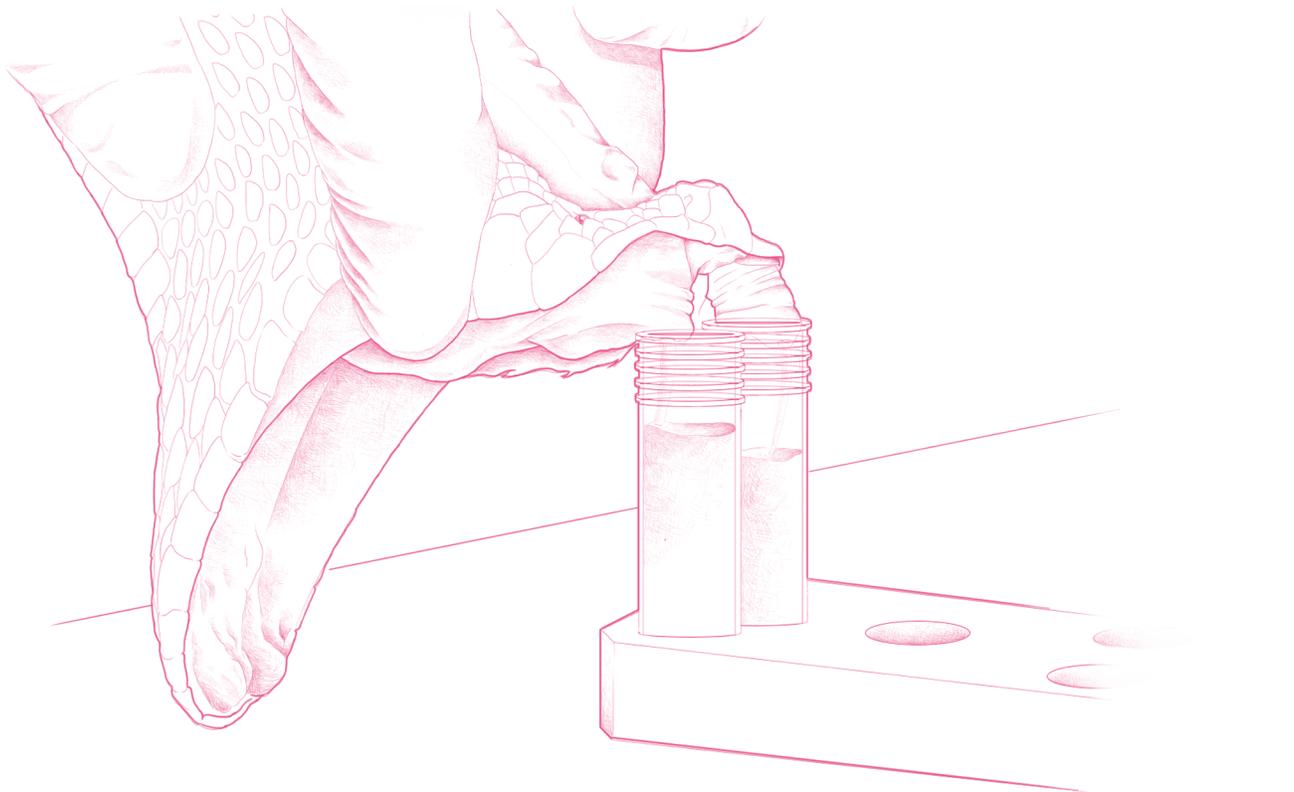
### **Usos biomédicos de las toxinas del veneno de serpiente en el sistema hemostático**

Debido a la acción de las toxinas del veneno de serpiente sobre los factores de coagulación de la sangre y las plaquetas, pueden utilizarse como herramientas para estudiar la coagulación, así como emplearse en estrategias en la clínica química como alternativas a los reactivos convencionales. Por ejemplo, la enzima batroxobina (Reptilase®) del veneno de serpiente similar a la trombina, aislada del veneno de la talla x o mapaná (*Bothrops atrox*) se usa para determinar el tiempo de reptilasa (un análisis de sangre que se usa para detectar deficiencias o anomalías en el fibrinógeno, especialmente en casos de contaminación por heparina). Esta prueba suele realizarse para confirmar o descartar la sospecha de dis-fibrinogenemias o alternativa en muestras que contienen heparina [120]. Otra proteína con importante actividad es Ancrod, aislada del veneno de

la víbora malaya (*Calloselasma rhodostoma*). Ambas toxinas, ya sea Rept-lase o Ancrod, también se emplean en el ensayo de antitrombina III, para lo cual el plasma debe estar libre de fibrinógeno, y no se puede agregar trombina porque su reacción con la antitrombina III podría interferir con la prueba [121].

Otras proteínas de los venenos de serpientes de las familias Viperidae y Elapidae con potencial biomédico son los activadores de protrombina [122]. Estas toxinas tienen varias aplicaciones, incluida la preparación de meizotrombina (uno de los principales productos de la activación de la protrombina), producción no enzimática de trombina o meizotrombina, y en estudios de hidrólisis de protrombina [120,123–125]. Por ejemplo, la producción de meizotrombina por ecarin, un SVMP aislado del veneno de *Echis carinatus* (víbora forsa) se utiliza como herramienta de diagnóstico para el anticoagulante del lupus [126]. Además, el tiempo de cambio de la ecarin también se utiliza para monitorizar las propiedades anticoagulantes del etexilato de dabigatrán, fármaco indicado en el evento tromboembólico venoso [127].

Además, los venenos de serpiente también contienen activadores de otros factores de coagulación de la sangre, como los factores V y X. Por ejemplo, el veneno de *Daboia russelli* (víbora Russell) contiene RVV-V y RVV-X, toxinas que activan el factor V y el factor X, respectivamente. Por lo tanto, RVV-V se utiliza en ensayos de rutina del factor V; y la RVV-X se utiliza en pruebas para cuantificar el factor X de la cascada de la coagulación para diferenciar las deficiencias de los factores VII y X [128–131].



**Tabla 3.** Fármacos o principios activos de venenos de serpiente utilizados en ensayos clínicos.

Medicamentos	Actividad	Fase	Sistema	Indicación	Origen	Referencia
Alfimeprasa	Actividad trombolítica	Ensayo clínico	Cardiovascular	Oclusión arterial periférica aguda	<i>Agkistrodon contortrix</i>	[29,32,35]
Viprinex (Ancrod)	Agente desfibrinogénante	Ensayo clínico	Cardiovascular	Accidente cerebrovascular isquémico agudo	<i>Calloselasma rhodostoma</i>	[29,61,71]
Protac/protein C activador	Activador de proteína C	Ensayo clínico	Hemostático	Diagnóstico clínico del trastorno hemostático	<i>Agkistrodon contortrix</i>	[29,33,35]
Ecarina	Activador protrombina	Ensayo clínico	Hemostático	Diagnóstico	<i>Equis carinatus</i>	[32,33,71]
Vivostat	Enzima similar a la trombina de veneno de serpiente/Serina proteasa	Ensayo clínico	Hemostático	Anticoagulante	<i>Bothrops moojeni</i>	[33,35,74]
Anfibatida	Proteína tipo lectina tipo C/proteinasa	Ensayo clínico	Hemostático	Actividades trombolíticas y antitrombóticas	<i>Deinagkistrodon acutus</i>	[29,32,74]
Cenderitida	Péptido natriurético e hipotensor	Ensayo clínico	Cardiovascular	Hipertensión	<i>Dendroaspis angusticeps</i>	[29,32,71]
RPI-MN/ RPI-78M	Actividades antivirales, neuromoduladores y analgésicas	Ensayo clínico	Defensa antimicrobiana, sistema nervioso	Cepas de VIH resistentes a fármacos, tratamiento de esclerosis múltiple, distrofia muscular, miastenia gravis y esclerosis lateral amiotrófica	<i>Naja kaouthia</i>	[29,32,35]
Suling	Enzima tipo trombina de veneno de serpiente/serina de proteasa	Ensayo clínico	Hemostático	Anticoagulante	<i>Deinagkistrodon acutus</i>	[29,61,71]
Contortrostatin	Desintegrina	Estudios preclínicos	Hemostático, cardiovascular	Inhibe la agregación plaquetaria	<i>Agkistrodon contortrix</i>	[29,33,35]

Medicamentos	Actividad	Fase	Sistema	Indicación	Origen	Referencia
Textilina	Inhibidor de la serina proteasa tipo Kunitz/ inhibidor de la plasmina	Estudios preclínicos	Hemostásico	Agente antihemorrágico	<i>Pseudonaja textilis</i>	[32,33,71]
Haempatch	Activador de protrombina / Proteína similar al factor Xa	Estudios preclínicos	Hemostásico	Agente coagulante	<i>Pseudonaja textilis</i>	[33,35,74]
CoVase	Pro-factor de coagulación/ proteína similar al factor Va	Estudios preclínicos	Hemostásico	Agente hemorrágico no compresible	<i>Pseudonaja textilis</i>	[29,32,74]
Vicrostatina	Desintegrina quimérica	Potencial terapéutico	Hemostásico, cardiovascular	Antitrombótico/ inhibe la agregación plaquetaria	<i>Echis carinatus</i> , <i>Agkistrodon contortrix</i>	[29,32,71]
Salmosina	Desintegrina	Potencial terapéutico	Cáncer, Hemostásico	Hemostasia dependiente de plaquetas/ bloqueante de integrina (αvβ3) / agente anticancerígeno	<i>Gloydius halys</i>	[33,35,74]
Oxynor	Neurotoxina presináptica (β-taipoxina) /Actividad mitógena	Potencial terapéutico	Cáncer	Mitógeno/ cicatrización de heridas	<i>Oxyuranus scutellatus</i>	[29,32,74]
Prohanina	α-Neurotoxina (Hannalgesin)/ Actividad antinociceptiva/ efecto analgésico	Potencial terapéutico	Sistema nervioso	Actividad antinociceptiva/ efecto analgésico	<i>Ophiophagus hannah</i>	[29,32,71]

### 3. Potencial farmacológico y biomédico de los venenos de serpientes colombianas

Históricamente, los usos médicos o farmacológicos de los venenos de las especies de serpientes colombianas han sido poco explorados. A pesar de la asombrosa diversidad de serpientes venenosas que habitan en los ecosistemas del país, así como su alto endemismo (ver Capítulo 1); solo en las últimas décadas las investigaciones nacionales y extranjeras han centrado su interés al reconocer el enorme potencial farmacéutico de sus venenos [132].

Estos esfuerzos han contribuido al conocimiento de las especies endémicas colombianas, las manifestaciones clínicas que causan sus envenenamientos, así como en el desarrollo de nuevos agentes terapéuticos. No obstante, los estudios sobre usos médicos o farmacológicos en el país siguen siendo incipientes, aunque extraordinariamente prometedores. Como se explicó anteriormente, se han encontrado muchas indicaciones dentro de los usos farmacológicos de venenos de serpientes que habitan en Colombia. En esta sección presentamos una revisión detallada de los usos terapéuticos de las toxinas presentes en los venenos de serpientes colombianas (Tabla 4).

#### **Vipéridos**

Los venenos de serpientes de especies colombianas de la familia Viperidae son ricos en PLA<sub>2</sub>s, SVMPS, SVSPs; y tienen cantidades moderadas de LAAO, péptidos potenciadores de bradiquinina, desintegrinas y lectinas de tipo C (ver Capítulos 3 y 5). Por lo cual, es factible que los venenos tengan potencial antibacteriano, antiparasitario, anticancerígeno, antitrombótico, entre otras actividades. De ahí que, las PLA<sub>2</sub> de *Porthidium nasutum* (patoco), *Bothrops asper* (mapaná), y poblaciones colombianas de *Crotalus durissus* (cascabel Suramericana) hayan mostrado en varios estudios actividades antibacterianas y antiplasmodial, respectivamente [133,134].

Las LAAO de *Crotalus durissus* y *Bothriechis schlegelii* (víbora de pestaña) también han demostrado actividad antibacteriana [135,136]. El veneno de *Bothrocopias myersi* (víbora cabeza de sapo chocoana) puede tener un gran potencial como fuente de antimicrobianos, ya que presenta la mayor cantidad de PLA<sub>2</sub> en comparación con los demás venenos de los vipéridos colombianos caracterizados (ver Capítulo 5) [137]. Sin embargo, para todos los casos mencionados anteriormente (PLA<sub>2</sub> y LAAO), se necesitan más estudios que brinden información sólida sobre el mecanismo de acción de estas toxinas sobre las bacterias y su toxicidad. No obstante se cuenta con indicios que las PLA<sub>2</sub> de *B. asper* no son letales para los ratones en dosis tan altas como 15000 µg/kg, indicando baja toxicidad [134].

Entre todos los venenos de vipéridos colombianos caracterizados hasta ahora, el veneno de *Lachesis acrochorda* (verrugoso chocoano) presenta la mayor cantidad de BPP y SVSP en su composición. Por lo tanto, el veneno de esta especie surge como una fuente potencial de nuevos fármacos antihipertensivos. Particularmente, algunos tipos de SVSP son enzimas similares a la calicreína responsables de liberar bradicinina y

potenciar las acciones hipotensoras de otras toxinas que pueden considerarse fuentes de moléculas antihipertensivas [138]. Estas proteínas ya han sido aisladas en Brasil del veneno del verrugoso amazónico (*Lachesis muta*), su especie hermana [139]. De manera que el veneno del verrugoso chocoano posee un alto potencial en bioprospección, por lo cual recomendamos enormemente realizar estudios que ayuden a comprender los mecanismos de acción de sus toxinas.

A excepción de *Crotalus durissus* y *Lachesis acrochorda*, los venenos de las demás víboras colombianas poseen desintegrinas como parte de su composición. Como se describió anteriormente, las desintegrinas se usan como guía para desarrollar agentes antitrombóticos. Sin embargo, actualmente no hay estudios que incluyan víboras colombianas en la exploración de desintegrinas en aplicaciones farmacológicas. Por lo tanto, se debe realizar estudios de aislamiento y caracterización de este tipo de proteínas de los venenos de serpientes colombianas para aumentar nuestro conocimiento sobre ellas y esclarecer su potencial farmacológico.

Asimismo, las lectinas tipo C, presentes en todos los venenos de los vipéridos colombianos caracterizados hasta el momento, no han sido estudiadas farmacológicamente en Colombia. Sugerimos que los venenos con mayor potencial son aquellos que contienen altas concentraciones de este tipo de toxinas. Por ejemplo, el veneno de *Bothrops punctatus* (rabo de chucha) posee un 16,7% de lectinas tipo C [140] y *B. asper* solo un 8,54% [141]. Las toxinas de lectina tipo C inhiben la agregación plaquetaria y pueden ser útiles en el desarrollo de fármacos antitrombóticos.

Otro caso importante es el Nasulysin-1, un SVMP aislado del veneno de *Porthidium nasutum*. Esta toxina provoca una actividad inductora de apoptosis específica (muerte celular programada) en células Jurkat y K562, célula T de leucemia linfocítica aguda (LLA), así como en modelos celulares de leucemia mieloide crónica (LMA), sin afectar la viabilidad de las células de linfocitos humanos. Además, este SVMP activa la caspasa-3 y el factor inductor de apoptosis (AIF) [142]. Sin embargo, se necesitan más estudios para obtener información sobre la toxicidad de Nasulysin-1 y los determinantes estructurales de la actividad citotóxica para evaluar su potencial real como medicamento anticancerígeno.

En particular, entre las víboras colombianas, *Crotalus durissus* la única serpiente de cascabel presente en el país, posee crotoxina una neurotoxina exclusiva de las serpientes de cascabel, construida a partir de una subunidad básica que es PLA<sub>2</sub> (CB) y una subunidad ácida (CA) formada por tres péptidos ( $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$ ) unidos por siete enlaces disulfuro (ver Capítulo 5). Esta toxina actúa como acompañante de la subunidad CB [143]. La crotoxina, tiene actividad antitumoral demostrada en cultivo celular y en pacientes con tumores sólidos que son refractarios a la terapia convencional [144–147]. Un estudio reciente propuso que la crotoxina podría ser una herramienta útil para evitar el desarrollo de trombosis al reducir los niveles de proteínas procoagulantes y aumentar los de proteínas anticoagulantes [148]. Finalmente, la cadena  $\alpha$  de la subunidad CA de la crotoxina

tiene actividad analgésica mediada por varios mecanismos. Por todas estas razones, *Crotalus durissus* entre todas las serpientes colombianas, es una de las especies que presenta el mayor potencial farmacológico.

Aunque, los estudios sobre usos médicos o farmacológicos de los venenos son incipientes en Colombia, podemos encontrar varias moléculas con actividad terapéutica comprobada derivadas de especies venenosas que habitan en los ecosistemas colombianos (Figura 3). Los efectos e indicaciones de estas moléculas se mencionan a continuación, abarcando especies médicamente importantes de vipéridos, elápidos y colúbridos.



## Viperidae

**(Ba-V)**

Fase: Potencial Terapéutico  
**Sistema: Nervioso**  
**Indicación: Neuro protección**  
 Referencia:4

**(Ba-IV)**

Fase: Potencial Terapéutico  
**Sistema: Nervioso**  
**Indicación: Enfermedad de Parkinson**  
 Referencia:6

**Crotalidina**

Fase: Potencial Terapéutico  
**Sistema: Defensa antimicrobiana**  
**Indicación: Antimalárico**  
 Referencia:9

**Fosfolipasa A2**

Fase: Potencial Terapéutico  
**Sistema: Defensa antimicrobiana**  
**Indicación: Antiviral (Dengue)**  
 Referencia:10

**LmrBPP9**

Fase: Potencial Terapéutico  
**Sistema: Cardiovascular**  
**Indicación: Hipertensión**  
 Referencia:12

## Elapidae

**Lemnitoxina**

Fase: Potencial Terapéutico  
**Sistema: Cardiovascular**  
**Indicación: Anticoagulante**  
 Referencia:15

**MsPLA2-I**

Fase: Potencial Terapéutico  
**Sistema: Defensa antimicrobiana**  
**Indicación: Microbicida**  
 Referencia:14

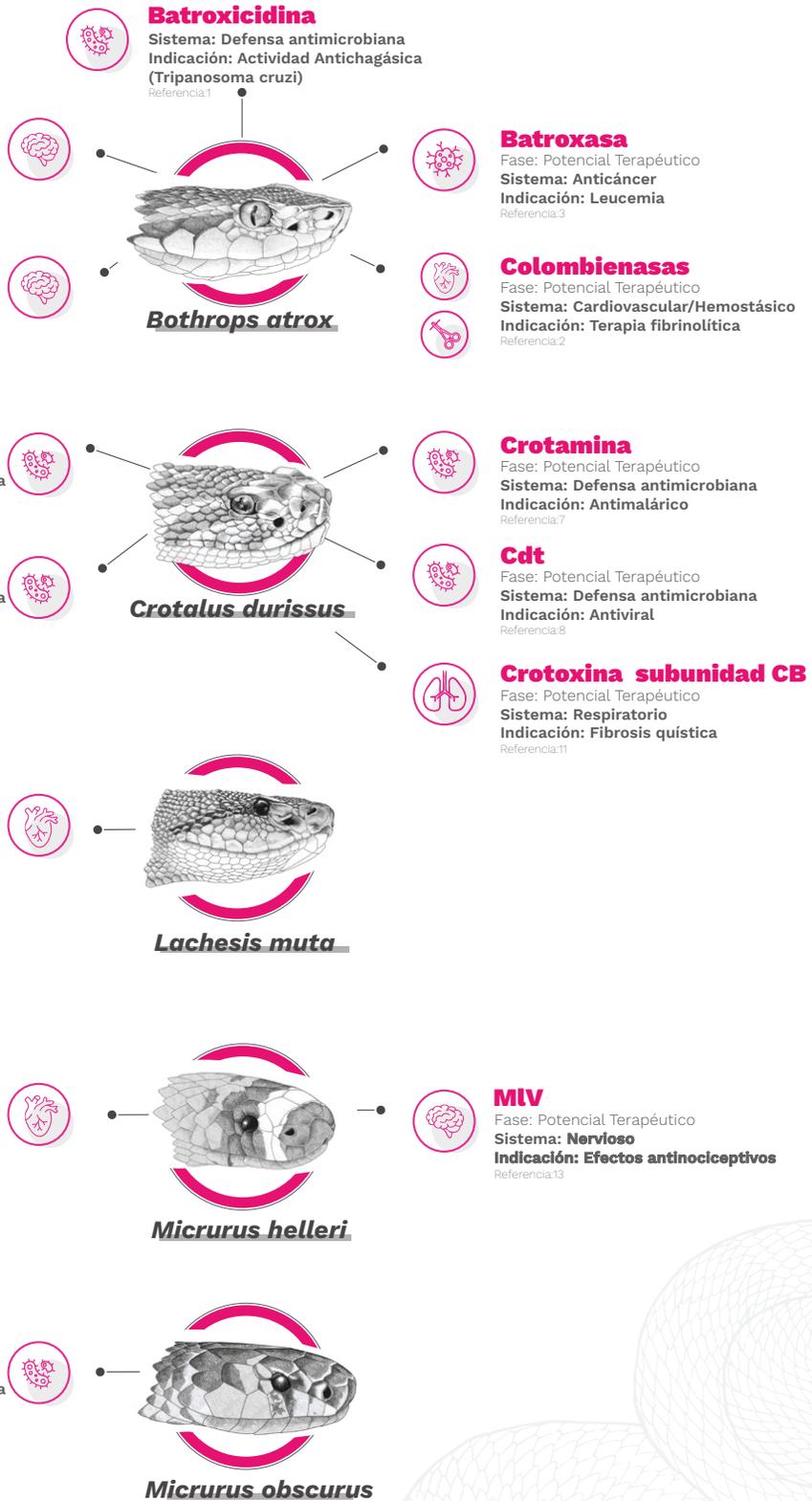


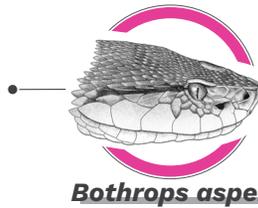
Figura 3. Infografía de los usos farmacológicos de los compuestos activos derivados de serpientes colombianas.

# SERPIENTES COLOMBIANAS MEDICINA

## Viperidae

### Flaviviridae

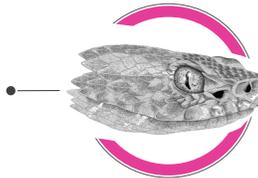
Fase: Potencial Terapéutico  
 Sistema: Defensa antimicrobiana  
 Indicación: Antiviral  
 Referencia:5



***Bothrops asper***

### Lansbermin-I

Fase: Potencial Terapéutico  
 Sistema: Anticáncer  
 Indicación: Cáncer de seno  
 Referencia:16



***Porthidium lansbergii***

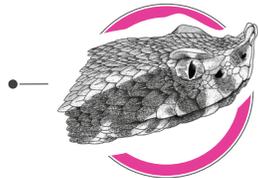


### Pllans-II, an acida Asp49-PLA2

Fase: Potencial Terapéutico  
 Sistema: Anticáncer  
 Indicación: Carcinoma cervical  
 Referencia:18

### PLA2 Acida

Fase: Potencial Terapéutico  
 Sistema: Defensa antimicrobiana  
 Indicación: Microbicida  
 Referencia:17

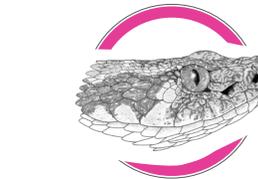


***Porthidium nasutum***



### Btae TX-I

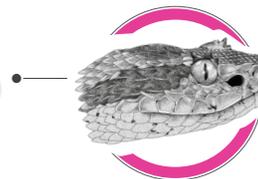
Fase: Potencial Terapéutico  
 Sistema: Anticáncer  
 Indicación: Cervical carcinoma  
 Referencia:19



***Bothrops taeniata***

### BsLAAO

Fase: Potencial Terapéutico  
 Sistema: Defensa antimicrobiana  
 Indicación: Actividad antibacterial  
 Referencia:20



***Bothriechis schlegelii***



Figura 4. Infografía de los usos farmacológicos de los compuestos activos derivados de serpientes colombianas

*Bothrops atrox*.— La batroxidina ha demostrado actividad antibacteriana. Esta molécula tiene actividad antichagas al inducir necrosis y apoptosis a *Trypanosoma cruzi* (parásito que causa la enfermedad de Chagas). Su acción se comparó con los fármacos actualmente disponibles (benzimidazol), mostrando una mayor eficacia incluso contra la cepa de *T. cruzi* resistente a benzimidazol. Este hallazgo convierte a la batroxidina en una molécula candidata para tratar la enfermedad de Chagas y parásitos sanguíneos similares [149].

Los péptidos de baja masa molecular Ba-V del veneno de *B. atrox* tienen efectos neuroprotectores. Estos péptidos tienen potencial terapéutico para enfermedades neurodegenerativas como el Parkinson y el Alzheimer al inhibir la transición de la permeabilidad mitocondrial, presumiblemente al alterar el flujo de calcio. Este proceso juega un papel importante en la fisiopatología de las enfermedades neurodegenerativas, y la inhibición de esta vía por parte de Ba-V podría prevenir la muerte celular cerebral [150]. Adicionalmente, una molécula similar, la Ba-IV, ha mostrado efectos neuroprotectores en enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad de Parkinson. El Ba-IV inhibe las proteasas apoptóticas como la caspasa-9 y la caspasa-3 que previenen la muerte celular en las neuronas dopaminérgicas, el principal proceso presente en la enfermedad de Parkinson. Por tanto, Ba-V y Ba-IV podrían permitir prevenir la progresión de enfermedades neurodegenerativas [151].

*Bothrops asper*.— A partir del veneno de *B. asper* se han aislado dos moléculas denominadas Mt-I y Mt-II, isoformas similares a PLA<sub>2</sub>. Ambos han sido probados como posibles medicamentos para enfrentar enfermedades por flavivirus (fiebres hemorrágicas virales). Debido a su actividad enzimática, las toxinas Mt-I y II podrían permeabilizar la envoltura del virus, explicando su actividad antiviral, sin embargo, su mecanismo de acción aún no se conoce con precisión. Particularmente, Mt-I tiene una fuerte actividad antiviral, mientras que Mt-II no muestra los mismos resultados. Estos hallazgos podrían conducir a un tratamiento eficaz contra flavivirus como causante del dengue [152].

Otras toxinas de los venenos de *B. asper* con potencial terapéutico son las colombienasas I y II, y la batroxasa. Estos podrían ser útiles como agentes trombolíticos utilizados en enfermedades cardiovasculares. Estas enzimas tienen varias actividades biológicas entre ellas se destacan las hemorrágicas, fibrinogenolíticas, proteolíticas, hemolíticas, edemato-génicas y citotóxicas. Por ejemplo, las toxinas colombienasas I y II degradan el fibrinógeno sin activar el sistema fibrinolítico (plasminógeno/plasmina) [153]. Además, la batroxasa modula las células proinflamatorias en la sangre humana e induce efectos citotóxicos en las células sanguíneas tumorales. Esta actividad podría regular la proliferación de células cancerosas presentes en la leucemia, y de esta molécula podría derivarse un nuevo tratamiento [154].

*Bothrops taeniatus*.— La actividad enzimática de Btae TX-I, una toxina de la familia de las PLA<sub>2</sub> aislada del veneno de *B. taeniatus*, tiene propie-

dades anticancerígenas similares a las observadas en otras toxinas PLA<sub>2</sub> presentes en venenos de sus congéneres (*B. asper* y *B. atrox*). Además, la Btae TX-I también presenta potencial como fármaco contra el cáncer, aunque sus mecanismos de acción aún están por ser descubiertos [155].

*Crotalus durissus*.— La serpiente de cascabel suramericana *Crotalus durissus* es una de las especies colombianas más prometedoras en la exploración farmacológica de nuevos fármacos. Actualmente, se han evaluado al menos cinco toxinas con usos farmacológicos. La toxina polipeptídica crotamina aislada del veneno de *C. durissus* ha mostrado efectos antiparasitarios, especialmente en infecciones por *Plasmodium falciparum* (causante de la malaria). La crotamina logra ingresar al núcleo del parásito, alterando la regulación del pH modificando la acidez ambiental, lo que provoca cambios en la membrana del parásito, y finalmente su muerte. Este efecto se logra sin afectar las células sanguíneas sanas, lo que demuestra el excelente potencial para tratar la malaria [156]. Adicionalmente, este mismo mecanismo se ha estudiado como actividad anticancerígena frente al melanoma, cáncer de páncreas y carcinoma, en los que la crotamina ha mostrado eficacia [157].

La citotoxina (Cdt), una molécula PLA<sub>2</sub> del veneno de *C. durissus* tiene actividad antiviral. Esta toxina ha sido descrita como útil contra el virus del sarampión al bloquear los receptores celulares que el virus necesita para su adsorción. Sin embargo, se necesita más investigación sobre su efectividad, ya que solo se demostró que esta molécula evita que el virus ingrese a la célula después de la infección, pero no una acción letal sobre el virus. Sin embargo, este hallazgo puede dilucidar nuevos mecanismos de acción para los fármacos antivirales [158].

Por otro lado, al aislar la subunidad CB de la crotoxina, se ha demostrado que esta fracción de la toxina regula el flujo de entrada del canal de cloro de la membrana celular. Por tanto, la crotoxina podría dar lugar a aplicaciones médicas como el tratamiento de la fibrosis quística, una enfermedad caracterizada por una mutación genética que conduce a alteraciones en la regulación de los canales de cloro. Estas alteraciones conducen daños sistémicos y limita considerablemente la esperanza de vida del paciente [159].

Asimismo, se ha descrito la actividad antibacteriana de la crotalidina. Esta molécula se evaluó como antibacteriana contra infecciones por *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*. La crotalidina provoca la ruptura de la membrana celular de la bacteria que conduce a la muerte bacteriana. Una ventaja de la crotalidina contra las infecciones es que su concentración efectiva no daña las células humanas sanas. Este hallazgo representa una excelente noticia para la resistencia bacteriana a los medicamentos actuales; y en el futuro, podría ayudar a producir una nueva generación de antibióticos [157,160]. Adicionalmente, se encontró que las PLA<sub>2</sub> de *Crotalus durissus* también tiene actividad antiviral, especialmente para el virus del dengue. El mecanismo está relacionado con la actividad enzimática de estas toxinas, provocando la degradación de la envoltura

del virus, exponiendo su RNA, facilitando su degradación por las enzima RNase [161].

Finalmente, se ha descrito otro potencial terapéutico de una toxina del veneno de *C. durissus*. El péptido crotalfina tiene una actividad antinociceptiva que podría ser importante en el tratamiento del dolor crónico, como el que se presenta pacientes con cáncer. Además, los efectos de la crotalfina son inducidos por los receptores opioides kappa y delta, lo que conduce a un manejo del dolor más duradero en comparación con la morfina. En consecuencia, esta molécula podría ser beneficiosa para evitar la administración de fármacos opioides, previniendo el síndrome de abstinencia [162]. Además, una molécula similar, la crotapotina, también ha mostrado efectos analgésicos y está siendo estudiada para el dolor en encefalomiелitis y esclerosis múltiple, estableciéndola como una molécula prometedora para tratar este tipo de dolor [163].

*Lachesis muta*. – El péptido llamado LmrBPP9 se sintetizó a partir del veneno verrugoso amazónico. Esta molécula tiene actividad inhibitora de la ECA como el BPPS utilizado para crear el captopril. Además, LmrBPP9 reduce eficazmente la presión arterial, de forma comparable al captopril. Estos resultados ofrecen nuevas fuentes de BPPS para el diseño medicamentos para tratar la hipertensión [164].

*Complejo de especies del género Porthidium*. – Actualmente, se ha descubierto que dos componentes del veneno de *Porthidium lansbergii* (patoco) tienen actividad anticancerígena. La Pllans-II (un tipo de PLA<sub>2</sub>) se evaluó contra el cáncer de cuello uterino y mostró efectividad sin dañar los tejidos sanos [165]. También, la desintegrina Lansbermin-I aislada del veneno de *P. lansbergii* presenta actividad anticancerígena en células de cáncer de mama. Esta toxina afecta la angiogénesis y la migración de células de cáncer de mama. Estas moléculas ofrecen nuevas alternativas para la investigación y creación de nuevos fármacos para el tratamiento del cáncer [91,166].

Asimismo, una toxina PLA<sub>2</sub> ácida aislada de *Porthidium nasutum* demostró actividad antibacteriana. Al igual que otras toxinas PLA<sub>2</sub>, el mecanismo también implica la ruptura de la membrana bacteriana, lo que la convierte en un potente bactericida, añadiéndola a las moléculas con potencial para crear nuevas generaciones de antibióticos [133].

*Complejo de especies Bothriechis schlegelii*.— A pesar de que esta especie arborícola se ve con frecuencia en diversas elevaciones de los Andes colombianos (0-3200 msnm), su veneno ha sido pobremente estudiado y su potencial farmacológico es poco conocido. No obstante, del veneno de *B. schlegelii* la toxina BsLAAO presenta una potente actividad antibacteriana similar a las toxinas LAAO presentes en otros vipéridos. Principalmente, se estudiaron sus efectos sobre las infecciones provocadas por *Staphylococcus aureus* y *Acinetobacter baumannii*. Esta última es una de las bacterias con mayor resistencia a los antibióticos, causando una alta tasa de mortalidad. Por tal razón, los compuestos derivados del veneno

de *B. schlegelii* representan una alternativa muy atractiva para crear una nueva generación de antibióticos que ayuden a controlar la resistencia a los antibióticos y reducir las tasas de mortalidad [167].

### **Elápidos**

Los venenos de serpientes coral han sido menos estudiados que los venenos de víboras. Esto debido a la dificultad de obtener muestras de veneno con un volumen adecuado extraído por espécimen, que permita la purificación de las proteínas. Solo se ha caracterizado el proteoma y composición del veneno de tres especies colombianas: *Micrurus mipartitus*, *M. dumerillii*, y *M. helleri* [168–170]. Todos estos venenos tienen cantidades significativas de 3FTx, PLA<sub>2</sub> y LAAO, lo que los convierte en fuentes potenciales de compuestos que podrían ser activos contra enfermedades cardiovasculares, infecciones antibacterianas, antivirales y antiparasitarias, así como medicamentos analgésicos. Aunque, se han purificado varias toxinas de los venenos de *M. mipartitus* y *M. dumerillii*, no se han evaluado sus actividades analgésicas o de modulación de los canales iónicos; quizás estas actividades sean similares a otras 3FTx que se han estudiado en los elápidos asiáticos.

*Micrurus helleri*.— La exploración del potencial farmacológico del veneno de *M. helleri* da como resultado el aislamiento de una molécula de PLA<sub>2</sub> denominada MLV. Este compuesto tiene actividad antinociceptiva, demostrando un efecto superior en comparación con los fármacos convencionales [morfina (opioide) e indometacina (AINE)] sin afectar el sistema locomotor. Los efectos de MLV se manifiestan mediante el bloqueo de los receptores opioides. Este descubrimiento brinda una excelente oportunidad para crear nuevos fármacos para tratar el dolor crónico [164].

Otra molécula de PLA<sub>2</sub> aislada del veneno de *M. helleri* es la lemnitoxina. Esta toxina posee actividades miotóxicas, citotóxicas, proinflamatorias y anticoagulantes. Este último efecto ha sido estudiado debido al potencial terapéutico para diseñar nuevos fármacos anticoagulantes [171].

*Micrurus mipartitus*.— Esta es la especie de coral más común que habita en elevaciones bajas a moderadas de los Andes colombianos (400–2000 msnm). A pesar de esto, se han realizado pocos estudios farmacológicos. Exploraciones recientes han aislado una toxina de la familia de proteínas LAAO con una potente actividad bactericida contra dos bacterias (*Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*) [172]. Además, se han aislado y caracterizado varias toxinas de PLA<sub>2</sub> no antes conocidas del veneno *M. mipartitus*, pero aún no se ha evaluado su potencial farmacológico [173].

*Micrurus obscurus*.— Actualmente, no se ha explorado el potencial farmacológico de venenos de serpientes *M. obscurus* de poblaciones colombianas. Sin embargo, se aisló una toxina denominada MsPLA<sub>2</sub> que presenta una actividad tipo fosfolipasa del veneno de su especie hermana *M. spixii* de poblaciones brasileñas [174]. La MsPLA<sub>2</sub> demostró actividad similar a la observada en las PLA<sub>2</sub> provenientes de venenos de especie del género *Bothrops*. Además, los estudios citotóxicos de MsPLA<sub>2</sub> han demostrado

actividades y efectos microbicidas y antitumorales contra *P. falciparum* y cáncer de hígado. Aunque sus efectos microbicida y antitumoral han sido demostrados, su efectividad no supera la de los medicamentos actualmente disponibles. Sin embargo, la comprensión de sus mecanismos de acción puede ayudar a comprender los procesos biológicos de estas patologías y generar potencialmente nuevas moléculas que ayudan a combatirlas [175].

### **Colubridae**

Pocos venenos de colúbridos colombianos han sido caracterizados por su contenido de toxinas utilizando técnicas proteómicas (ver Capítulo 4). Sin embargo, en los últimos años se ha generado conocimiento esencial para la bioprospección de toxinas de colúbridos [p. ej., *Leptodeira annulata* (falsa mapaná), *Erythrolamprus bizona* (falsa coral) y *Pseudoboa neuwiedii* (candelilla)] [176–178]. Desde el punto de vista farmacológico, las toxinas de colúbridos muestran un gran potencial como compuestos citotóxicos, antibacterianos, antivirales y antiparasitarios debido a su composición significativa de actividades PLA<sub>2</sub> y SVMP. Además, el veneno de *L. annulata* muestra una fuerte actividad fibrinógena y fibrinolítica que sugieren la presencia de SVMPs, lo que conduce a moléculas para el desarrollo de agentes trombolíticos [178]. Sin embargo, su potencial farmacológico aún no ha sido evaluado.

Asimismo, se han caracterizado las toxinas 3FTx en colúbridos las cuales no son tóxicas para las células humanas. Como se explicó anteriormente, las 3FTx poseen varias actividades biológicas aplicables al uso médico. Sin embargo, se necesitan más estudios para explorar sus usos farmacológicos [179]. Algunos ejemplos de toxinas aisladas de colúbridos sudamericanos evaluadas farmacológicamente son las moléculas H. t. texana y T.b. Lambda aislada de *Philodryas baroni*, *P. olfersii*, y *P. patagoniensis*. Estas toxinas pertenecen a la familia de las PLA<sub>2</sub> y presentan actividad antileishmania. Aunque no son tan potentes como los fármacos actualmente disponibles (anfotericina B), representan nuevas oportunidades de fármacos contra la leishmania [180].

En conclusión, el potencial terapéutico de los venenos de las serpientes colombianas es inmenso y puede ayudar a diseñar nuevos tratamientos para múltiples patologías. El uso de tecnologías «ómicas» permitirá identificar más moléculas potenciales en los venenos de serpientes de Colombia. Sin embargo, debemos seguir estudiando los componentes del veneno de manera convencional, mientras se puedan realizar tecnologías «ómicas» de forma masiva y a un costo razonable para los investigadores colombianos.

En este capítulo se presentó el potencial biomédico y farmacológico del veneno de serpientes que habitan en Colombia. Debido a la naturaleza compleja de estos venenos y los hallazgos descubiertos hasta ahora, está claro que son posibles muchos más descubrimientos de moléculas que pueden llevar al diseño de nuevos tratamientos y medicinas. Sin embargo, se necesitan más recursos para aumentar nuestro conocimiento sobre los venenos de serpientes colombianas y establecer una estrategia bioprospección clara de estas sustancias.

**Tabla 4.** Moléculas con potencial terapéutico derivadas de venenos de serpientes colombianas.

<b>Familia</b>	<b>Especies</b>	<b>Principio activo</b>	<b>Mecanismo</b>	<b>Sistemas</b>	<b>Indicación</b>	<b>Referencia</b>
Viperidae	<i>Bothrops atrox</i>	Batroxicidin	Induce necrosis y apoptosis en <i>T. cruzi</i>	Defensa anti-microbiana	Antichagas ( <i>T. cruzi</i> )	[149]
	<i>Bothrops asper</i>	Colombienases	Degrada el fibrinógeno, pero no activa el sistema fibrinolítico (plasminógeno/plasmina)	Cardiovascular/Hemostásica	Terapia fibrinolítica.	[153]
	<i>Bothrops atrox</i>	Batroxase	Citotoxicidad en células sanguíneas tumorales	Anticáncer	Leucemia.	[154]
	<i>Bothrops atrox</i>	Ba-V	Inhibe la transición de la permeabilidad mitocondrial, lo que presumiblemente altera el flujo de calcio	Sistema nervioso	Potencial neuroprotector	[150]
	<i>Bothrops asper</i>	Mt-I	Permeabilizar la envoltura del virus debido a la actividad enzimática.	Defensa anti-microbiana	Antiviral	[152]
	<i>Bothrops atrox</i>	Ba-IV	Inhibición de proteasas apoptóticas como caspasa-9 y caspasa-3 que previene la muerte celular en neuronas dopaminérgicas	Sistema nervioso	Enfermedad de Parkinson	[151]
	<i>Crotalus durissus</i>	Crotamina	Alteración del equilibrio de H <sup>+</sup> y perturbación de la membrana	Defensa anti-microbiana / Actividad anti-cáncer	Malaria / Melanoma, cáncer de páncreas y carcinoma.	[149,156]
	<i>Crotalus durissus</i>	Cdt	Bloquea los receptores en la membrana celular, impidiendo la absorción del virus	Defensa anti-microbiana	Actividad antiviral	[158]
	<i>Crotalus durissus</i>	Crotalicidina	Ruptura de la membrana celular bacteriana	Defensa anti-microbiana	Actividad antibiótica	[157,160]
	<i>Crotalus durissus</i>	Fosfolipasa A <sub>2</sub>	Degradación de la envoltura del virus, exponiendo el ARN del virus	Defensa anti-microbiana	Actividad antiviral (dengue)	[161]
<i>Crotalus durissus</i>	Subunidad CB de crototoxina	Regulación de los canales de Cl <sup>-</sup>	Sistema respiratorio	Fibrosis quística	[159]	

Familia	Especies	Principio activo	Mecanismo	Sistemas	Indicación	Referencia
Viperidae	<i>Lachesis muta</i>	LmrBPP9	Inhibición de la ECA	Sistema cardiovascular	Hipertensión	[164]
	<i>Porthidium lansbergii</i>	Lansbermin-I	Actividad de desintegrina	Anticáncer	Células de cáncer de mama	[91,166]
	<i>Porthidium nasutum</i>	PLA <sub>2</sub> ácida	Actividad de fosfolipasa	Defensa antimicrobiana	Actividad antibiótica	[133]
	<i>Porthidium lansbergii</i>	Plans-II, ácido Asp49-PLA <sub>2</sub>	Actividad de fosfolipasa	Anticáncer	Carcinoma cervical	[182]
	<i>Bothrops taeniatus</i>	Btae TX-I	Actividad de fosfolipasa	Anticáncer	Carcinoma cervical	[155]
	<i>Bothriechis schlegelii</i>	BsLAAO	Actividad de LAAO	Defensa antimicrobiana	Actividad antibiótica	[167]
	<i>Micrurus spixii</i>	MsPLA <sub>2</sub> -I	Actividad de fosfolipasa	Defensa antimicrobiana / anticáncer	Actividad antibiótica / antitumoral	[175]
	<i>Micrurus helleri</i>	Lernmitoxina	Actividad de fosfolipasa	Sistema cardiovascular	Efectos anticoagulantes	[171]
	<i>Micrurus helleri</i>	MIV	Bloqueo de los receptores opioides	Sistema nervioso	Efectos antinociceptivos	[181]
	Elapidae					

## Apéndice: Materiales y métodos

### *Métodos de búsqueda para la identificación de estudios: Búsquedas electrónicas*

Las búsquedas se realizaron de abril a junio de 2021. Realizamos las búsquedas de la siguiente manera:

1. Búsquedas semanales del Registro Cochrane Central de Ensayos Controlados (CENTRAL)
2. Búsquedas semanales de MEDLINE (Ovid)
3. Búsquedas semanales de Embase (Ovid)
4. Búsquedas semanales de Scielo
5. Búsquedas semanales de Scopus
6. Búsquedas semanales de Google Scholar
7. Búsquedas semanales de Clinicaltrial.gov

Las estrategias de búsqueda contenían las siguientes palabras clave y términos que se combinaron de diferentes formas utilizando los conectores booleanos AND OR: snake venoms, *Bothrops atrox*, *Crotalus*, *Bothriechis*, *Porthidium*, *Lachesis*, *Micrurus*, *Xenodon*, *Leptophis*, *Erythrolamprus*, *Oxybelis*, *Helicops*, *Bothrocophias*, *Thamnodynastes*, *Leptodeira*, *Philodryas*, and *drug development*.

### Buscando otros recursos

Verificamos los estudios citados relevantes al revisar los informes identificados por las búsquedas electrónicas, así como las listas de referencias de cualquier revisión directamente relevante identificada. No se aplicaron restricciones de idioma o fecha y se incluyeron estudios independientemente del tipo de publicación (p. ej., resumen de congreso, entrada de registro de ensayo, artículo de revista, libro).

Realizamos búsquedas en marzo de 2021 e identificamos 1087 artículos para su posible inclusión. Además, identificamos un total de 320 artículos para la selección de títulos y resúmenes, de los cuales los expertos sugirieron 39 artículos, 46 estudios estaban duplicados y 40 se excluyeron por otras razones.

Obtuvimos el texto completo de los 234 artículos restantes para su inclusión. Los detalles del flujo de estudios para esta revisión se registran en un diagrama PRISMA en la Figura 4.

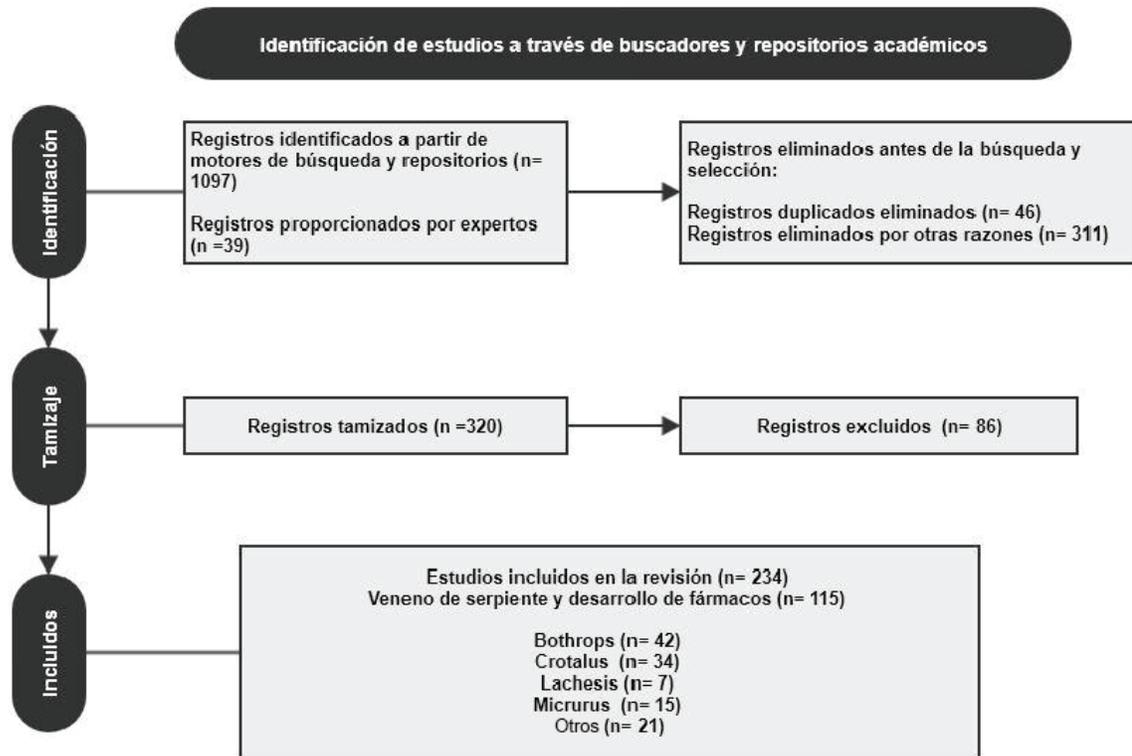
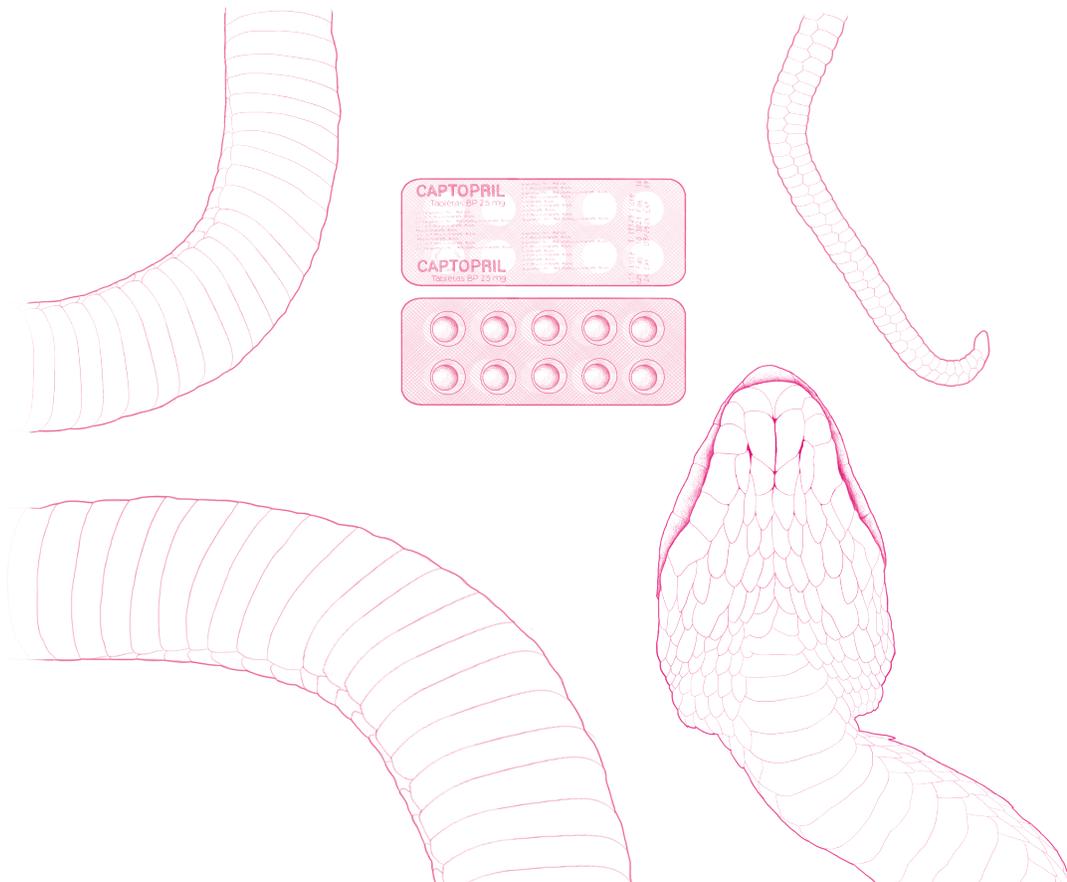


Figura 4. Flujo diagrama de la metodología PRISMA empleada.



## Referencias

1. Couchoud, P.-L. J.-G. Frazer et Le rameau d'or. *Bull. l'Association Guillaume Budé* **1924**, 4, 46–50.
2. García, S.A.; Márquez, C.I. Cultivating positive health, learning, and community: The return of Mesoamerica's Quetzalcoatl and the Venus star. *Genealogy* **2021**, 5, 53.
3. Boquet, P. History of snake venom research. In *Snake venoms*; Springer, **1979**; pp. 3–14.
4. Creswell, R.T. Aristotle's history of animals in ten books. **1902**.
5. Chevalier, J.; Gheerbrant, A. Dictionnaire des symboles. Paris: Robert Laffont. *Jupiter* **1982**, 349–350.
6. Rosso, A.M. Toxicology and snakes in ptolemaic Egyptian dynasty: The suicide of Cleopatra. *Toxicol. reports* **2021**, 8, 676–695.
7. T'serstevens, A. *Le livre de Marco Polo ou de devisement du monde*; Albin Michel, **1955**;
8. Wexler, P. *History of toxicology and environmental health*; Elsevier, **2014**;
9. Wexler, P. *Toxicology in antiquity*; Academic Press, **2018**; ISBN 0128153407.
10. Salazar, C. *The treatment of war wounds in Graeco-Roman antiquity*; Brill, **2018**; ISBN 9004377484.
11. Hodgson, B. *In the arms of morpheus: The tragic history of laudanum, morphine, and patent medicines*; Firefly Books Limited, **2001**; ISBN 155297538X.
12. Totelin, L.M.V. A. Mayor, The poison king: The life and legend of Mithradates Rome's deadliest enemy [Book Review]. *Isis* **2010**, 101, 639.
13. Bonaparte, L.-L. *Ricerche chimiche sul veleno della vipera*; **1843**;
14. Alper, C.A. Snakes and the complement system. In *Snake Venoms*; Springer, **1979**; pp. 863–880.
15. Hawgood, B.J. Doctor Albert Calmette 1863–1933: founder of antivenomous serotherapy and of antituberculous BCG vaccination. *Toxicon* **1999**, 37, 1241–1258.
16. Calmette, A. Étude expérimentale du venin de *Naja tripudians* ou cobra capel et exposé d'une méthode de neutralisation de ce venin dans l'organisme. *Ann Inst Pasteur* **1892**, 6, 160–183.
17. Calmette, A. Contribution à l'étude du venin des serpents. Immunisation des animaux et traitement de l'envenimation. *Ann. Inst. Pasteur* **1894**, 8, 275–291.
18. Sewall, H. Experiments on the preventive inoculation of rattlesnake venom. *J. Physiol.* **1887**, 8, 203.
19. Hawgood, B.J. Pioneers of anti-venomous serotherapy: Dr Vital Brazil (1865–1950). *Toxicon* **1992**, 30, 573–579.
20. Brazil, V. Contribuição ao estudo de veneno ophidico. II. Veneno de algumas espécies brasileiras. *Rev Méd São Paulo* **1901**, 4, 296–300.
21. Brazil, V. Contribuição ao estudo do veneno ophidico. *Rev. Médica São Paulo* **1901**, 4, 255–260.
22. Ferreira, S.H. A bradykinin-potentiating factor (BPF) present in the venom of *Bothrops jararaca*. *Br. J. Pharmacol. Chemother.* **1965**, 24, 163–169.
23. Ferreira, S.H.; Bartelt, D.C.; Greene, L.J. Isolation of bradykinin-potentiating peptides from *Bothrops jararaca* venom. *Biochemistry* **1970**, 9, 2583–2593.

24. Ondetti, M.A.; Williams, N.J.; Sabo, E.; Pluscec, J.; Weaver, E.R.; Kocy, O. Angiotensin-converting enzyme inhibitors from the venom of *Bothrops jararaca*. Isolation, elucidation of structure, and synthesis. *Biochemistry* **1971**, *10*, 4033–4039.
25. Cushman, D.W.; Plušćec, J.; Williams, N.J.; Weaver, E.R.; Sabo, E.F.; Kocy, O.; Cheung, H.S.; Ondetti, M.A. Inhibition of angiotensin-converting enzyme by analogs of peptides from *Bothrops jararaca* venom. *Experientia* **1973**, *29*, 1032–1035.
26. Camargo, A.C.M.; Ianzer, D.; Guerreiro, J.R.; Serrano, S.M.T. Bradykinin-potentiating peptides: Beyond captopril. *Toxicon* **2012**, *59*, 516–523, doi:10.1016/j.toxicon.2011.07.013.
27. Lazarovici, P.; Marcinkiewicz, C.; Lelkes, P.I. From snake venom's disintegrins and C-type lectins to anti-platelet drugs. *Toxins (Basel)*. **2019**, *11*, 303.
28. Pereáñez Jiménez, J.A.; Vargas Muñoz, L.J. Toxinas de serpientes con alto potencial terapéutico y su uso en la biomedicina. *Iatreia* **2009**, *22*, 382–391.
29. El-Aziz, T.M.A.; Soares, A.G.; Stockand, J.D. Snake venoms in drug discovery: Valuable therapeutic tools for life saving. *Toxins (Basel)*. **2019**, *11*, 1–25, doi:10.3390/toxins11100564.
30. Li, L.; Huang, J.; Lin, Y. Snake venoms in cancer therapy: Past, present and future. *Toxins (Basel)*. **2018**, *10*, 1–8, doi:10.3390/toxins10090346.
31. Jolkkonen, M.; Van Giersbergen, P.L.M.; Hellman, U.; Wernstedt, C.; Oras, A.; Satyapan, N.; Adem, A.; Karlsson, E. Muscarinic toxins from the black mamba *Dendroaspis polylepis*. *Eur. J. Biochem.* **1995**, *234*, 579–585.
32. Bordon, K. de C.F.; Cologna, C.T.; Fornari-Baldo, E.C.; Pinheiro-Júnior, E.L.; Cerni, F.A.; Amorim, F.G.; Anjolette, F.A.P.; Cordeiro, F.A.; Wiesel, G.A.; Cardoso, I.A.; et al. From animal poisons and venoms to medicines: Achievements, challenges and perspectives in drug discovery. *Front. Pharmacol.* **2020**, *11*, doi:10.3389/fphar.2020.01132.
33. Chan, Y.S.; Cheung, R.C.F.; Xia, L.; Wong, J.H.; Ng, T.B.; Chan, W.Y. Snake venom toxins: toxicity and medicinal applications. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2016**, *100*, 6165–6181, doi:10.1007/s00253-016-7610-9.
34. Herzig, V.; Cristofori-Armstrong, B.; Israel, M.R.; Nixon, S.A.; Vetter, I.; King, G.F. Animal toxins—Nature's evolutionary-refined toolkit for basic research and drug discovery. *Biochem. Pharmacol.* **2020**, *181*, 114096.
35. Munawar, A.; Ali, S.A.; Akrem, A.; Betzel, C. Snake venom peptides: Tools of biodiscovery. *Toxins (Basel)*. **2018**, *10*, 474.
36. Kini, R.M. Excitement ahead: structure, function and mechanism of snake venom phospholipase A2 enzymes. *Toxicon* **2003**, *42*, 827–840.
37. Tonello, F.; Rigoni, M. Cellular Mechanisms of action of snake phospholipase A2 toxins. In *Snake Venoms*; Inagaki, H., Vogel, C.-W., Mukherjee, A.K., Rahmy, T.R., Gopalakrishnakone, P., Eds.; Springer Netherlands: Dordrecht, **2017**; pp. 49–65 ISBN 978-94-007-6410-1.
38. P Samy, R.; Gopalakrishnakone, P.; G Stiles, B.; S Girish, K.; N Swamy, S.; Hemshekhar, M.; S Tan, K.; G Rowan, E.; Sethi, G.; TK Chow, V. Snake venom phospholipases A<sub>2</sub>: a novel tool against bacterial diseases. *Curr. Med. Chem.* **2012**, *19*, 6150–6162.

39. Teixeira, S.C.; Borges, B.C.; Oliveira, V.Q.; Carregosa, L.S.; Bastos, L.A.; Santos, I.A.; Jardim, A.C.G.; Freire, F.M.; Martins, L.; Rodrigues, V.M. Insights into the antiviral activity of phospholipases A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>s) from snake venoms. *Int. J. Biol. Macromol.* **2020**.
40. Teixeira, S.C.; da Silva, M.S.; Gomes, A.A.S.; Moretti, N.S.; Lopes, D.S.; Ferro, E.A.V.; de Melo Rodrigues, V. Panacea within a Pandora's box: the antiparasitic effects of phospholipases A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>s) from snake venoms. *Trends Parasitol.* **2021**.
41. Gutiérrez, J.M.; Escalante, T.; Rucavado, A.; Herrera, C. Hemorrhage caused by snake venom metalloproteinases: a journey of discovery and understanding. *Toxins (Basel)*. **2016**, *8*, 93.
42. Gutiérrez, J.M.; Rucavado, A. Snake venom metalloproteinases: their role in the pathogenesis of local tissue damage. *Biochimie* **2000**, *82*, 841–850.
43. Takeya, H.; Nishida, S.; Miyata, T.; Kawada, S.; Saisaka, Y.; Morita, T.; Iwanaga, S. 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*, 14109–14117.
44. Karapetian, H. Reptilase time (RT). *Methods Mol. Biol.* **2013**, *992*, 273–277, doi:10.1007/978-1-62703-339-8\_20.
45. Serrano, S.M.T. The long road of research on snake venom serine proteinases. *Toxicon* **2013**, *62*, 19–26, doi:10.1016/j.toxicon.2012.09.003.
46. Koh, C.Y.; Kini, R.M. From snake venom toxins to therapeutics - Cardiovascular examples. *Toxicon* **2012**, *59*, 497–506, doi:10.1016/j.toxicon.2011.03.017.
47. Ullah, A. Structure–function studies and mechanism of action of snake venom L-amino acid oxidases. *Front. Pharmacol.* **2020**, *11*, 110.
48. Tan, K.K.; Bay, B.H.; Gopalakrishnakone, P. L-amino acid oxidase from snake venom and its anticancer potential. *Toxicon* **2018**, *144*, 7–13.
49. Calvete, J.J. The continuing saga of snake venom disintegrins. *Toxicon* **2013**, *62*, 40–49.
50. Clemetson, K.J. Snaclecs (snake C-type lectins) that inhibit or activate platelets by binding to receptors. *Toxicon* **2010**, *56*, 1236–1246.
51. Utkin, Y.N. Three-finger toxins, a deadly weapon of elapid venom - Milestones of discovery. *Toxicon* **2013**, *62*, 50–55, doi:10.1016/j.toxicon.2012.09.007.
52. Utkin, Y.N. Last decade update for three-finger toxins: Newly emerging structures and biological activities. *World J. Biol. Chem.* **2019**, *10*, 17.
53. Pu, X.C.; Wong, P.T.H.; Gopalakrishnakone, P. A novel analgesic toxin (hannalgesin) from the venom of king cobra (*Ophiophagus hannah*). *Toxicon* **1995**, *33*, 1425–1431.
54. Departamento Administrativo Nacional de Estadística (DANE). Estadísticas vitales: defunciones. Itrim 2022. Bogotá (Colombia): DANE; **2022**. Disponible en: [https://www.dane.gov.co/files/investigaciones/poblacion/bt\\_estadisticasvitales\\_defunciones\\_Itrim\\_2022pr.pdf](https://www.dane.gov.co/files/investigaciones/poblacion/bt_estadisticasvitales_defunciones_Itrim_2022pr.pdf)
55. Uthman, O.A.; Hartley, L.; Rees, K.; Taylor, F.; Ebrahim, S.; Clarke, A. Multiple risk factor interventions for primary prevention of cardiovascular disease in low-and middle-income countries. *Cochrane Database Syst. Rev.* **2015**, *8*, CD011163. <https://doi.org/10.1002/14651858>

56. Social, M. de S. y P. *Guía de práctica clínica para el manejo de la hipertensión arterial primaria (HTA)*; **2017**.
57. Xie, X.; Atkins, E.; Lv, J.; Bennett, A.; Neal, B.; Ninomiya, T.; Woodward, M.; MacMahon, S.; Turnbull, F.; Hillis, G.S. Effects of intensive blood pressure lowering on cardiovascular and renal outcomes: updated systematic review and meta-analysis. *Lancet* **2016**, *387*, 435–443.
58. Oparil, S.; Schmieder, R.E. New approaches in the treatment of hypertension. *Circ. Res.* **2015**, *116*, 1074–1095.
59. Péterfi, O.; Boda, F.; Szabó, Z.; Ferencz, E.; Bába, L. Hypotensive snake venom components—A mini-review. *Molecules* **2019**, *24*, 2778.
60. Strozzi, C.; Cocco, G.; Portaluppi, F.; Urso, L.; Alfiero, R.; Tasini, M.T.; Montanari, L.; Al Yassini, K.; Rizzo, A. Effects of captopril on the physical work capacity of normotensive patients with stable-effort angina pectoris. *Cardiology* **1987**, *74*, 226–228.
61. Frangieh, J.; Rima, M.; Fajloun, Z.; Henrion, D.; Sabatier, J.-M.; Legros, C.; Mattei, C. Snake venom components: Tools and cures to target cardiovascular diseases. *Molecules* **2021**, *26*, 2223.
62. Gouda, A.S.; Mégarbane, B. Snake venom-derived bradykinin-potentiating peptides: A promising therapy for COVID-19? *Drug Dev. Res.* **2021**, *82*, 38–48.
63. Kini, R.M.; Koh, C.Y. Snake venom three-finger toxins and their potential in drug development targeting cardiovascular diseases. *Biochem. Pharmacol.* **2020**, *181*, 114105, doi:10.1016/j.bcp.2020.114105.
64. Cómo funcionan los bloqueadores de los canales del calcio. *Nursing (Lond)*. **2003**, *21*, 42.
65. Kobilka, B.K. Structural insights into adrenergic receptor function and pharmacology. *Trends Pharmacol. Sci.* **2011**, *32*, 213–218.
66. Hodgson, W.C.; Wickramaratna, J.C. In vitro neuromuscular activity of snake venoms. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* **2002**, *29*, 807–814.
67. Dutertre, S.; Nicke, A.; Tsetlin, V.I. Nicotinic acetylcholine receptor inhibitors derived from snake and snail venoms. *Neuropharmacology* **2017**, *127*, 196–223, doi:10.1016/j.neuropharm.2017.06.011.
68. Mohamed Abd El-Aziz, T.; Soares, A.G.; Stockand, J.D. Snake venoms in drug discovery: Valuable therapeutic tools for life saving. *Toxins (Basel)*. **2019**, *11*, 564.
69. Cook, D.; Simons, D.J. Neuromuscular blockade. *StatPearls [Internet]* **2020**.
70. Koh, D.C.I.; Armugam, A.; Jeyaseelan, K. Snake venom components and their applications in biomedicine. *Cell. Mol. Life Sci.* **2006**, *63*, 3030–3041, doi:10.1007/s00018-006-6315-0.
71. Waheed, H.; Moin, S.F.; Choudhary, M.I. Snake venom: From deadly toxins to life-saving therapeutics. *Curr. Med. Chem.* **2017**, *24*, 1874–1891, doi:10.2174/0929867324666170605091546.
72. Camargo, L.C.; Campos, G.A.A.; Galante, P.; Biolchi, A.M.; Goncalves, J.C.; Lopes, K.S.; Mortari, M.R. Peptides isolated from animal venom as a platform for new therapeutics for the treatment of Alzheimer's disease. *Neuropeptides* **2018**, *67*, 79–86.
73. de Oliveira Amaral, H.; Monge-Fuentes, V.; Mayer, A.B.; Campos, G.A.A.; Lopes, K.S.; Camargo, L.C.; Schwartz, M.F.; Galante, P.; Mortari, M.R.

- Animal venoms: therapeutic tools for tackling Parkinson's disease. *Drug Discov. Today* **2019**, *24*, 2202–2211.
74. Akef, H.M. Snake venom: Kill and cure. *Toxin Rev.* **2019**, *38*, 21–40.
75. Bergonzoli G, Rodríguez A. Lineamientos técnicos y operativos para el análisis de la situación de las enfermedades crónicas no transmisibles en Colombia. Bogotá: Ministerio de Salud y Protección Social, CEDETES; **2013**.
76. Hanahan, D.; Weinberg, R.A. The hallmarks of cancer. *Cell* **2000**, *100*, 57–70.
77. Onuigbo, W.I. A definition problem in cancer metastasis. *Neoplasma* **1975**, *22*, 547–550.
78. Mitrus, I.; Bryndza, E.; Sochanik, A.; Szala, S. Evolving models of tumor origin and progression. *Tumor Biol.* **2012**, *33*, 911–917.
79. Wild, C.; Weiderpass, E.; Stewart, B.W. *World cancer report: cancer research for cancer prevention*; IARC Press, **2020**; ISBN 9283204476.
80. Lopez-Camarillo, C.; Arechaga-Ocampo, E. *Oncogenomics and cancer proteomics: Novel approaches in biomarkers discovery and therapeutic targets in cancer*; BoD–Books on Demand, **2013**; ISBN 9535110411.
81. Forrester, H.B.; Li, J.; Hovan, D.; Ivashkevich, A.N.; Sprung, C.N. DNA repair genes: Alternative transcription and gene expression at the exon level in response to the DNA damaging agent, ionizing radiation. *PLoS One* **2012**, *7*, e53358.
82. Vesely, M.D.; Kershaw, M.H.; Schreiber, R.D.; Smyth, M.J. Natural innate and adaptive immunity to cancer. *Annu. Rev. Immunol.* **2011**, *29*, 235–271.
83. Loeb, L.A. Human cancers express mutator phenotypes: origin, consequences and targeting. *Nat. Rev. Cancer* **2011**, *11*, 450–457.
84. Urra, F.A.; Araya-Maturana, R. Putting the brakes on tumorigenesis with snake venom toxins: New molecular insights for cancer drug discovery. In *Proceedings of the Seminars in Cancer Biology*; Elsevier, **2020**.
85. Ma, R.; Kwok, H.F. New opportunities and challenges of venom-based and bacteria-derived molecules for anticancer targeted therapy. In *Proceedings of the Seminars in Cancer Biology*; Elsevier, **2020**.
86. Valent, P.; Bonnet, D.; De Maria, R.; Lapidot, T.; Copland, M.; Melo, J. V; Chomienne, C.; Ishikawa, F.; Schuringa, J.J.; Stassi, G. Cancer stem cell definitions and terminology: the devil is in the details. *Nat. Rev. Cancer* **2012**, *12*, 767–775.
87. Rodrigues, R.; Izidoro, L.F.; de Oliveira Jr., R.; Soares, A.; Rodrigues, V.; Sampaio, S. Snake venom phospholipases A2: A new class of antitumor agents. *Protein Pept. Lett.* **2009**, *16*, 894–898, doi:10.2174/092986609788923266.
88. Jain, D.; Kumar, S. Snake venom: A potent anticancer agent. *Asian Pacific J. Cancer Prev.* **2012**, *13*, 4855–4860.
89. Siddiqua, A.; Khattak, K.; Nwaz, S. Venom proteins: Prospects for anticancer therapy. *Pak. J. Biochem. Mol. Biol* **2019**, *52*, 15–26.
90. Pérez-Peinado, C.; Defaus, S.; Andreu, D. Hitchhiking with nature: Snake venom peptides to fight cancer and superbugs. *Toxins (Basel)*. **2020**, *12*, 255.
91. Montoya-Gómez, A.; Montealegre-Sánchez, L.; García-Perdomo, H.A.; Jiménez-Charris, E. Cervical cancer and potential pharmacological

- treatment with snake venoms. *Mol. Biol. Rep.* **2020**, *47*, 4709–4721, doi:10.1007/s11033-020-05503-6.
92. Swenson, S.; Costa, F.; Minea, R.; Sherwin, R.P.; Ernst, W.; Fujii, G.; Yang, D.; Markland, F.S. Intravenous liposomal delivery of the snake venom disintegrin contortrostatin limits breast cancer progression. *Mol. Cancer Ther.* **2004**, *3*, 499–511.
  93. Lucena, S.; Castro, R.; Lundin, C.; Hofstetter, A.; Alaniz, A.; Suntravat, M.; Sánchez, E.E. Inhibition of pancreatic tumoral cells by snake venom disintegrins. *Toxicon* **2015**, *93*, 136–143, doi:10.1016/j.toxicon.2014.11.228.
  94. Machado, A.R.T.; Aissa, A.F.; Ribeiro, D.L.; Ferreira, R.S.; Sampaio, S.V.; Antunes, L.M.G. BjuSSU-LAAO-II induces cytotoxicity and alters DNA methylation of cell-cycle genes in monocultured/co-cultured HepG2 cells. *J. Venom. Anim. Toxins Incl. Trop. Dis.* **2019**, *25*, 1–9, doi:10.1590/1678-9199-jvatitd-1476-18.
  95. Moga, M.A.; Dimienescu, O.G.; Arvătescu, C.A.; Ifteni, P.; Pleș, L. Anti-cancer activity of toxins from bee and snake venom—an overview on ovarian cancer. *Molecules* **2018**, *23*, 692.
  96. Khusro, A.; Aarti, C.; Barbabosa-Pliego, A.; Rivas-Cáceres, R.R.; Cipriano-Salazar, M. Venom as therapeutic weapon to combat dreadful diseases of 21st century: A systematic review on cancer, TB, and HIV/AIDS. *Microb. Pathog.* **2018**, *125*, 96–107.
  97. Schönthal, A.H.; Swenson, S.D.; Chen, T.C.; Markland, F.S. Preclinical studies of a novel snake venom-derived recombinant disintegrin with antitumor activity: A review. *Biochem. Pharmacol.* **2020**, *181*, 114149, doi:10.1016/j.bcp.2020.114149.
  98. Teixeira, S.C.; Borges, B.C.; Oliveira, V.Q.; Carregosa, L.S.; Bastos, L.A.; Santos, I.A.; Jardim, A.C.G.; Freire, F.M.; Freitas, L.M.; Rodrigues, V.M.; et al. Insights into the antiviral activity of phospholipases A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>s) from snake venoms. *Int. J. Biol. Macromol.* **2020**, *164*, 616–625, doi:10.1016/j.ijbiomac.2020.07.178.
  99. Almeida, J.R.; Palacios, A.L. V; Patiño, R.S.P.; Mendes, B.; Teixeira, C.A.S.; Gomes, P.; da Silva, S.L. Harnessing snake venom phospholipases A<sub>2</sub> to novel approaches for overcoming antibiotic resistance. *Drug Dev. Res.* **2019**, *80*, 68–85.
  100. Paloschi, M. V; Pontes, A.S.; Soares, A.M.; Zuliani, J.P. An update on potential molecular mechanisms underlying the actions of snake venom L-amino acid oxidases (LAAOs). *Curr. Med. Chem.* **2018**, *25*, 2520–2530.
  101. Dos Santos Nunes, E.; De Souza, M.A.A.; de Melo Vaz, A.F.; de Sá Santana, G.M.; Gomes, F.S.; Coelho, L.C.B.B.; Paiva, P.M.G.; Da Silva, R.M.L.; Silva-Lucca, R.A.; Oliva, M.L.V. Purification of a lectin with antibacterial activity from *Bothrops leucurus* snake venom. *Comp. Biochem. Physiol. Part B Biochem. Mol. Biol.* **2011**, *159*, 57–63.
  102. Klein, R.C.; Fabres-Klein, M.H.; de Oliveira, L.L.; Feio, R.N.; Malouin, F.; Ribon, A. de O.B. A C-type lectin from *Bothrops jararacussu* venom disrupts Staphylococcal biofilms. *PLoS One* **2015**, *10*, DOI: 10.1371/journal.pone.0120514
  103. Rádis-Baptista, G.; Moreno, F.B.M.B.; de Lima Nogueira, L.; Martins, A.M.C.; de Oliveira Toyama, D.; Toyama, M.H.; Cavada, B.S.; de Azevedo, W.F.; Yamane, T. Crotacetin, a novel snake venom C-type lectin homo-

- log of convulxin, exhibits an unpredictable antimicrobial activity. *Cell Biochem. Biophys.* **2006**, *44*, 412–423.
104. Chen, L.-W.; Kao, P.-H.; Fu, Y.-S.; Lin, S.-R.; Chang, L.-S. Membrane-damaging activity of Taiwan cobra cardiotoxin 3 is responsible for its bactericidal activity. *Toxicon* **2011**, *58*, 46–53.
  105. Chen, L.-W.; Kao, P.-H.; Fu, Y.-S.; Hu, W.-P.; Chang, L.-S. Bactericidal effect of *Naja nigricollis* toxin  $\gamma$  is related to its membrane-damaging activity. *Peptides* **2011**, *32*, 1755–1763.
  106. Wang, Y.; Hong, J.; Liu, X.; Yang, H.; Liu, R.; Wu, J.; Wang, A.; Lin, D.; Lai, R. Snake cathelicidin from *Bungarus fasciatus* is a potent peptide antibiotics. *PLoS One* **2008**, *3*, e3217.
  107. Wang, Y.; Zhang, Z.; Chen, L.; Guang, H.; Li, Z.; Yang, H.; Li, J.; You, D.; Yu, H.; Lai, R. Cathelicidin-BF, a snake cathelicidin-derived antimicrobial peptide, could be an excellent therapeutic agent for acne vulgaris. *PLoS One* **2011**, *6*, e22120.
  108. Zhao, H.; Gan, T.-X.; Liu, X.-D.; Jin, Y.; Lee, W.-H.; Shen, J.-H.; Zhang, Y. Identification and characterization of novel reptile cathelicidins from elapid snakes. *Peptides* **2008**, *29*, 1685–1691.
  109. Zhou, H.; Dou, J.; Wang, J.; Chen, L.; Wang, H.; Zhou, W.; Li, Y.; Zhou, C. The antibacterial activity of BF-30 in vitro and in infected burned rats is through interference with cytoplasmic membrane integrity. *Peptides* **2011**, *32*, 1131–1138.
  110. Zhao, F.; Lan, X.-Q.; Du, Y.; Chen, P.-Y.; Zhao, J.; Zhao, F.; Lee, W.-H.; Zhang, Y. King cobra peptide OH-CATH30 as a potential candidate drug through clinic drug-resistant isolates. *Zool. Res.* **2018**, *39*, 87.
  111. Gan, Z.R.; Gould, R.J.; Jacobs, J.W.; Friedman, P.A.; Polokoff, M.A. Echistatin. A potent platelet aggregation inhibitor from the venom of the viper, *Echis carinatus*. *J. Biol. Chem.* **1988**, *263*, 19827–19832, doi:10.1016/s0021-9258(19)77710-2.
  112. Lynch, J.J.; Cook, J.J.; Sitko, G.R.; Holahan, M.A.; Ramjit, D.R.; Mellott, M.J.; Stranieri, M.T.; Stabilito, I.I.; Zhang, G.; Lynch, R.J. Nonpeptide glycoprotein IIb/IIIa inhibitors. 5. Antithrombotic effects of MK-0383. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1995**, *272*, 20–32.
  113. Barrett, J.S.; Murphy, G.; Peerlinck, K.; Lepeleire, I. De; Gould, R.J.; Panbianco, D.; Hand, E.; Deckmyn, H.; Vermynen, J.; Arnout, J. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of MK-383, a selective non-peptide platelet glycoprotein-IIb/IIIa receptor antagonist, in healthy men. *Clin. Pharmacol. Ther.* **1994**, *56*, 377–388.
  114. Scarborough, R.M.; Rose, J.W.; Hsu, M.; Phillips, D.R.; Fried, V.A.; Campbell, A.M.; Nannizzi, L.; Charo, I.F. Barbourin. A GPIIb-IIIa-specific integrin antagonist from the venom of *Sistrurus m. barbouri*. *J. Biol. Chem.* **1991**, *266*, 9359–9362.
  115. Scarborough, R.M.; Rose, J.W.; Naughton, M.A.; Phillips, D.R.; Nannizzi, L.; Arfsten, A.; Campbell, A.M.; Charo, I.F. Characterization of the integrin specificities of disintegrins isolated from American pit viper venoms. *J. Biol. Chem.* **1993**, *268*, 1058–1065.
  116. Scarborough, R.M.; Naughton, M.A.; Teng, W.; Rose, J.W.; Phillips, D.R.; Nannizzi, L.; Arfsten, A.; Campbell, A.M.; Charo, I.F. Design of potent and specific integrin antagonists. Peptide antagonists with high specificity for glycoprotein IIb-IIIa. *J. Biol. Chem.* **1993**, *268*, 1066–1073.

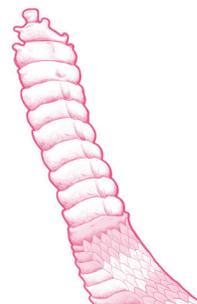
117. Phillips, D.R.; Scarborough, R.M. Clinical pharmacology of eptifibatide. *Am. J. Cardiol.* **1997**, *80*, 11B-20B.
118. Momic, T.; Cohen, G.; Reich, R.; Arlinghaus, F.T.; Eble, J.A.; Marcinkiewicz, C.; Lazarovici, P. Vixapatin (VP12), a c-type lectin-protein from *Vipera xantina palestinae* venom: characterization as a novel anti-angiogenic compound. *Toxins (Basel)*. **2012**, *4*, 862–877.
119. Momic, T.; Katzhendler, J.; Shai, E.; Noy, E.; Senderowitz, H.; Eble, J.A.; Marcinkiewicz, C.; Varon, D.; Lazarovici, P. Vipegitide: a folded peptidomimetic partial antagonist of  $\alpha 2\beta 1$  integrin with antiplatelet aggregation activity. *Drug Des. Devel. Ther.* **2015**, *9*, 291.
120. Novoa, E.; Seegers, W.H. Mechanisms of  $\alpha$ -thrombin and  $\beta$ -thrombin-E formation: use of ecarin for isolation of meizothrombin 1. *Thromb. Res.* **1980**, *18*, 657–668.
121. Howie, P.W.; Prentice, C.R.M.; McNicol, G.P. A method of antithrombin estimation using plasma defibrinated with ancrod. *Br. J. Haematol.* **1973**, *25*, 101–110.
122. Kini, R.M.; Rao, V.S.; Joseph, J.S. Procoagulant proteins from snake venoms. *Pathophysiol. Haemost. Thromb.* **2001**, *31*, 218–224.
123. Rosing, J.; Tans, G. Meizothrombin, a major product of factor Xa-catalyzed prothrombin activation. *Thromb. Haemost.* **1988**, *60*, 355–360.
124. Rosing, J.; Tans, G. Structural and functional properties of snake venom prothrombin activators. *Toxicon* **1992**, *30*, 1515–1527.
125. Stevens, W.K.; Côté, H.C.F.; MacGillivray, R.T.A.; Nesheim, M.E. Calcium ion modulation of meizothrombin autolysis at Arg55-Asp56 and catalytic activity. *J. Biol. Chem.* **1996**, *271*, 8062–8067.
126. Triplett, D.A.; Stocker, K.F.; Unger, G.A.; Barna, L.K. The Textarin/Ecarin ratio: A confirmatory test for lupus anticoagulants. *Thromb. Haemost.* **1993**, *70*, 925–931.
127. Gosselin, R.C.; Douxfils, J. Ecarin based coagulation testing. *Am. J. Hematol.* **2020**, *95*, 863–869.
128. Tokunaga, F.; Nagasawa, K.; Tamura, S.; Miyata, T.; Iwanaga, S.; Kisiel, W. The factor V-activating enzyme (RVV-V) from Russell's viper venom. Identification of isoproteins RVV-V alpha,-V beta, and-V gamma and their complete amino acid sequences. *J. Biol. Chem.* **1988**, *263*, 17471–17481.
129. Kisiel, W.; Canfield, W.M. [22] Snake venom proteases that activate blood-coagulation factor V. In *Methods in enzymology*; Elsevier, **1981**; Vol. 80, pp. 275–285 ISBN 0076-6879.
130. Stocker, K. Application of snake venom proteins in the diagnosis of hemostatic disorders. *Med. use snake venom proteins* **1990**, 213–252.
131. Quick, A.J. Thromboplastin generation: effect of the bell-alton reagent and Russell viper venom on prothrombin consumption. *Am. J. Clin. Pathol.* **1971**, *55*, 555–560.
132. Pereañez, J.A.; Preciado, L.M.; Romero, I.e. Toxinology in Colombia: Contributions of programa de ofidismo/escorpionismo and other research groups. *Vitae* **2019**, *26*, 120-134.
133. Vargas, L.J.; Londoño, M.; Quintana, J.C.; Rua, C.; Segura, C.; Lomonte, B.; Núñez, V. An acidic phospholipase A2 with antibacterial activity from *Porthidium nasutum* snake venom. *Comp. Biochem. Physiol. part B Biochem. Mol. Biol.* **2012**, *161*, 341–347.

134. Quintana, J.C.; Chacón, A.M.; Vargas, L.; Segura, C.; Gutiérrez, J.M.; Alarcón, J.C. Antiplasmodial effect of the venom of *Crotalus durissus cumanensis*, crotoxin complex and crotoxin B. *Acta Trop.* **2012**, *124*, 126–132, doi:10.1016/j.actatropica.2012.07.003.
135. Vargas, L.J.; Quintana, J.C.; Pereañez, J.A.; Núñez, V.; Sanz, L.; Calvente, J. Cloning and characterization of an antibacterial l-amino acid oxidase from *Crotalus durissus cumanensis* venom. *Toxicon* **2013**, *64*, 1–11, doi:10.1016/j.toxicon.2012.11.027.
136. Vargas Muñoz, L.J.; Estrada-Gomez, S.; Núñez, V.; Sanz, L.; Calvente, J.J. Characterization and cDNA sequence of *Bothriechis schlegelii* l-amino acid oxidase with antibacterial activity. *Int. J. Biol. Macromol.* **2014**, *69*, 200–207, doi:10.1016/j.ijbiomac.2014.05.039.
137. Pereañez, J.A.; Preciado, L.M.; Fernández, J.; Camacho, E.; Lomonte, B.; Castro, F.; Cañas, C.A.; Galvis, C.; Castaño, S. Snake venomomics, experimental toxic activities and clinical characteristics of human envenomation by *Bothrocophias myersi* (Serpentes: Viperidae) from Colombia. *J. Proteomics* **2020**, *220*, 103758, doi:10.1016/j.jprot.2020.103758.
138. Matsui, T.; Fujimura, Y.; Titani, K. Snake venom proteases affecting hemostasis and thrombosis. *Biochim. Biophys. Acta (BBA)-Protein Struct. Mol. Enzymol.* **2000**, *1477*, 146–156.
139. Felicori, L.F.; Souza, C.T.; Velarde, D.T.; Magalhaes, A.; Almeida, A.P.; Figueiredo, S.; Richardson, M.; Diniz, C.R.; Sanchez, E.F. Kallikrein-like proteinase from bushmaster snake venom. *Protein Expr. Purif.* **2003**, *30*, 32–42.
140. Culma, M.F.; Pereañez, J.A.; Rangel, V.N.; Lomonte, B. Snake venomomics of *Bothrops punctatus*, a semiarboreal pitviper species from Antioquia, Colombia. *PeerJ* **2014**, *2*, e246.
141. Mora-Obando, D.; Guerrero-Vargas, J.A.; Prieto-Sánchez, R.; Beltrán, J.; Rucavado, A.; Sasa, M.; Gutiérrez, J.M.; Ayerbe, S.; Lomonte, B. Proteomic and functional profiling of the venom of *Bothrops ayerbeii* from Cauca, Colombia, reveals striking interspecific variation with *Bothrops asper* venom. *J. Proteomics* **2014**, *96*, 159–172, doi:10.1016/j.jprot.2013.11.005.
142. Bonilla-Porras, A.R.; Vargas, L.J.; Jimenez-Del-Rio, M.; Nuñez, V.; Velez-Pardo, C. Purification of nasulyisin-1: A new toxin from *Porthidium nasutum* snake venom that specifically induces apoptosis in leukemia cell model through caspase-3 and apoptosis-inducing factor activation. *Toxicon* **2016**, *120*, 166–174.
143. Pereañez, J.A.; Gómez, I.D.; Patiño, A.C. Relationship between the structure and the enzymatic activity of crotoxin complex and its phospholipase A<sub>2</sub> subunit: An in silico approach. *J. Mol. Graph. Model.* **2012**, *35*, 36–42.
144. Brigatte, P.; Faiad, O.J.; Ferreira Nocelli, R.C.; Landgraf, R.G.; Palma, M.S.; Cury, Y.; Curi, R.; Sampaio, S.C. Walker 256 tumor growth suppression by crotoxin involves formyl peptide receptors and lipoxin A4. *Mediators Inflamm.* **2016**, *2016*(1):2457532. DOI: 10.1155/2016/2457532
145. Corin, R.E.; Viskatis, L.J.; Vidal, J.C.; Etcheverry, M.A. Cytotoxicity of crotoxin on murine erythroleukemia cells in vitro. *Invest. New Drugs* **1993**, *11*, 11–15.
146. Cura, J.E.; Blanzaco, D.P.; Brisson, C.; Cura, M.A.; Cabrol, R.; Larrateguy, L.; Mendez, C.; Sechi, J.C.; Silveira, J.S.; Theiller, E. Phase I and

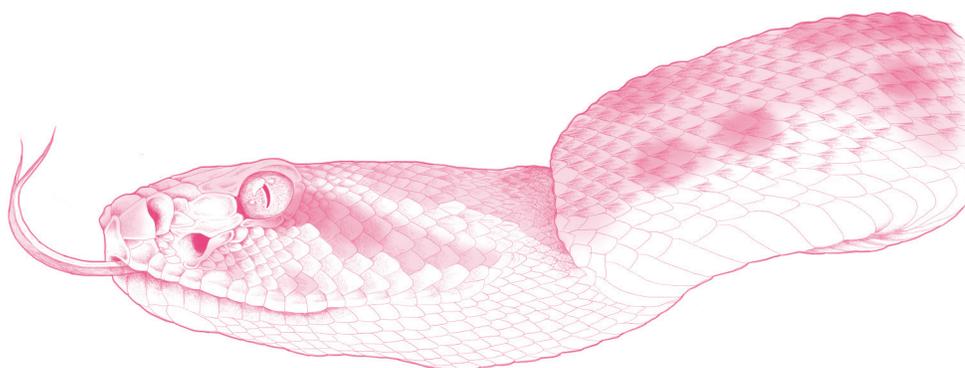
- pharmacokinetics study of crotoxin (cytotoxic PLA2, NSC-624244) in patients with advanced cancer. *Clin. Cancer Res.* **2002**, *8*, 1033–1041.
147. He, J.; Wu, X.; Wang, Y.; Han, R.; Qin, Z.; Xie, Y. Growth inhibitory effects and molecular mechanisms of crotoxin treatment in esophageal Eca-109 cells and transplanted tumors in nude mice. *Acta Pharmacol. Sin.* **2013**, *34*, 295–300.
148. de Andrade, C.M.; Rey, F.M.; Bianchini, F.J.; Sampaio, S. V; Torqueti, M.R. Crotoxin, a neurotoxin from *Crotalus durissus terrificus* snake venom, as a potential tool against thrombosis development. *Int. J. Biol. Macromol.* **2019**, *134*, 653–659.
149. Mello, C.P.; Lima, D.B.; Bandeira, I.C.J.; Tessarolo, L.D.; Sampaio, T.L.; Falcão, C.B.; Rádis-Baptista, G.; Martins, A.M.C. Evaluation of the antichagasic activity of batroxidin, a cathelicidin-related antimicrobial peptide found in *Bothrops atrox* venom gland. *Toxicon* **2017**, *130*, 56–62.
150. Martins, N.M.; Ferreira, D.A.S.; Rodrigues, M.A.C.; Cintra, A.C.O.; Santos, N.A.G.; Sampaio, S. V; Santos, A.C. Low-molecular-mass peptides from the venom of the Amazonian viper *Bothrops atrox* protect against brain mitochondrial swelling in rat: potential for neuroprotection. *Toxicon* **2010**, *56*, 86–92.
151. Gazerani, P. Venoms as an adjunctive therapy for Parkinson's disease: Where are we now and where are we going? *Futur. Sci. OA* **2021**, *7*, doi:10.2144/fsoa-2020-0119.
152. Brenes, H.; Loría, G.D.; Lomonte, B. Potent antiviral activity against Flaviviridae of a group IIA phospholipase A<sub>2</sub> isolated from the venom of *Bothrops asper*. *Biologicals* **2020**, *63*, 48–52.
153. Girón, M.E.; Guerrero, B.; Salazar, A.M.; Sánchez, E.E.; Álvarez, M.; Rodríguez-Acosta, A. Functional characterization of fibrinolytic metalloproteinases (colombienases) isolated from *Bothrops colombiensis* venom. *Toxicon* **2013**, *74*, 116–126.
154. Menaldo, D.L.; Costa, T.R.; Ribeiro, D.L.; Zambuzi, F.A.; Antunes, L.M.G.; Castro, F.A.; Frantz, F.G.; Sampaio, S. V Immunomodulatory actions and epigenetic alterations induced by proteases from *Bothrops* snake venoms in human immune cells. *Toxicol. Vitro* **2019**, *61*, DOI:10.1016/j.tiv.2019.06.020
155. Romero-Vargas, F.F.; Rocha, T.; Cruz-Höfling, M.A.; Rodrigues-Simioni, L.; Ponce-Soto, L.A. Biochemical Characterization of a PLA2 Btae TX-I Isolated from *Bothriopsis taeniata* Snake Venom: A Pharmacological and Morphological Study. *J Clin Toxicol* **2014**, *4*:3 DOI: 10.4172/2161-0495.1000197
156. Maluf, S.E.C.; Dal Mas, C.; Oliveira, E.B.; Melo, P.M.; Carmona, A.K.; Gazarini, M.L.; Hayashi, M.A.F. Inhibition of malaria parasite *Plasmodium falciparum* development by crotamine, a cell penetrating peptide from the snake venom. *Peptides* **2016**, *78*, 11–16.
157. Falcao, C.B.; Radis-Baptista, G. Crotamine and crotalicidin, membrane active peptides from *Crotalus durissus terrificus* rattlesnake venom, and their structurally-minimized fragments for applications in medicine and biotechnology. *Peptides* **2020**, *126*, 170234.
158. Petricevich, V.L.; Mendonça, R.Z. Inhibitory potential of *Crotalus durissus terrificus* venom on measles virus growth. *Toxicon* **2003**, *42*, 143–153.

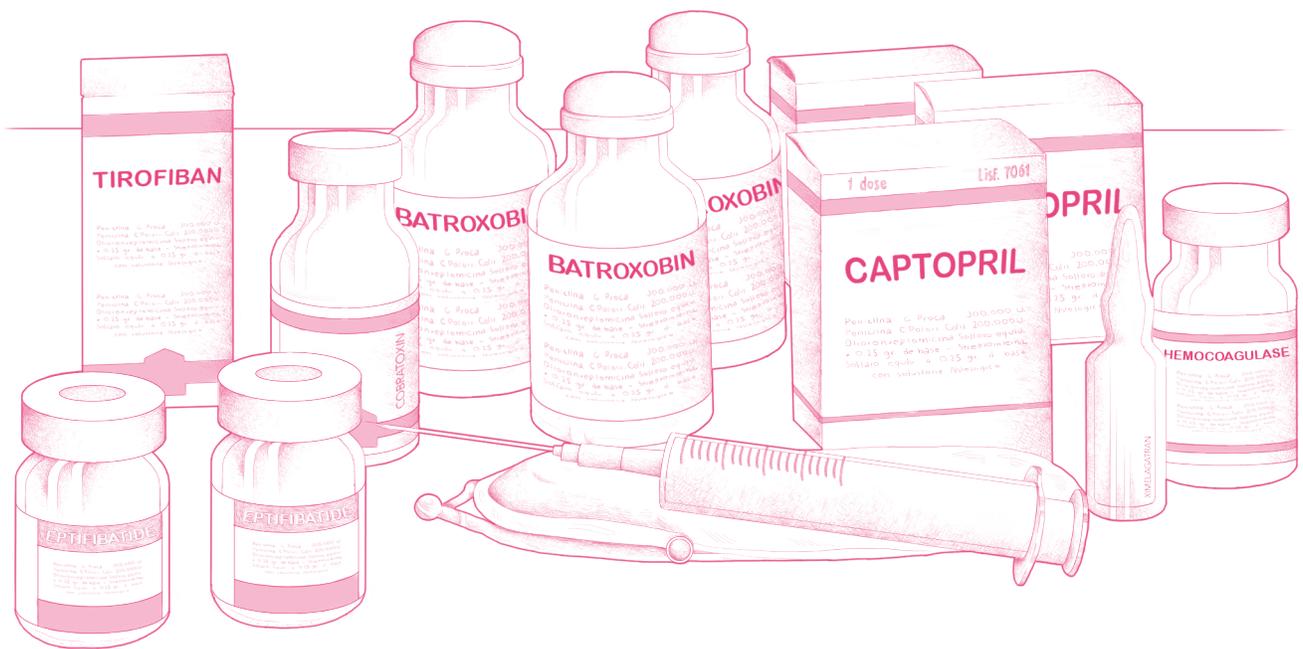
159. Faure, G.; Bakouh, N.; Lourdel, S.; Odolczyk, N.; Premchandar, A.; Ser-vel, N.; Hatton, A.; Ostrowski, M.K.; Xu, H.; Saul, F.A. Rattlesnake phospholipase A<sub>2</sub> increases CFTR-chloride channel current and corrects F508CFTR dysfunction: impact in cystic fibrosis. *J. Mol. Biol.* **2016**, *428*, 2898–2915.
160. Pérez-Peinado, C.; Dias, S.A.; Domingues, M.M.; Benfield, A.H.; Freire, J.M.; Rádis-Baptista, G.; Gaspar, D.; Castanho, M.A.R.B.; Craik, D.J.; Henriques, S.T. Mechanisms of bacterial membrane permeabilization by crotalicidin (Ctn) and its fragment Ctn (15–34), antimicrobial peptides from rattlesnake venom. *J. Biol. Chem.* **2018**, *293*, 1536–1549.
161. Muller, V.D.; Soares, R.O.; dos Santos-Junior, N.N.; Trabuco, A.C.; Cintra, A.C.; Figueiredo, L.T.; Caliri, A.; Sampaio, S.V.; Aquino, V.H. Phospholipase A<sub>2</sub> isolated from the venom of *Crotalus durissus terrificus* inactivates dengue virus and other enveloped viruses by disrupting the viral envelope. *PLoS One* **2014**, *9*, DOI:10.1371/journal.pone.0112351
162. Brigatte, P.; Konno, K.; Gutierrez, V.P.; Sampaio, S.C.; Zambelli, V.O.; Piccolo, G.; Curi, R.; Cury, Y. Peripheral kappa and delta opioid receptors are involved in the antinociceptive effect of crotalphine in a rat model of cancer pain. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **2013**, *109*, 1–7.
163. Teixeira, N.B.; Sant'Anna, M.B.; Giardini, A.C.; Araujo, L.P.; Fonseca, L.A.; Basso, A.S.; Cury, Y.; Piccolo, G. Crotoxin down-modulates pro-inflammatory cells and alleviates pain on the MOG35-55-induced experimental autoimmune encephalomyelitis, an animal model of multiple sclerosis. *Brain. Behav. Immun.* **2020**, *84*, 253–268.
164. Pinheiro-Júnior, E.L.; Boldrini-França, J.; de Campos Araújo, L.M.P.; Santos-Filho, N.A.; Bendhack, L.M.; Cilli, E.M.; Arantes, E.C. LmrB-PP9: A synthetic bradykinin-potentiating peptide from *Lachesis muta rhombeata* venom that inhibits the angiotensin-converting enzyme activity in vitro and reduces the blood pressure of hypertensive rats. *Peptides* **2018**, *102*, 1–7.
165. Jiménez-Charris, E.; Lopes, D.S.; Gimenes, S.N.C.; Teixeira, S.C.; Montealegre-Sánchez, L.; Solano-Redondo, L.; Fierro-Pérez, L.; Ávila, V. de M.R. Antitumor potential of Pllans-II, an acidic Asp49-PLA2 from *Porthidium lansbergii lansbergii* snake venom on human cervical carcinoma HeLa cells. *Int. J. Biol. Macromol.* **2019**, *122*, 1053–1061.
166. Montealegre-Sánchez, L.; Gimenes, S.N.C.; Lopes, D.S.; Teixeira, S.C.; Solano-Redondo, L.; de Melo Rodrigues, V.; Jiménez-Charris, E. Antitumoral potential of Lansbermin-I, a novel disintegrin from *Porthidium lansbergii lansbergii* venom on breast cancer cells. *Curr. Top. Med. Chem.* **2019**, *19*, 2069–2078.
167. Vargas Munoz, L.J.; Estrada-Gómez, S.; Nunez, V.; Sanz, L.; Calvete, J.J. Characterization and cDNA sequence of *Bothriechis schlegelii*-amino acid oxidase with antibacterial activity. **2014**, *69*, 200-7. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2014.05.039
168. Rey-Suárez, P.; Núñez, V.; Gutiérrez, J.M.; Lomonte, B. Proteomic and biological characterization of the venom of the redbellied coral snake, *Micrurus mipartitus* (Elapidae), from Colombia and Costa Rica. *J. Proteomics* **2011**, *75*, 655–667, doi:10.1016/j.jprot.2011.09.003.
169. Rey-Suárez, P.; Núñez, V.; Fernández, J.; Lomonte, B. Integrative characterization of the venom of the coral snake *Micrurus dumeri-*

- lii* (Elapidae) from Colombia: Proteome, toxicity, and cross-neutralization by antivenom. *J. Proteomics* **2016**, *136*, 262–273, doi:10.1016/j.jprot.2016.02.006.
170. Sanz, L.; Quesada-Bernat, S.; Ramos, T.; Casais-e-Silva, L.L.; Corrêa-Netto, C.; Silva-Haad, J.J.; Sasa, M.; Lomonte, B.; Calvete, J.J. New insights into the phylogeographic distribution of the 3FTx/PLA<sub>2</sub> venom dichotomy across genus *Micrurus* in South America. *J. Proteomics* **2019**, *200*, 90–101, doi:10.1016/j.jprot.2019.03.014.
171. Casais-e-Silva, L.L.; Teixeira, C.F.P.; Lebrun, I.; Lomonte, B.; Alape-Girón, A.; Gutiérrez, J.M. Lemnitoxin, the major component of *Micrurus lemniscatus* coral snake venom, is a myotoxic and pro-inflammatory phospholipase A2. *Toxicol. Lett.* **2016**, *257*, 60–71, doi:10.1016/j.toxlet.2016.06.005.
172. Rey-Suárez, P.; Acosta, C.; Torres, U.; Saldarriaga-Córdoba, M.; Lomonte, B.; Núñez, V. MipLAAO, a new L-amino acid oxidase from the redtail coral snake *Micrurus mipartitus*. *PeerJ* **2018**, *2018*, doi:10.7717/peerj.4924.
173. Rey-Suárez, P.; Núñez, V.; Saldarriaga-Córdoba, M.; Lomonte, B. Primary structures and partial toxicological characterization of two phospholipases A2 from *Micrurus mipartitus* and *Micrurus dumerilii* coral snake venoms. *Biochimie* **2017**, *137*, 88–98, doi:10.1016/j.biochi.2017.03.008.
174. Nascimento, L.R.S.; Silva, N.J.; Feitosa, D.T.; Prudente, A.L.C. Taxonomy of the *Micrurus spixii* species complex (Serpentes, Elapidae). *Zootaxa* **2019**, *4668*, 370–392, doi:10.11646/zootaxa.4668.3.4.
175. Terra, A.L.C.; Moreira-Dill, L.S.; Simões-Silva, R.; Monteiro, J.R.N.; Calvalcante, W.L.G.; Gallacci, M.; Barros, N.B.; Nicolete, R.; Teles, C.B.G.; Medeiros, P.S.M.; et al. Biological characterization of the Amazon coral *Micrurus spixii* snake venom: Isolation of a new neurotoxic phospholipase A2. *Toxicon* **2015**, *103*, 1–11, doi:10.1016/j.toxicon.2015.06.011.
176. Torres-Bonilla, K.A.; Schezaro-Ramos, R.; Floriano, R.S.; Rodrigues-Simioni, L.; Bernal-Bautista, M.H.; Alice da Cruz-Höfling, M. Biological activities of *Leptodeira annulata* (banded cat-eyed snake) venom on vertebrate neuromuscular preparations. *Toxicon* **2016**, *119*, 345–351, doi:10.1016/j.toxicon.2016.07.004.
177. Torres-Bonilla, K.A.; Floriano, R.S.; Schezaro-Ramos, R.; Rodrigues-Simioni, L.; da Cruz-Höfling, M.A. A survey on some biochemical and pharmacological activities of venom from two Colombian colubrid



- snakes, *Erythrolamprus bizona* (Double-banded coral snake mimic) and *Pseudoboa neuwiedii* (Neuwied's false boa). *Toxicon* **2017**, *131*, 29–36, doi:10.1016/J.TOXICON.2017.02.030.
178. Torres-Bonilla, K.A.; Panunto, P.C.; Pereira, B.B.; Zambrano, D.F.; Herrán-Medina, J.; Bernal, M.H.; Hyslop, S. Toxinological characterization of venom from *Leptodeira annulata* (Banded cat-eyed snake; Dipsadidae, Imantodini). *Biochimie* **2020**, *174*, 171–188, doi:10.1016/J.BIOCHI.2020.04.006.
179. Heyborne, W.H.; Mackessy, S.P. Identification and characterization of a taxon-specific three-finger toxin from the venom of the Green Vinesnake (*Oxybelis fulgidus*; family Colubridae). *Biochimie* **2013**, *95*, 1923–1932, doi:10.1016/J.BIOCHI.2013.06.025.
180. Peichoto, M.E.; Tavares, F.L.; DeKrey, G.; Mackessy, S.P. A comparative study of the effects of venoms from five rear-fanged snake species on the growth of *Leishmania major*: Identification of a protein with inhibitory activity against the parasite. *Toxicon* **2011**, *58*, 28–34, doi:10.1016/j.toxicon.2011.04.018.
181. Leite dos Santos, G.G.; Casais e Silva, L.L.; Pereira Soares, M.B.; Villareal, C.F. Antinociceptive properties of *Micrurus lemniscatus* venom. *Toxicon* **2012**, *60*, 1005–1012, doi:10.1016/j.toxicon.2012.07.003.
182. Jiménez-Charris, E.; Montealegre-Sanchez, L.; Solano-Redondo, L.; Mora-Obando, D.; Camacho, E.; Castro-Herrera, F.; Fierro-Pérez, L.; Lomonte, B. Proteomic and functional analyses of the venom of *Porthidium lansbergii lansbergii* (Lansberg's hog-nose viper) from the Atlantic Department of Colombia. *J. Proteomics* **2015**, *114*, 287–299, doi:10.1016/j.jprot.2014.11.016.





# Abreviaciones y significados

Abreviación	Significado
3FTx	Toxinas de tres dedos
Ach	Acetilcolina
ADP	Difosfato de adenosina
ALP	Antiveneno antilómico
AKI	Lesión renal aguda
AOO	Área de ocupación
ATCC	Colección americana de cultivos tipo
AV B/C	Antiveneno botrópico-crotálico
BiL	Lectina aislada básica
BJcuL	Lectina tipo c de <i>Bothrops jararacussu</i>
BK	Bradicinina
BM	Membrana basal
BmLec	Lectina de <i>Bothrops moojeni</i>
BMP	Buenas prácticas de manufactura
BN-PAGE	Electroforesis en gel nativo azul (blue native-page)
BpirL	Lectina de <i>Bothrops pirajai</i>
BPP	Péptidos potenciadores de bradicinina
CA	Subunidad a de crotapotina (asociada con crotoxina)
CDR	Dominio de reconocimiento de carbohidratos
CICUA	Comité institucional de ética para animales
CITES	Convención sobre el comercio internacional de especies amenazadas de fauna y flora silvestres
CK	Creatina quinasa
CLP	Proteína tipo lectina C
CNBr	Bromuro de cianógeno
CNG	Canales cíclicos de nucleótidos
C-NP	Neuropéptido C-terminal
CRD	Dominio rico en cisteína
CRISP	Proteína secretora rica en cisteína
CTL	Lectina tipo C
CTX	Crotoxina
DL <sub>100</sub>	Dosis letal 100
DTT	Ditiotreitol
ECM	Matriz extracelular
ED <sub>50</sub>	Dosis efectiva media
ERC	Enfermedad renal crónica
GLN	Glutamina
ELISA	Ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas
ELISA HRP	Ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas en el que se usa peroxidasa de rábano

EOO	Extensión de ocurrencia
F(ab') <sub>2</sub>	Fragmento de unión al antígeno
Fab	Fragmento de unión al antígeno
FPLC	Cromatografía líquida rápida de proteínas
GWR	Regresión ponderada geográficamente
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peróxido de hidrógeno
HC	Canal hidrofóbico
HR	Registro sanitario
CICUA	Comité institucional de ética para animales
ICP	Instituto Clodomiro Picado
IEF	Enfoque isoeléctrico
IgG	Inmunoglobulina G
INR	Razón internacional normalizada
INS	Instituto nacional de salud
INVIMA	Instituto nacional de vigilancia de medicamentos y alimentos
IP	Inyección intaperitoneal
IPTG	Isopropil β-d-1-tio-galactopiranosido
IRA	Insuficiencia renal aguda
ISCOM	Complejo inmunoestimulante
IUCN	Unión internacional para la conservación de la naturaleza
IV	Inyección intravenosa
KDa	Kilodaltones (unidad de peso molecular)
KUN	Inhibidores de proteasa tipo Kunitz
LAO	L-aminoácido oxidasa
LD <sub>50</sub>	Dosis letal media
LDH	Lactato deshidrogenasa
Lys	Lisina
MAHA	Anemia hemolítica microangiopática
DCM	Dosis coagulante mínima
MDiS	Sitio de disrupción de membrana
MDoS	Sitio de anclaje de membrana
DMH	Dosis hemorrágica mínima
DMM	Dosis mitotóxica mínima
MMP	Metaloproteinasa de matriz
DNM	Dosis necrosante mínima
MmTX1	Miotoxina 1 de <i>Micrurus mipartitus</i>
MmTX2	Miotoxina 2 de <i>Micrurus mipartitus</i>
MTα	Metaloproteinasa α
VNI	Vacuna no inyectable
NGF	Factor de crecimiento neural
NTDS	Enfermedades tropicales desatendidas
OH	Grupo hidroxilo
ON	Nitrógeno oxidado
PAI	Programa ampliado de inmunización
POE	Procedimiento operativo estándar

OPS	Organización panamericana de la salud
PFA	Anticuerpos Fab purificados
PLA <sub>2</sub>	Fosfolipasa A <sub>2</sub>
PLB	Fosfolipasa B
PTTa	Tiempo de tromboplastina parcial activada
PT	Tiempo de protrombina
PNCS	Programa nacional para la conservación de las serpientes presentes en Colombia
RCpLi	Proteína quimérica recombinante
FABr	Fragmento recombinante f(ab') <sub>2</sub>
RP-HPLC	Cromatografía líquida de alta resolución en fase reversa
SAM	Suero monovalente antivipérido
SAP	Suero polivalente antivipérido
SDS-PAGE	Electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecil sulfato
Ser	Serina
SIVIGILA	Sistema de vigilancia epidemiológica en salud pública
SVMP	Metaloproteinasa de veneno de serpiente
SVSP	Serinoproteinasa de veneno de serpiente
TMA	Microangiopatía trombótica
TNF	Factor de necrosis tumoral
Tyr	Tirosina
VEGF	Factor de crecimiento endotelial vascular
VICC	Coagulopatía por consumo inducida por veneno
VRBPAC	Comité asesor sobre vacunas y productos biológicos relacionados
FvW	Factor de von Willebrand
WB	Western blot
WHO/OMS	Organización mundial de la salud

#### **Acrónimos de las colecciones biológicas**

IAvH	Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt
ICN	Instituto de Ciencias Naturales Universidad Nacional de Colombia
INSV	Colección de Animales Venenosos del Instituto Nacional de Salud
INSBT	Banco de tejidos de animales venenosos del Instituto Nacional de Salud
INSZ	Colección Zoológica del Instituto Nacional de Salud
SINCHI-R	Colección Reptiles Instituto Sinchi
UVC	Universidad del Valle del Cauca

#### **Acrónimos de los colectores de los datos obtenidos de notas de campo**

JDL	John Douglas Lynch
TAS	Teddy Angarita Sierra
SDCC	Sergio Daniel Cubides Cubillos

### Categorías de abundancia para las serpientes

Extremadamente común:	Con una alta probabilidad de ser vista todos los días, usualmente en grandes cantidades
Común:	Observaciones reportadas semanalmente en densidades superiores a cinco individuos por localidad
Frecuente:	Observaciones reportadas semanalmente en densidades inferiores a cinco individuos por localidad
Poco común:	Con una baja probabilidad de ser vista; registrada más de una vez en algunos meses del año
Rara:	El número promedio total de observaciones reportadas por localidad es menor a diez
Extremadamente rara:	El número promedio total de observaciones reportadas por localidad es menor a tres

### Categorías de amenaza IUCN

Extinta (EX)	Una especie está Extinto cuando que no queda duda razonable que el último individuo ha muerto
En peligro crítico (CR)	Una especie está En Peligro Crítico cuando la mejor evidencia disponible indica que cumple cualquiera de los criterios «A» a «E» y, por consiguiente, se considera que se está enfrentando a un riesgo de extinción extremadamente alto en estado de vida silvestre
En peligro (EN)	Una especie está En Peligro cuando la mejor evidencia disponible indica que cumple cualquiera de los criterios «A» a «E» En Peligro y, por consiguiente, se considera que se está enfrentando a un riesgo de extinción muy alto en estado de vida silvestre.
Vulnerable (VU)	Una especie es Vulnerable cuando la mejor evidencia disponible indica que cumple cualquiera de los criterios «A» a «E» para Vulnerable, y, por consiguiente, se considera que se está enfrentando a un riesgo de extinción alto en estado de vida silvestre.
Casi amenazada (NT)	Una especie está Casi Amenazado cuando ha sido evaluado según los criterios y no satisface, actualmente, los criterios para En Peligro Crítico, En Peligro o Vulnerable, pero está próximo a satisfacer los criterios, o posiblemente los satisfaga, en un futuro cercano
Preocupación menor (LC)	Un taxón se considera de Preocupación Menor cuando, habiendo sido evaluado, no cumple ninguno de los criterios que definen las categorías de En Peligro Crítico, En Peligro, Vulnerable o Casi Amenazado. Se incluyen en esta categoría taxones abundantes y de amplia distribución.
Datos insuficientes (DD)	Una especie se incluye en la categoría de Datos Insuficientes cuando no hay información adecuada para hacer una evaluación, directa o indirecta, de su riesgo de extinción basándose en la distribución y/o condición de la población.
No evaluado (NE)	Un taxón se considera No Evaluado cuando todavía no ha sido clasificado en relación a estos criterios

Puede los criterios A-E en: <https://portals.iucn.org/library/node/10316>

# Glosario

**Adrenalina/Epinefrina:** Esta hormona activa los sistemas adrenérgicos alfa y beta, lo que causa vasoconstricción y aumenta la presión arterial. Estimula el corazón, aumentando la frecuencia cardíaca y la fuerza de contracción. También dilata los bronquios, facilitando la respiración, y expande los vasos cerebrales, mejorando el flujo sanguíneo al cerebro.

**Albúmina:** Es una proteína plasmática principal en la sangre, producida por el hígado. Tiene un papel fundamental en el mantenimiento de la presión oncótica (que ayuda a regular el equilibrio de líquidos entre los vasos sanguíneos y los tejidos). Además, la albúmina transporta sustancias como hormonas, vitaminas, fármacos y productos de desecho.

**Aldosterona:** Es una hormona secretada por la corteza suprarrenal que regula el equilibrio de electrolitos y agua al aumentar la retención renal de sodio y la excreción de potasio.

**Alopatría:** La alopatría se refiere a la condición en la que poblaciones o especies están geográficamente separadas entre sí. Esta separación suele deberse a barreras físicas como montañas, ríos o la distancia, lo que impide el cruzamiento entre los grupos.

**Angiotensina I:** Un decapeptido que se genera a partir del angiotensinógeno precursor mediante la acción de la renina. La angiotensina I tiene una actividad biológica limitada. Se convierte en angiotensina II, un potente vasoconstrictor, tras la eliminación de dos aminoácidos en el extremo C-terminal por la enzima convertidora de angiotensina.

**Anticoagulante:** Algunas toxinas presentes en los venenos de serpientes, como las del género Bothrops, actúan como anticoagulantes al bloquear la coagulación, destruir plaquetas o activar la fibrinólisis. Esto puede causar hemorragias y dificultar la formación de coágulos. Sin embargo, toxinas de estos venenos tienen potencial para ser utilizadas como medicamentos anticoagulantes en tratamientos médicos.

**Aposematismo:** El aposematismo es un fenómeno biológico en el que un organismo presenta una coloración brillante y llamativa u otras señales de advertencia para indicar que es tóxico, desagradable al gusto o de algún modo peligroso para los depredadores potenciales. El concepto proviene de las palabras griegas “apo,” que significa “lejos,” y “sema,” que significa “señal,” lo que se traduce esencialmente como una señal de advertencia.

**Aterosclerosis:** Engrosamiento y pérdida de elasticidad de las paredes de las arterias que ocurre con la formación de placas ateroscleróticas dentro de la íntima arterial.

**Barreras precigóticas:** Son mecanismos que impiden que ocurra la reproducción, incluyendo barreras que previenen la fertilización cuando los organismos intentan reproducirse.

**Biodiversidad (diversidad biológica):** Se refiere a la variedad y variabilidad de la vida en la Tierra que comprende todos los niveles de su organización, desde los genes de los individuos que componen una población local o especie, hasta las especies que componen toda o una parte de una comunidad local, que hace parte de los múltiples ecosistemas y paisajes del mundo.

**Bloqueo neuromuscular:** Se refiere a la acción de moléculas (fármacos o toxinas) que bloquean la transmisión de impulsos nerviosos hacia los músculos (ver sinapsis). Esto provoca relajación muscular y parálisis.

**Bosque hiperhúmedo:** Es un tipo de ecosistema forestal caracterizado por niveles extremadamente altos de humedad y precipitación, generalmente superiores a 4,000 mm (157 pulgadas) de lluvia anual. Estas condiciones crean un ambiente consistentemente húmedo durante todo el año, con una mínima variación estacional en las precipitaciones.

**Bosque tropical de tierras bajas:** Se refiere a las coberturas boscosas que se encuentran desde el nivel del mar hasta los 1.000 metros de altitud.

**Bradicinina:** Un mensajero nonapéptido que se produce enzimáticamente a partir de calidina en la sangre, donde actúa como un potente agente de vida corta que causa dilatación arteriolar y el aumento de la permeabilidad capilar. La bradicinina también se libera de los mastocitos durante los ataques de asma, de las paredes del intestino como un vasodilatador gastrointestinal, de los tejidos dañados como una señal de dolor, y puede actuar como un neurotransmisor.

**Carcinogénesis:** El origen, producción o desarrollo del cáncer a través de cambios genotípicos y fenotípicos que alteran el equilibrio normal entre la proliferación y la muerte celulares. La carcinogénesis generalmente requiere una serie de pasos que pueden ocurrir rápidamente o durante un período de muchos años.

**Clado:** Un clado es una parte de una filogenia (una rama del árbol evolutivo) que incluye un linaje ancestral y todos los descendientes de ese ancestro.

**Co-opción/ Exaptación:** Es un proceso que ocurre cuando la selección natural encuentra nuevos usos para rasgos existentes, incluidos genes, órganos y otras estructuras corporales.

**Corriente sanguínea/Circulación sanguínea:** El movimiento de la sangre mientras es bombeada a través del sistema cardiovascular.

**Coagulante:** Agentes que causan la coagulación.

**Diversidad críptica:** Se refiere a la presencia de múltiples especies o linajes distintos que son morfológicamente indistinguibles o muy similares. A pesar de su apariencia similar, estas especies exhiben diferencias genéticas, ecológicas o de comportamiento que no son evidentes mediante la caracterización morfológica tradicional.

**Disecdisis:** Muda anormal o incompleta de la piel externa (epidermis) en reptiles.

**Dislipidemias:** Niveles séricos de lípidos anormales, incluyendo su sobreproducción o deficiencia. Los perfiles lipídicos séricos anormales pueden incluir colesterol total alto, triglicéridos altos, lipoproteínas de alta densidad (HDL) bajas y lipoproteínas de baja densidad (LDL) elevadas.

**Diuresis:** Proceso fisiológico mediante el cual los riñones filtran y eliminan el exceso de agua, electrolitos y productos de desecho a través de la orina.

**Ecdisis:** Proceso periódico de muda o cambio de la capa externa de piel, exoesqueleto o cutícula en los animales. Este proceso se observa comúnmente en reptiles, como serpientes y lagartos.

**Ecosistema:** Es el conjunto de comunidad de organismos junto con su entorno físico que crea un sistema de relaciones interactivas e interdependientes, incluyendo procesos como el flujo de energía a través de los niveles tróficos y el ciclo de elementos químicos y compuestos entre los componentes vivos y no vivos del sistema.

**Edema (hinchazón):** Es la inflamación causada por acumulación de líquido en los tejidos. En los envenenamiento por mordedura de serpiente se produce como parte de la respuesta inflamatoria local. Muchos venenos como los de serpientes del género *Bothrops* contienen toxinas que dañan los vasos sanguíneos y aumentan su permeabilidad, permitiendo que el líquido se filtre hacia los tejidos circundantes, lo que causa edema intenso, dolor y enrojecimiento alrededor de la zona de la mordedura.

**Especiación parapátrica:** Tipo de diversificación de especies que involucra poblaciones contiguas que ocupan diferentes hábitats dentro de un rango geográfico continuo sin ninguna barrera extrínseca concreta para el flujo génico.

**Esperanza de vida:** Se refiere a al tiempo total que se espera que un organismo viva, desde el nacimiento hasta la muerte, bajo circunstancias naturales o típicas. Puede aplicarse a individuos, especies o incluso a componentes biológicos como las células.

**Evolución:** Cambios en las características hereditarias de las poblaciones biológicas a lo largo de generaciones sucesivas como un proceso continuo de descendencia con modificaciones. Este proceso considera los mecanismos de la herencia genética y el papel de la selección natural,

así como otras fuerzas evolutivas como el aislamiento reproductivo y la divergencia genética, entre otros.

**Filogenia:** Hace referencia a la historia evolutiva y las relaciones entre una especie o grupo de organismos. Describe el linaje y las conexiones entre diferentes organismos basándose en su ascendencia común y desarrollo evolutivo.

**Filogeografía:** Es el estudio de los procesos históricos responsables de la distribución geográfica de linajes, particularmente dentro y entre especies estrechamente relacionadas.

**GABA/Ácido Gamma-Aminobutírico:** Es el neurotransmisor inhibitorio más común en el sistema nervioso central.

**Glutamato/Ácido Glutámico:** Es un aminoácido no esencial que ocurre naturalmente en la forma L. Es el neurotransmisor excitatorio más común en el sistema nervioso central.

**Grupo monofilético:** Es un conjunto de organismos que incluye a un ancestro común y todos sus descendientes.

**Grupo parafilético:** Es un grupo taxonómico que incluye a una especie ancestral y algunos, pero no todos, de sus descendientes.

**Haplotipo:** Un haplotipo es un grupo físico de variantes genómicas (o polimorfismos) que tienden a heredarse juntos.

**Histamina:** Una amina derivada de la descarboxilación enzimática de la histidina, la cual puede estar presente en algunos venenos de serpientes. Esta amina actúa como un potente constrictor del músculo liso bronquial, un vasodilatador y neurotransmisor central. En el contexto de un accidente ofídico, la liberación excesiva de histamina puede contribuir a efectos tóxicos como la broncoespasmo, la hipotensión y la reacción alérgica severa, complicando el cuadro clínico y agravando la intoxicación.

**Hipótesis putativa:** Se refiere a una explicación provisional o asumida para un fenómeno, sugerida como base para una investigación o estudio posterior. El término «putativa» implica que la hipótesis se propone como probable o plausible, pero aún no ha sido confirmada ni rigurosamente probada. Sirve como punto de partida para la investigación y experimentación científica.

**Hormona antidiurética/Vasopresinas:** Hormonas antidiuréticas liberadas por la neurohipófisis de todos los vertebrados (su estructura varía según la especie) que regulan el equilibrio hídrico y la osmolaridad. En general, la vasopresina es un nonapéptido que consiste en un anillo de seis aminoácidos con un puente disulfuro entre la cisteína 1 y la cisteína 6, o un octapéptido que contiene una cistina. Todos los mamíferos tienen vasopresina con arginina, excepto el cerdo, que presenta lisina en la posición 8. La vasopresina, un vasoconstrictor, actúa en los túbulos colectores del

riñón para aumentar la reabsorción de agua, incrementando el volumen sanguíneo y la presión arterial.

**Huella humana:** La huella humana mide las cantidades de energía, recursos y productos consumidos por una persona durante su vida. El Índice de Huella Humana expresa como el porcentaje de la influencia/transformación relativa de los seres humanos en cada bioma de la superficie terrestre.

**Inmunodepletado:** Se refiere a células, moléculas o componentes del sistema inmunológico que pueden ser selectivamente eliminados o reducidos, generalmente a través de intervenciones específicas. Este proceso se utiliza a menudo en entornos de investigación o clínicos para estudiar la función de células inmunes particulares o para modular la respuesta inmune con fines terapéuticos.

**Inmunógeno:** Es una sustancia que, cuando se introduce en el cuerpo, provoca una respuesta inmune. Los inmunógenos tienen la capacidad de activar el sistema inmunológico para generar una respuesta específica, como la producción de anticuerpos. La exposición a un inmunógeno, como una proteína de veneno de serpiente, puede desencadenar la producción de IgG, los cuales se unirán al antígeno (en este caso, las toxinas del veneno) para neutralizarlo.

**Marcador molecular:** Una molécula, típicamente una secuencia de ADN/ARN, que puede identificarse y es heredable. Estos marcadores se encuentran en ubicaciones específicas dentro del genoma y se utilizan para detectar polimorfismos de ADN, que son variaciones en la secuencia de ADN entre individuos.

**Metástasis/ Neoplasia metastásica:** Transferencia de una neoplasia de un órgano o parte del cuerpo a otro lugar distante del sitio primario.

**Mimetismo:** Fenómeno biológico en el que un organismo, llamado «mimético», evoluciona para parecerse a otro organismo, el «modelo», con el fin de obtener una ventaja, generalmente relacionada con la supervivencia o reproducción. El mimetismo puede implicar aspectos como la apariencia, el comportamiento, el sonido, el olor o incluso la ubicación, y tiene diversas funciones, principalmente en las interacciones depredador-presa o estrategias reproductivas.

**Necrosis:** Muerte prematura de células y tejidos en el cuerpo, que ocurre debido a factores como infecciones, toxinas, traumas o isquemia (falta de suministro sanguíneo). La necrosis es un proceso de muerte celular descontrolado que a menudo resulta en inflamación y daño a los tejidos circundantes.

**Noradrenalina:** Precursor de la adrenalina secretado por la médula suprarrenal y un neurotransmisor central y autónomo ampliamente distribuido. La noradrenalina es el transmisor principal de la mayoría de las fibras simpáticas posganglionares y del sistema de proyección difusa en

el cerebro que se origina en el locus ceruleus. También se encuentra en plantas y se utiliza farmacológicamente como simpaticomimético.

**Ontogenia/Ontogénesis:** Se refiere al desarrollo o curso de desarrollo de un organismo individual desde su etapa más temprana hasta la madurez. Este proceso abarca todos los cambios que experimenta un organismo desde una sola célula (cigoto) a lo largo de su vida hasta su muerte. La ontogenia incluye diversas etapas, como el desarrollo embrionario, el crecimiento y el envejecimiento, representando el despliegue biológico del ciclo de vida de un organismo.

**Orogénesis:** Se refiere al proceso geológico de formación de montañas, típicamente resultado de la compresión y el plegamiento de la corteza terrestre. Este proceso ocurre a menudo en los límites convergentes de placas tectónicas, donde la colisión e interacción de las placas llevan al levantamiento y deformación de la corteza, creando cordilleras montañosas.

**Óxido nítrico:** Gas radical libre producido endógenamente por una variedad de células mamíferas, sintetizado a partir de arginina por el óxido nítrico sintasa. El óxido nítrico es uno de los factores relajantes dependientes del endotelio liberados por el endotelio vascular y media la vasodilatación. También inhibe la agregación plaquetaria, induce la desagregación de plaquetas agregadas e inhibe la adhesión plaquetaria al endotelio vascular. El óxido nítrico activa el guanilato ciclasa citosólica, elevando así los niveles intracelulares de GMP cíclico.

**Parálisis:** Término general que se utiliza principalmente para describir la pérdida severa o completa de fuerza muscular debido a enfermedades del sistema motor, desde el nivel de la corteza cerebral hasta la fibra muscular. En ocasiones, también puede referirse a la pérdida de la función sensorial.

**Parálisis respiratoria:** Es un término para describir la pérdida parcial o total de la fuerza muscular debido a la afectación del sistema motor. La parálisis suele ser causada por toxinas neurotóxicas presentes en el veneno, de serpientes de los géneros *Micrurus* o *Crotalus*. Estas toxinas actúan sobre los canales iónicos o las sinapsis neuromusculares, bloqueando la transmisión de impulsos nerviosos hacia los músculos, lo que lleva a la parálisis muscular progresiva. En casos graves, la parálisis puede afectar la musculatura respiratoria, poniendo en riesgo la vida del paciente.

**Patologías:** Se refiere al estudio científico de las enfermedades, incluyendo sus causas (etiología), desarrollo (patogénesis), efectos en el cuerpo y manifestaciones clínicas. El término también puede describir las anomalías, condiciones o enfermedades específicas presentes en un organismo, tejido u órgano.

**Parsimonia:** Hace referencia a un principio o enfoque que favorece la explicación o hipótesis más sencilla que se ajuste a las evidencias disponibles. Este principio es conocido como la navaja de Ockham, que sugiere que, entre hipótesis competidoras, debe seleccionarse aquella con menos suposiciones.

**Péptidos natriuréticos/Natriuréticos:** Péptidos que regulan el equilibrio agua-electrolitos en el cuerpo, también conocidos como hormonas peptídicas natriuréticas. Varios de ellos han sido secuenciados (factor natriurético auricular; péptido natriurético cerebral; péptido natriurético tipo C).

**Politomía:** En un árbol filogenético, una politomía se refiere a un nodo interno que se ramifica en tres o más linajes, en contraste con una división dicotómica en solo dos linajes. Las politomías indican que las relaciones evolutivas entre los linajes descendientes no están completamente resueltas.

**Proteoma:** Es el conjunto completo de proteínas expresadas por un genoma, célula, tejido u organismo en un momento dado y bajo condiciones específicas.

**Proteómica:** Estudio de la estructura, función e interacción con objetivos biológicos de las proteínas de los venenos. Esto incluye el uso de herramientas bioinformáticas para predecir la función e interacciones de las proteínas.

**Región cisandina:** Se refiere a la región tropical de Suramérica ubicada al este de los Andes y por debajo de los 1.000 metros de altitud. En Colombia incluye las regiones de la Orinoquía y la Amazonía.

**Región transandina:** Se refiere a la región tropical de América del Sur ubicada al oeste de los Andes y por debajo de los 1.000 metros de altitud. En Colombia, incluye la costa Caribe, los valles interandinos y la región del Pacífica.

**Selección convergente:** La selección convergente, comúnmente conocida como evolución convergente, es el proceso mediante el cual diferentes especies evolucionan de forma independiente rasgos similares. Este fenómeno ocurre cuando especies que no comparten un ancestro común reciente enfrentan presiones ambientales similares y la selección natural conduce al desarrollo de estructuras o funciones análogas. Estos rasgos son similares en forma o función, pero evolucionan de manera independiente en diferentes especies.

**Sinapsis:** Es el proceso mediante el cual una neurona se comunica con otra neurona, o con una fibra muscular, permitiendo la transmisión de señales que coordinan funciones esenciales como el movimiento y los reflejos. Esta comunicación puede darse mediante la liberación de neurotransmisores (sinapsis química), en el caso de las fibras musculares, esta conexión especializada se llama unión neuromuscular, y es clave para la contracción muscular controlada por el sistema nervioso.

**Sistema inmunológico:** Es el mecanismo de defensa del cuerpo contra organismos o sustancias extrañas y células nativas desviadas. Incluye la respuesta inmune humoral y la respuesta mediada por células, y está compuesto por un complejo de componentes celulares, moleculares y genéticos interrelacionados.

**Soporte de remuestreo (Bootstrap support, BS):** El método bootstrap es una técnica estadística utilizada para estimar la distribución de un estadístico (como una media, varianza o coeficiente de regresión) mediante el remuestreo con reemplazo a partir de los datos originales. En la cladística o estudios filogenéticos, el método bootstrap se utiliza para evaluar la fiabilidad y la robustez de los árboles filogenéticos. Estos árboles representan las relaciones evolutivas entre un conjunto de especies o genes. El bootstrapping proporciona una forma de cuantificar la confianza en cada rama (o clado) del árbol. Por lo tanto, el valor de soporte de bootstrap representa la frecuencia con la que aparece una rama o clado particular en estos árboles, lo que indica el nivel de confianza en la relación inferida.

Los valores de soporte de bootstrap se pueden interpretar de la siguiente manera:

*Valores excelentes de bootstrap ( $\geq 90\%$ ):* Indican un fuerte soporte para el clado y sugieren que es probable que sea una característica verdadera de la filogenia subyacente.

*Valores Altos de bootstrap ( $\geq 80-90\%$ ):* Indican un soporte moderado para el clado y sugieren que es probable que sea un linaje verdadero de la filogenia subyacente.

*Valores moderados de bootstrap ( $\geq 60-80\%$ ):* Indican un soporte débil y sugieren que el clado es algo confiable/posible, pero debe interpretarse con precaución.

*Bajos valores de bootstrap ( $< 60\%$ ):* Indican un soporte pobre y sugieren que el clado puede no es confiable/posible indicando que no es un linaje verdadero de la filogenia.

**Transcriptómica:** Análisis de los transcriptos de ARN producidos por glándulas venenosas para comprender qué genes se están expresando y cómo varía esta expresión bajo diferentes condiciones o etapas de desarrollo.

**Venómica:** Estudio del veneno y sus componentes utilizando técnicas avanzadas en genómica, proteómica, transcriptómica y bioinformática. Este campo interdisciplinario busca entender la complejidad de la composición del veneno, su variación entre diferentes especies y sus aplicaciones potenciales en medicina, farmacología y biotecnología.

**Vicariancia:** Se refiere a la separación y aislamiento geográfico de una población, lo que conduce a la diferenciación de la población original en nuevas variedades o especies. Este proceso puede ser el resultado de diversos factores como los movimientos de placas tectónicas, cambios climáticos o la formación de barreras que dividen a las poblaciones, favoreciendo a la especiación.

**Western blot:** Una técnica analítica ampliamente utilizada en biología molecular e inmunogenética para detectar proteínas específicas en extracto de tejidos y muestras homogenizados





Soy el miedo, el tiempo, la cura,  
la que hace amar o despertar lujuria.  
Soy, Aku, Asklepios, Atoum, Ivána, Raïdu,  
Quetzalcóatl y Uraeus.  
Soy la creadora de mundos, el cambio,  
la vida, la muerte y la resurrección.  
Circundo el mundo dando nombre a los pueblos,  
antes de que el tiempo hilara sus linajes.  
Circundo las selvas, los mares, las tierras gélidas y  
desiertos, siempre en silencio, en calma, con  
voracidad nocturna.  
Circundo las mentes, los sueños,  
las almas de los que nunca me han visto,  
los miedos de los que han recibido mis besos.  
Me ven extraña, lisa, verrugosa, fría, colorida,  
iridiscente, ágil y sinuosa.  
Me ven como estandarte de guerra,  
como sello sagrado, como el sueño de inmortalidad,  
como el pecado original.  
Me ven los que me temen,  
los que me buscan no me ven.  
Soy ella, la primera, la única, y por serlo,  
me matan para amarme por siempre.



Salud



INSTITUTO  
NACIONAL DE  
SALUD