

Unutarvrсна varijabilnost sastava zmijskog otrova



Intraspecific variability in the composition of snake venom

Pavić Vulinović, M., J. Miljković*, A. Shek Vugrovečki, I. Žura Žaja

Sažetak

Istraživanje unutarvršne varijabilnosti zmijskog otrova otkriva složenu interakciju između genetskih, ontogenetskih i okolišnih čimbenika koji zajedno oblikuju kemijski sastav i funkcionalne karakteristike otrova. Ova varijabilnost, koja utječe na različita biološka svojstva otrova, ima važne ekološke i evolucijske implikacije jer može utjecati na strategiju lova zmija, njihovu obranu od predatora te opstanak u različitim ekosustavima. S obzirom na ove kompleksne interakcije, razlike u sastavu otrova također imaju ključnu ulogu u medicinskoj primjeni, osobito u razvoju učinkovitih protuotrova. Brojna su istraživanja dokumentirala unutarvršne razlike u kemijskom sastavu zmijskog otrova, pri čemu je naglašena potreba za provođenjem opsežnih analiza koje uključuju velik broj uzoraka iz različitih populacija. S obzirom na to da čimbenici poput spola, dobi i geografske rasprostranjenosti mogu utjecati na varijabilnost sastava otrova, nužno ih je uzeti u obzir tijekom istraživanja i interpretacije rezultata. Razmatranjem svih relevantnih čimbenika postiže se veća preciznost u razumijevanju tih varijacija, što je ključno za unapređenje strategija u liječenju ugriza zmija.

Ključne riječi: unutarvršna varijabilnost, zmijski otrov, kemijski sastav

Abstract

Research on the intraspecific variability of snake venom reveals a complex interaction between genetic, ontogenetic and environmental factors that together shape the chemical composition and functional characteristics of the venom. This variability, which influences various biological properties of the venom, has significant ecological and evolutionary implications, as it can affect the snake's hunting strategies, defense against predators, and survival in different ecosystems. Given these complex interactions, differences in venom composition also play a crucial role in medical applications, particularly in the development of effective anti-venoms. Numerous studies have documented intraspecific differences in the chemical composition of snake venom, highlighting the need for comprehensive analyses that include a large number of samples from different populations. Additionally, factors such as gender, age and geographical distribution must be considered in order to account for all relevant variables that may influence venom variability, thereby achieving greater precision in understanding these variations, which is crucial for improving strategies in the treatment of snake bites.

Key words: intraspecific variability, snake venom, chemical composition

dr. sc. Mirela PAVIĆ VULINOVIĆ, dr. med. vet., docentica, Zavod za anatomiju, embriologiju i histologiju; Josip MILJKOVIĆ, dr. med. vet., asistent, Zavod za fiziologiju i radiobiologiju; dr. sc. Ana SHEK VUGROVEČKI, izvanredna profesorica, Zavod za fiziologiju i radiobiologiju; dr. sc. Ivona ŽURA ŽAJA, izvanredna profesorica, Zavod za fiziologiju i radiobiologiju, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Heinzelova ulica 55, 10 000 Zagreb. Dopisni autor: Josip Miljković, dr. med. vet.; e-adresa: jmiljkovic@vef.unizg.hr

Uvod

Zmijski otrov čini složena mješavina bioaktivnih komponenti, većinom bjelančevina s enzimskom aktivnošću, pri čemu njegova sastavna heterogenost može varirati ne samo među različitim vrstama nego i unutar iste vrste, ovisno o populacijskim razlikama i individualnim karakteristikama jedinki. Ove su razlike rezultat više čimbenika, uključujući genetsku raznolikost, utjecaj okolišnih uvjeta te ontogenetske promjene. Dosadašnja istraživanja potvrdila su postojanje geografski i individualno uvjetovanih razlika u sastavu zmijskog otrova, pri čemu se pretpostavlja da lokalne prilagodbe mogu imati znatan utjecaj na njegov kemijski sastav (Alape-Girón i sur., 2008.; Casewell i sur., 2020.; Miljković i sur., 2021.; Smith i sur., 2023.). Posljednjih je godina proučavanje unutarvrstne varijabilnosti zmijskog otrova dobilo na važnosti, osobito u kontekstu njegovih implikacija na biomedicinske znanosti s obzirom na potencijalan utjecaj na klinički ishod otrovanja uzrokovanih zmijskim ugrizom.

Unutarvrstne razlike: ekološki, evolucijski i biomedicinski aspekti

Otrov jedne vrste zmijske može uzrokovati različite fiziološke reakcije kod otrovanih organizama, pri čemu geografsko podrijetlo i individualne razlike imaju ključnu ulogu u određivanju njegovih učinaka (Alape-Girón i sur., 2008.; Amazonas i sur., 2019.; Sousa i sur., 2021.). Primjerice, populacije vrste *Bothrops atrox* pokazuju znatne razlike u sastavu otrova, što odražava prilagodbu uvjetima staništa i dostupnom plijenu. Ova unutarvrstna varijabilnost otrova ne samo da je izazov u razvoju učinkovitih protuotrova nego također rezultira pojavom različitih kliničkih simptoma kod žrtava ugriza, što može otežati dijagnostiku i terapiju (Calvete i sur., 2009.; Smiley-Walters i sur., 2019.; Sousa i sur., 2021.). Navedeno svojstvo zmijskih otrova upućuje na potrebu za detaljnim istraživačkim analizama otrova specifičnih zmijskih populacija, posebice u područjima u kojima su zmijski ugrizi znatan javnozdravstveni problem (Pavić Vulinović i sur., 2024.).

Istraživanja potvrđuju da unutarvrstna varijabilnost zmijskog otrova ima ključnu ulogu u oblikovanju dinamike odnosa predator – plijen, određivanju ekoloških niša te u evolucijskoj utrci u sastavu otrova i razvoju obrambenih mehanizama između zmijskih i njihova plijena (Barlow i sur., 2009.; Casewell i sur., 2020.). Cjelovito razumijevanje ekoloških i genetskih čimbenika koji reguliraju varijabilnost otrova može znatno pridonijeti boljem razumijevanju njegove

evolucije, optimizaciji protuotrova te unaprijeđenju globalnih strategija u liječenju zmijskih ugriza. S obzirom na to, istraživanje molekularnih mehanizama koji su temelj ove varijabilnosti od presudne je važnosti, s obzirom na to da može imati dalekosežan utjecaj i na očuvanje biološke raznolikosti i na izbor medicinske intervencije.

Unutarvrstne razlike povezane sa spolom

U većini slučajeva nije utvrđena značajna razlika u sastavu otrova između mužjaka i ženki, što je jedan od razloga zbog kojih je ovaj potencijalan izvor varijabilnosti relativno slabo istražen (Chippaux i sur., 1991.; Gómez i sur., 2021.; Tasima i sur., 2022.). Do sličnog zaključka došao je i Miljković (2020.) u istraživanju provedenom na otrovu poskoka (*Viperammodytes ammodytes*) u kojemu nisu uočene razlike u koncentraciji bjelančevina niti su elektroforetski uočene razlike u broju proteinskih pruga, ali je denzitometrijski uočena statistički značajna veća izraženost proteinske pruge od ~ 35 kDa u mužjaka. To upućuje na različit omjer između spolova samo jedne bjelančevine, što ne utječe na ukupnu koncentraciju bjelančevina. S obzirom na to da je poskok (slika 1) jedna od najrasprostranjenijih otrovnih zmijskih u Europi i time od javnozdravstvenog interesa, njezin se sirovi otrov često upotrebljava za imunizaciju kojnja i proizvodnju specifičnih protuotrova (Lang Balija i sur., 2005.). Suprotno tome, u istraživanju Sarhan i suradnika (2017.) o utjecaju spola na varijabilnost sastava otrova vrste *Cerastes cerastes* (slika 2), koja je s obzirom na učestalost ugriza od velike javnozdravstvene važnosti u sjevernoj Africi, uočene su značajne razlike te je utvrđeno da otrov ženki sadržava manju koncentraciju bjelančevina u odnosu na mužjake. Nadalje, u istom su istraživanju elektroforetski dokazane i spolne razlike u samom sastavu, i to prisutnošću dviju specifičnih proteinskih pruga u mužjaka (42 kDa i 39 kDa) i u ženki (46 kDa i 44 kDa).

Vrsta *Bothrops jararaca* jedna je od najzastupljenijih ljutica u Brazilu i od iznimne je javnozdravstvene važnosti s obzirom na to da uzrokuje približno 90 % svih prijavljenih ugriza zmijskih na području svoje rasprostranjenosti (Ribeiro i Jorge, 1997.). Ova vrsta pokazuje izražen spolni dimorfizam u veličini odraslih jedinki, pri čemu su ženke veće od mužjaka. Takva razlika rezultira varijacijama u prehrambenim navikama: mužjaci pretežno konzumiraju manji plijen, dok ženke love veće sisavce. Osim razlike u tjelesnoj veličini i veličini plijena, uočena je i značajna razlika u koncentraciji bjelančevina u otrovu, a u korist ženki, što je za posljedicu imalo i razlike u letalnoj dozi otrova (smrtonosna količina otrova za miša)

između spolova – u ženki je iznosila 44,8 $\mu\text{g}/\text{miš}$, dok je u mužjaka bila 69,8 $\mu\text{g}/\text{miš}$. Osim toga, odrasle ženke *B. jararaca* prosječno proizvode 220 mg otrova, dok mužjaci luče znatno manju količinu (40 mg), što ženke čini potencijalno osam puta opasnijima u kontekstu otrovnosti ugriza. U nekim slučajevima veća toksičnost otrova u ženki može biti posljedica njihove agresivnije reakcije na prijetnje, osobito kada brane mlade ili tijekom gravidnosti, kada je potrebno osigurati hranjive tvari za embrionalni razvoj potomatka (Furtado i sur., 2006.).

Unutarvrzne razlike povezane s ontogenezom

Ontogenetska varijabilnost zmijskog otrova odnosi se na promjene u njegovu sastavu tijekom životnog ciklusa zmijske, od juvenilne do odrasle faze. Ova promjena posljedica je različitih čimbenika, a najčešće predstavlja adaptivni odgovor na promjene u prehranbenim navikama, veličini plijena te ekološkim ulogama koje se mijenjaju s dobi zmijske, pri čemu dolazi do različite izraženosti bioaktivnih komponenti u sastavu otrova (Schonour i sur., 2020.; Freitas-de-Sousa i sur., 2020.). Istraživanja su pokazala da juvenilne zmijske često posjeduju otrov specijaliziran za imobilizaciju manjeg ili ektotermnog plijena, odnosno životinja čija tjelesna temperatura ovisi o okolišu, dok odrasle zmijske proizvode otrov prilagođen učinkovitijem djelovanju na veći, endotermni plijen, odnosno životinja koje tjelesnu toplinu proizvode vlastitim metabolizmom (Dias i sur., 2013.; Mackessy i sur., 2018.). Primjerice, otrov juvenilnih jedinki vrste *Bothrops jararaca* pokazuje veću toksičnost prema ektotermnom plijenu, dok odrasle zmijske proizvode otrov snažnijeg djelovanja na sisavce (Zelanic i sur., 2010.). Ove ontogenetske prilagodbe ne samo da poboljšavaju učinkovitost lova nego i odražavaju evolucijske mehanizme koji oblikuju varijabilnost sastava otrova unutar različitih filogenetskih linija (Sousa i sur., 2018.; Freitas-de-Sousa i sur., 2020.). Promjene u sastavu otrova često su povezane sa znatnim varijacijama u sastavu bjelančevina, uključujući promjene u aktivnosti enzima i prisutnosti specifičnih komponenta poput fosfolipaza, metaloproteinaza i neurotoksina (Zelanic i sur., 2010.; Morais-Zani i sur., 2013.; van Thiel i sur., 2023.).

Minton i Weinstein (1985.) utvrdili su pak da je otrov juvenilnih jedinki *Crotalus atrox* bio znatno toksičniji od otrova odraslih zmijske s iste lokacije, ali je imao samo jednu četvrtinu proteolitičke aktivnosti otrova odraslih zmijske. Petnaest mjeseci poslije, pri ponovnom testiranju istih jedinki, ustanovljeno je da se letalna doza otrova povećala gotovo pet puta,



Slika 1. Poskok (*Vipera ammodytes ammodytes*) (autor fotografije: Josip Miljković)

dok je aktivnost proteaza dosegla razine tipične za odrasle jedinke.

Daltry i suradnici (1995.) istraživali su otrov vrste *Calloselasma rhodostoma*, jedne od najistraživanijih zmijskih vrsta u kontekstu istraživanja sastava otrova. Analizom uzoraka otrova više od 100 jedinki s različitih lokaliteta u Aziji utvrđena je znatna ontogenetska varijabilnost u broju i uzorku proteinskih pruga, što dodatno potvrđuje dinamičnu prirodu zmijskih otrova kroz razvojne faze.

Unatoč tome što brojna istraživanja dokumentiraju znatne ontogenetske razlike u sastavu otrova (Lomonte i sur., 1983.; Mackessy, 1988.; Chippaux i sur., 1991.), većina istraživanja sastava otrova provodi se na odraslim jedinkama, ponajprije zbog toga što ugrizi mlađih jedinki uzrokuju slabije izražene kliničke simptome kod ljudi (Zelanic i sur., 2011.).

Unutarvrzne razlike povezane s geografskom rasprostranjenošću

Geografska varijabilnost zmijskog otrova važan je aspekt unutarvrzne varijabilnosti i predmet brojnih istraživanja (Chippaux i sur., 1991.; Yu i sur., 2020.; van Thiel i sur., 2023.). Ovaj fenomen ima ključnu ulogu u razumijevanju ekoloških interakcija, evolucijskih prilagodbi i potencijalnih implikacija na javno zdravstvo.

Geografska varijabilnost otrova dokumentirana je još 1985. godine u istraživanju Minton i Weinstein (1985.), koji su usporedili uzorke otrova 70 jedinki vrste *Crotalus atrox* prikupljenih s 13 različitih lokaliteta u Sjedinjenim Američkim Državama. Ova vrsta, jedna od najvećih čegrtuša, odgovorna je za oz-



Slika 2. *Cerastes cerastes* (autor fotografije: Josip Miljković)

biljne i potencijalno smrtonosne ugrize u Sjedinjenim Američkim Državama i sjevernom Meksiku. Analiza otrova otkrila je dva trenda: proteazna aktivnost otrova povećavala se prema sjeveroistočnom dijelu rasprostranjenosti vrste, dok se smrtonosnost otrova povećavala prema jugozapadnim područjima rasprostranjenosti vrste. Kod vrste *Crotalus scutulatus* utvrđene su značajne razlike u sastavu otrova između različitih populacija, pri čemu geografski i okolišni čimbenici imaju dominantan utjecaj na uočene varijacije (Strickland i sur., 2018.; Zancolli i sur., 2019.). Takva prilagodljivost sastava otrova omogućuje specijalizirane strategije lova koje su optimizirane za određeno područje (Petras i sur., 2019.; Sousa i sur., 2021.).

Istraživanja provedena na poskoku (*Vipera ammodytes ammodytes*) u Hrvatskoj pokazala su značajne geografske razlike u sastavu otrova. Otrov zmijsa s područja Slunja i Karlovca imao je izraženije hemoragijske i nekrotične učinke u odnosu na otrov zmijsa s područja Krapine. Vrijednosti letalne doze, LD50, bila je manja u zmijsa s područja Slunja i Karlovca. Zanimljiva je činjenica da se elektroforetskom analizom otrova zmijsa s područja Slunja, koji je imao najveću toksičnost, uočio nedostatak proteinske pruge približne mase 90 kDa (Lang Balija i sur., 2005.).

Modahl i suradnici (2020.) istraživali su unutarvrstnu varijabilnost aktivnosti enzima u sastavu otrova vrste *Naja kaouthia*, koja obitava u Aziji, analizirajući tri populacije iz Malezije, Tajlanda i provincije Suphan Buri (Tajland). Premda su uočene značajne razlike u boji između populacija, jedina utvrđena značajna

razlika u sastavu otrova bila je u aktivnosti enzima fosfolipaze A2. Populacija iz Malezije imala je značajno veću aktivnost fosfolipaze A2 u usporedbi s populacijama iz Tajlanda.

Zaključna razmatranja

Unutarvrstna varijabilnost zmijskog otrova kompleksan je fenomen koji proizlazi iz interakcije genetskih, ekoloških i ontogenetskih čimbenika. Istraživanja su pokazala da otrov zmijsa varira ne samo među različitim vrstama nego i unutar iste vrste, pri čemu ključnu ulogu imaju spol, dob i geografska rasprostranjenost. Ove varijacije mogu znatno utjecati na ekološke odnose, evolucijske prilagodbe, kao i na kliničke ishode otrovanja, što donosi izazov u razvoju učinkovitih protuotrova i liječenju ugriza zmijsa.

Spolne razlike u sastavu otrova nisu uvijek izražene, no u određenih vrsta, poput *Bothrops jararaca*, znatno utječu na otrovnost i potencijalnu opasnost od ugriza. Ontogenetske promjene u sastavu otrova odražavaju prilagodbu prehranbenim navikama i vrsti plijena, dok geografska varijabilnost otrova upućuje na prilagodbu specifičnim uvjetima okoliša i dostupnosti plijena, što može rezultirati velikim razlikama u njegovoj toksičnosti i enzimskoj aktivnosti među populacijama.

Budući da varijabilnost otrova može imati izravne posljedice na kliničku sliku otrovanja i učinkovitost protuotrova, nužna su daljnja istraživanja kako bi se osigurala što preciznija identifikacija čimbenika koji reguliraju ove promjene. Idealno bi bilo pratiti sastav otrova unutar iste populacije tijekom cijelog životnog ciklusa kako bi se razlike među dobnim skupinama mogle preciznije interpretirati, isključujući mogućnost individualne varijabilnosti. Razumijevanje molekularnih mehanizama koji stoje iza varijabilnosti otrova može pridonijeti poboljšanju terapijskih strategija, optimizaciji protuotrova s obzirom na sposobnost neutraliziranja svih potencijalnih toksičnih komponenti te širi uvid u evolucijske i ekološke aspekte zmijskog otrova. Takav je multidisciplinarni pristup ključan za bolje upravljanje zmijskim ugrizima, posebno u regijama gdje su oni znatan javnozdravstveni problem.

Literatura

- ALAPE-GIRÓN, A., L. SANZ, J. ESCOLANO, M. FLORES-DÍAZ, M. MADRIGAL, M. SASA, J. J. CALVETE (2008): Snake venomomics of the lancehead pitviper *Bothrops asper*: Geographic, individual, and ontogenetic variations. *J. Proteome Res.* 7, 3556-3571.

- AMAZONAS, D. R., L. A. FREITAS-DE-SOUSA, D. P. OREFICE, L. F. SOUSA, M. G. MARTINEZ, R. H. V. MOURÃO, H. M. CHALKIDIS, P. B. CAMARGO, A. M. MOURA-DA-SILVA (2019): Evidence for snake venom plasticity in a long-term study with individual captive *Bothrops atrox*. *Toxins* 11, 294.
- BARLOW, A., C. E. POOK, R. A. HARRISON, W. WÜSTER (2009): Coevolution of diet and prey-specific venom activity supports the role of selection in snake venom evolution. *Proc. R. Soc. B* 276, 2443-2449.
- CALVETE, J. J., L. SANZ, Y. ANGULO, B. LOMONTE, J. M. GUTIÉRREZ (2009): Venoms, venomics, anti-venomics. *FEBS Lett.* 583, 1736-1743.
- CASEWELL, N. R., T. N. W. JACKSON, A. H. LAUSTSEN, K. SUNAGAR (2020): Causes and consequences of snake venom variation. *Trends Pharmacol. Sci.* 41, 570-581.
- CHIPPAUX, J. P., V. WILLIAMS, J. WHITE (1991): Snake venom variability: Methods of study, results and interpretation. *Toxicon.* 29, 1279-1303.
- DALTRY, J. C., G. PONNUDURAI, C. K. SHIN, N. H. TAN, R. S. THORPE, W. WQSTER (1995): Electrophoretic profiles and biological activities – intraspecific variation in the venom of the Malayan pit viper. *Toxicon.* 34, 67-79.
- DIAS, G. S., E. S. KITANO, A. H. PAGOTTO, S. S. SANT'ANNA, M. M. ROCHA, A. ZELANIS, S. M. SERRANO (2013): Individual variability in the venom proteome of juvenile *Bothrops jararaca* specimens. *J. Proteome Res.* 12, 4585-4598.
- FREITAS-DE-SOUSA, L. A., P. G. NACHTIGALL, J. A. PORTES-JUNIOR, M. L. HOLDING, G. S. NYSTROM, S. A. ELLSWORTH, N. C. GUIMARÃES, E. TIOYAMA, F. ORTIZ, B. R. SILVA, T. S. KUNZ, I. L. M. JUNQUEIRA-DE-AZEVEDO, F. G. GRAZZIOTIN, D. R. ROKYTA, A. M. MOURA-DA-SILVA (2020): Size Matters: An Evaluation of the Molecular Basis of Ontogenetic Modifications in the Composition of *Bothrops jararacussu* Snake Venom. *Toxins* 12, 791.
- FURTADO, M. F. D., S. R. TRAVAGLIA-CARDOSO, M. M. T. ROCHA (2006): Sexual dimorphism in venom of *Bothrops jararaca* (Serpentes: Viperidae). *Toxicon.* 48, 401-410.
- GÓMEZ, A., G. SOLANO, A. CHANG-CASTILLO, D. CHACÓN, G. CORRALES, Á. SEGURA, R. ESTRADA, G. LEÓN (2021): Intraspecific variability of the Central American rattlesnake (*Crotalus simus*) venom and its usefulness to obtain a representative standard venom. *Toxicon* 202, 20-26.
- LANG BALIJA, M., A. VRDOLJAK, L. HABJANEC, B. DOJNOVIĆ, B. HALASSY, B. VRANEŠIĆ, J. TOMAŠIĆ (2005): The variability of *Vipera ammodytes ammodytes* venoms from Croatia – biochemical properties and biological activity. *Comp. Biochem. Phys. C.* 140, 257-263.
- LOMONTE, B., J. A. GENE, J. M. GUTIERREZ, L. CERDAS (1983): Estudio comparativo de los venenos de serpiente Cascabel (*Crotalus durissus durissus*) de ejemplares adultos y recién nacidos. *Toxicol.* 21, 379-384.
- MACKESSY, S. P. (1988): Venom ontogeny in the Pacific rattlesnakes *Crotalus viridis helleri* and *C. v. oreganus*. *Copeia* 1, 92-101.
- MACKESSY, S. P., J. LEROY, E. MOCIÑO DELOYA, K. SETSER, R. W. BRYSON, A. J. SAVIOLA (2018): Venom ontogeny in the Mexican lance-headed rattlesnake (*Crotalus polystictus*). *Toxins* 10, 271.
- MILJKOVIĆ, J. (2020): Spolni dimorfizam u proteinskom sastavu otrova poskoka (*Vipera ammodytes ammodytes*). Diplomski rad, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
- MILJKOVIĆ, J., A. SHEK-VUGROVEČKI, I. ŽURA ŽAJA, M. PAVIĆ (2021): Are there any intraspecific variabilities in snake venom? 2nd International Scientific and Professional Meeting on Reptiles and Exotic Animals "REPTILIA" (Zagreb, 21. – 22. svibnja 2021). Zbornik radova. Zagreb (72-75).
- MINTON, S. A., S. A. WEINSTEIN (1985): Geographic and ontogenic variation in venom of the western diamondback rattlesnake (*Crotalus atrox*). *Toxicon.* 24, 71-80.
- MODAHL, C. M., A. ROOINTAN, J. ROGERS, K. CURRIER, S. P. MACKESSY (2020): Interspecific and intraspecific venom enzymatic variation among cobras (*Naja sp.* and *Ophiophagus hannah*). *Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol.* 232, 108743.
- MORAIS-ZANI, K., K. F. GREGO, A. S. TANAKA, A. M. TANAKA-AZEVEDO (2013): Proteomic analysis of the ontogenetic variability in plasma composition of juvenile and adult *Bothrops jararaca* snakes. *Int. J. Proteomics* 2013, 1-9.
- PAVIĆ VULINOVIĆ, M., J. MILJKOVIĆ, I. ŽURA ŽAJA, S. ČURKOVIĆ, A. SHEK VUGROVEČKI (2024): The use of electrophoresis in snake venom research. 3rd International Scientific and Professional Meeting on Reptiles and Exotic Animals "REPTILIA" (Zagreb, 24.-25. svibnja 2024). Zbornik sažetaka. Zagreb (173-173).
- PETRAS, D., B. F. HEMPEL, B. GÖÇMEN, M. KARIS, G. WHITELEY, S. C. WAGSTAFF, P. HEISS, N. R.

- CASEWELL, A. NALBANTSOY, R. D. SÜSSMUTH (2019): Intact protein mass spectrometry reveals intraspecies variations in venom composition of a local population of *Vipera kaznakovi* in Northeastern Turkey. *J. Proteomics* 199, 31-50.
- RIBEIRO, L. A., M. T. JORGE (1997): Acidente por serpentes do gênero *Bothrops*: série de 3.139 casos. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 30, 475-480.
 - SARHAN, M., M. AHMED, E. SERAG, A. REEHEEM, S. SABER (2017): Intersexual Variation in Tail Length, Venom Composition Toxicity, and Anticancer Activity of *Cerastes cerastes* (Viperidae). *Egypt. J. Hosp. Med.* 66, 81-90.
 - SCHONOUR, R. B., E. M. HUFF, M. L. HOLDING, N. M. CLAUNCH, S. A. ELLSWORTH, M. P. HOGAN, K. WRAY, J. MCGIVERN, M. J. MARGRES, T. J. COLSTON, D. R. ROKYTA (2020): Gradual and Discrete Ontogenetic Shifts in Rattlesnake Venom Composition and Assessment of Hormonal and Ecological Correlates. *Toxins* 12, 659.
 - SMILEY-WALTERS, S. A., T. M. FARRELL, H. L. GIBBS (2019): High levels of functional divergence in toxicity towards prey among the venoms of individual pigmy rattlesnakes. *Biol. Lett.* 15, 20180876.
 - SMITH, C. F., Z. L. NIKOLAKIS, K. IVEY, B. W. PERRY, D. R. SCHIELD, N. R. BALCHAN, J. PARKER, K. C. HANSEN, A. J. SAVIOLA, T. A. CASTOE, S. P. MACKESSY (2023): Snakes on a plain: Biotic and abiotic factors determine venom compositional variation in a wide-ranging generalist rattlesnake. *BMC Biol.* 21, 1-16.
 - SOUSA, L. F., C. N. ZDENEK, J. S. DOBSON, B. OP DEN BROUW, F. COIMBRA, A. GILLET, T. H. M. DEL-REI, H. M. CHALKIDIS, S. SANT'ANNA, M. M. TEIXEIRA-DA-ROCHA, K. GREGO, S. R. TRAVAGLIA CARDOSO, A. M. MOURA DA SILVA, B. G. FRY (2018): Coagulotoxicity of *Bothrops* (Lancehead Pit-Vipers) Venoms from Brazil: Differential Biochemistry and Antivenom Efficacy Resulting from Prey-Driven Venom Variation. *Toxins* 10, 411.
 - SOUSA, L. F., M. L. HOLDING, T. H. M. DEL-REI, M. M. T. ROCHA, R. H. V. MOURÃO, H. D. M. CHALKIDIS, B. PREZOTO, H. L. GIBBS, A. M. MOURA-DA-SILVA (2021): Individual variability in *Bothrops atrox* snakes collected from different habitats in the Brazilian Amazon: New findings on venom composition and functionality. *Toxins* 13, 814.
 - STRICKLAND, J. L., C. F. SMITH, A. J. MASON, D. R. SCHIELD, M. BORJA, G. CASTAÑEDA-GAYTÁN, C. L. SPENCER, L. L. SMITH, A. TRÁPAGA, N. M. BOUZID, G. CAMPILLO-GARCÍA, O. A. FLORES-VILLELA, D. ANTONIO-RANGEL, S. P. MACKESSY, T. A. CASTOE, D. R. ROKYTA, C. L. PARKINSON (2018): Evidence for divergent patterns of local selection driving venom variation in Mojave Rattlesnakes (*Crotalus scutulatus*). *Sci. Rep.* 8, 17622.
 - TASIMA, L. J., D. M. HATAKEYAMA, W. S. AGUIAR, E. O. V. DE LIMA, J. G. MIYAMOTO, A. K. TASHIMA, S. S. SANT'ANNA, K. F. GREGO, K. DE MORAIS-ZANI, A. M. TANAKA-AZEVEDO (2022): Analyzing the influence of age and sex in *Bothrops pauloensis* snake venom. *Toxicon* 214, 78-90.
 - VAN THIEL, J., L. L. ALONSO, J. SLAGBOOM, N. DUNSTAN, R. M. WOUTERS, C. M. MODAHL, F. J. VONK, T. N. W. JACKSON, J. KOOL (2023): Highly evolvable: Investigating interspecific and intraspecific venom variation in Taipans (*Oxyuranus* spp.) and Brown Snakes (*Pseudonaja* spp.). *Toxins* 15, 74.
 - YU, C., H. YU, P. LI (2020): Highlights of animal venom research on the geographical variations of toxin components, toxicities and envenomation therapy. *Int. J. Biol. Macromol.* 165, 2994-3006.
 - ZANCOLLI, G., J. J. CALVETE, M. D. CARDWELL, H. W. GREENE, W. K. HAYES, M. J. HEGARTY, H. W. HERRMANN, A. T. HOLYCROSS, D. I. LANNUTTI, J. F. MULLEY, L. SANZ, Z. D. TRAVIS, J. R. WHORLEY, C. E. WÜSTER, W. WÜSTER (2019): When one phenotype is not enough: divergent evolutionary trajectories govern venom variation in a widespread rattlesnake species. *Proc. Biol. Sci.* 286(1898), 20182735.
 - ZELANIS, A., A. K. TASHIMA, A.F. PINTO, A. F. PAUES LEME, D. R. STUGINSKI, M. F. FURTADO, N. E. SHERMAN, P. L. HO, J. W. FOX, S. M. T. SERRANO (2011): *Bothrops jararaca* venom proteome rearrangement upon neonate to adult transition. *Proteomics* 11, 4218-4228.
 - ZELANIS, A., A. K. TASHIMA, M. M. ROCHA, M. F. FURTADO, A. C. CAMARGO, P. L. HO, S. M. SERRANO (2010): Analysis of the ontogenetic variation in the venom proteome/peptidome of *Bothrops jararaca* reveals different strategies to deal with prey. *J. Proteome Res.* 9, 2278-2291.