



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
PRÓ-REITORA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS

POLIANNA LEMOS MOURA MOREIRA ALBUQUERQUE

**NOVOS BIOMARCADORES DE LESÃO RENAL AGUDA EM ENVENENAMENTO
HUMANO POR SERPENTES DO GÊNERO *BOTHRUPS***

FORTALEZA

2019

POLIANNA LEMOS MOURA MOREIRA ALBUQUERQUE

**NOVOS BIOMARCADORES DE LESÃO RENAL AGUDA EM ENVENENAMENTO
HUMANO POR SERPENTES DO GÊNERO *BOTHROPS***

Tese apresentada à Coordenação do Curso de
Doutorado em Ciências Médicas, da Faculdade
de Medicina da Universidade Federal do Ceará,
como requisito parcial para obtenção do título
de Doutor. Área de concentração: Medicina

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Elizabeth De Francesco
Daher

FORTALEZA

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

A312n Albuquerque, Polianna Lemos Moura Moreira.
NOVOS BIOMARCADORES DE LESÃO RENAL AGUDA EM ENVENENAMENTO HUMANO
POR SERPENTES DO GÊNERO BOTHROPS / Polianna Lemos Moura Moreira Albuquerque. – 2019.
155 f. : il. color.

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação
em Ciências Médicas, Fortaleza, 2019.

Orientação: Profa. Dra. Elizabeth De Francesco Daher.

Coorientação: Prof. Dr. Geraldo Bezerra da Silva Junior.

1. Bothrops. 2. Envenenamento. 3. Lesão Renal Aguda. 4. Novos Biomarcadores. 5. Coagulopatia. I.
Título.

CDD 610

POLIANNA LEMOS MOURA MOREIRA ALBUQUERQUE

**NOVOS BIOMARCADORES DE LESÃO RENAL AGUDA EM ENVENENAMENTO
HUMANO POR SERPENTES DO GÊNERO *BOTHROPS***

Tese apresentada à Coordenação do Curso de
Doutorado em Ciências Médicas, da Faculdade
de Medicina da Universidade Federal do Ceará,
como requisito parcial para obtenção do título
de Doutor. Área de concentração: Medicina

Aprovada em ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a Dr.^a Elizabeth De Francesco Daher (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará - UFC

Prof. Dr. Geraldo Bezerra da Silva Junior
Universidade de Fortaleza - UNIFOR

Prof.^a Dr.^a Alice Maria Costa Martins
Universidade Federal do Ceará - UFC

Prof.^a Dr.^a Adriana Rolim Campos Barros
Universidade de Fortaleza - UNIFOR

Prof. Dr. Francisco Oscar de Siqueira Franca
Universidade de São Paulo - USP

AGRADECIMENTOS

Chegou o dia de eu me despedir deste trabalho e de mais uma etapa concluída.

O meu mais sincero obrigada a todos que contribuíram das mais diversas formas para concretização deste sonho.

Família, amigos das horas vagas, de perto, de longe e quão longe! Amigos de jornada de trabalho, mestres (eternas inspirações para mim) e pacientes recebam minha gratidão.

Obrigada especialmente a Deus que sempre esteve atento às minhas lutas, sendo minha força quando já não podia seguir em frente.

Foco

Força

Fé

RESUMO

ALBUQUERQUE, P.L.M.M. **NOVOS BIOMARCADORES DE LESÃO RENAL AGUDA EM ENVENENAMENTO HUMANO POR SERPENTES DO GÊNERO *BOTHROPS***. Fortaleza (2019) Tese de Doutorado – Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará.

Introdução: Lesão Renal Aguda (LRA) é uma complicação grave e precoce associada à mordedura de serpentes do gênero *Bothrops*. O objetivo deste estudo é investigar a função de biomarcadores como: NGAL (*neutrophil gelatinase-associated lipocalin*), MCP-1 humano (*human monocyte chemotactic peptide- 1*), KIM-1 (*kidney injury molecule-1*), VCAM-1 (*vascular cell adhesion molecule 1*) e IL-6 (*interleukin-6*) no diagnóstico precoce da LRA causada por serpentes venenosas.

Métodos: Estudo prospectivo no qual foram analisadas amostras seriadas de sangue e urina de 58 pacientes hospitalizados por mordedura de *Bothrops sp.*, após assinatura de consentimento informado. Os novos biomarcadores renais foram quantificados por imunoensaio (ELISA) durante admissão hospitalar. Curvas ROC (*Receiver Operating Characteristic*) foram construídas durante admissão hospitalar. Foram analisados fatores de risco para o desenvolvimento da LRA e funções tubulares - frações de excreção de $[Na]^+$ (FE_{Na}), $[K]^+$ (FE_K) e uréia (FE_{Ur}). Os pacientes foram divididos em grupos LRA e Não-LRA de acordo com os critérios da KDIGO (*Kidney Disease Improving Global Outcomes*). Um grupo controle foi constituído de 12 voluntários saudáveis. Variáveis com distribuição não-normal foram expressas como mediana e percentil 25° - 75°. Fatores de risco para LRA foram determinados através da análise multivariada, incluindo variáveis significantes estatisticamente na análise univariada. Análise estatística foi realizada através dos programas GraphPad Prism v.8 (GraphPad Software, San Diego, CA, EUA) e SAS/Stat v.13.2 – (Sistema para Windows).

Resultados: Os grupos LRA e Não-LRA consistiram igualmente de adultos jovens (mediana 42,5 (10 – 65) vs 39 (12 – 64) anos; $P=0,39$), da área rural, sexo masculino, com tempo decorrido entre mordedura e administração do soro antiofídico prolongado (mediana 9 (1 – 76,2) vs 10,5 (4 – 157) horas; $P=0,64$). O grupo LRA apresentou altos níveis de MCP-1 urinário (mediana 547,5 (334,6 – 986,6) vs 274,1 (112 – 675,9) pg/mgCr; $P=0,01$) e NGAL urinário (mediana 21,28 (12,08 – 41,67) vs 12,73 (4,5 – 24,9) ng/mgCr; $P=0,03$). NGAL sérico, VCAM-1, KIM-1 e IL-6 urinários na admissão foram semelhantes entre os grupos LRA e não-LRA. O modelo da análise multivariada incluiu $[Na]^+$ sérico mínimo (mEq/L), hemoglobina mínima (g/dl), proteinúria (mg/gCr) e tempo de tromboplastina parcialmente ativada (TTPa) admissional. $[Na]^+$ sérico mínimo ($P=0,01$, OR=0.73, 95% CI: 0.57–0.94) e TTPa ($P=0,031$, OR=26,27, 95% CI: 1.34–512.11) estavam independentemente associadas com LRA. Proteinúria apresentou correlação positiva com uMCP-1 ($r=0,70$, $P<0,0001$) e uNGAL ($r=0,47$, $P=0,001$). Fração de excreção de $[Na]^+$ (FE_{Na}) correlacionou com uMCP-1 ($r=0,47$, $P=0,001$) and uNGAL ($r=0,56$, $P<0,0001$). A comparação entre os níveis de uMCP-1 e uNGAL apresentados pelo grupo controle e LRA revelaram aumento significativo e gradual destes biomarcadores ($P<0,0001$). Mesmas comparações entre grupo controle e não-LRA apresentaram significativo aumento ($P<0,05$). Creatinina sérica (sCr) apresentou o melhor desempenho (AUC=0,85) em comparação com novos biomarcadores e a fração de excreção de $[K]^+$ (FE_K) apresentou alta acurácia em prever LRA em comparação com as FE de $[Na]^+$ e uréia (AUC=0,92).

Conclusão: Anormalidade de coagulação, caracterizada por TTPa anormal foi associada com o desenvolvimento de LRA relacionada ao veneno botrópico, sugerindo importante mecanismo fisiopatológico. NGAL e MCP-1 urinários foram bons preditores do desenvolvimento da LRA. A sCr apresentou melhor desempenho em diagnosticar LRA à admissão hospitalar. FE_K emergiu como uma outra ferramenta diagnóstica precoce da LRA. Correlações positivas entre uNGAL e uMCP-1 com proteinúria e FE_{Na} devem sinalizar dano glomerular e tubular.

Palavras chaves: *Bothrops*. Envenenamento. Lesão renal aguda. Disfunção tubular renal. Coagulopatia. Novos biomarcadores.

ABSTRACT

ALBUQUERQUE, P.L.M.M. **NOVEL BIOMARKERS OF THE ACUTE KIDNEY INJURY IN HUMAN ENVENOMATION BY SNAKES FROM *BOTHRUPS* GENERA.** Fortaleza (2019) Doctorate Thesis – Medicine Faculty, Federal University of Ceara, Brazil.

Introduction: Acute kidney injury (AKI) is a severe and early complication due to snakebite from *Bothrops* genera. The aim of the study is the investigation of novel biomarkers - NGAL (*neutrophil gelatinase-associated lipocalin*), MCP-1 humano (*human monocyte chemotactic peptide-1*), KIM-1 (*kidney injury molecule-1*), VCAM-1 (*vascular cell adhesion molecule 1*) and IL-6 (*interleukin-6*) - in providing early diagnosis of AKI following venomous snakebites.

Methods: Prospective study which analysed serial blood and urinary samples of 58 patients during hospital stay with diagnosis of *Bothrops sp.* envenomation after signature of consent informed document. Novel renal biomarkers were quantified through ELISA assay after admission. Receiver operating characteristic (ROC) curves were constructed to display true positive and false positive rates of renal on admission. Risk factors for AKI development and tubular functions - fractional excretion of ion sodium (FE_{Na}), ion potassium (FE_K) and urea (FE_{Ur}) - were analysed. Patients were divided into AKI and No-AKI groups, according to KDIGO criteria (*Kidney Disease Improving Global Outcomes*). Control group was represented by 12 healthy volunteers. Risk factors for AKI were determined by multivariate analysis with logistic regression. Non- normally distributed continuous variables were reported as median and percentile 25th-75th. Analyses were performed using GraphPad Prism v. 7 (Graph Pad Software, San Diego, CA, USA) and SAS/Stat v. 13.2 of the SAS system for Windows.

Results: The epidemiologic profile was similar in both groups and consisted in young adults (median 42.5 (10 – 65) vs 39 (12 – 64) years; $P=0.39$), from rural areas, male gender, long time elapsed between snakebite and antivenon (median 9 (1 – 76.2) vs 10.5 (4 – 157) hours; $P=0.64$). AKI group presented higher levels of urinary MCP-1 (median 547.5 (334.6 – 986.6) vs 274.1 (112 – 675.9) pg/mgCr; $P=0.01$) and urinary NGAL (median 21.28 (12.08 – 41.67) vs 12.73 (4.5 – 24.9) ng/mgCr; $P=0.03$). Serum NGAL, urinary KIM-1, VCAM-1 and IL-6 on admission were similar between AKI and No-AKI groups. The unadjusted model included lowest serum sodium (mEq/L), lowest haemoglobin (g/dl), proteinuria (mg/gCr) and aPTT on admission (normal vs abnormal/incoagulable) and revealed lowest serum sodium ($P=0.01$, OR=0.73, 95% CI: 0.57–0.94) and aPTT ($P=0.031$, OR=26.27, 95% CI: 1.34–512.11) as independent factors associated with AKI. Proteinuria normalised per urinary creatinine presented positive correlation with uMCP-1 ($r=0.70$, $P<0.0001$) and uNGAL ($r=0.47$, $P=0.001$). FE_{Na} correlated with uMCP-1 ($r=0.47$, $P=0.001$) and uNGAL ($r=0.56$, $P<0.0001$). The comparison between the levels of uMCP-1 and uNGAL presented by control, AKI and No-AKI groups normalised and not per urinary creatinine revealed significant and gradual increase of these biomarkers ($P<0.0001$). Same comparisons between control and No-AKI group presented significant increase ($P<0.05$). sCr presented better performance (AUC=0.85) in comparison with new biomarkers. FE_K presented fair accuracy in predicting AKI (AUC=0.92) in comparison with FE_{Na} and FE_{Ur} .

Conclusions: Coagulation abnormalities, characterised by abnormal was strongly associated with *Bothrops* venom related AKI, suggesting important mechanistic pathway. Urinary NGAL and MCP-1 were good biomarkers in predicting AKI. The sCr remained the best biomarker on admission. FE_K emerged as another diagnostic tool in predict early AKI. Positive correlations between uNGAL and uMCP-1 with proteinuria and FE_{Na} may signal glomerular and tubular injury.

Key words: *Bothrops*. Envenomation. Acute kidney injury. Renal tubular dysfunction. Coagulopathy. Novel biomarkers

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGPT2	Angiopietina 2
AKI	<i>Acute Kidney Injury</i>
AKIN	<i>Acute Kidney Injury Network</i>
ANOVA	<i>Analysis of Variance</i>
AST	Aspartato Aminotransferase
AUC	<i>Area under curve</i>
BPP	<i>Bradykinin-potentiating peptides</i>
BV	Veneno da <i>Bothrops jararaca</i>
[Ca]⁺⁺	Íon cálcio
CCIV	Coagulopatia de consumo induzida pelo veneno
CCL-2	<i>CC chemokine ligand 2</i>
CIVD	Coagulação intravascular disseminada
[Cl]²⁻	Íon cloro
COX	Ciclooxigenase
CRISP	<i>Snake venom cysteine-rich secretory proteins</i>
CK	Creatinoquinase
Cr	Creatinina
sCr	Creatinina sérica
DNA	<i>Desoxyribonucleic acid</i>
DP	Desvio-Padrão
DRC	Doença Renal Crônica
EROs	Espécies Reativas de Oxigênio
ELISA	<i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i>
Fab	<i>Fragment antigen-binding</i>
FC	Frequência Cardíaca
FR	Frequência Respiratória
FE_{Cl}	Fração de Excreção de [Cl] ²⁻
FE_{Na}	Fração de Excreção de [Na] ⁺
FE_K	Fração de Excreção de [K] ⁺

FE_{Ur}	Fração de Excreção de Uréia
FGF23	Fator de crescimento de fibroblastos 23
FKn	Fractalquine
GMPc	Guanosina mono-fosfato cíclico
HAS	Hipertensão arterial sistêmica
Hb	Hemoglobina
HCO₃	Bicarbonato
Ht	Hematócrito
ICAM	Intercellular Adhesion Molecule
IFN-γ	Interferon gama
IL-1	Interleucina-1
I/R	Isquemia/reperfusão
INR	<i>International Normalized Ratio</i>
ICAM	<i>Intercellular Adhesion Molecule</i>
[K]⁺	Ìon potássio
KIM-1	<i>Kidney injury molecule-1</i>
uKIM-1	<i>Kidney injury molecule-1</i> urinária
LRA	Lesão Renal Aguda
L-AAOs	<i>L-amino acid oxidases</i>
LDH	Lactato desidrogenase
MCP-1	<i>Monocyte chemoattractant protein-1</i>
uMCP-1	<i>Monocyte chemoattractant protein-1</i> urinária
MDCK	<i>Madin-Darby Canine Kidney</i>
MooA	Moojenactivase
MyD88	<i>Myeloid differentiation primary response 88</i>
[Na]⁺	Ìon sódio
NAG	<i>N-acetyl-β-D- glycosaminidase</i>
NGAL	<i>Neutrophil gelatinase- associated lipocalin</i>
uNGAL	<i>Neutrophil gelatinase- associated lipocalin</i> urinária
sNGAL	<i>Neutrophil gelatinase- associated lipocalin</i> sérica
NHE3	<i>Sodium-hydrogen exchanger 3</i>

NIA	Nefrite intersticial aguda
NO	<i>Nitric oxide</i>
iNOS	<i>Inducible nitric oxide synthase</i>
NTA	Necrose Tubular Aguda
OR	<i>Odds ratio</i>
PARs	<i>Receptores proteinase-activados</i>
PLA2	Fosfolipase A2
PLB	Fosfolipase B
PGI2	Prostaciclina
Posm	Osmolalidade plasmática
RAGE	Receptor para produtos finais da glicação avançada
RIFLE	<i>Risk, Injury, Failure, Loss, End-stage renal disease</i>
RNA_m	RNA mensageiro
ROC	<i>Receiver Operating Characteristic</i>
RR	Risco Relativo
RVR	Resistência vascular renal
SAB	Soro-antibotrópico
SABC	Soro antibotrópico-crotálico
SABL	Soro antibotrópico-laquélico
SLED	Diálise de Baixa- Eficiência Sustentada
SVMPs	Metaloproteinases do veneno de serpentes
SVSPs	Serino-proteinase do veneno de serpentes
SPs	Serino-proteinase
TC	Tempo de Coagulação
TLEs	Enzimas trombina símile
TMB	Tetrametilbenzidina
TP	Tempo de protrombina
TFG	Taxa de filtração glomerular
eTFG	Taxa de filtração glomerular estimada
TNF-α	Fator de necrose tumoral alfa
TTKG	Gradiente transtubular da concentração de $[K]^+$

TXA2	Tromboxano A2
Uosm	Osmolalidade da urina
Ur	Uréia
V	Fluxo urinário
VCAM-1	<i>Vascular cell adhesion protein 1</i>
VEGF	<i>Vascular endothelial growth factor</i>
VU	Volume urinário
VSH	Veneno de Serpente Habu
ZO-1	<i>Zônula occludens-1</i>

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Distribuição geográfica das principais espécies do gênero <i>Bothrops</i> e respectiva incidência de LRA relatada em estudos epidemiológicos	26
Figura 2 Abundância relativa das principais classes de toxinas em alguns venenos botrópicos determinada por análise proteômica	28
Figura 3 Representação esquemática da fisiopatologia da LRA relacionada ao veneno botrópico	50
Figura 4 Coleta e processamento de amostras para o estudo de biomarcadores renais	72
Figura 5 Fórmula CKD-EPI, estimativa da taxa de filtração glomerular em adultos	73
Figura 6 Fórmula de Schwartz, estimativa da taxa de filtração glomerular em crianças	73
Figura 7 Fração de excreção de eletrólitos (íons sódio e potássio) e uréia	75
Figura 8 Cálculo da Osmolalidade da urina (U_{osm}) ($mOsm / kgH_2O$)	75
Figura 9 Cálculo da Osmolalidade plasmática (P_{osm}) ($mOsm / kgH_2O$)	76
Figura 10 Cálculo do Déficit de concentração urinária	76
Figura 11 Gradiente de Concentração do íon potássio $[K]^+$ transtubular (TTKG)	76
Figura 12 Fluxograma de recrutamento dos pacientes	81
Figura 13 Concentração sérica de creatinina sérica até 120 horas pós-mordedura no grupo sem LRA (a) e grupo com LRA (b). A área cinza sombreada ilustra a faixa normal de creatinina sérica.....	89
Figura 14 (a) Níveis de NGAL urinária não normalizada por creatinina urinária, (b) Níveis MCP-1 urinário não normalizados por creatinina urinária, (c) Níveis de NGAL urinária normalizada por creatinina urinária, (d) Níveis de MCP-1 urinário normalizados por creatinina urinária.....	89
Figura 15 a) Níveis de KIM-1 urinário normalizado por creatinina urinária, (b) Níveis de VCAM-1 sérico, (c) Níveis de IL-6 sérico em pacientes vítimas de mordedura de serpentes do gênero <i>Bothrops</i> . Pontos vermelhos- grupo LRA, pontos azuis- grupo Não-LRA, área sombreada- faixa de normalidade de acordo com os níveis medidos em voluntários saudáveis....	90
Figura 16 Curvas ROC da creatinina sérica e biomarcadores urinários (a) e excreção fracionada de uréia, $[K]^+$ e $[Na]^+$, na internação hospitalar no envenenamento por <i>Bothrops</i> como preditores LRA, segundo os critérios do KDIGO	91
Figura 17 Modelo proposto dos mecanismos fisiopatogênicos da lesão renal aguda em envenenamento por <i>Bothrops</i>	92

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Notificações registradas de acidentes por serpentes do gênero <i>Bothrops</i> no Brasil e grandes regiões, de 2014 a 2017	24
Tabela 2 Incidência de LRA nefrotóxica após envenenamento botrópico	37
Tabela 3 Alterações hemodinâmicas renais em estudos experimentais com veneno botrópico	47
Tabela 4 Classificação da Lesão Renal Aguda segundo os critérios da KDIGO, 2012	74
Tabela 5 Classificação do Acidente botrópico: classificação quanto à gravidade e soroterapia recomendada.....	77
Tabela 6 Características demográficas e clínicas dos pacientes admitidos após envenenamento botrópico de acordo com desenvolvimento de LRA	81
Tabela 7 Parâmetros laboratoriais gerais de pacientes admitidos após envenenamento por <i>Bothrops</i> de acordo com o desenvolvimento de LRA	83
Tabela 8 - Parâmetros renais de pacientes admitidos após envenenamento por <i>Bothrops</i> de acordo com o desenvolvimento de LRA	84
Tabela 9 - Testes de coagulação em envenenamento por <i>Bothrops</i> , à admissão, de acordo com o desenvolvimento de LRA	86
Tabela 10 - Variáveis independentes associadas ao desenvolvimento de LRA em envenenamento por <i>Bothrops</i>	87
Tabela 11 - Correlação entre novos biomarcadores renais e parâmetros renais	90

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	18
2 REVISÃO DE LITERATURA	22
2.1 Serpentes <i>Bothrops</i> : Variabilidade e Distribuição	23
2.2 Veneno Botrópico	27
2.3 Envenenamento Botrópico: Incidência e Implicações	32
2.3.1 Manifestações clínicas	32
2.3.2 Mortalidade por Envenenamento Botrópico	34
2.4 LRA Relacionada ao Envenenamento por <i>Bothrops</i> : Ônus para os Países em Desenvolvimento.....	35
2.4.1 Incidência da LRA Relacionada ao Envenenamento Botrópico	35
2.4.2 Características da LRA Relacionada ao Envenenamento Botrópico.....	38
2.4.3 Fatores de Risco Associados à LRA Relacionada ao Envenenamento Botrópico.....	39
2.4.4 Novos biomarcadores precoces de LRA.....	40
2.4.4.5 NGAL (<i>neutrophil gelatinase-associated lipocalin</i>)	42
2.4.4.6 MCP-1 humano (<i>human monocyte chemotactic peptide- 1</i>)	43
2.4.4.7 KIM-1 (<i>kidney injury molecule-1</i>)	44
2.4.4.8 VCAM-1 (<i>vascular cell adhesion molecule 1</i>)	44
2.4.4.9 Interleucina -6 (IL-6)	45
2.5 Fisiopatologia	46
2.5.1 O Papel dos Estudos Experimentais para as Evidências Científicas	46
2.5.2 Vias Principais	49
2.5.3 Nefrotoxicidade Direta	51
2.5.4 Mioglobinúria	54
2.5.5 Hemoglobinúria	55

2.5.6 Coagulopatia de Consumo Induzida por Veneno (CCIV)	56
2.5.7 Mecanismos Imunológicos	57
2.6 Manejo	59
2.6.1 Estratégias Farmacológicas e Não-Farmacológicas	59
2.6.2 Perspectivas Atuais e Futuras	60
3 OBJETIVOS	64
3.1 Objetivo Geral	65
3.2 Objetivos Específicos	65
4 METODOLOGIA	68
4.1 Tipo de estudo	68
4.2 Local do Estudo	69
4.3 Definição da População do Estudo	70
4.3.1 Critérios de Inclusão	70
4.3.2 Critério de exclusão	70
4.4 Métodos	71
4.4.1 Coleta de amostras e exames laboratoriais	73
4.4.2 Protocolo de tratamento	77
4.4.3 Análise Estatística	78
4.4.4 Doutorado Sanduíche no Exterior	78
5 RESULTADOS	81
5.1 Características demográficas e clínicas	81
5.2 Parâmetros laboratoriais	83
5.3 Testes de Coagulação	86
5.4 Novos Biomarcadores e Fatores de Risco para LRA	88
6 DISCUSSÃO	94
6.1 Limitações do Estudo	101

6.2 Perspectivas Futuras	102
6.3 Considerações Finais	103
7 CONCLUSÕES	105
8 REFERÊNCIAS	107
APÊNDICES	143

Introdução

1 INTRODUÇÃO

O envenenamento por serpentes peçonhentas constitui um agravo de notificação compulsória no Brasil, sendo considerada uma doença tropical negligenciada pela Organização Mundial de Saúde em 2009 (DATASUS, 2019).

As toxinas animais desencadeiam diversos danos ao organismo por mecanismos patogênicos diretos (toxicidade celular direta e modificação de canais iônicos) ou indiretos (reações imunológicas, resposta inflamatória, liberação de citocinas e mediadores relacionados a mudanças hemodinâmicas) (SITPRIJA, 2019). A interação entre os componentes do veneno e organismo levam a complicações hematológicas, gástricas, neurológicas, renais, respiratórias entre outras. Essas disfunções, principalmente as renais, neurológicas e hematológicas levam ao aumento da morbi-mortalidade destes envenenamentos (SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE, 2019).

A lesão renal aguda (LRA) é uma complicação comum e potencialmente grave após o envenenamento por serpentes (SITPRIJA; SITPRIJA, 2012). Na América Latina destaca-se o gênero *Bothrops* (*latu sensu*), família *Viperidae*, responsável por mais de 90% dos acidentes por mordedura de serpentes peçonhentas no Brasil (FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAUDE, 2001; CARDOSO; FRANCA, 2009). A incidência de LRA em estudos retrospectivos pode variar entre 1,4-38,5%, dependendo das diferentes espécies de *Bothrops* (PACHECO; ZORTÉA, 2008; EVANGELISTA et al., 2010; ALBUQUERQUE et al., 2014).

A fisiopatologia multifatorial da LRA associada a toxinas animais foi descrita por alguns estudos (SITPRIJA; SITPRIJA, 2016). Experimentos animais apontaram modificações renais hemodinâmicas após a exposição ao veneno de *Bothrops*, revelando importantes descobertas dentro da patogênese da LRA relacionada ao veneno (DANTAS et al., 2015; MARINHO et al., 2015; JORGE et al., 2017). Entretanto, faltam estudos prospectivos e ensaios clínicos acerca dos múltiplos mecanismos de LRA desenvolvidas neste contexto.

Os diversos componentes da toxina do veneno botrópico são responsáveis pela bioatividade funcional em contato com o organismo (SLAGBOOM et al., 2017). A hematotoxicidade é um dos sinais clínicos mais comuns em mordeduras de serpentes, particularmente quando a família *Viperidae* é responsável pelo envenenamento (SLAGBOOM et al., 2017). Metaloproteinases (SVMPs) e serino-proteases de veneno de serpentes (SVSPs)

são as principais toxinas com propriedades hematotóxicas (SLAGBOOM et al., 2017). SVMPs, classe P-III, são as mais hemorrágicas, levando ao dano da membrana basal capilar e, finalmente, a ruptura da parede do vaso e hemorragia (SLAGBOOM et al., 2017). As SVSPs são, muitas vezes, referidas como enzimas “trombina-símile” (TLEs- *thrombin-like enzymes*), levando a atividades fibrinogenolíticas (SLAGBOOM et al., 2017).

Os efeitos hematotóxicos podem causar hemorragia local ou sistêmica, anormalidades na pressão sanguínea, nos fatores de coagulação e nas plaquetas (SLAGBOOM et al., 2017; PANDEY et al., 2019). Hemólise intravascular, acompanhada por hemoglobinúria, é comum em serpentes da família *Viperidae*, a qual inclui o gênero *Bothrops* (SITPRIJA, 2006). Lesão tubular renal, relatada em alguns estudos animais (REZENDE et al., 1989; HROVAT et al., 2013), pode ser atribuída a mecanismos obstrutivos pelos cilindros hemáticos e efeitos citotóxicos do estresse oxidativo induzido pelo ferro ou grupo heme provenientes da hemoglobina das hemácias (MORENO et al., 2012).

O envenenamento por serpentes do gênero *Bothrops* associa-se a prolongamento do tempo de coagulação total, consumo de fibrinogênio e fatores X, V e VIII plasmáticos. A coagulopatia de consumo induzida pelo veneno (CCIV) é a coagulopatia mais comum resultante da mordedura de serpente e ocorre em envenenamentos por serpentes da família *Viperidae*. Apesar de incomum, a microangiopatia trombótica foi descrita como uma complicação grave acompanhando envenenamentos por *Bothrops* assemelhando-se à síndrome hemolítico-urêmica e associada ao desenvolvimento de LRA (BUCARETCHI et al., 2018; MALAQUE et al., 2018). CCIV fornece uma descrição geral da coagulopatia, a qual poderia ser seguida por coagulação intravascular disseminada, síndrome de desfibrilação e coagulopatia procoagulante (MADUWAGE; ISBISTER, 2014). Jorge et al. (1995) relataram deficiência de fatores em envenenamentos botrópicos, tais como fibrinogênio, produtos da degradação do fibrinogênio, D-dímero e α -2 antiplasmina. Entretanto, a correlação entre anormalidades na coagulação e o desenvolvimento de LRA não é bem estabelecida.

A LRA no envenenamento por *Bothrops* é comumente oligúrica, grave e uma complicação usualmente precoce (AMARAL et al., 1986; RIBEIRO; JORGE, 1997; RIBEIRO et al., 1998; PINHO et al., 2008; CRUZ et al., 2009; GUTIÉRREZ et al., 2009; OTERO-PATIÑO, 2009; SGRIGNOLLI et al., 2011). O estado de hipervolemia e a ampla gama de anormalidades laboratoriais podem interferir no sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA), embora a associação entre a LRA relacionada ao veneno de *Bothrops* e a disfunção tubular ainda permaneça incerta.

Existem poucos estudos em relação a novos biomarcadores renais em mordeduras de serpentes *Viperidae* e nenhum relacionado a serpentes *Bothrops* (WIN AUNG et al.(1996; 1997; 1998); KUBO et al., 2002). Os estudos existentes relataram a associação entre N-acetil- β -D-glicosaminidase (NAG- *N-acetyl- β -D-glycosaminidase*), o dano renal precoce na mordedura de víbora de Russell (WIN AUNG et al.(1996; 1997; 1998), e o aumento dos níveis de RNA mensageiro da proteína quimioatraente de monócitos-1 (MCP-1 - *Monocyte chemoattractant protein-1*) no glomérulo *in vitro*. Recentemente descreveu-se a presença do biomarcador KIM-1 em tecidos de rins de ratos que haviam recebido veneno da *Bothrops insularis* (DANTAS et al., 2018). O melhor entendimento dos novos biomarcadores renais e do dano renal pode permitir um diagnóstico precoce e manejo da LRA subsequente ao envenenamento botrópico, podendo trazer benefícios incalculáveis aos pacientes e evitar complicações adicionais, tais como diálise e perda permanente da função renal, a qual é ainda vista em um considerável número de casos em nossa região (ALBUQUERQUE et al., 2014).

Este estudo explora a LRA relacionada ao veneno botrópico e os principais mecanismos fisiopatológicos baseados nos achados de distúrbios da coagulação, novos biomarcadores e distúrbio tubular renal. A melhor compreensão dos mecanismos envolvidos nesse tipo de LRA pode fornecer novas perspectivas a respeito de LRA em geral e o seu manejo clínico.

Revisão de Literatura

2 REVISÃO DE LITERATURA

O envenenamento por mordedura de serpentes é considerado uma das doenças tropicais mais comuns negligenciadas pela Organização Mundial da Saúde (OMS) e representa um grande ônus para os países em desenvolvimento (SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE, 2019). A incidência anual média é de cerca de 57.500 acidentes ofídicos (6,2 por 100.000 habitantes) nos países Americanos e a mortalidade aproxima-se de 370 mortes por ano (0,04 por 100.000 habitantes) (CHIPPAUX, 2017). Os altos custos financeiros do envenenamento por mordedura de serpentes peçonhentas incluem confirmação e avaliação, aquisição de soro antiofídico, cuidados de rotina, logística de transporte de soro antiofídico e internação hospitalar (HAMZA et al., 2016).

A maioria das mordeduras de serpentes peçonhentas na América Latina é atribuída ao gênero *Bothrops*, das quais existe uma grande variabilidade dentro das espécies. A lesão renal aguda (LRA) relacionada à mordedura de serpente é uma complicação comum e potencialmente fatal desse envenenamento (PINHO et al., 2008; ALBUQUERQUE et al., 2014; MOHAMED, ENDRE, BUCKLEY, 2015), com implicações de sobrevida a curto e longo prazo, e necessidade de diálise extremamente variável (0,7 a 75,0% dos casos) (AMARAL; RIBEIRO, 1986; VENCIO, 1988; MILANI JR et al., 1997; OTERO et al., 2002; PINHO et al., 2008; ALBUQUERQUE et al., 2014). Atualmente, não está claro se a variabilidade de gêneros afeta a patogênese da LRA.

O tratamento de envenenamento botrópico consiste na administração precoce de soro antiofídico específico. No entanto, o soro antiofídico é derivado de algumas das 30-60 espécies de *Bothrops* (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2017a, SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE, 2019). A segurança e eficácia contra toda a gama de espécies ainda não foram bem estabelecidas em ensaios clínicos (SCHIEMEIER, 2015).

2.1 SERPENTES *BOTHRUPS*: VARIABILIDADE E DISTRIBUIÇÃO

A maioria das mordeduras de serpentes peçonhentas que ocorre no continente latino-americano é causada por serpentes botrópicas que incluem os gêneros *Bothrocophias*, *Bothrops* (incluindo recentemente *Rhinocerophis*, *Bothriopsis*, *Bothropoides*) (BERNARDE, 2011; COSTA; BERNILS, 2018). Serpentes do gênero *Bothrops*, propriamente dito, são responsáveis por mais mordeduras do que qualquer outro gênero na América Latina (CARRASCO et al., 2012; MALAQUE; GUTIÉRREZ, 2015). A variabilidade de espécies dentro dos gêneros é mais notável do que qualquer outro gênero *Pitviper* do Novo Mundo, que foi o primeiro grupo a alcançar a América do Sul (SITPRIJA; SITPRIJA, 2012). Essas serpentes pertencem à família *Viperidae* e à subfamília *Crotalinae* e são comumente chamadas de víboras ou “cabeças de lanças”. Existem mais de 30 espécies endêmicas distribuídas do sul do México para o Brasil e Argentina (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2017b). Elas têm caudas que afinam gradativamente na ponta e com cores diferentes, dependendo da espécie e região geográfica. Vivem em ambientes úmidos e possuem hábitos noturnos ou crepusculares (SGRIGNOLLI et al., 2011).

Neste estudo, será reportado como serpentes botrópicas aquelas que pertencem ao gênero *Bothrops* propriamente dito por constituir o grupo responsável por grande parte dos envenenamentos humanos no Brasil, sendo grupo *Bothrocophias* representado por duas espécies (*Bothrocophias hyoprora* e *Bothrocophias microphthalmus*) (COSTA; BERNILS, 2018).

A incidência e gravidade dos acidentes ofídicos dependem de fatores ambientais e humanos. As espécies de *Bothrops* são consideradas de importância médica, pois a mordedura causa altos níveis de morbidade, incapacidade e mortalidade (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2017b). Clima, altitude e ambientes específicos influenciam a abundância de serpentes em uma área. Além disso, a densidade populacional humana, a acessibilidade a serviços de saúde eficientes, incluindo a disponibilidade de soro antiofídico e espécies de serpentes, podem ser fatores na gravidade de um quadro clínico (JHA; PARAMESWARAN, 2013; CHIPPAUX, 2017). Segundo a OMS (2017a), cerca de 5,4 milhões de acidentes ofídicos ocorrem a cada ano no mundo, resultando em 1,8 a 2,7 milhões de casos de envenenamentos, mais frequentemente na África, Ásia e América Latina. Infelizmente, a maioria dos países onde

as mordeduras de serpentes são comuns tem infraestrutura deficiente e dados estatísticos não confiáveis sobre esse problema. Portanto, esses números provavelmente subestimam os acidentes com esses animais.

O número de acidentes por animais peçonhentos aumentou nos últimos anos no Brasil (SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE, 2019). Vale ressaltar, que, de acordo com o Sistema Nacional de Agravos e Notificações (SINAN), o número de acidentes com animais peçonhentos cresceu de forma importante, passando de 19,0/ 100.000 habitantes (ano 2000), para 55,3/100.000 habitantes (ano 2007) e para 107,3/100.000 habitantes (ano 2017). A região Sudeste apresentou o maior número de notificações seguida da região Nordeste, porém, a região NE apresentou a maior o maior número de óbitos por animais peçonhentos no Brasil (SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE, 2019). Os envenenamentos atribuídos a serpentes do gênero *Bothrops* também apresentaram discreto aumento (Tabela 1). A região Norte apresenta a maior incidência de acidentes pelo gênero *Bothrops*. Há claramente uma defasagem no número de notificações registradas pelo SINAN, resultado do atraso nas notificações em algumas regiões.

Tabela 1- Notificações registradas de acidentes por serpentes do gênero *Bothrops* no Brasil e grandes regiões, de 2014 a 2017.

Regiões	2014	2015*	2016*	2017*	Total
Norte	7.518	7.365	7.268	7.528	29.679
Nordeste	3.474	4.091	3.945	4.047	15.557
Sudeste	3.933	3.999	3.504	4.413	15.849
Sul	1.756	1.833	1.781	1.781	7.151
Centro-Oeste	2.026	2.165	2.179	2.324	8.694
Brasil	18.707	19.453	18.677	20.093	76.930

Fonte: SINAN/SVS/Ministério da Saúde do Brasil. Boletim Epidemiológico n^o. 11, disponível em Março, 2019.

* Dados preliminares, sujeitos a revisão.

O perfil epidemiológico dos pacientes com mordedura de serpentes não mudou nos últimos anos. Os envenenamentos por serpentes peçonhentas são predominantemente um risco ocupacional nas áreas tropicais rurais (CHUGH, 1989). Esses acidentes são mais frequentes durante as estações chuvosas, o grupo mais acometido é de 25 a 49 anos e os membros inferiores são os mais acometidos (ALBUQUERQUE et al., 2014).

Um conhecimento profundo dos aspectos epidemiológicos, como a distribuição de espécies de serpentes, pode melhorar a avaliação e o manejo dos pacientes. Apesar de haver estudos recentes sobre incidência e mortalidade por mordedura de serpentes nas Américas (CHIPPAUX, 2017), muitas discrepâncias nos dados epidemiológicos sobre as mordeduras de serpentes, podem ser percebidas em algumas publicações (BOCHNER, 2013). Desta forma, o ônus real causado por acidentes ofídicos continua a ser subestimado. O presente estudo enfocou as serpentes *Bothrops* com maior importância médica e sua distribuição na América Latina (Figuras 1^a, 1b, 1c, 1d).

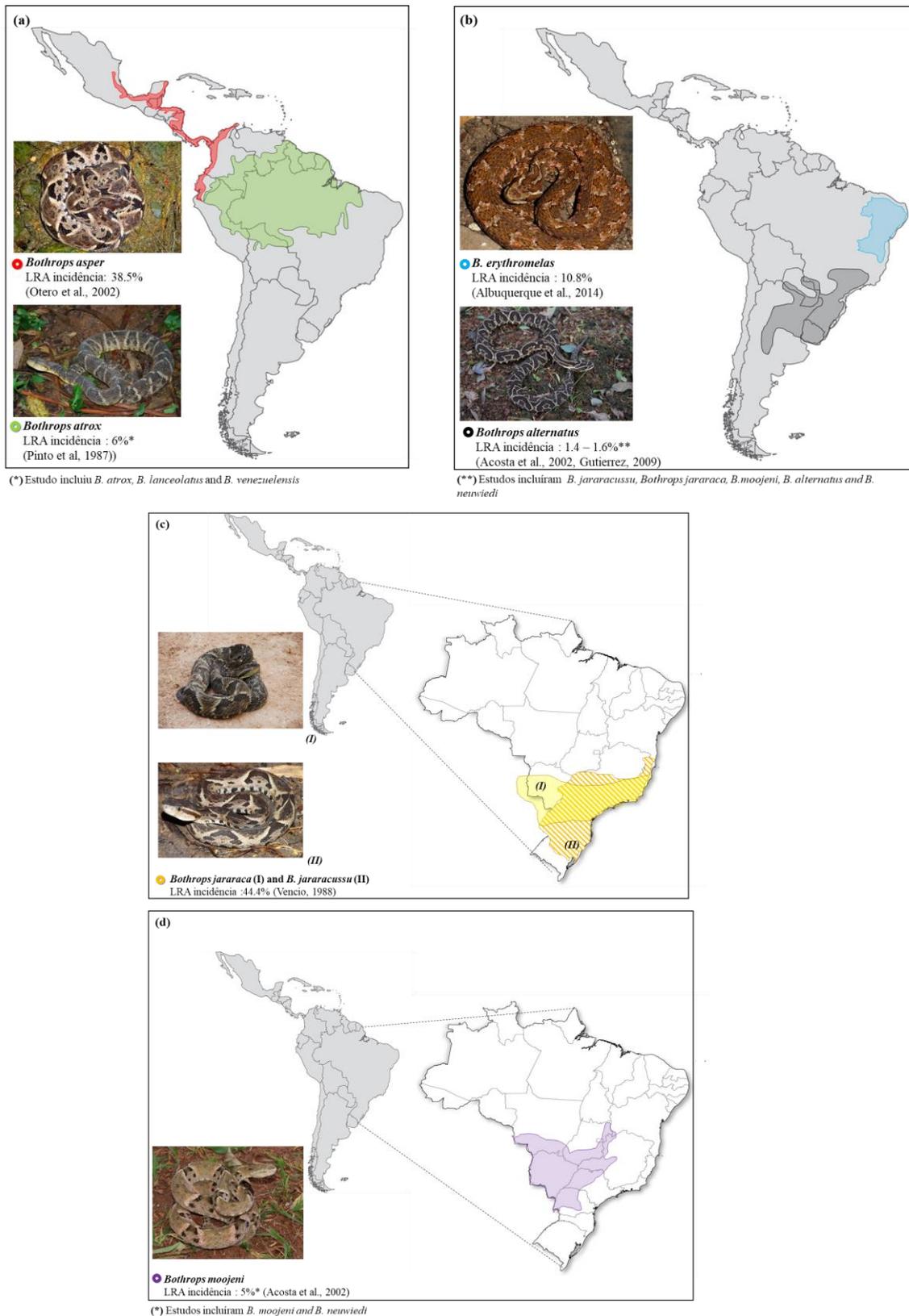


Figura 1. Distribuição geográfica das principais espécies do gênero *Bothrops* e respectiva incidência de LRA relatada em estudos epidemiológicos (a) *Bothrops asper*, cortesia de Livia Correa, Laboratório Especial de Coleções Zoológicas, Instituto Butantan, São Paulo. (a) *Bothrops atrox*, (b) *B. Alternatus* e (c, I) *B. Jararaca*, cortesia de Marcelo Duarte, Laboratório de Coleções Zoológicas, Instituto Butantan, São Paulo. (b) *B. Erythromelas*, cortesia de Bruno Cardi, Universidade Estadual do Ceará. (c, II) *Bothrops jararacussu* e (d) *B. Moojeni*, cortesia de Paulo Bernarde. *Fonte: próprio autor.

2.2 VENENO BOTRÓPICO

A notória variabilidade nos gêneros de *Bothrops* contribui para a ampla gama de venenos e seus efeitos biológicos. O conhecimento das semelhanças e diferenças entre as toxinas botrópicas torna o tratamento específico viável. Além disso, algumas toxinas atuam sinergicamente, aumentando os efeitos clínicos.

Vários estudos compararam diferentes características entre o veneno das espécies *Bothrops* (SCHENBERG, 1963; JIMÉNEZ-PORRAS, (1964; 1966); ARAGON; GUBENSEK, 1981; MORENO et al., 1988; MANDELBAUM et al, 1989; GENE et al., 1989; SOUSA et al., 2013; ESTEVAO-COSTA et al., 2016; JORGE et al., 2017). Estudos transcriptômicos e proteômicos para examinar a composição do veneno de espécies *Bothrops* são ferramentas importantes para entender essa variabilidade (CARDOSO, VIDAL; 2010). Esses estudos não apenas melhoram as classificações taxonômicas, mas também melhoram o diagnóstico clínico e o tratamento. Eles compararam a composição de venenos em diferentes espécies de *Bothrops* e apontaram diferenças mesmo em animais híbridas (derivadas do cruzamento de animais de duas populações, ou grupos de populações, que são distinguíveis com base em caracteres hereditários) (SANTORO et al., 2015) e em serpentes de distintas regiões geográficas (SCHENBERG, 1963; JIMÉNEZ-PORRAS, 1964; JIMÉNEZ-PORRAS, 1966; ARAGON, 1981; EDGARDO MORENO, 1988; SOUSA et al., 2013; DANTAS et al., 2015; JORGE et al., 2017). Eles destacaram diferenças em serpentes geneticamente controladas durante o desenvolvimento ontogenético. Relacionamentos sistemáticos e filogenéticos dentro das serpentes botrópicas não são claros e mudanças em diferentes gêneros são frequentemente sugeridas (SOUSA et al., 2013).

Existem várias famílias bioquímicas de toxinas patogênicas no veneno de espécies de *Bothrops*: SVMs classes PI e P-III, SVSPs ,chamadas de famílias de toxinas “auxiliares”, L-aminoácido oxidases (L-AAOs-*L-amino acid oxidases*) e fosfolipases A2 (PLA2s-*phospholipases A2*) (SOUSA et al., 2013). Os venenos animais são uma mistura complexa de componentes com diversas ações sobre as presas e vítimas humanas. Apresentam várias atividades biológicas: ação miotóxica, coagulante (anticoagulante), hemostática (ativadora ou inibidora), hemorrágica, neurotóxica (pré e pós-sináptica), nefrotóxica direta e possivelmente

hepatotóxica (CHIPPAUX, 1991). A variabilidade na abundância das principais classes de toxinas em algumas espécies de *Bothrops* está resumida na Figura 2.

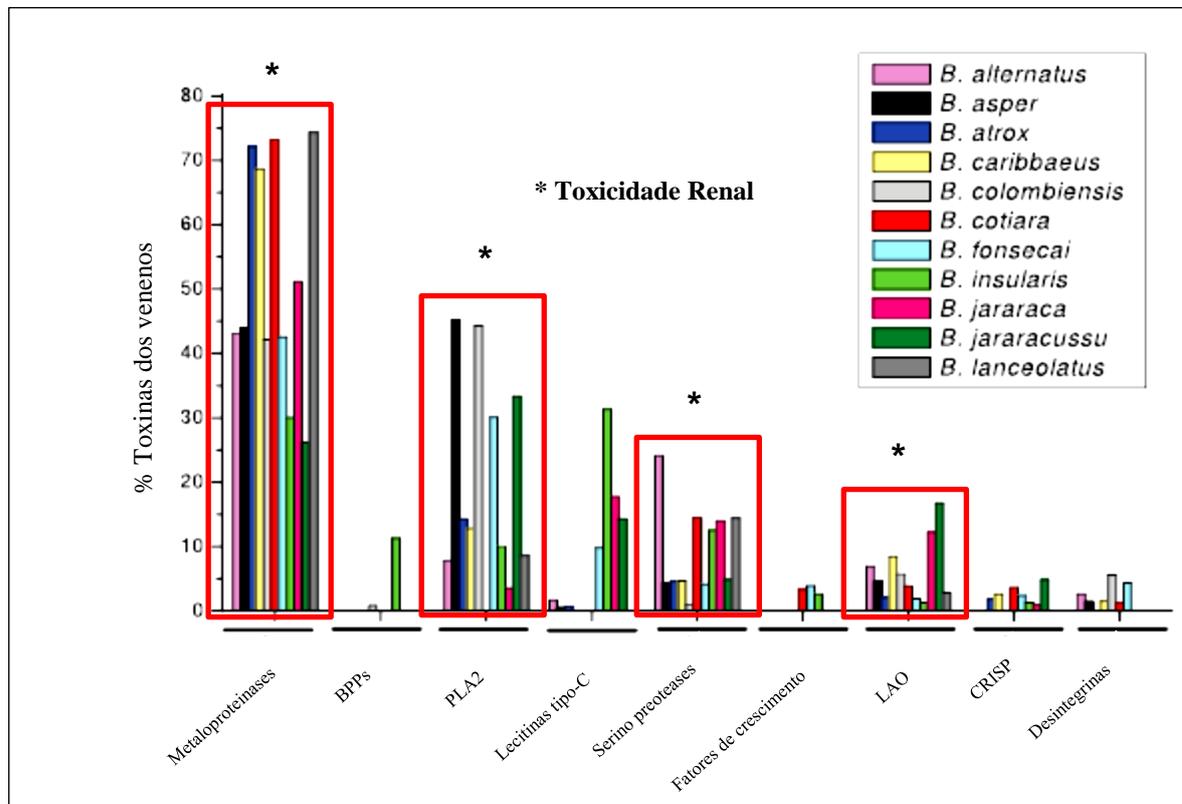


Figura 2. Abundância relativa das principais classes de toxinas em alguns venenos botrópicos determinada por análise proteômica

*Fonte: modificado de CARDOSO et al., *copyright BMC Genomics* 11:605, 2010.

A abundância é expressa como uma porcentagem do número total de toxinas identificadas em cada análise. PLA2: Fosfolipase A2; BPP: peptídeos potenciadores de bradiquinina; LAO: L-aminoácido oxidase; CRISP: proteínas secretoras ricas em veneno de cisteína (CARDOSO; VIDAL, 2010). Metaloproteínas (SVMs): Degradam todos os tipos de proteínas da matriz extracelular, interrompem a matriz celular e a adesão, quimiocinas e citocinas ativas, clivam os receptores da superfície celular e induzem apoptose de células de adesão vascular. Classe P-III: induz hemorragia, ativação de fatores de coagulação, inibição da agregação plaquetária e sintomas locais. Exemplo: ação jararagina e toxicidade renal (GUTIERREZ et al., 2005; SCHATTNER et al., 2005; FERNANDES et al., 2006; MOURA-DA-SILVA; BALDO, 2012; SITPRIJA; SITPRIJA, 2012; SOUSA et al., 2013; MARINHO et al., 2015). PLA2: papel fundamental na inflamação, ativando o ácido araquidônico, levando à geração de eicosanóides (prostaglandinas e leucotrienos); estimula o eixo hipotalâmico-hipofisário-adrenal a produzir hormônio adrenocorticotrófico, corticosteróides, vasopressina e proteínas de fase aguda; manifestações locais na mordedura e alterações hemodinâmicas (CHISARI et al., 1998; MODESTO et al., 2006; BRAGA et al., 2008; EVANGELISTA et al., 2010; SITPRIJA, SITPRIJA, 2012). Serina proteinases (SPs): Altamente expressas nos rins. Ação semelhante à trombina, com atividade fibrinolítica levando a distúrbios da coagulação sanguínea, vasodilatação e hipotensão através da guanilil ciclase dependente de NO; converte cininogênio em cinina, após relaxamento do músculo liso vascular e aumenta a reabsorção tubular de Na no ducto coletor (GUI et al., 2003; ROSSIER, STUTTS, 2009; SITPRIJA, SITPRIJA, 2012). LAO: lesão endotelial, agregação plaquetária, apoptose celular a danos no DNA e nefrotoxicidade. Citotoxicidade em células MDCK (CARDOSO et al., 1999; XIAO-YAN DU, CLEMETSON, 2002 et al., DANTAS et al., 2015).

As metaloproteínas derivadas do veneno de serpentes são endopeptidases dependentes de zinco, pertencentes à família das proteases, que podem degradar todos os tipos

de proteínas da matriz extracelular, romper a matriz celular e adesão celular, clivar receptores de superfície celular (SITPRIJA, SITPRIJA, 2012), ativar quimiocinas e citocinas (FERNANDES et al., 2006) e induzir apoptose de células de adesão vascular (GUTIERREZ et al., 2005; MARINHO et al., 2015). Além disso, a classe P-III pode ativar fatores de coagulação, inibir a agregação plaquetária e induzir sintomas locais no local da mordedura (SCHATTNER et al., 2005; MOURA-DA-SILVA, BALDO, 2012).

As serinoproteinasas do veneno de serpentes, também chamadas de endopeptidases de serina, ativam os receptores ativados pela proteinase (PARs- *proteinase-activated receptors*), altamente expressos no rim. Essas enzimas têm ação semelhante à trombina e atividade fibrinolítica (SITPRIJA, SITPRIJA, 2012). Além disso, enquanto a ativação do PAR1 leva à vasoconstrição renal e à acentuada redução na taxa de filtração glomerular, a ativação do PAR2 apresenta ação antagônica, tanto por mecanismos independentes do óxido nítrico. Em suma, PAR1 e PAR2 desempenham papéis bidirecionais na regulação da hemodinâmica renal. Alguns estudos mostraram que as SVSPs podem converter cininogênio em cinina, o que causa o relaxamento do músculo liso vascular e pode levar à reabsorção tubular de $[Na]^+$ no ducto coletor através do canal de $[Na]^+$ epitelial (ENaC- *epithelial sodium channel*) (ROSSIER, STUTTS, 2009).

L-Amino oxidases derivadas do veneno de serpentes são o outro componente importante dos venenos de serpentes (XIAO-YAN DU, CLEMETSON, 2002). O peróxido de hidrogênio gerado pode induzir lesão endotelial, agregação plaquetária e apoptose celular devido a danos no DNA. Algumas alterações renais, como diminuição da pressão de perfusão, resistência vascular renal, fluxo urinário, taxa de filtração glomerular, percentual de $[Na]^+$ e transporte tubular de cloreto foram associadas aos efeitos do L-AAO do veneno de *Bothrops marajoensis* em modelo de rim perfundido isolado, bem como a citotoxicidade em células MDCK (*Madin-Darby Canine Kidney*) (DANTAS et al., 2015).

As fosfolipases A2 podem contribuir para a toxicidade renal, ativam o ácido araquidônico, levam à geração de eicosanóides (prostaglandinas e leucotrienos), estimulam o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal a produzir hormônio adrenocorticotrófico, corticosteroides, vasopressina, proteínas de fase aguda e contribuem para manifestações no local da mordedura e modificações hemodinâmicas (CHISARI et al., 1998; BRAGA et al., 2008; EVANGELISTA et al., 2010). O endotélio é responsável por manter a fluidez do sangue, produzindo inibidores da agregação plaquetária e da coagulação sanguínea, modulando o tônus vascular e a permeabilidade e fornecendo um envelope protetor que separa os componentes hemostáticos

do sangue das estruturas subendoteliais reativas (MODESTO et al., 2006). Portanto, toda alteração nessa homeostase poderia causar importantes alterações sistêmicas, como inibição da agregação plaquetária e liberação de prostaciclina (PGI₂) (MODESTO et al., 2006).

A correlação entre venenos de diferentes espécies e seus principais compostos tóxicos são os pilares do tratamento específico de acidentes ofídicos botrópicos. Sousa et al. (2013) compararam a composição e a reatividade do soro antibotrópico coletado de seis espécies de serpentes. Eles também avaliaram a neutralização do veneno de *B. atrox*, que é a espécie responsável por mais envenenamentos na região amazônica e não está incluída na tradicional mistura de antígenos de imunização utilizada no Brasil. As SVMs P-III apresentaram antígenos de reação cruzada reconhecidos nos venenos, independentemente de sua inclusão no *pool* de imunização (SOUSA et al., 2013). Por outro lado, o antídoto neutralizou adequadamente a maioria das SVSPs, que são enzimas semelhantes à trombina, envolvidas nos distúrbios de coagulação sanguínea induzidos pelo veneno botrópico.

Ainda no intuito de avaliar a capacidade de neutralização de soros antiofídicos produzidos a partir de diferentes espécies estudos foram conduzidos por diferentes países. O soro antibotrópico do Brasil, derivado dos venenos de *B. jararaca* (50 %), *B. jararacussu* (12,5 %), *B. moojeni* (12,5 %), *B. alternatus* (12,5 %) e *B. neuwiedi* (12,5 %), e o da Costa Rica, produzido com uma mistura de quantidades iguais de venenos de *B. asper*, *Crotalus simus simus* e *Lachesis stenophrys*, foram comparados (GONCALVES-MACHADO et al., 2016). Esses soros exibiram padrões semelhantes de imuno reconhecimento de proteínas avaliadas por *Western blotting*, embora os proteomas e transcriptomas de veneno de serpente tenham revelado perfis distintos de bioatividade. Em outros estudos, o soro antiofídico fabricado na Costa Rica foi eficaz na neutralização das atividades tóxicas do veneno botrópico do Equador (LAINES et al., 2014) e do *B. asper* do Panamá (VELEZ et al., 2017). Portanto, proteínas homólogas presentes em diferentes venenos podem ter ampla imunorreatividade cruzada e a neutralização das principais atividades toxicológicas (letalidade e hemorragia) induzidas por venenos medicamente relevantes de serpentes do gênero *Bothrops* é possível (LAINES et al., 2014; ESTEVAO-COSTA et al., 2016; VELEZ et al., 2017).

As semelhanças entre as proteínas presentes em venenos botrópicos distintos poderiam sugerir a criação de um soro antibotrópico de amplo espectro (talvez um tipo pan-americano), que poderia melhorar o manejo dos pacientes, mas estaria associado a limitações importantes. Este soro antiofídico seria composto de menos anticorpos específicos para as espécies de serpentes, tornando-se mais diluído e exigindo doses terapêuticas maiores - aumentando

potencialmente o risco de complicações anafiláticas e os custos do tratamento (SLAGBOOM et al., 2017).

A fim de comparar os efeitos locais causados por venenos de *B. alternatus* e *B. moojeni* por meio de funções enzimáticas e modulação inflamatória, Mamede et al. (2016) realizaram um estudo experimental em animais. SVMs e PLA2s apresentaram um papel central no dano local induzido pelos venenos botrópicos. Além disso, os autores observaram que drogas antiinflamatórias específicas foram capazes de reduzir o edema, a dor e o dano muscular de ambos os venenos. No entanto, os efeitos locais causados pelo veneno de *B. moojeni* foram consideravelmente mais potentes que o *B. alternatus* neste estudo (MAMEDE et al., 2016).

Deve-se notar que diferentes toxinas podem agir sinergicamente para causar alguns efeitos (PINHO et al., 2008; MOREIRA et al., 2016). Por exemplo, respostas inflamatórias provavelmente são desencadeadas por múltiplos componentes. O veneno de *B. atrox* aumentou a permeabilidade vascular e o influxo de leucócitos no local, associado à produção de citocinas (quimiocina CCL-2- *CC chemokine ligand 2*- e eicosanóides derivados de COX-Ciclooxigenase-1 e 2), consistindo principalmente de leucócitos mononucleares, inicialmente, e polimorfonucleares em fases posteriores (MOREIRA et al., 2012). Da mesma forma, o efeito quimiotático direto do veneno de *Bothrops jararacussu* levou a uma resposta edematogênica com aumento da produção local de TNF- α (Fator de necrose tumoral alfa) e IL-1 (Interleucina 1), bem como expressão de COX-2, que foram prevenidas pelo pré-tratamento com indometacina, celecoxib e fucoidan (WANDERLEY et al., 2014). Além disso, o veneno de *B. jararacussu* induziu uma quimiotaxia direta de neutrófilos *in vitro*, aumentando o $[Ca]^{++}$ intracelular (WANDERLEY et al., 2014). De forma interessante, a participação do óxido nítrico (NO) no veneno do *Bothropoides insularis* interferiu nos macrófagos de camundongos *in vitro*. Os efeitos citotóxicos e proliferativos do veneno de *B. insularis* ocorreram por via necrótica (MENEZES et al., 2016). O veneno de *B. insularis* causou indução da expressão de óxido nítrico sintase induzível (iNOS) e o NO foi parcialmente responsável pelas atividades proteolíticas e fosfolipásicas.

2.3 ENVENENAMENTO BOTRÓPICO: INCIDÊNCIA E IMPLICAÇÕES

2.3.1 Manifestações clínicas

O termo “Síndrome Botrópica ou *Bothrops* síndrome” pode ser usado para descrever a variedade de manifestações causadas pelo envenenamento botrópico, uma vez que há muitas serpentes incluídas nesse grupo que levam a manifestações semelhantes (MALAQUE, GUTIÉRREZ, 2015). No entanto, as variações ontogenéticas na composição do veneno podem ter implicações nas manifestações clínicas, justificando algumas particularidades em quadros clínicos resultantes de espécies diferentes (HARDY, 1994; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2017b).

O quadro clínico representa a ação direta e indireta das enzimas e proteínas previamente reconhecidas. Desse modo, uma das características mais importantes do envenenamento botrópico é o efeito local das toxinas proteolíticas causadas pela mordedura de serpentes latino-americanas. As características no local da mordedura permitem a diferenciação entre uma mordedura de serpente crotálica, que não apresenta atividade inflamatória local (CARDOSO; FRANCA, 2009). Após a mordedura, um sangramento discreto é comum no local de inoculação do veneno, onde também pode ser observado edema, dor, vermelhidão e ecmozes. A extensão do edema pode aumentar durante as primeiras 24 horas após a mordedura, envolvendo todo o membro do paciente afetado (MALAQUE, GUTIÉRREZ, 2015) e é usado como um critério de gravidade (KOUYOUMDJIAN, POLIZELLI, 1988). Kouyoumdjian e Polizelli relataram a associação entre o comprimento mais longo de *Bothrops moojeni* com pior lesão local (edema, necrose e infecção secundária) e com anormalidades de coagulação mais leves (KOUYOUMDJIAN, POLIZELLI, 1989; MINISTERIO DA SAÚDE DO BRASIL, 2005). Curiosamente, em acidentes por serpentes juvenis a lesão local é leve, pois seu veneno é predominantemente pró-coagulante (MILANI JR et al., 1997). Às vezes, a inflamação local pode levar à amputação. O risco de amputação é maior em pacientes mordidos nos dedos, durante os meses mais frios, entre as primeiras 12 horas do dia, por serpentes com mais de 60 cm de comprimento e entre aqueles que desenvolveram bolhas e abscessos no local da mordedura, sangramento sistêmico e insuficiência renal (JORGE et al., 1999).

Os venenos botrópicos ativam, isoladamente ou simultaneamente, o fator X, V e a protrombina. Eles também têm atividade semelhante à trombina, convertendo o fibrinogênio em fibrina (PINHO et al., 2008). A hemorragia pode ocorrer em cerca de 65 % dos pacientes e é um sinal sistêmico importante do envenenamento por *Viperidae* (CHUGH, 1989). O veneno de serpentes pode destruir o fibrinogênio tão rapidamente quanto o fígado. Além disso, há uma ativação contínua do fibrinogênio, produzindo uma frágil fibrina que é mais suscetível à lise do que a fibrina comum (CHUGH, 1989). Pinho e Burdmann (PINHO, BURDMANN, 2009) relataram um caso fatal de hemorragia intracerebral após mordedura de serpente (*Bothrops jararacussu*) após múltiplas manifestações de coagulopatia e LRA. Ribeiro *et al.* (1998) relataram cerca de 100 % de anormalidades da coagulação em 23 necropsias devido a envenenamentos botrópicos. Pode haver equimoses e sangramento espontâneo (como gengivorragia, epistaxe e hematúria) (MALAQUE, GUTIÉRREZ, 2015). Hipotensão e choque são atribuídos à liberação de bradicinina ou serotonina pelas enzimas do veneno, mas são raros (AZEVEDO-MARQUES, CUPO, HERING, 2003).

Para entender os fatores associados com graves distúrbios de coagulação (incoagulabilidade do sangue) em envenenamentos botrópicos, Oliveira *et al.* (2003) realizaram um grande estudo retrospectivo, com 2.991 pacientes. Os fatores positivamente associados à incoagulabilidade sanguínea ($p < 0,05$) foram: mordedura de serpente nos últimos meses do ano, mordedura nos segmentos distais dos membros inferiores, dor, edema e hematoma no local da mordedura, sangramento sistêmico, choque, dose de soro antiofídico administrado e tempo entre a mordedura e a internação hospitalar. (OLIVEIRA et al., 2003).

A progressão, extensão do edema e presença de necrose definem a gravidade da inflamação local. Distúrbios de coagulação, sangramento e a presença de complicações que ameaçam a vida, como choque e lesão órgãos vitais definem o envenenamento sistêmico (OTERO-PATINO, 2009). No entanto, destaca a ocorrência isolada de sangue incoagulável e não classifica por si só o envenenamento como grave. A gradação clínica do envenenamento define o número de frascos de soro específico que devem ser usados no tratamento (SGRIGNOLLI et al., 2011).

Recentemente, investigou-se a associação entre a antigenemia do veneno na admissão com variáveis clínicas, laboratoriais e epidemiológicas após mordeduras por *Bothrops* na América do Sul. França et al. (2003) realizaram uma pesquisa com 137 pacientes. A evolução inicial e o tratamento dos pacientes foram baseados no quadro clínico. Notavelmente, apenas a gravidade do envenenamento e as concentrações plasmáticas de fibrinogênio foram associadas

à antigenemia do veneno sérico na admissão hospitalar. No entanto, o valor da antigenemia antes do tratamento com soro foi limitado em pacientes admitidos tardiamente. Esses autores sugeriram, na época, que uma grande quantidade de veneno já havia deixado o espaço intravascular e a correlação entre a gravidade e a antigenemia do veneno diminuía progressivamente (FRANCA et al., 2003).

2.3.2 Mortalidade por Envenenamento Botrópico

Complicações graves após acidentes ofídicos podem levar a morte, apesar de ser um evento raro (LIMA et al., 2010). A taxa de letalidade devido ao envenenamento botrópico é muito variável de acordo com os países e regiões dentro de um país (OTERO-PATINO, 2009). No Brasil, de acordo com o Sistema Nacional de Informação do Ministério da Saúde (“Sistema de Informação de Agravos e Notificação”), houve 202.288 casos de acidentes botrópicos entre 2004 e 2016, e apenas 752 mortes, resultando em uma letalidade da doença de 0,37% (SISTEMA DE INFORMAÇÃO DE AGRAVOS DE NOTIFICAÇÃO, 2018). Da mesma forma, os dados publicados por Otero-Patino (2009) descreveram a taxa de letalidade em envenenamento botrópico no Brasil de 0,3-0,4 % devido a *Bothrops spp*, na Costa Rica e Panamá menos de 1 % e na Colômbia de 3-5 %. Brasil, a Costa Rica e o Panamá distribuem soros antiofídicos gratuitamente para pacientes em todos os hospitais de referência e centros de saúde (OTERO-PATINO, 2009), o que provou ser eficaz na redução da mortalidade. Malaque et al. (MALAQUE, GUTIÉRREZ, 2015) descreveram as características de envenenamentos induzidos por várias espécies botrópicas e revelaram a ocorrência de LRA entre 12-40% dos casos com óbitos.

2.4 LESÃO RENAL AGUDA RELACIONADA AO ENVENENAMENTO POR *BOTHROPS*: “ÔNUS” PARA OS PAÍSES EM DESENVOLVIMENTO

2.4.1 Incidência da LRA Relacionada ao Envenenamento Botrópico

Bothrocophias, *Bothrops* e *Crotalus* na América do Sul e *Vipera russelli* na Ásia são as principais causas de LRA relacionada à mordedura dentre as serpentes mais venenosas (CHUGH, 1989). No entanto, o diagnóstico correto e precoce da LRA continua sendo um desafio, devido às diferentes definições aplicadas nos estudos. Além disso, o acompanhamento do paciente é essencial para relatar a completa recuperação da função renal ou da doença renal crônica (DRC) associada à LRA relacionada ao veneno botrópico.

O desenvolvimento de definições padrão de LRA foi fundamental para a compreensão dessa entidade em diferentes contextos, inclusive no envenenamento por acidentes ofídicos. A utilização dos critérios RIFLE (BELLOMO et al., 2004; LAMEIRE et al., 2005), *AKI Network* (AKIN) (MEHTA et al., 2007) e KDIGO (Kidney Disease: Improving Global Outcomes. 2012) possibilitou a análise de diferentes casos clínicos de forma mais confiável em diferentes contextos e regiões. Curiosamente, estudos recentes destacaram a alta incidência de LRA em pacientes graves e seu impacto no desfecho clínico, fazendo comparações com a linha de base do próprio paciente (HOLMES et al., 2018). No entanto, os pacientes que sofreram mordeduras de serpentes em países em desenvolvimento, onde não há um fácil acesso aos serviços de saúde, geralmente chegam ao hospital muito tempo após a mordedura (OTERO et al., 2002; ALBUQUERQUE et al., 2014) e sua creatinina basal é desconhecida. O diagnóstico clínico e o manejo tardios contribuem para a alta incidência de LRA relacionada ao veneno botrópico (ALBUQUERQUE et al., 2014). Portanto, muitas medidas são necessárias para mudar esse cenário, como a educação da população- para usar equipamentos de proteção pessoal na agricultura e buscar cuidados médicos mais cedo em caso de mordedura de serpente, melhorar a distribuição estratégica de soro antiofídico (mesmo para áreas rurais remotas, prover hospitais com oferta de soro), e uma equipe qualificada de profissionais de saúde (educação continuada em saúde).

Existem vários estudos epidemiológicos publicados com o intuito de descrever a LRA, mas poucos desses relatos descrevem claramente a definição de LRA empregada (ACOSTA et al., 2000; BUCARETCHI et al., 2001; OTERO, 2002; ALBUQUERQUE et al., 2014). A descrição de hematúria isolada e oligúria foi utilizada como diagnóstico definitivo de LRA em alguns estudos, embora a sedimentação urinária anormal possa não representar necessariamente esta entidade clínica.

Dados de séries retrospectivas descreveram incidência de LRA de 1,4 a 44,4% (ACOSTA et al., 2000; BUCARETCHI et al., 2001; OTERO, 2002; ALBUQUERQUE et al., 2014; ALVES et al., 2018). No entanto, outros não encontraram LRA relacionado ao veneno botrópico (KOUYOUMDJIAN, POLIZELLI, 1988; PACHECO, ZORTÉA, 2008). Portanto, a real incidência de LRA por gêneros botrópicos é variável e subestimada, não apenas pela ambiguidade das definições, mas também pela ausência de notificação em algumas áreas rurais (SGRIGNOLLI et al., 2011). (Tabela 2)

Tabela 2. Incidência de LRA nefrotóxica após envenenamento botrópico.

Definição LRA	Spécies*	N	LRA %	Diálise %	Referências
**	<i>Bothrops sp.</i>	67	10,5	-	(Cupo et al., 1985)
-	<i>Bothrops moojeni</i>	37	0	-	(Kouyoumdjian, Polizelli, 1988)
-	<i>Bothrops jararaca, B. jararacussu</i>	27	44,4	33,3	(Vencio, 1988)
-	<i>Bothrops sp.</i>	114	6	-	(Queiroz et al., 1989)
**	<i>Bothrops sp.</i>	57	6	-	(Kouyoumdjian, Polizelli, Lobo, 1990)
**	<i>Bothrops moojeni, and B.neuwiedi</i>	292	5	-	(Silveira et al, 1992)
-	<i>Bothrops jararacussu</i>	29	13,7	7,0	(Milani Jr et al., 1997)
**	<i>Bothrops jararaca (97.5%), B.jararacussu, B.neuwiedi, B.moojeni, B.alternatus and B.pradoi.</i>	3.139	1,6	0,7	(Jorge et al., 1997)
-	<i>Bothrops lanceolatus, B.venezuelensis and B.atrox</i>	60	6,0	-	(Acosta et al., 2000)
**	<i>Bothrops jararaca, B.alternatus and B.neuwiedi</i>	73***	1,4	-	(Bucarechi et al., 2001)
-	<i>Bothrops asper</i>	39	38,5	33,3	(Otero, 2002)
-	<i>Bothrops sp.</i>	165	0	-	(Pacheco, Zortéa, 2008)
RIFLE and AKIN	<i>Bothrops erythromelas.</i>	276	10,8	30,6****	(Albuquerque et al., 2014)
AKIN	<i>Bothrops sp.</i>	186	12,9	16,7%	(Alves et al., 2018)

*: A identificação da espécie da serpente Botrópica ocorreu em alguns casos, **: Níveis elevados de creatinina sérica que mais tarde retornaram à faixa normal, ***: menores de 15 anos; (-): Não descrito, ****: Esta incidência representa a porcentagem de diálise em acidentes com serpentes Crotálicas juntas.

Fonte: próprio autor.

O risco de DRC após uma LRA é outra questão importante no envenenamento por mordedura de serpentes peçonhentas. O tratamento de substituição renal implica despesas elevadas em tratamentos médicos. Além disso, os países em desenvolvimento precisam lidar com gastos catastróficos em problemas de saúde pública e altas taxas de pobreza (XU *et al.*, 2003; JHA, PARAMESWARAN, 2013). Por outro lado, a LRA pode aumentar o risco de DRC

e doença renal em estágio terminal, necessitando de diálise. É importante destacar o aumento de pacientes sobreviventes após um episódio de LRA (COCA et al., 2012). Então, doenças cardiovasculares, minerais, ósseas e neurológicas associadas à DRC aumentam também.

O estudo de biomarcadores precoces do diagnóstico da lesão renal aguda, bem como da recuperação da função renal a médio prazo e do prognóstico a longo prazo é extremamente útil, porém, ainda pouco conhecido. A escolha de biomarcadores capazes de descrever a relação entre a LRA e doença renal crônica requer análise cuidadosa (ENDRE, 2018). Poucos estudos relataram uma função tubular renal comprometida em pacientes caracterizados como função renal normal que sofreram mordeduras de serpentes *Viperid* (AYE et al., 2017). Muitas perguntas sobre as complicações a longo prazo após a LRA relacionada ao veneno botrópico permanecem sem resposta.

2.4.2 Características da LRA Relacionada ao Envenenamento Botrópico

Os rins são vitais para manter a homeostase do corpo e exigem alto gasto de energia. Eles têm um sistema vascular rico e são uma rota importante de eliminação do veneno do corpo através do processo de filtração, excreção e concentração (MORAIS et al., 2013). Assim, a diminuição da TFG leva a um estado de hipervolemia que desencadeia muitas respostas hormonais sistêmicas no envenenamento botrópico, o que pode interferir na hemodinâmica renal.

A LRA após um acidente botrópico é uma entidade comum em casos graves e pode levar à morte e à DRC. Ribeiro et al. (1998) realizaram um estudo com 12639 casos de notificações de mordedura de serpentes no Brasil e detalharam os achados em 43 casos. Curiosamente, o envenenamento botrópico causou a maior parte dessas mortes, nos membros inferiores, em pessoas com mais de 50 anos e a complicação mais frequente foi a LRA. No entanto, envenenamento crotálico parecia ser mais letal.

A LRA em acidentes botrópicos é comumente oligúrica, grave e precoce, ocorrendo logo após a mordedura (AMARAL, RIBEIRO, 1986; JORGE et al., 1997; RIBEIRO, JORGE, 1998; PINHO et al., 2008; GUTIERREZ et al., 2009; OTERO-PATINO et al., 2009; VARGAS,

LOPES, 2009; SGRIGNOLLI et al., 2011). Da Silva et al. (1979) realizaram um estudo em pacientes com LRA após mordedura de serpentes, em tratamento em unidade de terapia intensiva no Brasil e detalharam o aparecimento de oligúria ou anúria em cada caso. Este estudo apresentou 29 pacientes com LRA devido a acidentes botrópicos e crotálicos. Vale ressaltar a diferença entre os grupos, com acidentes crotálicos comumente desenvolvendo oligúria ou anúria mais tardiamente do que em acidentes botrópicos. Por outro lado, relataram a necessidade de diálise (diálise peritoneal ou hemodiálise) em 72,5% dos casos, o que evidencia a gravidade da LRA. Lima et al. (2010) relataram um caso devido a envenenamento botrópico com falência de múltiplos órgãos. Curiosamente, o paciente era jovem e chegou cedo ao hospital. No entanto, ele desenvolveu várias complicações clínicas, incluindo LRA grave com necessidade de diálise até 18 dias após o acidente. O episódio de síncope e as alterações iniciais nos testes de coagulação podem ser pistas para o quadro grave. Sessenta dias após a mordedura, o paciente ainda apresentava perda de função renal leve, indicando necessidade de seguimento em longo prazo nessas condições (LIMA et al., 2010). O risco de complicações a médio e longo prazo, como déficit renal permanente, ulcerações crônicas cicatriciais merecem atenção e a necessidade de “*follow-up*” deste grupo de pacientes deve ser realizada (WAIDDYANATHA et al., 2019).

2.4.3 Fatores de Risco Associados à LRA Relacionada ao Envenenamento Botrópico

Vários estudos descrevem os fatores de risco associados ao desenvolvimento de LRA após acidentes ofídicos botrópicos (SGRIGNOLLI et al., 2011; ALBUQUERQUE et al., 2014; ALVES et al., 2018). Alguns dados sugerem uma correlação positiva entre a idade do paciente e o desenvolvimento de LRA, a área de superfície corporal, o longo tempo até o tratamento com soro antiofídico, o local da mordedura, o longo tempo de hospitalização, a idade da serpente e a quantidade de veneno inoculado. Curiosamente, um estudo realizado na Colômbia descreveu um importante fator de risco para a LRA relacionada ao veneno botrópico: o atraso na administração do soro antibotrópico em mais de 2 horas após a mordedura de serpente (OTERO, 2002). Alto nível de lactato desidrogenase (LDH) e sangramento local foram recentemente associados independentemente ao desenvolvimento de LRA (ALVES et al.,

2018). Além disso, a coagulação intravascular disseminada (CIVD), a leucocitose e a albumina sérica baixa foram associadas à LRA em um estudo retrospectivo realizado em uma região da Turquia, onde as serpentes *Viperidae* são as mais comuns (DANIS et al., 2008).

Além disso, é importante buscar outras variáveis associadas à gênese da LRA, como hipovolemia, hipertensão arterial sistêmica (HAS), diabetes prévia, doenças cardíacas ou mesmo doenças renais prévias. Investigar os hábitos dos pacientes, como tabagismo, abuso crônico de álcool, medicamentos e uso de drogas ilegais é fundamental e pode influenciar o desenvolvimento de LRA. A análise multivariada mostrou forte associação entre comorbidades (diabetes e HAS) e LRA [OR ajustado = 60,96 (IC95% = 9,69-383,30; p <0,000)] em estudo recente (ALVES et al., 2018).

2.4.4 Novos biomarcadores precoces de LRA

Na lesão renal aguda por envenenamento botrópico, como em outros cenários clínicos, o diagnóstico precoce está diretamente associado a melhor resposta terapêutica. O conceito de intervenções com base na “janela de oportunidades” reforça a importância da precocidade das intervenções (WAIKAR, BONVENTRE, 2008; SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEFROLOGIA, 2011; ABASSI et al., 2019). Semelhantemente, a inexistência de um biomarcador renal precoce, sensível e acessível levou a considerável aumento de pesquisas nesta área na última década.

A lesão renal aguda é um processo dinâmico, constituído de fases que vão desde o aumento do risco de LRA propriamente dita, a instalação do dano renal, a queda de filtração glomerular e desfechos (falência renal e morte) (BELLOMO et al., 2012). Estudos proteômicos têm sido empregados para identificar novos biomarcadores de LRA em diversos contextos clínicos, pois a creatinina sérica como ferramenta para estimar alterações na taxa de filtração glomerular (TFG) atua em fases tardias da LRA.

Diversos novos biomarcadores renais têm sido investigados em diferentes contextos clínicos e evidenciam diferentes etapas na instalação da LRA (BELLOMO et al., 2012; MARTENSSON, BELLOMO, 2014). Dentre estes, o NGAL foi por muitos anos considerado

a “troponina do rim”, entretanto, diferentemente do infarto do miocárdio, a LRA raramente tem a isquemia como gatilho (MARTENSSON, BELLOMO, 2014). Destaca-se, ainda que o NGAL nas suas diversas formas moleculares (monomérica, dimérica, heterodimérica), bem como demais biomarcadores, aumentam sua produção diante da resposta inflamatória sistêmica, apresentando importantes fatores confundidores. Assim, o estudo de biomarcadores renais em pacientes com menor gravidade apresentaria maior especificidade, desde que estudados precocemente na linha de tempo da instalação da LRA.

Os biomarcadores renais podem ser divididos sob uma perspectiva fisiopatológica. Assim, didaticamente, alguns estudos os classificam em: biomarcadores de função renal (clearance de creatinina, uréia, cistatina C, ácido úrico, elevação da fração de excreção de magnésio renal etc.), biomarcadores de estresse oxidativo renal, comumente estudados em doenças renais crônicas (8-hidroxi-2-deoxiguanosina, 8-isoprostano, 4-hidroxi-2-nonenal, produtos finais da glicação avançada etc.), biomarcadores de lesão celular e estrutural do rim (microalbuminúria, albuminúria, microRNA, proteínas podocitárias específicas (nefrinas, podocinas, pocalixinas), N-acetil-beta-D-glucosaminidase, KIM-1 (*kidney injury molecule-1*), proteína de ligação a ácidos graxos do tipo hepático (L-FABP), NGAL etc.), biomarcadores de resposta imune renal (MCP-1 humano (*human monocyte chemotactic peptide- 1*), proteína 10 induzida pelo interferon (IP-10), fator inibidor de migração de macrófagos (MIF), VCAM-1 (*vascular cell adhesion molecule 1*), interleucina-18, fator de necrose tumoral receptor-1 (TNFR1) etc.) e biomarcadores de fibrose renal (fator de crescimento β 1 (TGF- β 1, colágeno tipo IV etc.) (TESCH, 2010).

Há muitos estudos acerca da busca de um biomarcador ideal, porém, poucos em envenenamentos por animais peçonhentos. O atual estudo pesquisou o papel de biomarcadores renais, como, NGAL (*neutrophil gelatinase-associated lipocalin*), MCP-1 humano (*human monocyte chemotactic peptide- 1*), KIM-1 (*kidney injury molecule-1*), VCAM-1 (*vascular cell adhesion molecule 1*) e IL-6 (*interleukin-6*) no diagnóstico precoce da LRA causada por serpentes venenosas. Abaixo estão descritos os estudos mais relevantes acerca destes biomarcadores.

2.4.4.5 NGAL (*neutrophil gelatinase-associated lipocalin*)

O biomarcador *neutrophil gelatinase-associated lipocalin*, NGAL, é um dos biomarcadores mais estudados na atualidade. Representa uma proteína de fase aguda, assim, durante uma reação fisiológica ao estresse e resposta inflamatória aumenta seus níveis, apresentando complexa interação entre a função renal e os demais sistemas orgânicos (MARTENSSON, BELLOMO, 2014). Pertence a família das lipocalinas e consiste de 8 cadeias β , expressas por neutrófilos e células epiteliais, incluindo as células tubulares proximais do rim (FLOWER, 1996; URBSCHAT et al., 2011). O primeiro estudo pré-clínico com NGAL foi em ratos, sendo um dos primeiros genes detectados em rins após 2h de injúria isquêmica, mantendo correlação dos seus níveis séricos com a duração do fenômeno isquêmico (SUPAVEKIN et al., 2003).

Diferentes estudos clínicos têm avaliado o papel do NGAL como preditor de LRA (DEVARAJAN, 2008): em diabetes melitus – sendo mais precoce que microalbuminúria (AL-REFAI et al., 2014), em unidade de terapia intensiva (UTI) – bom preditor de LRA em até 72h pós-admissão, sendo similar a creatinina sérica até o 7º dia de internação em UTI (MATSA et al., 2014; HUANG et al., 2016), pós-cirurgia cardíaca – possibilitando a construção de escore de risco de LRA (KOYNER et al., 2012; DE GEUS et al., 2016), lúpus eritematoso sistêmico – preditor de lesões tubulointersticiais (DING et al., 2018), transplante renal – moderado preditor de necessidade de diálise na primeira semana pós- transplante (HALL et al., 2010) e pós- contraste – melhor performance que a creatinina sérica após angioplastia coronariana (LING et al., 2008; LINDBERG et al., 2016). Também apresentou bons resultados como preditor diagnóstico em quadros infecciosos, como leptospirose – excelente acurácia no soro e urina (SRISAWAT et al., 2015), leishmaniose – acrescentando novos *insights* ao mecanismo fisiopatogênico da doença (MENESES et al., 2018), em intoxicações exógenas, como paraquat – utilidade diagnóstica moderada, mal preditor de morte (ROBERTS et al., 2011; MOHAMED et al., 2015) e glifosato – aumento considerável após 8h de exposição e em estágios de LRA classificados em AKIN ≥ 2 (MOHAMED et al., 2016). Recentemente, estudou-se a aplicabilidade do NGAL em predizer a recuperação da função renal em pacientes internados em UTI sob terapia dialítica, porém, o clearance de creatinina apresentou melhor acurácia (STADS et al., 2019).

2.4.4.6 MCP-1 humano (*human monocyte chemotactic peptide- 1*)

O *human monocyte chemotactic peptide- 1* (MCP-1 ou CCL2) é um RNA mensageiro tipo monócito peptídico quimiotático que possui auto-regulação positiva em lesões isquêmicas ou de reperfusão (TESCH, 2010). Foi a primeira quimiocina humana descrita, sendo um dos agentes quimiotáticos mais potentes para recrutamento de monócitos e macrófagos na presença de estados inflamatórios (DESHMANE et al., 2009). Elevados níveis de MCP-1 foram descritos na urina de pacientes críticos com ou sem azotemia e em camundongos sugerindo melhor especificidade no diagnóstico da LRA em comparação ao NGAL, porém, ambos biomarcadores não apresentaram diferença estatística quanto aos níveis séricos (MUNSHI et al., 2011).

Semelhantemente ao *neutrophil gelatinase-associated lipocalin*, o MCP-1 foi descrito em diversos cenários clínicos como potencial biomarcador de lesão renal, comumente analisado com outros biomarcadores. Alguns estudos descreveram sua aplicabilidade em portadores de lúpus eritematoso sistêmico, apresentando correlação com atividade da doença e, juntamente com fractalquina (FKn) e receptores para produtos finais de glicação avançada (RAGE) pôde prever o prognóstico após instituição da terapia padrão (BARBADO et al., 2012; LAN et al., 2016). O MCP-1 também foi descrito no diabetes melitus e obesidade, podendo apresentar correlação positiva com a albuminúria e índice de massa corporal e negativa com a eTFG em pacientes américo-africanos com doença cardiovascular subclínica (MUREA, XU, 2012; PANEE, 2012). Algumas doenças infecciosas, tais como esquistossomose (Esquistossomose crônica) e hanseníase, evidenciaram correlação positiva entre MCP-1 com albuminúria (HANEMANN et al., 2013; MENESES, 2014). Outros contextos em que o MCP-1 foi preditor de LRA foram as vasculites (Henoch-Schonlein) (FUENTES et al., 2014), glomeruloesclerose focal e segmentar em crianças, correlacionando com proteinúria (BESBAS et al., 2015) e câncer de pulmão após uso de cisplatina (SHINKE et al., 2015).

2.4.4.7 KIM-1 (*kidney injury molecule-1*)

Biomarcador expresso em altos níveis em células epiteliais tubulares proximais desdiferenciadas em humanos ou roedores, o KIM-1 não é detectável em tecidos renais ou urina normais (URBSCHAT et al., 2011). É uma glicoproteína transmembrana do tipo I com um domínio externo clivável localizado na membrana apical dos túbulos na presença de lesão renal aguda ou crônica, funcionando como receptor “*scavenger*” convertendo células tubulares proximais em fagócitos (BONVENTRE, 2009; SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEFROLOGIA, 2011). O achado na urina de KIM-1 em pacientes deve ser interpretado como nefropatia pré-existente, possuindo correlação com proteinúria e gravidade (HUANG et al., 2019).

Estudos clínicos com o KIM-1 têm demonstrado não só um papel de preditor de LRA, mas também de desfechos clínicos adversos (morte e necessidade de diálise) e de auxiliar no diagnóstico diferencial (LIANGOS et al., 2007; BONVENTRE, 2009). Em pacientes pediátricos submetidos a terapia sabidamente nefrotóxica, o KIM-1 foi bom preditor de LRA nas primeiras 24h pós-infusão do quimioterápico em neoplasia em crianças (PEDROSA et al., 2015) e em neonatos extremos que receberam aminoglicosídeos (MCWILLIAM et al., 2012). Em pacientes submetidos a “by-pass” cardiopulmonar em cirurgia cardíaca aberta, o KIM-1 urinário obteve excelente performance em pós-operatório de 3h (KHREBA et al., 2019). Em estudos de LRA nefrotóxica, como, exposição ocupacional ao chumbo (ZHOU et al., 2016) e, experimentalmente, em tecido renal e urina de ratos expostos ao veneno da *Bothrops insularis* (DANTAS et al., 2018) o KIM-1 apresentou boa acurácia ao diagnosticar lesão renal aguda precoce, mesmo nos casos em que a creatinina sérica foi normal.

2.4.4.8 VCAM-1 (*vascular cell adhesion molecule 1*)

O VCAM-1 é um mediador pró-inflamatório expresso em vasos renais durante inflamação local que facilita a migração transendotelial de leucócitos. Na LRA está relacionado

diretamente ao dano vascular e endotelial precoce, podendo ser eliminado na urina, tornando-se um potencial biomarcador (TESCH, 2010; NEVES et al., 2019).

Há poucos estudos sobre o valor preditivo do VCAM-1 no diagnóstico da LRA. Estudo experimental em ratos submetidos a ventilação mecânica já sugeria correlação entre aumento dos níveis séricos de VCAM-1 associado ao maior dano renal e ao aumento de fatores de crescimento (HEPOKOSKI et al., 2017). O conceito de lesão endotelial como preditor precoce da LRA foi descrito na leptospirose, onde os níveis de ICAM-1 (“*intercellular adhesion molecule-1*”) e syndecan-1 foram correlacionados com o dano do glicocálix renal, que sabidamente está associado a LRA (LIBORIO et al., 2015). O estudo conjunto de biomarcadores endoteliais – fator de crescimento de fibroblastos 23 (FGF23), VCAM-1, syndecan-1 e angiopoietina 2 (ANGPT2) – foi excelente preditor de LRA em pacientes críticos em UTI, estabelecendo relação causal iniciada por FGF23 (NEVES et al., 2019).

2.4.4.9 Interleucina -6 (IL-6)

A IL-6 apresenta atividades pró- e anti-inflamatórias que podem ser benéficas ou deletérias. Ao recrutar células mononucleares, promover a apoptose e fagocitose de neutrófilos, inibição de apoptose de células T, diferenciação das células B e T e regeneração de células epiteliais estimula a resposta imune e promove o controle de doenças infecciosas. Porém, mediante sua persistente elevação, associa-se a alto risco de morte (KISHIMOTO, 2005; JULIETTE, 2016). Possui pico precoce, em torno de 3h pós- injúria e grande biodisponibilidade em estados inflamatórios (JULIETTE, 2016). Raros estudos têm avaliado o papel da IL-6 sob uma perspectiva de disfunção renal, porém, o alto nível deste biomarcador e a mortalidade de pacientes submetidos a diálise de baixa- eficiência sustentada (SLED) foi sugerida (MCGUIRE, 2014). Em pacientes cirróticos, a IL-6 foi um bom preditor de LRA e morte, apresentando moderada correlação (VILELA et al., 2018).

2.5 FISIOPATOLOGIA

2.5.1 O Papel dos Estudos Experimentais para as Evidências Científicas

As condições reais que causam a LRA relacionada ao veneno botrópico permanecem obscuras. Apesar de vários estudos com animais em culturas isoladas de rins e células apontarem para novas perspectivas para superar este problema, há uma falta de ensaios clínicos sobre LRA após acidentes ofídicos botrópicos. O efeito direto do veneno em células renais, o melhor entendimento do perfil farmacocinético e as respostas hemodinâmicas associadas ao veneno em modelos animais são importantes evidências científicas sobre a patogênese da LRA.

Os efeitos diretos do veneno botrópico - bruto ou de suas toxinas específicas - em modelos experimentais de perfusão renal isolada têm proporcionado maiores esclarecimentos sobre a patogênese da LRA (REZENDE et al., 1989; BURDMANN, ABDULKADER, 1993; EVANGELISTA et al., 2010; MORAIS et al., 2013; DANTAS et al., 2015; MARINHO et al., 2015; JORGE et al., 2017) (Tabela 3). A LRA pode variar de acordo com as diferenças na potência e composição do veneno (SCHENBERG, 1963; ESTEVAO-COSTA et al., 2016). As células renais submetidas ao veneno botrópico mimetizam as alterações no corpo humano. A concentração de veneno no líquido de perfusão foi estimada de acordo com a quantidade inoculada por serpentes *Bothrops* em uma pessoa com 60 quilos. A diminuição da resistência vascular renal é observada e pode ocorrer devido ao bloqueio dos canais de $[Na]^+$ e $[Ca]^{++}$ ou à abertura dos canais de $[K]^+$ (SITPRIJA, SITPRIJA, 2012). Geralmente, o fluxo de urina é reduzido de acordo com a taxa de filtração glomerular. Entretanto, a fração de excreção de $[Na]^+$ (FE_{Na}) aumenta, refletindo a diminuição da reabsorção tubular renal. No entanto, após o envenenamento botrópico, existem muitas substâncias endógenas produzidas *in vivo*, que podem levar a alterações vasculares renais e função renal anormal.

Tabela 3. Alterações hemodinâmicas renais em estudos experimentais com veneno botrópico.

Espécies	Toxina (bruto/composto)	RVR	GFR	V	FE _{Na}	FE _K	Referências
<i>Bothrops jararaca</i>	Bruto	* ▼	▼	▼	▼	***	(Rezende et al., 1989)
	Bruto	** ▲	▼	▼	▲	***	(Burdmann, Abdulkader, 1993)
	Bruto	▼	▼	▼	▲	***	(Fonteles et al., 1999)
	Bruto (Sul do Brasil)	—	▼	▼	▲	▲	(Jorge et al., 2017)
	Bruto (Sul do Brasil)	▼	▲	▲	▲	▲	
<i>Bothrops moojeni</i>	Bruto	▼	▲	▲	▲	▲	(Barbosa, Fonteles, 2002)
	Miotoxina I	▲	▲	▲	▲	▲	
<i>Bothrops erythromelas</i> *****	Bruto	▼	▼ / ▲	▲	▲	▲	(Martins, Havt, 2005)
<i>Bothrops marajoensis</i>	Bruto	▼	▼	▼	▼	—	(Evangelista et al., 2010)
	PLA2	—	—	—	▲	▲	
	L-aminoácido oxidase	▼	▼	▼	▲	—	(Dantas et al., 2015)
<i>Bothrops leucurus</i> *****	Bruto	▼	—	—	▲	—	(Morais et al., 2013)
<i>Bothropoides pauloensis</i>	Bruto	▼	▼	▼	▼	▲	(Marinho et al., 2015)

RVR: resistência vascular renal; TFG: taxa de filtração glomerular; V: fluxo urinário; FE_{Na}: excreção fracionada de [Na]⁺; FE_K: excreção fracionada de [K]⁺; FE_{Cl}: excreção fracionada de cloreto; (***) Não determinado; (****): a TFG diminuiu aos 60 min e aumentou aos 120 min; (-): não alterado; (*****): o efeito no fluxo urinário e TFG foi transitório e retornou ao normal aos 120min de perfusão venosa.

* ▼ Diminuir
** ▲ Aumenta

O perfil farmacocinético na exposição ao veneno botrópico em ratos revelou aspectos importantes na distribuição e na via de eliminação (ROCHA et al., 2008; MELLO, 2010). O veneno botrópico pode ser encontrado no tecido renal associado a dano morfológico e disfunção renal (MELLO, 2010). A presença do veneno de *B. alternatus* no tecido renal foi detectada 30 minutos após a inoculação do veneno, mas diminuiu progressivamente a partir de então, paralelamente às concentrações séricas do veneno (MELLO, 2010). A imunohistoquímica detectou presença de veneno em glomérulos, túbulos proximais, distais, tecido vascular e perivascular. O veneno apareceu na urina 3, 6 e 24 horas após a injeção. Oligúria ocorreu de 3 horas a 7 dias após o veneno (FONTELES, 1999; BARBOSA, FONTELES, 2002; MARTINS, HAVT, 2005) nas primeiras 3 horas e a proteinúria foi maior neste período. A depuração da creatinina diminuiu progressivamente até 24-48 horas após o veneno, depois voltou ao normal.

O veneno circulante apresentou cinética biexponencial, com ausência de veneno circulante após sete dias da exposição. Anormalidades de glicose, cetona, leucócitos e sangue oculto ocorreram principalmente durante as primeiras 6 horas pós-veneno (MELLO, 2010). Assim, o perfil cinético relatado para o veneno de *B. erythromelas* foi muito semelhante ao descrito para *B. alternatus* (ROCHA et al., 2008). Portanto, a localização celular do veneno e sua cinética no tecido renal concordaram com várias alterações renais morfológicas e funcionais induzidas pelo veneno, sugerindo uma estreita associação com dano renal (MELLO, 2010).

Além disso, alterações hemodinâmicas sistêmicas, como a diminuição da pressão arterial, ocorreram em muitos modelos animais após a perfusão com veneno botrópico (REZENDE et al.; 1989; EVANGELISTA et al., 2010). As alterações atribuídas à vasodilatação periférica, cardiotoxicidade e hipovolemia são comuns na mordedura de serpentes (SITPRIJA, SITPRIJA, 2012) e também contribuem para o desenvolvimento de LRA. O curso clínico assemelha-se ao observado na sepse, com diminuição da resistência vascular sistêmica, aumento do débito cardíaco e aumento da resistência vascular renal. A maior permeabilidade vascular pode contribuir para a hipovolemia (SITPRIJA, SITPRIJA, 2012). Além disso, os canais iônicos contribuem com enzimas e peptídeos botrópicos para os efeitos hemodinâmicos. Os canais iônicos são proteínas de membrana que formam poros que permitem o fluxo de íons de um lado da membrana para o outro por meio do gradiente eletroquímico (RESTREPO-ANGULO et al., 2010). Os canais iônicos mais relevantes no corpo humano são os de $[Na]^+$, cloreto, $[Ca]^{++}$ e $[K]^+$ (RESTREPO-ANGULO et al., 2010). A maioria das toxinas animais fecha os canais de $[Ca]^{++}$ e $[Na]^+$, levando à hipotensão (SITPRIJA, SITPRIJA, 2012).

Além disso, a identificação de novas toxinas botrópicas contribuiu para o entendimento da patogênese da lesão renal (IDE et al., 2004; GUERREIRO et al., 2009). O fator de crescimento endotelial vascular (VEGF- *vascular endothelial growth factor*) do pitviper *Bothrops erythromelas* pode promover hipotensão e distúrbios da permeabilidade vascular (IDE et al., 2004). Um decapeptídeo bioativo rico em prolina, parte do precursor do peptídeo natriurético tipo C de *Bothrops jararaca*, Bj-BPP-10c, apresentou um efeito anti-hipertensivo forte e sustentado em ratos hipertensos espontâneos, por um efeito farmacológico independente da inibição da enzima conversora de angiotensina. A ativação da argininosuccinato sintetase foi a principal proteína ligada ao peptídeo e levou a um aumento do óxido nítrico (GUERREIRO et al., 2009).

2.5.2 Vias Principais

As vias associadas ao desenvolvimento de LRA em envenenamentos botrópicos são baseadas em evidências científicas distribuídas de acordo com as principais manifestações clínicas da literatura. Proteinúria e hematúria são as manifestações renais clínicas mais comuns em acidentes ofídicos (SITPRIJA, 2006). Além disso, a resposta inflamatória sistêmica devido ao efeito sinérgico das toxinas no veneno botrópico, relatado anteriormente, leva ao aumento de citocinas e interleucinas, que podem interferir na nefrotoxicidade e na coagulopatia.

É importante ressaltar que os achados histológicos mais comuns na LRA relacionada à mordedura de serpentes são a necrose tubular cortical e raramente a glomerulopatia e a nefrite intersticial aguda (NIA) (OLUYOMBO, 2017). Milani *et al.* (MILANI JR et al., 1997) realizaram um estudo com 29 vítimas de mordeduras de *B. jararacussu* e relataram a presença de necrose tubular aguda com necrose cortical renal e glomerulonefrite difusa com proliferação mesangial em dois casos fatais. Em geral, a biópsia renal é indicada em acidentes ofídicos quando a insuficiência renal é maior que 14 a 21 dias, para definir o prognóstico e a melhor conduta no caso de NIA, por exemplo.

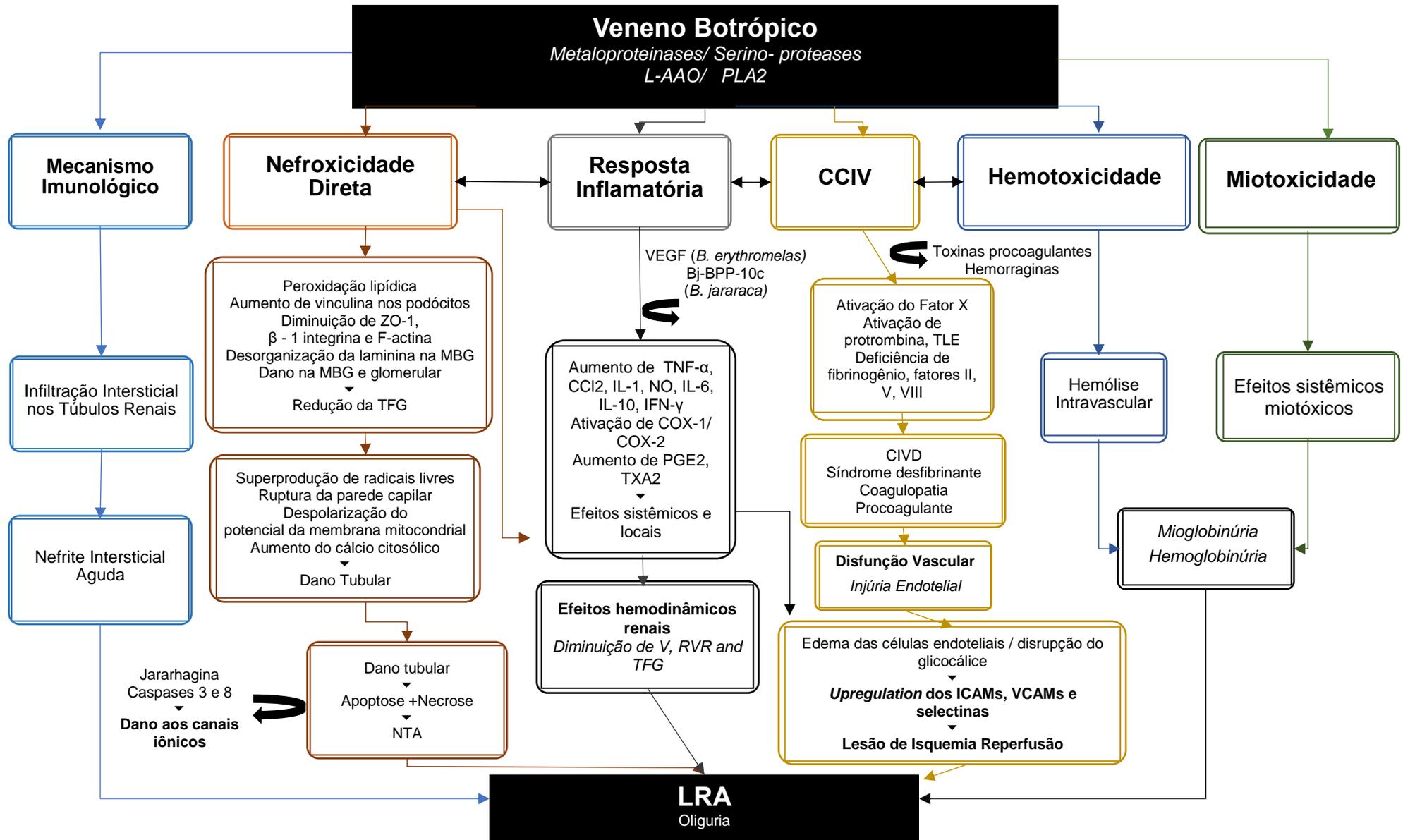


Figura 3. Representação esquemática da fisiopatologia da LRA relacionada ao veneno botrópico. *Fonte próprio autor

Os mecanismos da LRA induzida por veneno botrópico têm sido atribuídos a: (a) ação direta do veneno no rim e seus efeitos hemodinâmicos, (b) mioglobinúria, (c) hemoglobinúria, (d) depósito de microtrombos glomerulares devido a anormalidades da coagulação (SGRIGNOLLI et al., 2011) e mecanismos imunológicos em um papel menor (SITPRIJA, 2006). (Figura 3).

2.5.3 Nefrotoxicidade Direta

As evidências de nefrotoxicidade direta devido ao veneno botrópico provêm de estudos em modelos animais e cultura de células (EVANGELISTA et al., 2010; MORAIS et al., 2013; DANTAS et al., 2015; MARINHO et al., 2015; JORGE et al., 2017). As alterações hemodinâmicas nos rins relatadas na tabela 3 variaram de acordo com as espécies de serpentes, mas a maioria dos casos apresentou uma diminuição na resistência vascular renal (RVR), taxa de filtração glomerular (TFG) e fluxo urinário (V), e um aumento de excreção de Na e K (HAVT, 2001; BARBOSA, FONTELES, 2002; MARTINS, HAVT, 2005).

As alterações patológicas renais em pacientes com LRA causada por acidentes ofídicos incluem necrose tubular, necrose cortical, glomerulonefrite e vasculite, porém as células epiteliais tubulares são os principais alvos desses venenos (SITPRIJA, SITPRIJA, 2012). As alterações glomerulares parecem ser responsáveis pela proteinúria e podem contribuir para a nefrotoxicidade, demonstrada pela primeira vez em modelo animal após administração intravenosa de veneno de *B. moojeni* em ratos. A mesangiólise, a formação de microaneurismas e o dano do pedúnculo foram consequências das altas atividades proteolíticas e da PLA2 desse veneno (BOER-LIMA, 2002). A perda de eletrólitos $[Na]^+$, $[K]^+$ em modelos experimentais representa essa lesão tubular. Castro *et al.* (2004) relataram pela primeira vez a toxicidade direta do veneno de *B. jararaca* em túbulos renais proximais de ratos isolados. Este estudo demonstrou o efeito direto do veneno sobre os túbulos proximais independentemente do $[Ca]^{++}$ extracelular e parcialmente mediado pela peroxidação lipídica. A administração de terapia com soro antiofídico, simultânea ou até 15 minutos, preveniu ou retardou a toxicidade tubular.

Vários estudos têm confirmado o envolvimento dos componentes do veneno botrópico na apoptose (DANTAS et al., 2015; MARINHO et al., 2015; SOUSA et al., 2016; JORGE et al., 2017). Gutierrez *et al.* (2005) descreveram o papel das SVMs em serpentes viperas que degradam vários componentes na membrana basal, resultando na ruptura da parede capilar. Schattner *et al.* (2005) relataram a diminuição da viabilidade celular (células endoteliais da veia umbilical humana), de maneira dependente da concentração, e induziu a apoptose após exposição à jararagina, componente do veneno de *B. jararaca*. Morais *et al.* (2013) estudaram a morte celular induzida pelo veneno de *B. leucurus* por citometria de fluxo com anexina V e iodeto de propídio. Eles concluíram que a morte ocorreu predominantemente por necrose, mas pode envolver apoptose em concentrações mais baixas do veneno.

A despolarização do potencial de membrana mitocondrial e o aumento do $[Ca]^{++}$ citosólico de maneira concentrada também contribuíram para o efeito do veneno. Em 2014, Collares-Buzato e Cruz-Hofling (2014) realizaram um estudo em ratos enfocando mecanismos moleculares envolvidos nos distúrbios renais causados pelo veneno de *B. moojeni*. A relevância desta pesquisa é inquestionável para uma melhor compreensão da fisiopatologia renal. De acordo com este estudo, várias alterações da expressão e localização nativas de proteínas de adesão celular e proteínas associadas à matriz foram envolvidas na gênese da LRA. No corpúsculo renal, as diminuições no conteúdo glomerular de ZO-1 (*Zonula occludens-1*), a desorganização da estrutura de laminina da membrana basal glomerular e o aumento da expressão de vinculina em podócitos levaram ao comprometimento da barreira de filtração glomerular. Por outro lado, nos túbulos renais, eles relataram uma redução no nível de junção estreita de ZO-1 e no conteúdo de adesão focal da integrina beta 1, vinculina e F-actina associada à ruptura da estrutura de laminina da membrana basal (COLLARES-BUZATO, DA CRUZ-HOFLING, 2014). O desordenamento das moléculas de adesão celular glomerular e tubular é mais uma evidência do efeito direto do veneno botrópico nos rins. Portanto, as proteínas de adesão célula-célula e célula-matriz parecem ser alvos moleculares na lesão renal induzida por veneno de *B. moojeni* (COLLARES-BUZATO, DA CRUZ-HOFLING, 2014). Dantas et al. (2015) publicaram as alterações renais causadas pelo veneno botrópico em células MDCK. Os L-AAOs foram citotóxicos para as células MDCK e induziram apoptose tardia. Essas proteínas agiam, então, como um composto nefrotóxico. Da mesma forma, Marinho et al. (2015) realizaram uma pesquisa sobre o efeito do veneno de *B. pauloensis* em células isoladas de rim perfundido e MDCK. Eles detalharam a citotoxicidade do veneno em células epiteliais renais e apoptose, através da ativação de caspases 3 e 7, colapso do potencial de

membrana mitocondrial e superprodução de espécies reativas de oxigênio (EROs). Da mesma forma, De Sousa *et al.* (2016) descreveram a apoptose induzida pelo veneno de *B. erythromelas* em células MDCK com envolvimento das caspases 8 e 3, o que provavelmente ocorre pela via extrínseca. A apoptose exigiu apenas baixas doses de veneno, enquanto a necrose exigiu altas doses e a morte celular ocorreu até 24h após a exposição. Nesse sentido, Jorge *et al.* (2017) relataram a citotoxicidade do veneno de *B. jararaca* em células MDCK e diferentes perfis de morte celular, sendo o veneno de serpentes do sul do Brasil mais necrótico que o veneno do Sudeste.

Para identificar o efeito nefrotóxico direto do veneno da víbora de Sri Lankan Russell, Gunatilake *et al.* (2002) realizaram uma pesquisa em rins isolados perfundidos de coelho. Curiosamente, relataram uma diminuição do fator V, que foi maior nos animais com maior exposição ao veneno, com aumento da excreção de $[Na]^+$ e $[K]^+$. Além disso, demonstraram um aumento da concentração da enzima N-acetil- β -D glucosaminidase (NAG- *N-acetyl- β -D glucosaminidase enzyme*) urinária, sugerindo o dano à integridade das células tubulares renais. Por outro lado, ao exame histológico após 4 horas de injeção de veneno, havia núcleos picnóticos nos glomérulos, boa indicação para a destruição da estrutura glomerular após o envenenamento (GUNATILAKE *et al.*, 2002).

Portanto, várias evidências demonstram a toxicidade renal direta causada pelo veneno botrópico e até mesmo pelo veneno da víbora (GUNATILAKE *et al.*, 2002). Destaca-se que os modelos renais isolados em animais e as culturas celulares permitiram o estudo da nefrotoxicidade sem a interferência de fatores sistêmicos. Além disso, a participação de canais iônicos ($[K]^+$, cloreto e $[Ca]^{++}$) na apoptose merece atenção (RESTREPO-ANGULO *et al.*, 2010), uma vez que têm sido alvo de várias toxinas. A expressão e atividade da $Na^+ / K^+ - ATPase$ associada a alterações histológicas e funcionais do veneno de *B. alternatus* em ratos foram relatadas e pareciam atenuar a disfunção renal nas primeiras horas após o envenenamento (LINARDI, 2011). Essa bomba renal desempenha um papel fundamental no transporte ativo e mantém a homeostase dos eletrólitos intracelulares. Os achados de proteinúria, diminuição da TFG, aumento da FE_{Na} , aumento da FE_K e aumento significativo da expressão gênica da subunidade $\alpha 1$ da $Na^+ / K^+ - ATPase$ 6 horas e 24 horas após a injeção do veneno foram relatados. Adicionalmente, foram descritas alterações no citoesqueleto, disrupção da actina F na cápsula de Bowman e na borda em escova dos túbulos renais (LINARDI, 2011).

2.5.4 Mioglobínúria

A lesão muscular localizada causada pelo veneno botrópico poderia contribuir com a LRA. Apesar da ocorrência desta lesão muscular, ela não causa efeito miotóxico sistêmico, como ocorre com o veneno de *Crotalus*, e não induz aumento significativo da *creatina quinase* (CK) (PINHO et al., 2005; PINHO et al., 2008). Melo *et al.* (SUAREZ-KURTZ, 1988) relataram os efeitos do veneno de *B. jararacussu* nos músculos dos ratos e rãs, o que confirmou o grande aumento na atividade da CK plasmática após a injeção do veneno. O aumento na liberação das enzimas sarcoplasmáticas (CK e LDH) induzidas pelo veneno de *B. jararacussu* foi dependente do tempo e da dose. Moura-da-Silva *et al.* (MOURA-DA-SILVA, 1990) descreveram diferenças de proteínas miotóxicas entre venenos de espécies Botrópicas. A miotoxicidade induzida pelos venenos brutos de *B. jararacussu*, *B. moojeni*, *B. neuwiedi* e *B. pradoi* foi cinco a oito vezes maior do que a obtida com *B. alternatus*, *B. atrox*, *B. cotiara*, *B. erythromelas* e *B. jararaca*. No entanto, Burdmann *et al* (1993) realizaram um estudo em ratos expostos ao veneno de *B. jararaca* e mostraram que os níveis de CK não foram afetados, diferentemente dos níveis de LDH. Curiosamente, este experimento atribuiu o fator patogênico mais importante causando uma diminuição na TFG à isquemia relacionada à coagulação glomerular e hemólise intravascular. Apesar da ocorrência de rabdomiólise induzida pela PLA2 resultando em mioglobínúria, ela não é significativa em acidentes botrópicos, mas poderia contribuir para LRA com hemoglobínúria. Koscinczuk *et al.* (2007) realizaram um ensaio em ratos para elucidar alguns aspectos do dano renal induzido pelo veneno de *B. neuwiedi* causado pela mioglobina. As atividades de aspartato aminotransferase (AST) e (CK) aumentaram ($p < 0,05$) com picos de 24 e 6 horas, respectivamente. Além disso, a histopatologia revelou, após 3 horas de injeção do veneno, degeneração hidrópica nas células epiteliais dos túbulos proximais, com cilindros hialinos, dilatação no lúmen tubular e congestão renal. Esses fenômenos aumentaram após 6 horas, com a expressão mais grave em 24 horas (necrose tubular aguda). Este experimento relatou a presença precoce de mioglobina em túbulos, alça de Henle e ductos coletores associados à necrose tubular aguda induzida pelo veneno de *B. neuwiedi* (KOSCINCZUK et al., 2007).

2.5.5 Hemoglobinúria

O sinal clínico da hemoglobinúria é a hematúria macroscópica (presença maciça de hemácias na urina) e pode ser diferenciada da mioglobínúria. Um sobrenadante vermelho heme-positivo pode conter hemoglobina ou mioglobina, enquanto os eritrócitos são observados no sedimento na hematúria (MORENO et al., 2012). A hemólise intravascular é comum em acidentes ofídicos viperídicos e crotálicos. Portanto, a hemoglobinúria é comumente observada nesses acidentes ofídicos hemotóxicos (SITPRIJA, 2006). Existem poucos estudos sobre a síndrome nefrítica em acidentes botrópicos (SITPRIJA, 2006). A hematúria pode ser microscópica ou macroscópica e o prognóstico geralmente é favorável (OLUYOMBO, 2017).

Vários mecanismos podem ser responsáveis pela lesão tubular encontrada: obstrução mecânica pelas células vermelhas do sangue moldes, efeitos citotóxicos do estresse oxidativo induzido por hemoglobina, heme, ou o ferro libertado a partir de células vermelhas do sangue (MORENO et al., 2012) e o agravamento da vasoconstrição renal. Rezende et al. (1989) detectaram hematúria e hemoglobinúria em 24 e 48 horas após injeção intraperitoneal de veneno de *B. jararaca* em ratos. O exame histopatológico dos rins revelou glomérulos com discreta proliferação da matriz mesangial e alterações degenerativas dos túbulos, caracterizadas por perda da borda em escova e vacuolização citoplasmática, sem sinais de necrose das células tubulares. Essas lesões podem ter sido secundárias às alterações hemodinâmicas ou à hemoglobinúria apresentada (REZENDE et al., 1989). Hrovat et al. (2013) realizaram um estudo prospectivo sobre disfunção renal em cães envenenados por acidentes ofídicos citotóxicos (n = 11) e neurotóxicos (n = 8), evidenciando 80% de hematúria após 24h de envenenamento.

2.5.6 Coagulopatia de Consumo Induzida por Veneno (CCIV)

A produção de distúrbios de coagulação devido ao veneno botrópico é indubitável e leva a uma coagulopatia de consumo e incoagulabilidade sanguínea. Como detalhado acima, a ativação do fator X, da protrombina e a conversão do fibrinogênio em fibrina contribuem para esses distúrbios. Microangiopatia trombótica induzida por mordedura de serpente, caracterizada pela tríade LRA, trombocitopenia e anemia hemolítica microangiopática, poderia levar à necrose cortical renal (GN et al., 2017). A coagulopatia de consumo após o envenenamento por serpente inclui CIVD, síndrome de desfibrinação e coagulopatia pró-coagulante, e pode ser chamada de “coagulopatia de consumo induzida por veneno” (MADUWAGE, ISBISTER, 2014). As hemorragias, contidas em venenos de algumas serpentes como *Bothrops spp.* (GUTIERREZ et al., 2005; SCHATTNER et al., 2005; MOURA-DA-SILVA, BALDO, 2012; MADUWAGE, ISBISTER, 2014) pode causar essa coagulopatia. Moura-da-Silva e Baldo relataram a presença da jararagina, uma metaloproteinase isolada do veneno de *B. jararaca*.

Os alvos da jararagina são o endotélio vascular, plaquetas, fatores de coagulação e outros sistemas celulares, como células inflamatórias e seus mediadores (MOURA-DA-SILVA, BALDO, 2012). Torrez et al. (2014) relataram a associação entre LRA e trombocitopenia prolongada em um homem de 37 anos admitido após mordedura de serpentes causada por *Bothriopsis bilineata* na Amazônia brasileira. Este paciente manifestou oligúria, urina escura, incoagulabilidade e trombocitopenia. Os médicos o liberaram após 16 dias do hospital, com função renal normal. Mao Gn et al. (2017) relataram a ocorrência de microangiopatia trombótica e LRA em uma senhora de 60 anos internada após 48 horas após uma mordedura de serpente desconhecida. Destacaram-se nos achados renais na biópsia os trombos de fibrina nos glomérulos e arteríolas com necrose cortical, que progrediram para doença renal terminal. A necrose cortical renal na LRA é a destruição isquêmica irregular ou difusa de todos os elementos do córtex renal, resultando em perfusão arterial renal significativamente diminuída devido a espasmo vascular e lesão microvascular (PRAKASH, SINGH, 2015), como as lesões endoteliais causadas por venenos de serpente. Dois possíveis fatores patogênicos podem contribuir para a necrose cortical renal: hipoperfusão renal e lesão endotelial vascular, por um mecanismo direto ou indireto, via liberação de substâncias circulantes (por exemplo, na hemólise intravascular) (PRAKASH, SINGH, 2015). A formação de microtrombos no sangue e a migração de leucócitos através das células endoteliais para o compartimento intersticial

renal poderiam contribuir para a disfunção vascular. Essa disfunção é um fator precoce e proeminente na LRA, levando à lesão de isquemia/reperfusão (I/R), com consequente comprometimento do fluxo sanguíneo e sua regulação. Em lesão I / R, há edema das células endoteliais, ruptura do glicocálix e monocamada endotelial e aumento da expressão de moléculas de adesão (ICAMs, VCAMs e selectinas), resultando em interações leucócito-endotélio aumentadas com edema no compartimento intersticial (EDELSTEIN, 2018). Portanto, a CCIV é uma das mais importantes síndromes clínicas que ocorre com o envenenamento por serpentes (MADUWAGE, ISBISTER, 2014) e possui um amplo espectro de sintomas que podem incluir LRA.

2.5.7 Mecanismos Imunológicos

Os fenômenos imunológicos parecem contribuir para a LRA relacionada ao veneno de serpente em uma menor escala. Estudos patológicos renais em pacientes picados por víbora de Russel e víbora-verde apresentaram um amplo espectro de alterações glomerulares, incluindo glomerulonefrite induzida diretamente pelos venenos de serpentes *Viperidae*, com deposição de C3 e IgM no mesângio glomerular (BOONPUCKNAVIG, 1983). Embora a necrose tubular aguda pareça ser a alteração patológica renal mais comum na LRA induzida por toxinas animais (SOE et al., 1993; SITPRIJA, SITPRIJA, 2012), a nefrite intersticial aguda (NIA) tem sido observada em envenenamentos viperídicos (SITPRIJA, 1982; SITPRIJA, 2006; GUNDAPPA et al., 2009). O mecanismo da NIA em mordedura de serpente não é claro e parece ser secundário aos efeitos imunogênicos do veneno de serpente (PRIYAMVADA, 2016). Há uma infiltração intersticial difusa e intensa com células mononucleares desproporcionais à degeneração tubular (SITPRIJA, 2006), mas uma heterogeneidade significativa foi descrita na NIA (PRIYAMVADA, 2016). Não foram detectadas imunoglobulinas ou C3 no interstício após acidentes ofídicos (SITPRIJA, 1982). Insuficiência renal grave com evolução clínica prolongada é comum (SITPRIJA, 2006), com necessidade de hemodiálise na maioria dos casos (PRIYAMVADA, 2016). Curiosamente, esse curso clínico foi extraordinariamente prolongado quando comparado com a necrose tubular (SITPRIJA, 1982). Plaquetopenia e insuficiência

renal oligúrica são prevalentes, mas o sedimento urinário poderia não ter nada de notável, como a eosinofilúria (SITPRIJA, 1982; PRIYAMVADA, 2016).

Há poucos casos relatando a ocorrência de NIA (SITPRIJA, 1982; GUNDAPPA et al., 2009; GOLAY et al., 2012; PRIYAMVADA, 2016) e a maioria deles estava na serpente víbora de Russell. Sitprija *et al.* (1982) descreveram a ocorrência de LRA com oligúria prolongada em pacientes após a mordedura da víbora de Russel. A NIA foi assumida com biópsia renal, revelando nefrite intersticial, além de necrose tubular e proliferação mesangial. Nenhuma imunoglobulina ou C3 foram detectáveis neste caso. Gundappa *et al.* (2009) relataram um caso semelhante de LRA devido à NIA após uma mordedura de serpente venenosa. Eles descreveram uma LRA oligúrico com necessidade de hemodiálise. Curiosamente, o paciente apresentou recuperação completa da função renal sem instituição de corticóides. Golay et al (2012) relataram cinco casos de NIA após o envenenamento por víbora de Russell. Esses casos apresentavam LRA grave com necessidade de hemodiálise, quatro pacientes receberam corticóides e dois desenvolveram doença renal crônica, sendo que um deles tornou-se dependente de diálise. Biópsias renais mostraram inflamação intersticial extensa em todos os casos relatados. Priyamvada *et al.* (2016) realizaram uma pesquisa com o objetivo de detectar características clínicas e patológicas de pacientes que desenvolveram NIA após o envenenamento por mordedura de serpente. Oitenta e oito pacientes foram internados no período e sete biópsias foram realizadas. Havia cinco pacientes com NIA. Todos esses casos apresentaram plaquetas baixas, insuficiência renal oligúrica com necessidade de hemodiálise e receberam corticóides. Um paciente não respondeu ao tratamento com esteróides e permaneceu dependente de diálise ao final de três meses.

As serpentes botrópicas pertencem à *família Viperidae* e o papel dos mecanismos imunológicos que levam à LRA não pode ser descartado. Portanto, mais pesquisas sobre o assunto são necessárias.

2.6 MANEJO

2.6.1 Estratégias Farmacológicas e Não-Farmacológicas

O tratamento das vítimas de mordedura de serpentes deve começar o mais cedo possível, e a administração do soro antiofídico sempre deve ser considerada. O manejo desses pacientes depende da gravidade clínica e do diagnóstico por médicos bem treinados. Além da administração de soro antiofídico, o tratamento do envenenamento por mordedura de serpentes peçonhentas inclui estratégias não farmacológicas e farmacológicas. Considerando a alta chance de desenvolvimento de lesão renal após um acidente botrópico, o cuidado imediato deve incluir hidratação adequada, visando atingir um máximo efeito protetivo renal (SGRIGNOLLI et al., 2011).

A lesão renal aguda é assintomática até que o prejuízo da função renal extremo ocorra e, sem achados característicos, o diagnóstico tipicamente ocorre no contexto de outra doença aguda (BELLOMO et al., 2012). Para melhor detalhar o manejo da LRA, podemos dividir essas medidas em: abordagem inicial, medidas clássicas para LRA e medidas específicas (ALBUQUERQUE et al., 2013). Em primeiro lugar, é necessário corrigir a hipovolemia, administrar a profilaxia do tétano, considerar a administração de antibióticos e monitorar a lesão local (edema ou síndrome compartimental). Depois disso, é fundamental continuar a correção de fluidos com soluções isotônicas e monitorar o volume urinário, principalmente em casos graves (ALBUQUERQUE et al., 2013). No entanto, o tratamento mais importante para prevenir LRA no cenário de acidentes ofídicos continua sendo a aplicação precoce de soro antiofídico específico nas doses recomendadas (SGRIGNOLLI et al., 2011).

O soro antiofídico específico não é importante apenas para bloquear a coagulação e as complicações hemorrágicas, mas também para prevenir a lesão renal e interromper a progressão de um dano renal já instalado (CASTRO et al., 2004). Para desenvolver um modelo perfeito de soro antiofídico, são necessários alguns requisitos: uma produção de alta qualidade, expressa como geradora de níveis muito baixos de reações adversas; uma alta eficácia, em termos de sua capacidade de neutralizar o veneno; e deve ter baixo custo (SIMPSON, 2008). Essas condições

continuam sendo uma preocupação primordial nos países em desenvolvimento. Para o propósito de estabelecer a potência dos soros antiofídicos de referência, De Araujo et al. (2017) realizou uma pesquisa interlaboratorial no Brasil, onde o soro antibotrópico é uma formulação pentavalente contendo Fab'2 (*fragment antigen-binding*) IgG contra: *Bothrops jararaca* 50%, *B. jararacussu*, *B. alternatus*, *B. moojeni* e *B. neuwiedi*, 12,5% cada. O requisito de potência é que esta formulação contenha imunoglobulinas para neutralizar pelo menos 5,0 mg do veneno Botrópico por mililitro. De fato, os resultados mostraram o bom desempenho do ensaio de potência para o veneno e o soro em todos os laboratórios.

Particularmente, um grande problema nos países em desenvolvimento é a dificuldade da população pobre para acessar as unidades de saúde e a ocorrência de acidentes em áreas remotas, longe dos hospitais de referência, onde os soros antiofídicos estão disponíveis. Uma possível solução seria fornecer soros antiofídicos para as unidades de saúde localizadas nessas áreas e treinar a equipe de saúde que trabalha nessas áreas para conduzir o tratamento desses pacientes e administrar o soro.

2.6.2 Perspectivas Atuais e Futuras

Embora existam várias publicações para resolver as lacunas de conhecimento sobre a LRA relacionada à mordedura de *Bothrops*, algumas questões permanecem sem resposta. É possível melhorar o diagnóstico precoce da LRA nesses casos? Qual é o risco real de desenvolver doença renal crônica após uma LRA relacionada ao veneno botrópico? Existe algum outro tratamento complementar eficiente? Quais são os efeitos a longo prazo de um envenenamento botrópico?

Recentemente, há um grande interesse no uso de enzimas urinárias para o diagnóstico precoce de dano renal, os chamados novos biomarcadores de lesão renal. Até que esses biomarcadores surgissem, era mais difícil definir os mecanismos fisiopatológicos correspondentes à LRA clínica.

A LRA é um processo dinâmico de uma entidade clínica e os novos biomarcadores permitem uma nova estratificação dos pacientes. Uma combinação de marcadores funcionais e

de dano renal fornece simultaneamente este método (MURRAY et al., 2014). No entanto, não há estudo consistente até agora em envenenamentos botrópicos e apenas poucos estudos em acidentes com *Viperidae* (WIN AUNG, 1996, 1997, 1998).

A primeira pesquisa focada na NAG urinária como indicador de dano renal no envenenamento por mordedura de víbora de Russell foi em 1996 (WIN AUNG, 1996). Eles mediram a NAG urinário, uréia sérica, creatinina sérica, índice de albuminúria e clearance de creatinina em 23 pacientes mordidos por envenenamento sistêmico, em diferentes intervalos de tempo até cinco dias após a mordedura. Notavelmente, neste estudo retrospectivo, o NAG urinário anunciou o dano renal antes de outros indicadores da função renal e poderia sinalizar a ocorrência da oligúria e a necessidade de diálise peritoneal (WIN AUNG, 1996). Aung *et al.* (Win Aung, 1997) detectaram diferenças entre o NAG excretado na urina normal (forma A e B) e na urina patológica de pacientes com doença de Russell com lesão renal (forma I), melhorando o diagnóstico diferencial em acidentes por mordedura de serpentes. Em 1998, Aung et al. (1998) continuaram sua pesquisa em 16 pacientes mordidos por víbora de Russell e revelaram danos estruturais nos rins (medidos anteriormente através da NAG urinária, e do índice de albuminúria) em vítimas na ausência de coagulação intravascular disseminada. Eles sugeriram a existência de efeito tóxico direto do veneno de víbora de Russell nos rins. Por outro lado, neste estudo, o uso de NAG detectou o dano ao tecido renal em pacientes sem disfunção renal estabelecida.

Em 2002, Kubo et al. (2002) relataram a glomerulonefrite induzida por veneno de serpente de Habu *in vitro* mostrando um curso progressivo de proliferação mesangial. A serpente Habu é uma espécie de serpente da família *Viperidae* endêmica no Japão. Eles mostraram níveis de RNA mensageiro de MCP-1 aumentados nos córtices renais de glomerulonefrite induzida pelo veneno de serpente Habu, esclarecendo alguns efeitos diretos sobre as células mesangiais.

Moreira et al. (2013) descreveram o papel crucial do fator de diferenciação mieloide 88 (MyD88- *Myeloid differentiation primary response 88*), uma molécula adaptadora responsável por transmitir sinais intracelulares que leva à ativação de fatores de transcrição que induzem a síntese de mediadores inflamatórios, na resposta induzida pelo veneno de *Bothrops atrox*. Seus resultados em camundongos indicaram que a sinalização MyD88 foi necessária para que a resposta inflamatória desencadeada por este veneno (como eicosanóides, citocinas e quimiocinas) levantasse a possibilidade de novos alvos terapêuticos para o tratamento do envenenamento botrópico. Sartim et al. (2016) descreveram uma nova metaloproteinase pró-

coagulante PIIIId isolada do veneno de *B. moojeni*, a moojenactivase (*MooA*), que poderia ativar os fatores de coagulação (II e X) e induzir a regulação positiva do fator tecidual nos leucócitos. Eles também conduziram uma investigação de seu envolvimento *in vitro* e revelaram que a *MooA* pode contribuir para o desenvolvimento de novas ferramentas de diagnóstico e abordagens farmacológicas.

As mudanças no transporte de íons renais devido a toxinas animais levam a Nefrologia Tropical a uma outra perspectiva (SITPRIJA, SITPRIJA, 2016). A protease serínica, uma enzima de serpentes viperídeas, abre ENaC no ducto coletor cortical por clivagem das subunidades dos canais e aumenta a reabsorção de $[Na]^+$ (KLEYMAN et al., 2009). A PLA2 regula negativamente o NHE 3 (*sodium–hydrogen exchanger 3*) nos túbulos proximais, onde ocorre a maior reabsorção de Na na borda luminal em troca da secreção de $[H]^+$ (MEVES, 2008). Os peptídeos natriuréticos foram isolados de venenos de várias serpentes (SITPRIJA, SITPRIJA, 2016). Estes peptídios natriuréticos regulam positivamente os canais de $[K]^+$ de alta condutância dependentes de $[Ca]^{++}$ e aumentam a excreção urinária através de desfosforilação dependente de GMPc (guanosina mono-fosfato cíclico) (MIYASHITA, 2009). Embora as toxinas animais tenham muitos efeitos clínicos, o conhecimento atual é principalmente sobre células excitáveis com manifestação neuromuscular. Caso contrário, o distúrbio de eletrólitos séricos pode não ser aparente (SITPRIJA, SITPRIJA, 2016). Aye et al. (2017) identificaram algumas disfunções tubulares renais em pacientes após mordeduras por serpentes *Viperidae* em Mianmar. Eles destacaram na primeira vez a ocorrência de comprometimento da função tubular renal em pacientes com função renal normal. Há uma falta de relatos clínicos sobre as alterações dos íons renais no envenenamento botrópico.

A terapia específica para a mordedura de serpentes *Bothrops* é o soro produzido a partir de anticorpos de cavalo, mas precisa melhorar, considerando a quantidade de espécies *Bothropic* e sua variabilidade. No entanto, na verdade, as evidências da eficácia do soro antibotrópico são altas, mesmo com apenas cinco espécies de serpentes em sua composição. Novas abordagens têm sido desenvolvidas para melhorar a qualidade do soro, como a utilização de imunização com DNA (*Desoxyribonucleic acid*) ou as toxinas relevantes purificadas como antígenos em vez de todo o veneno ou a busca de outras espécies animais para produzir soro antiofídico – camelos ou galinhas (CRUZ, VARGAS, LOPES, 2009).

Alguns estudos avaliaram os efeitos neutralizantes do extrato de *Schizolobium parahyba* contra algumas atividades enzimáticas e biológicas dos venenos botrópicos (VALE, 2008; MENDES et al., 2008; MARTINES et al., 2014). Esta planta é nativa da floresta

brasileira. Mendes et al. (2008) descreveram uma inibição significativa das atividades da PLA2, coagulante, fibrinogolítica, hemorrágica e miotóxica do veneno de *Bothrops pauloensis* e *Crotalus durissus* em camundongos por *Schizolobium parahyba*. Eles relataram a redução na diminuição do número de plaquetas e concentração plasmática de fibrinogênio durante ensaios *in vivo*. Da mesma forma, Vale et al. (2008) relataram a eficácia da mesma planta em neutralizar o efeito tóxico do veneno de *B. alternatus* e *B. moojeni*. Eles reduziram a letalidade nos ratos estudados a zero e as atividades hemolíticas, hemorrágicas e de coagulação também foram atenuadas. Por outro lado, Martines et al (2014) realizaram um estudo para avaliar os efeitos da *Schizolobium parahyba* em modelo experimental em ratos com LRA induzida por veneno de *Bothrops jararaca* (BV - *Bothrops jararaca venom*). Eles relataram que esta planta não impediu a LRA induzida pela BV, a hemólise e o consumo de fibrinogênio, causando uma diminuição na TFG se usada isoladamente. Barone et al. (2011) descreveram os efeitos benéficos da sinvastatina e do ácido lipóico sobre os parâmetros afetados pelo veneno de *B. jararaca* em camundongos, especialmente no hematócrito, creatinina sérica, uréia sérica e *status redox* renal.

Por outro lado, Patrao-Neto et al. (2013) relataram o efeito da dexametasona em camundongos expostos a *B. jararaca* e *B. jararacussu*. A dexametasona foi eficaz contra o dano muscular demonstrado neste estudo, como diminuição do conteúdo de CK muscular, bem como extensa invasão de leucócitos, atividade de mieloperoxidase e degeneração das miofibras. No entanto, não alterou a atividade da CK plasmática. Barone et al. (2014) apontaram os benefícios dos efeitos da N-acetil-l-cisteína no *status redox* e nos marcadores de função renal em camundongos expostos aos venenos de *Bothrops jararaca* e *Crotalus durissus terrificus*. Atualmente, alguns pesquisadores realizaram um estudo para avaliar a neutralização do veneno de *B. erythromelas* pelo soro de *Didelphis marsupialis*. Concluíram que o fator anti-Bothropic de *D. marsupialis* foi capaz de inibir os efeitos induzidos por esse veneno no rim isolado em ratos Wistar (MARTINS, HAVT, 2005). Gois et al. (2017) relataram o benefício do alopurinol em atenuar a LRA após envenenamento por *B. jararaca*. O alopurinol atenuou a LRA, reduziu o estresse oxidativo, melhorou a hemodinâmica renal e a perfusão de órgãos em ratos neste estudo. Foi a primeira demonstração de alopurinol como tratamento e prevenção da LRA associada a veneno de *B. jararaca*. Portanto, esses estudos poderiam sugerir alguns agentes como potenciais coadjuvantes ao soro antiofídico para acidentes botrópicos no futuro.

Objetivos

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Investigar novos biomarcadores de lesão renal aguda em envenenamento humano por serpentes do gênero *Bothrops*.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Descrever as características epidemiológicas e laboratoriais que distinguem o envenenamento por serpentes *Bothrops* de acordo com o comprometimento das funções renais.
2. Descrever os mecanismos de toxicidade do veneno botrópico.
3. Investigar possíveis associações entre os novos biomarcadores e disfunções tubulares e glomerulares.
4. Avaliar outras alterações clínicas (por ex. coagulopatia) e possível associação com lesão renal aguda.

Metodologia

4 METODOLOGIA

4.1 TIPO DE ESTUDO

Trata-se de um estudo prospectivo, unicêntrico, no qual foram analisados uma amostra de pacientes (n = 58) admitidos em um serviço de emergência devido à mordedura de serpentes do gênero *Bothrops*.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade de Fortaleza (CAAE: 41664214.5.0000.5052) e todos os participantes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido antes da inclusão no estudo. Todos os experimentos realizados neste estudo estão de acordo com a Declaração de Helsinque e as Diretrizes Brasileiras para estudo com seres humanos (resolução 466/2012).

4.2 LOCAL DO ESTUDO

O estudo foi realizado no Instituto Dr. Jose Frota, um hospital de emergência de referência e maior centro toxicológico das regiões Norte e Nordeste do Brasil, localizado em um grande centro urbano em Fortaleza, Ceará. Fortaleza é a quinta maior cidade do Brasil com aproximadamente 2,6 milhões de habitantes (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATISTICA, 2019). O período de recrutamento e coleta de amostras dos pacientes foram de Janeiro de 2015 a Dezembro de 2016.

4.3 DEFINIÇÃO DA POPULAÇÃO DO ESTUDO

4.3.1 Critérios de Inclusão

Os critérios de inclusão foram: idade dos pacientes entre 10 a 65 anos e acidente confirmado causado por serpentes do gênero *Bothrops*. O diagnóstico de envenenamento botrópico baseou-se em informações epidemiológicas, clínicas e laboratoriais. Alguns pacientes trouxeram serpentes que pertenciam à espécie *Bothrops erythromelas*.

4.3.2 Critério de exclusão

Os critérios de exclusão para a coorte foram: gravidez confirmada, presença de doença renal crônica, diabetes mellitus, hipertensão e uso de diuréticos.

4.4 MÉTODOS

Dados demográficos e clínicos foram coletados na admissão e durante a internação hospitalar através das fichas de notificação do SINAN (anexos). Os pacientes que preencheram os critérios de inclusão, fornecendo consentimento informado e com coleta de ≥ 2 amostras de sangue foram recrutados conforme descrito na figura 12. Os novos biomarcadores renais - uMCP-1, uNGAL, uKIM-1, sIL-6, sVCAM-1 e sNGAL- foram medidos apenas na admissão hospitalar devido a limitações de financiamento. Um grupo controle saudável, com ausência de qualquer comorbidade, condições patológicas ou uso de medicamentos, no momento da coleta, foi pareado de acordo com idade e sexo.

4.4.1- Coleta de amostras e exames laboratoriais

Amostras de urina e sangue foram coletadas na admissão hospitalar e um subgrupo foi enviado para o Laboratório de Pesquisa de Doenças Renais e Tropicais, da Universidade Federal do Ceará, Brasil, para a dosagem dos novos biomarcadores. Amostras sequenciais de creatinina sérica (sCr), tempo de protrombina (TP) e tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPa) foram coletadas até a alta. Valores de sCr foram representados graficamente. Todos os espécimes foram armazenados a -80°C até as análises serem realizadas (Figura 4).

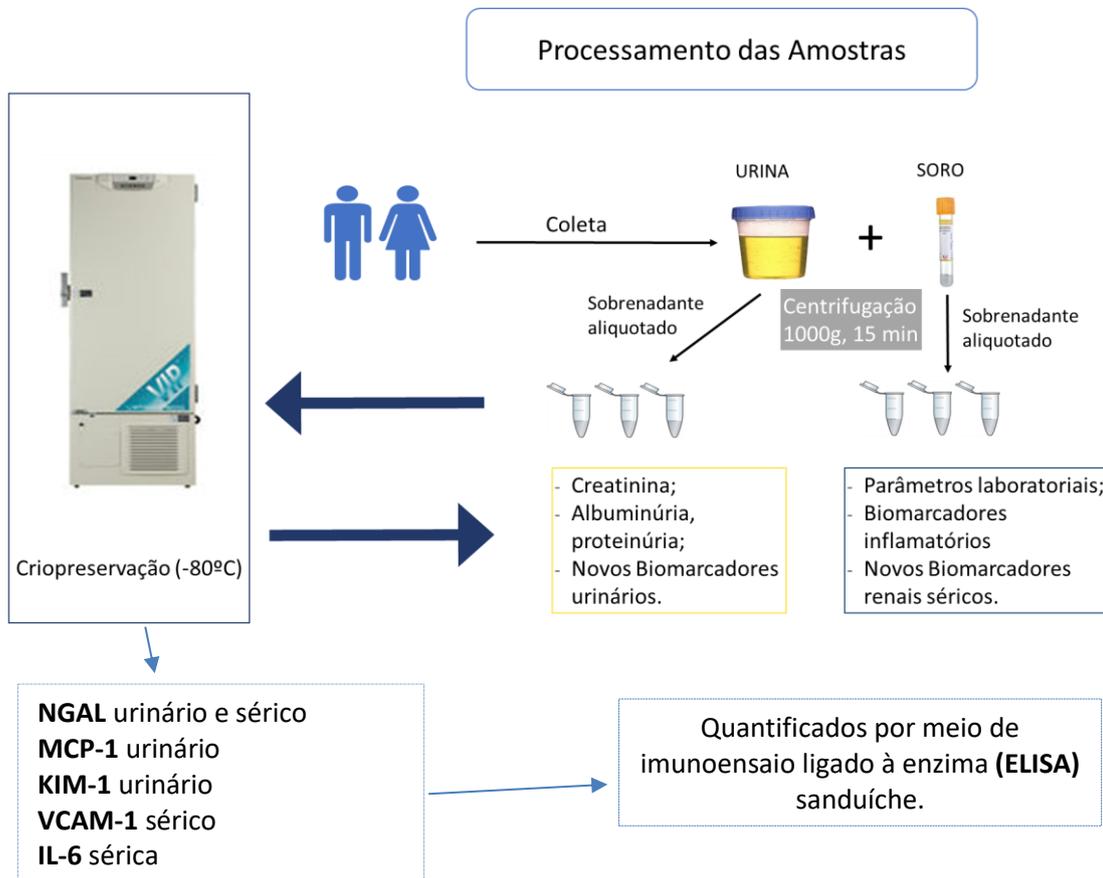


Figura 4. Coleta e processamento de amostras para estudo dos biomarcadores.

4.4.1- Coleta de amostras e exames laboratoriais

Amostras de urina e sangue foram coletadas na admissão hospitalar e um subgrupo foi enviado para o Laboratório de Pesquisa de Doenças Renais e Tropicais, da Universidade Federal do Ceará, Brasil, para a dosagem dos novos biomarcadores. Amostras sequenciais de creatinina sérica (sCr), tempo de protrombina (TP) e tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPa) foram coletadas até a alta. Valores de sCr foram representados graficamente.

O $[Na]^+$ e o $[K]^+$ séricos foram determinados em um analisador de eletrólito seletivo de íons (9180, Electrolyte Analyzer, Roche®) e os resultados foram expressos em mEq / L. A taxa de filtração glomerular (TFG) foi estimada utilizando a fórmula CKD-EPI (LEVEY et al., 2009) para adultos e a fórmula de Schwartz para <16 anos (Figuras 5 e 6) (STAPLES et al., 2010).

$$141 \times \min(Cr/\kappa, 1)^\alpha \times \max(Cr/\kappa, 1)^{-1.209} \times 0,993^{Idade}$$

$$\times 1,018 \text{ [se mulher]} \times 1,159 \text{ [se negro]}$$

Cr: creatinina sérica
 κ : 0,7 para mulheres e 0,9 para homens
 α : é 0,329 para mulheres e 0,411 para homens
 min: indica o mínimo de Cr/ κ ou 1
 max: indica o máximo de Cr / κ ou 1

(LEVEY *et al.*, 2009).

Figura 5. Fórmula CKD-EPI, estimativa da taxa de filtração glomerular em adultos.

$$0,55 \times \text{altura} / Cr$$

Altura da criança em centímetros
 Creatinina sérica, Cr em mg/dL

(STAPLES *et al.*, 2010)

Figura 6. Fórmula de Schwartz, estimativa da taxa de filtração glomerular em crianças.

O tempo de protrombina (TP) e o tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPa) foram medidos em plasma citratado em 3,8%. Todas as amostras foram realizadas num

analisador automatizado de coagulação sanguínea Sysmex CA-1500 (Sysmex Corporation, Chuo-Ku, Kobe, Japão) com métodos coagulométricos ou imunoturbimétricos padronizados de acordo com os protocolos do fabricante.

A creatinina urinária foi medida em um analisador Cobas C111 (Roche®). A excreção total de proteína na urina foi quantificada pelo método colorimétrico do pirogalol vermelho (Labtest®). A razão proteína total urinária por creatinina urinária foi calculada, resultando na relação proteína / creatinina, expressa em mg / gCr.

Lesão Renal Aguda foi definida e categorizada baseada nos critérios do *Kidney Disease Improving Global Outcome* (KDIGO) (KELLUM et al., 2012). O estágio 1 da LRA foi definido como um aumento na Cr $\geq 0,3$ mg / dl e aumento de 1,5 a 1,9 vezes em relação a creatinina basal. O estágio 2 da LRA foi definido como um aumento de 2,0 a 2,9 vezes e o estágio 3 da LRA, como um aumento de 3 vezes em relação a creatinina basal (Tabela 4). Os critérios do KDIGO requerem uma creatinina basal medida 3 meses antes da lesão, mas esta variável não estava disponível no estudo. A creatinina basal foi o menor nível de creatinina sérica medido durante a internação hospitalar.

Tabela 4. Classificação da Lesão Renal Aguda segundo os critérios da KDIGO, 2012.

Estágio	Creatinina Sérica	Débito Urinário
1	Aumento de 1.5 - 1.9 vezes a Cr de base OU ≥ 0.3 mg/dl ($\geq 26.5\mu\text{mol/L}$) dentro de 48h	< 0.5 ml/kg/h por 6 – 12h
2	Aumento de 2.0 - 2.9 vezes a Cr de base	< 0.5 ml/kg/h por ≥ 12 h
3	Aumento de 3.0 vezes a Cr de base OU aumento ≥ 4.0 mg/dl ($\geq 353.6 \mu\text{mol/L}$) OU início de terapia dialítica OU, em pacientes < 18 anos, queda da taxa de filtração glomerular $< 35\text{ml/min}/1.73\text{m}^2$	< 0.3 ml/kg/h por ≥ 24 h ou anúria por ≥ 12 h

Fonte: Diretrizes da lesão renal aguda da KDIGO, em KELLUM et al, 2012

Os níveis de biomarcadores renais foram dosados utilizando kits de *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) (R & D Systems, Minneapolis, MN, EUA). No total, os níveis de NGAL urinário e sérico (DY1757-Duoset, R & D Systems) e MCP-1 urinário (DY279-Duoset, R & D Systems) foram todos realizados em duplicata. Para controlar as diferenças na concentração urinária, os biomarcadores urinários foram expressos de acordo com o conteúdo

de creatinina urinária e expressos em "mgCr". Os testes foram o ELISA sanduíche. Resumidamente, placas de ensaio de 96 poços (Placas UltraCruz® ELISA) foram revestidas para a captura específica de anticorpos anti-biomarcadores humanos, seguido pela ligação por biomarcadores humanos após adicionar amostras humanas diluídas, ligação de anticorpos de detecção biotinilados com epítomos de biomarcadores humanos que estavam fixados pelos anticorpos de captura, conjugação da estreptavidina-peroxidase de rábano com a biotina dos anticorpos biotinilados previamente fixados e quantificação dos conjugados fixados anticorpo-biotina-estreptavidina-enzima pela monitorização da atividade da peroxidase de rábano na presença do substrato 3,30,5,50-tetrametilbenzidina (substrato TMB ELISA (alta sensibilidade), Abcam, Cat. No ab171523, Cambridge, MA). Finalmente, a atividade enzimática foi medida por espectrofotometria a 450 nm, com correção de comprimento de onda de 570 nm. O aumento da absorbância foi diretamente proporcional à concentração do biomarcador analisado na amostra. As fórmulas que inferem as funções tubulares e cálculo de osmolaridade séricas e urinárias, bem como o déficit de concentração foram as tradicionalmente empregadas em livros- textos da Nefrologia (Figuras 7, 8, 9, 10 e 11) (SCHRIER, 2018). A urina foi coletada na admissão em uma amostra aleatória antes de qualquer tratamento farmacológico

$$\frac{[\text{Na}]_{\text{urinário}} (\text{mEq/L}) \times [\text{Na}]_{\text{sérico}} (\text{mEq/L})}{[\text{Creatinina}]_{\text{urinária}} (\text{mg/dL}) \times [\text{Creatinina}]_{\text{sérica}} (\text{mg/dL})} \times 100$$

Substituir sódio (Na) por potássio (K) ou uréia (Ur)
para as demais frações de excreção

(SCHRIER, 2018)

Figura 7. Fração de excreção de eletrólitos (íons sódio de potássio) e uréia.

$$[(\text{[Na]}_{\text{sérico}} (\text{mEq/L}) + 10) \times 2] + (\text{[Glicose]}_{\text{sérica}} (\text{mg/dL}) \times 0,055) + (\text{[Ur]}_{\text{sérica}} (\text{mg/dL}) \times 0,166651)$$

(SCHRIER, 2018)

Figura 8. Cálculo da Osmolalidade da urina (U_{osm}) ($\text{mOsm} / \text{kgH}_2\text{O}$).

$$\begin{aligned}
 & ([\text{Na}]_{\text{urinário}} \text{ mEq/L} + [\text{K}]_{\text{urinário}} \text{ mEq/L} \times 2) + \\
 & ([\text{Ur}]_{\text{urinária}} \text{ mg/dL} \times 0,16651) + \\
 & ([\text{Glicose}]_{\text{urinária}} \text{ (mg/dL)} \times 0,055) \\
 & \text{(SCHRIER, 2018)}
 \end{aligned}$$

Figura 9. Cálculo da Osmolalidade plasmática (Posm) (mOsm / kgH₂O).

$$\begin{aligned}
 & (\text{Uosm})_{\text{(mOsm / kgH}_2\text{O)}} / (\text{Posm})_{\text{(mOsm / kgH}_2\text{O)}} < 2,8 \\
 & \text{(OLIVEIRA et al., 2011)}
 \end{aligned}$$

Figura 10. Cálculo do Déficit de concentração urinária.

$$\begin{aligned}
 & [\text{K}]_{\text{urinário}} \text{ (mEq/L)} / [\text{K}]_{\text{sérico}} \text{ (mEq/L)} \times (\text{Posm})_{\text{(mOsm / kgH}_2\text{O)}} / (\text{Uosm})_{\text{(mOsm / kgH}_2\text{O)}} \\
 & \text{(SCHRIER et al., 2018)}
 \end{aligned}$$

Figura 11. Gradiente de Concentração do íon potássio [K]⁺ transtubular (TTKG).

4.4.2 - Protocolo de tratamento

Os pacientes foram classificados de acordo com a gravidade do acidente ofídico utilizando os critérios do Ministério da Saúde do Brasil (Tabela 5) (MINISTERIO DA SAÚDE DO BRASIL, 2005), baseados em manifestações clínicas locais e sistêmicas estabelecidas em tabela específica para envenenamento por *Bothrops*.

Tabela 5- Acidente botrópico: classificação quanto à gravidade e soroterapia recomendada.

<i>Manifestações e Tratamento</i>	<i>Classificação</i>		
	Leve	Moderada	Grave
LOCAIS – Dor/Edema/Equimose	Ausentes ou discretas	Evidentes	Intensas**
SISTÊMICAS – Hemorragia Grave/Choque/ Lesão renal aguda	Ausentes	Ausentes	Presentes
Tempo de Coagulação (TC*)	Normal ou Alterado	Normal ou Alterado	Normal ou Alterado
Soroterapia (nº ampolas) SAB/SABC/SABL***	2-4	4-8	12
Via de administração	Intravenosa		

* TC normal: até 10 min; TC prolongado: de 10 a 30 min; TC incoagulável: > 30 min.

** Manifestações locais intensas podem ser o único critério para classificação de gravidade.

***SAB = Soro-antibotrópico/SABC = Soro antibotrópico-crotálico/SABL = Soro antibotrópico-laquéutico

A divisão do membro afetado em segmentos auxilia a classificação do envenenamento ofídico, sendo leve se 1 segmento é afetado, moderado se 2 e grave se todo o membro é afetado. A classificação do acidente é realizada no momento da admissão hospitalar, independente do tempo decorrido após a mordedura.

Fonte: Adaptado do Guia de Vigilância Epidemiológica, Ministério da Saúde do Brasil, 2005.

4.4.3 - Análise Estatística

As características epidemiológicas, clínicas e laboratoriais foram comparadas entre os pacientes que desenvolveram LRA e os que não desenvolveram LRA. Concentrações de biomarcadores na internação hospitalar foram comparadas com controles saudáveis.

A normalidade das variáveis foi avaliada pelo teste de Shapiro-Wilk. Variáveis contínuas com distribuições normais foram resumidas usando médias e desvios-padrão e as diferenças entre os dois grupos foram avaliadas usando testes-t. Variáveis contínuas com distribuição não normal foram resumidas utilizando medianas, valores máximos e mínimos e as diferenças entre os dois grupos foram avaliadas pelos testes de Kruskal-Wallis e Wilcoxon rank sum. Variáveis categóricas foram analisadas pelo teste do qui-quadrado e teste exato de Fisher. O nível de significância foi considerado $P < 0,05$ com intervalos de confiança de 95%.

A coagulação foi avaliada através dos exames de TP e TTPa. Os resultados incoaguláveis e anormais foram analisados como variáveis categóricas em comparação com testes normais separadamente (testes normais vs anorma vs incoagulável) e com resultados anormais (testes normais vs anormal/incoagulável).

Coefficientes de correlação de Spearman foram utilizados para estimar a correlação entre biomarcadores e funções renais. Curvas ROC foram utilizadas para avaliar o desempenho diagnóstico dos biomarcadores na admissão. As análises foram realizadas usando o *GraphPad Prism* versão 7 (*Graph Pad Software, San Diego, CA*) e *SAS / Stat* versão 13.2 do sistema SAS (versão 9.4) para Windows.

4.4.4 - Doutorado Sanduíche no Exterior

Este projeto de pesquisa foi contemplado pelo Programa de Doutorado Sanduíche no Exterior da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) do Governo Federal, que possibilitou a parceria de pesquisa entre a Universidade Federal do Ceará,

Instituto Doutor José Frota e Universidade de Sidney, Austrália, no período de Outubro de 2017 a Setembro de 2018. A aluna Polianna Lemos Moura Moreira Albuquerque, sob supervisão do Professor Nicholas Buckley, pertencente ao Grupo de Estudo em Toxicologia Translacional Australiano, ligado ao Departamento de Farmacologia da Faculdade de Medicina, participou de atividades acadêmicas e reuniões com pesquisadores com atuação em diversas áreas da toxicologia da própria Universidade de Sidney ou de outras instituições de ensino de relevância da Austrália. A contribuição do grupo de pesquisa Australiano foi fundamental para análise estatística, discussão e aperfeiçoamento dos gráficos e figuras deste trabalho. Novas metodologias foram propostas para pesquisas posteriores, bem como consolidação da parceria entre Brasil e Austrália.

Resultados

5 RESULTADOS

Do total de 58 pacientes incluídos no estudo, 20 (29,8%) desenvolveram LRA, com diferentes graus de gravidade, segundo os critérios do KDIGO (Figura 12).

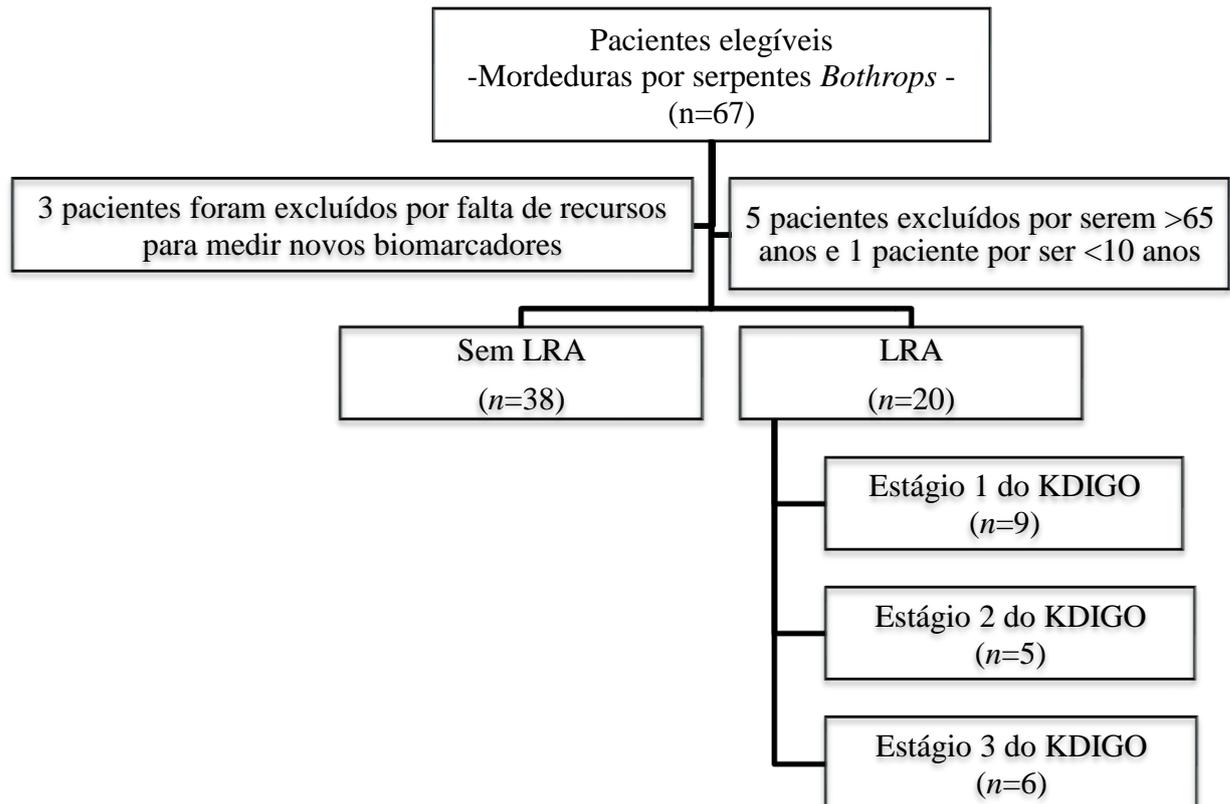


Figura 12. Fluxograma de recrutamento dos pacientes.

5.1 CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS E CLÍNICAS

As variáveis demográficas e clínicas que comparam pacientes com LRA e não-LRA são apresentadas na tabela 6. Idade, sexo, tempo decorrido entre a mordedura de serpente e o tratamento, o número total de frascos de soro antiofídico administrados e a área de origem foram similares nos grupos com LRA e não-LRA. No entanto, a permanência hospitalar foi significativamente maior no grupo LRA ($p = 0,003$). Sintomas hemorrágicos graves e hipotensão não foram relatados neste estudo. Apenas um paciente necessitou de hemodiálise. Testes de sensibilidade cutânea ou conjuntival não foram realizados. Anti-histamínicos e corticoides foram usados em todos os casos antes da administração do soro antiofídico. A recuperação total do estado de coagulação do sangue (testes TP e TTPa) até 24 horas após o início do soro antiofídico foi considerada como critério de dose eficiente. Caso contrário, uma dose adicional de soro antiofídico (3-6 frascos) foi administrada.

Tabela 6. Características demográficas e clínicas dos pacientes admitidos após envenenamento botrópico de acordo com desenvolvimento de LRA.

Característica	Sem LRA (n=38)	LRA (n=20)	P
Idade (anos)	39 (12–64)	42,5 (10–65)	0,39 ^a
Tempo entre exposição e atendimento médico (horas)	8 (0,5–72)	6,5 (1–144)	0,85 ^a
Tempo entre exposição e aplicação do soro antiofídico (horas)	10,5 (1–76,2)	9 (4–157)	0,64 ^a
Tempo de hospitalização (dias)	2 (0–5)	3 (1–15)	0,003 ^a
Dose de soro antiofídico (número ampolas -n)	6 (2–12)	4,5 (3–12)	0,39 ^a
Áreas rurais n (%)	38 (92,7)	21 (95,5)	1,00 ^b
Gênero masculino n (%)	28 (68,3)	10 (45,5)	0,07 ^c

^a Pontuações de Wilcoxon. Não-normalidade de acordo com o teste de normalidade Shapiro-Wilk. Variáveis expressas em valores medianos, mínimos e máximos.

^b Teste Exato de Fisher.

^c Teste Qui-Quadrado.

5.2 PARÂMETROS LABORATORIAIS

O grupo que apresentou LRA mostrou níveis mais baixos de média de hemoglobina (mediana 12,28 vs 13,4 g / dl, $p = 0,03$) e de hematócrito (mediana 35,1 vs 38,55%, $p = 0,019$). Os nadir de hemoglobina e hematócrito (valores mais baixos) durante a internação foram significativamente menores no grupo LRA (Tabela 6). Outros exames laboratoriais, incluindo leucócitos, contagem de plaquetas, creatina quinase sérica, glicose, albumina e $[K]^+$ foram similares nos grupos LRA e Sem LRA (Tabela 7). O nadir de $[Na]^+$ sérico foi menor no grupo LRA (mediana 139 vs 142mEq / L; $p = 0,02$) (Tabela 7).

Tabela 7. Parâmetros laboratoriais gerais de pacientes admitidos após envenenamento por *Bothrops* de acordo com o desenvolvimento de LRA.

Variáveis	Sem LRA (n=38)	LRA (n=20)	P
Hemoglobina média (g/dl)	13,4 (8,9-15,4)	12,2 (7,27- 14,5)	0,03 ^a
Menor hemoglobina (g/dl)	12,7 (8-15,4)	11,7 (6- 13,5)	0,008 ^a
Hematócrito médio (%)	38,5 (25,9-44,3)	35,1 (22,07- 41,3)	0,019 ^a
Menor hematócrito (%)	37,1 (23,4-44,3)	33,2 (17,4- 38,8)	0,005 ^a
Leucócitos na admissão (por mm ³)	11,0 (5,1-21,4)	11,7 (5,8- 21,8)	0,37 ^a
Média de Leucócitos (por mm ³)	10,6 (SD: 2789)	10,6 (SD: 2529)	0,99 ^b
Menor contagem de plaquetas (por mm ³)	177.075 (SD: 57.756)	162.300 (SD: 93.400)	0,51 ^b
Plaquetas na admissão (por mm ³)	194.225 (SD: 63.305)	187.700 (SD: 102.000)	0,79 ^b
Menor $[Na]^+$ sérico (mEq/L)	142 (136- 150)	139 (126- 147)	0,02 ^a
$[Na]^+$ sérico médio (mEq/L)	143,1 (SD: 3,9)	141,3 (SD: 4,0)	0,09 ^b
Menor $[K]^+$ sérico (mEq/L)	3,7 (SD: 0,3)	3,7 (SD: 0,2)	0,89 ^b
$[K]^+$ sérico médio (mEq/L)	3,8 (SD: 0,3)	4,0 (SD: 0,3)	0,07 ^b
$[K]^+$ sérico na admissão (mEq/L)	3,9 (3,34-4,7)	4,0 (3,37- 5,9)	0,11 ^a
Creatina quinase média(U/L)	300,5 (47-927)	240,2 (49,1- 1854)	0,43 ^a
Glicose sérica média (mg/dl)	99 (54-172)	100 (85- 213)	0,59 ^a
Albumina sérica média (mg/dl)	4,1 (SD: 0.4)	4,2 (SD: 0,5)	0,29 ^b

Valores de Referência: Hemoglobina 11,5-18 g / dl; Hematócrito 36 a 54%; Plaquetas 150.000 a 450.000 mm³; leucócitos 3.600-10.000mm³; Creatinina 0,6-1,3mg / dl; Uréia 13-43mg / dl; $[Na]^+$ 135-146mmol / L; $[K]^+$ 3,5–5,3mEq / L; Creatina Quinase <195U / L.

^a Pontuações de Wilcoxon. Não-normalidade de acordo com o teste de normalidade Shapiro-Wilk. Variáveis expressas em valores medianos, mínimos e máximos. ^bTeste t de Student. Normalidade de acordo com o teste de normalidade Shapiro-Wilk. Variáveis expressas em média e desvio padrão.

Tabela 8. Parâmetros renais de pacientes admitidos após envenenamento por *Bothrops* de acordo com o desenvolvimento de LRA.

Variáveis	Sem LRA (n=38)	LRA (n=20)	P
Parâmetros Renais			
eTFG admissão (ml/min por 1.73m ²)	99,31 (SD: 3,9)	56,45 (SD: 6,9)	<0,0001 ^b
Linha de base de creatinina (mg/dl)	0,8 (0,3-1,5)	0,85 (0,5- 2,7)	0,23 ^a
Uréia sérica média (mg/dl)	34 (13,5-70)	45,13 (20- 153,1)	0,004 ^a
Creatinina sérica na admissão (mg/dl)	0,9 (0,5-1,5)	1,45 (0,7- 6,3)	<0,0001 ^a
Proteinúria (mg/dl)	21,8 (4,7-118,7)	50,9 (6,9- 168,9)	0,12 ^a
Proteinúria (mg/gCr)	260,1 (75-6303)	643 (162- 5235)	0,01 ^a
Novos Biomarcadores Renais na Admissão			
uMCP-1 (pg/mgCr)	274,1 (15,1-3562)	547,5 (86,2- 5514)	0,01 ^a
uMCP-1 (pg/ml)	258,2 (24,7-793,1)	447,3 (25,4- 1147)	0,01 ^a
uNGAL (ng/mgCr)	12,7 (0,2-452,5)	21,3 (5,1- 99,6)	0,03 ^a
uNGAL (ng/ml)	10,2 (0,3-21,8)	16,97 (3,09- 22,4)	0,004 ^a
sNGAL (ng/ml)	176,5 (SD: 47,1)	181,7 (SD: 58,3)	0,72 ^b
Funções Tubulares na admissão			
FE _{Na} (%)	0,82 (0,01-6,8)	1,395 (0,22- 13,28)	0,02 ^a
FE _K (%)	8,6 (0,02-20,8)	14,5 (5,4- 55,5)	<0,0001 ^a
FE _{Cl} (%)	1,3 (0,01-11,3)	2,2 (0,59- 16,75)	0,04 ^a
FE _{Ur} (%)	38,79 (0,29-118,48)	48,9 (2,14-66,67)	0,33 ^a
Uosm, mOsm/kg	516,6 (167-972)	383,1 (131,7-852,8)	0,08 ^a
Posm, mOsm/kg	308,7 (271,6-321,4)	310,5 (299,5-377)	0,05 ^a
TTKG	4,9 (1,39-16,9)	5,75 (2,62-16,74)	0,40 ^a
Uosm/Posm	1,6 (0,54-3,3)	1,21 (0,35-2,7)	0,08 ^a
[Na] ⁺ Urinário (mEq/L)	116,6 (SD: 12,7)	97,1 (SD: 13,5)	0,32 ^b

Abreviaturas: eTFG, taxa de filtração glomerular estimada utilizando fórmula de CKD-EPI para adultos e fórmula de Schwartz para <16 anos. uMCP-1 (*Monocyte chemoattractant protein-1* urinária), proteína quimiotática de monócitos urinária. uNGAL (*Neutrophil gelatinase-associated lipocalin* urinária), lipocalina associada a gelatinase de neutrófilos urinária. sNGAL (*Neutrophil gelatinase-associated lipocalin* sérica). FE_{Na}: Fração de Excreção de [Na]⁺. FE_K: Fração de Excreção de [K]⁺. FE_{Cl}: Fração de Excreção de [Cl]⁻. FE_{Ur}: Fração de Excreção de Uréia. Uosm, osmolaridade urinária. Posm, Osmolalidade Plasmática. TTKG, Gradiente Transtubular de Concentração de potássio [K]⁺. **Valores de Referência:** Osmolaridade sérica 275-295mOsm/kg.

^a Pontuações de Wilcoxon. Não-normalidade de acordo com o teste de normalidade Shapiro-Wilk. Variáveis expressas em valores medianos, mínimos e máximos. ^bTeste t de Student. Normalidade de acordo com o teste de normalidade Shapiro-Wilk. Variáveis expressas em média e desvio padrão.

A linha de base de creatinina sérica foi similar nos grupos LRA e Sem LRA (mediana 0,85 vs 0,8mg / dl; p = 0,23). O grupo LRA apresentou níveis mais elevados de média de ureia sérica (mediana 45,1 vs 34mg / dl; p = 0,004) e de creatinina sérica na admissão (mediana 1,45 vs 0,9mg / dl; p = <0,0001). A estimativa da TFG na admissão foi menor no grupo LRA (média de 55,45, DP 6,99 vs 99,31, DP 3,91 ml / min por 1,73 m²; p <0,0001). Proteinúria normalizada por creatinina urinária foi maior no grupo LRA (mediana 643 vs 260mg / gCr; p = 0,01) (Tabela 8).

A fração de excreção de [K]⁺ foi maior no grupo LRA (14,54 vs 8,64%; p <0,0001), bem como a FE_{Na} e FE_{Cl}. A Posm no grupo LRA apresentou uma tendência a maiores valores.

Uosm, TTKG e a relação Uosm / Posm não diferiram entre os grupos LRA e Sem LRA. No entanto, Posm (faixa normal 275-295mOsm / kg H₂O) e Uosm / Posm (razão <2,8) apresentaram valores anormais nos dois grupos (Tabela 8).

5.3 TESTES DE COAGULAÇÃO

O tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPa) no grupo LRA na admissão revelou um número significativamente maior de pacientes com testes anormais (6/22, 27% vs 4/41, 9,8%) e incoaguláveis (14/22, 63,6% vs 20 / 41, 48,7%) ($p = 0,03$). O TTPa no grupo LRA, incluindo juntamente os testes anormais e incoaguláveis, permaneceu significativamente maior do que no grupo Sem LRA (20/22, 90,6% vs 24/41, 58,5%, $p = 0,01$). No entanto, as mesmas comparações com o TP não foram significativas (Tabela 9).

Tabela 9. Testes de coagulação em envenenamento por *Bothrops*, à admissão, de acordo com o desenvolvimento de LRA.

Resultados dos Testes de Coagulação	Não-LRA (n=38)	LRA (n=20)	P
Tempo de Protrombina			
TAP (s)	131 (12,1- 131)	131 (11,2- 131)	0,74 ^a
Normal	17 (41,4)	6 (27,2)	
Anormal	2 (4,8)	1 (4,5)	0,07 ^b
Incoagulável	22 (53,2)	15 (68,2)	
Normal	17 (41,4)	6 (27,2)	
Anormal/ Incoagulável	24 (58,6)	16 (72,8)	0,38 ^c
Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada			
TTPA (s)	36,6 (24,2- 181)	181 (26- 181)	0,19 ^a
Normal	17 (41,4)	2 (9,0)	
Anormal	4 (9,8)	6 (27,0)	0,03 ^c
Incoagulável	20 (48,7)	14 (63,6)	
Normal	17 (41,4)	2 (9,0)	
Anormal/ Incoagulável	24 (58,5)	20 (90,6)	0,01 ^c

Abreviaturas: TAP, Tempo de Protrombina. TTPA, Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada.

Valores de Referência: TAP- 10-14s. TAP incoagulável: ≥ 130 s. TTPA- 22-28s. TTPA incoagulável: ≥ 180 s.

^a Wilcoxon score. Não-Normalidade de acordo com o teste de Normalidade de Shapiro- Wilk. Variáveis expressas em mediana, valores mínimos e máximos. ^b Fisher's Exact Test. ^c Chi-Square Test.

Tabela 10. Variáveis independentes associadas ao desenvolvimento de LRA em envenenamento por *Bothrops*.

	Lesão Renal Aguda		
	O.R.	I.C. 95%	P
Modelo 1			
Menor [Na] ⁺ sérico (mEq/L)	0,73	0,57–0,94	0,02
Hemoglobina mais baixa (g/dl)	1,04	0,664–1,616	0,87
Proteinúria (mg/gCr)	1,00	1,00–1,00	0,37
TTPa na admissão (normal vs anormal/ incoagulável)	26,27	1,35–512,11	0,03
Modelo 2*			
Menor [Na] ⁺ sérico (mEq/L)	0,66	0,46–0,95	0,03
Hemoglobina mais baixa (g/dl)	1,16	0,48–2,81	0,75
Proteinúria (mg/gCr)	1,00	0,99–1,00	0,72
TTPa na admissão (normal vs anormal/ incoagulável)	152,52	1,31– >999,99**	0,04

Abreviaturas: I.C., Intervalo de confiança; O.R., Odds ratio.

* Modelo ajustado por idade, sexo e tempo decorrido entre mordedura de serpente e a infusão do soro antiofídico.

** Limite superior não foi previsível, amostra necessita de maior número de indivíduos e incoagulabilidade não mensurada pelo aparelho pode ter interferido nos limites do intervalo de confiança.

5.4 NOVOS BIOMARCADORES E FATORES DE RISCO PARA LRA

O grupo LRA apresentou níveis mais altos de uMCP-1 (mediana 547,5 vs 274,1pg / mgCr; $p = 0,01$) e uNGAL (mediana 21,28 vs 12,73ng / mgCr; $p = 0,03$). A sNGAL na admissão foi semelhante entre o grupo LRA e Sem LRA (média de 181,7 vs 176,5 ng / ml; $p = 0,72$).

Os fatores de risco para LRA foram determinados por análise multivariada com regressão logística. O modelo não ajustado incluiu o menor nível sérico de $[\text{Na}]^+$ (mEq / L), menor hemoglobina (g / dl), proteinúria (mg / gCr) e TTPa na admissão (normal vs anormal / incoagulável) e revelou menor nível sérico de $[\text{Na}]^+$ ($p = 0,01$, OR = 0,73, IC 95%: 0,57-0,94) e TTPa ($p = 0,031$, OR = 26,27, IC 95%: 1,34–512,11) como fatores independentes associados à LRA. O modelo ajustado, considerando as mesmas variáveis ajustadas por idade, sexo e tempo decorrido entre o acidente ofídico e a administração do soro antiofídico, o $[\text{Na}]^+$ sérico mais baixo ($p = 0,02$, OR = 0,66, IC 95%: 0,45-0,95) e TTPa ($p = 0,03$, OR = 152,52, IC 95%: 1,31–> 999,99) permaneceu associado de forma independente à LRA (Tabela 10).

A creatinina sérica seriada no grupo Sem LRA não apresentou variabilidade importante de acordo com os critérios KDIGO e permaneceu em uma faixa normal ao longo do tempo pós-mordedura (Figura 13, a). O grupo LRA apresentou alterações consideráveis ao longo do tempo pós-mordedura nos estágios KDIGO 1, 2/3, comumente com resultados anormais (Figura 13, b).

A comparação entre os níveis de uMCP-1 e uNGAL apresentados pelos grupos controle, LRA e Sem LRA normalizados por creatinina urinária revelou um aumento significativo e gradual desses biomarcadores ($p < 0,0001$) (Figura 14). A relação ficou muito semelhante ($p < 0,05$) ao usar os valores não normalizados.

Os níveis de KIM-1 urinários, VCAM-1 e IL-6 séricos não apresentaram diferenças estatisticamente significantes entre os grupos com e sem LRA. A distribuição dos resultados comparando com as faixas de normalidade baseadas nos resultados dos voluntários sadios foi completamente aleatória e sem significância (Figura 15).

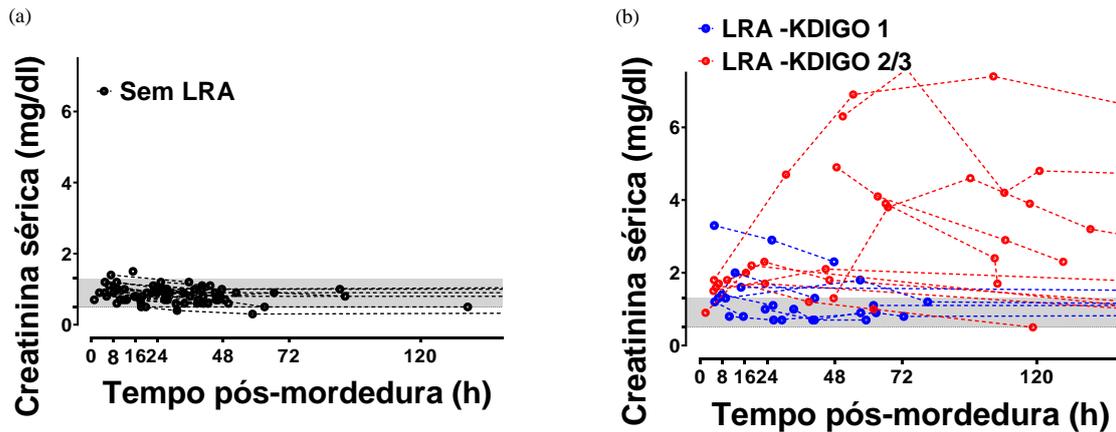


Figura 13. Concentração sérica de creatinina sérica até 120 horas pós-mordedura no grupo sem LRA (a) e grupo LRA (b). A área cinza sombreada ilustra a faixa normal de creatinina sérica.

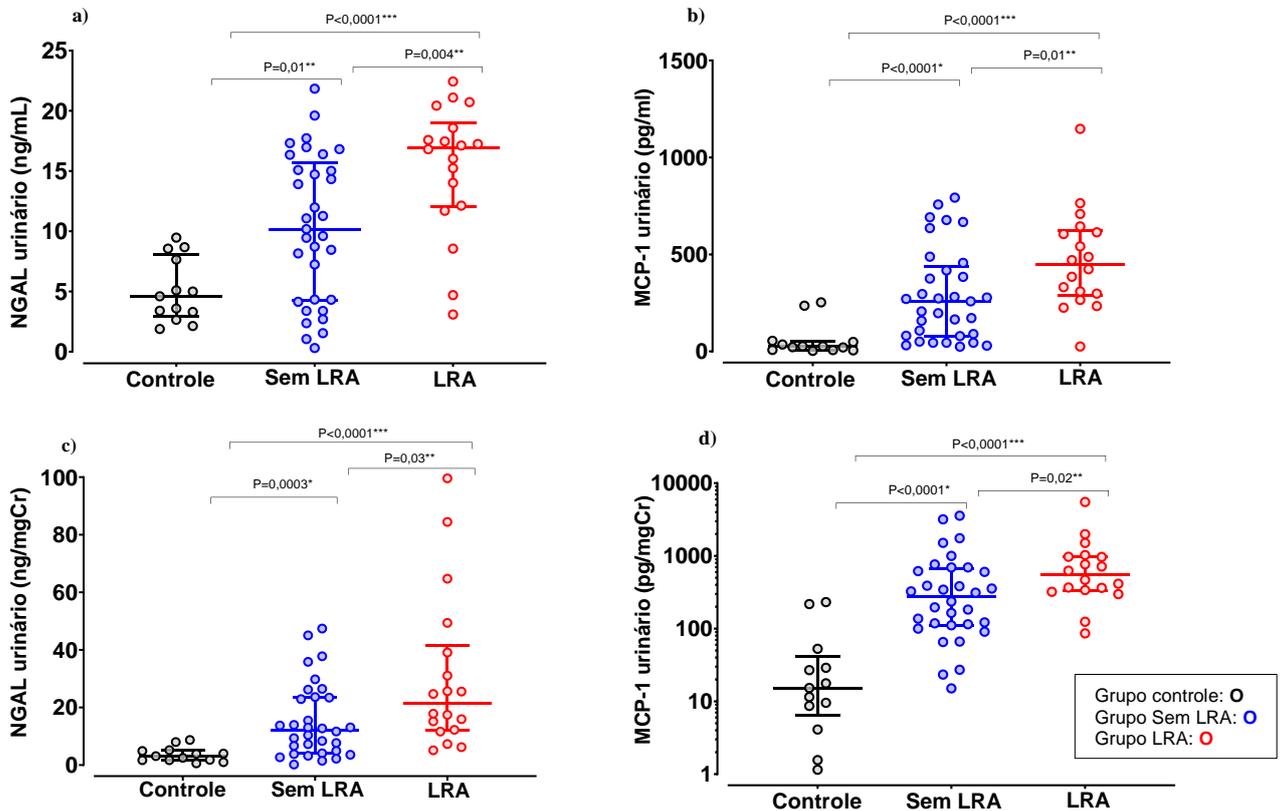


Figura 14. (a) Níveis de NGAL urinária não normalizada por creatinina urinária, (b) Níveis MCP-1 urinário não normalizados por creatinina urinária, (c) Níveis de NGAL urinária normalizada por creatinina urinária, (d) Níveis de MCP-1 urinário normalizados por creatinina urinária. Os biomarcadores foram medidos na admissão hospitalar em pacientes com envenenamento por *Bothrops* com LRA (grupo LRA) ou sem (Sem LRA) e em grupo controle saudável.

*P < 0,05, de acordo com Mann-Whitney-U, comparação entre grupos controle e Sem LRA.

**P < 0,05, de acordo com Mann-Whitney-U, comparação entre grupos Sem LRA e LRA.

*** P < 0,0001, segundo teste de 1way ANOVA e teste de Kruskal-Wallis para comparação entre os três grupos.

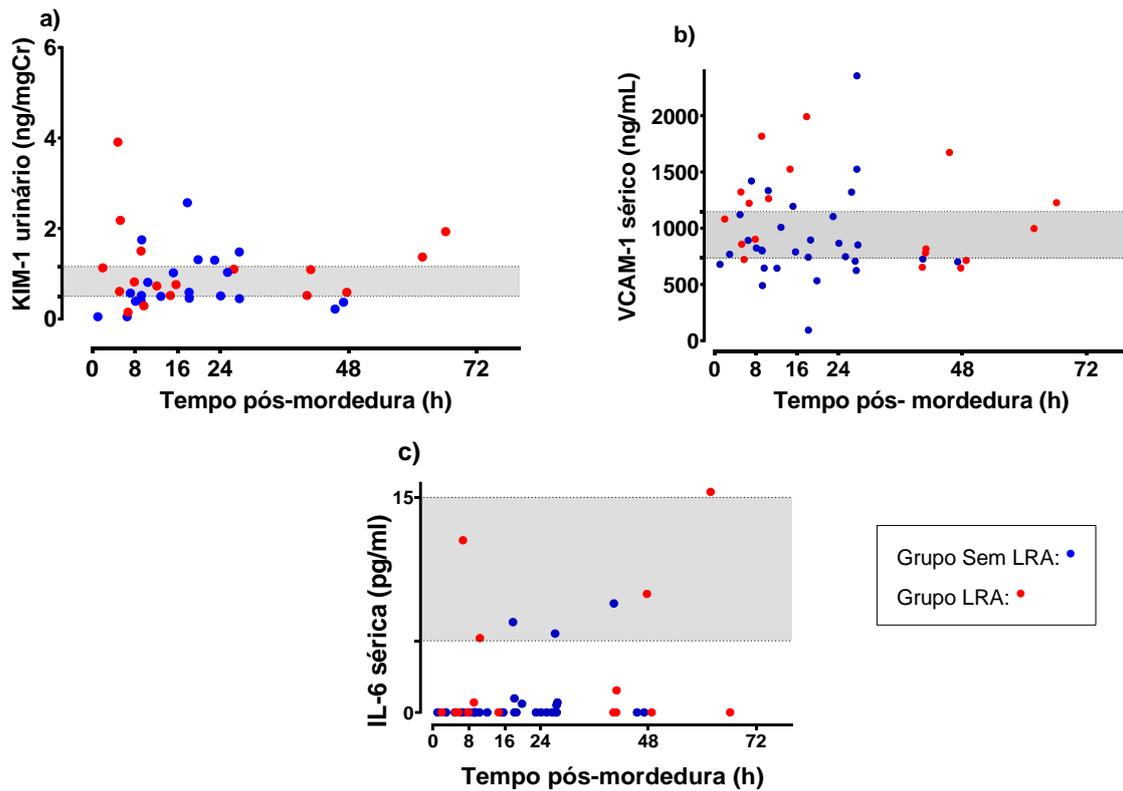


Figura 15. a) Níveis de KIM-1 urinário normalizado por creatinina urinária, (b) Níveis de VCAM-1 sérico, (c) Níveis de IL-6 sérico em pacientes vítimas de mordedura de serpentes do gênero *Bothrops*. Pontos vermelhos- grupo LRA, pontos azuis- grupo Sem LRA, área sombreada- faixa de normalidade de acordo com os níveis medidos em voluntários saudáveis.

Tabela 11. Correlação entre novos biomarcadores renais e parâmetros renais.

Parâmetros Renais	uMCP-1(pg/mgCr)*		uNGAL(ng/mgCr)*	
	Coefficiente de correlação de Spearman	<i>P</i>	Coefficiente de correlação de Spearman	<i>P</i>
Proteinúria (mg/gCr)	0,70	<0,0001	0,47	0,001
FE de [Na] ⁺ (%)	0,44	0,003	0,56	<0,0001
FE de [K] ⁺ (%)	0,15	0,34	0,09	0,56

*uMCP-1 and uNGAL foram normalizados por creatinina urinária (mg).

A correlação positiva entre os níveis de MCP-1 urinário e proteinúria sugere um mecanismo de dano glomerular ou tubular proximal, bem como entre os níveis de NGAL urinário e FE de [Na]⁺ sugere dano tubular, conforme evidenciado na tabela 11.

Curvas ROC (*Receiver Operating Characteristic*) foram construídas para exibir taxas verdadeiro positiva e falso positiva de LRA na admissão. A creatinina sérica apresentou melhor desempenho (AUC = 0,85) em comparação com novos biomarcadores com ou sem

normalização (Figura 16). FE_K apresentou precisão fidedigna na predição de LRA ($AUC = 0,92$).

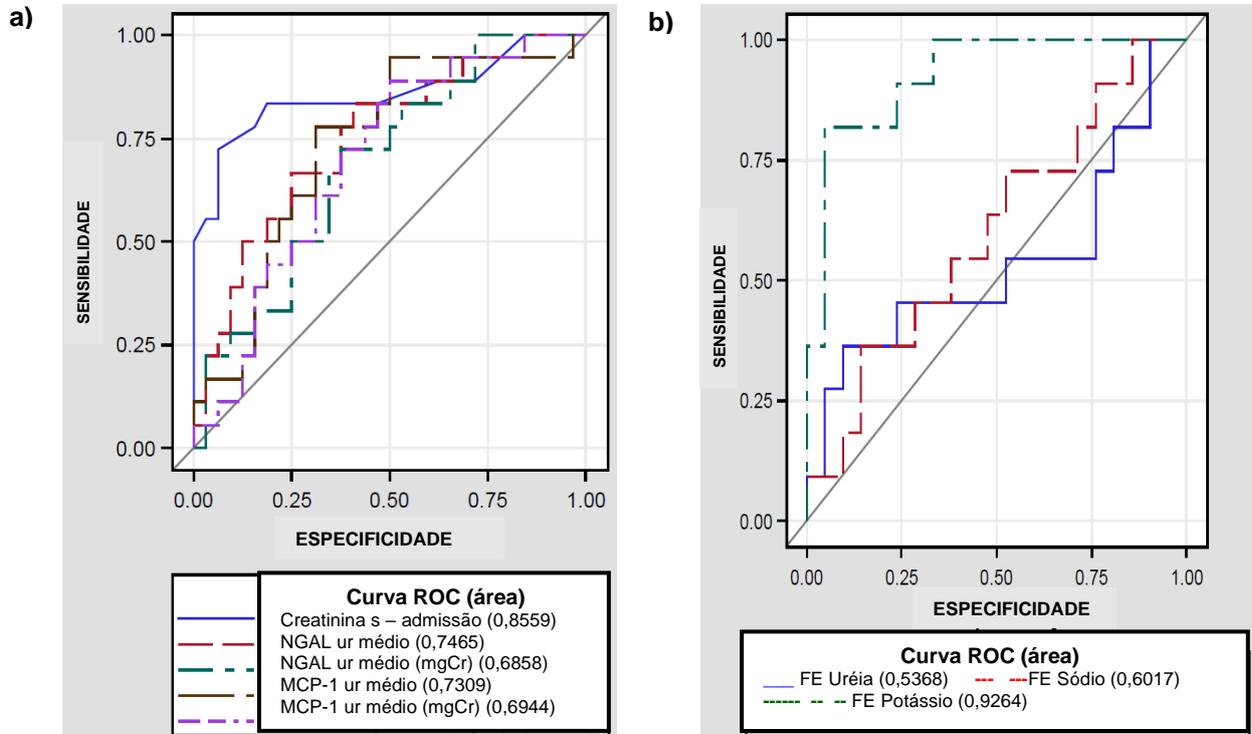


Figura 16. Curvas ROC da creatinina sérica e biomarcadores urinários (a) e excreção fracionada de uréia, $[K]^+$ e $[Na]^+$, na internação hospitalar no envenenamento por *Bothrops* na predição da LRA, segundo os critérios do KDIGO.

FE_{Ur} : Fração de excreção de ureia. FE_{Na} : fração de excreção de $[Na]^+$. FE_K : fração de excreção de $[K]^+$.

Diante da associação entre a presença de coagulopatia e alterações das funções renais ilustradas pelos novos biomarcadores um modelo fisiopatogênico foi proposto (Figura 17). A associação consistente entre TTPa anormal ou incoagulável com a LRA sugere dano da microvasculatura como uma importante etapa na fisiopatologia da LRA. Alta demanda de energia com extração de oxigênio em um leito relativamente pequeno leva a maior susceptibilidade renal ao prejuízo da perfusão vascular e oxigenação. A microcirculação prejudicada leva a hipóxia e estresse oxidativo (STRAPAZZON et al., 2015). Assim, o endotélio microvascular prejudicado e alterações no glicocálix levam a ativação celular endotelial com nova expressão de marcadores da superfície celular, que devem promover um aumento do MCP-1 secretado pelos leucócitos mononucleares, células tubulares corticais e podócitos. O incremento de NGAL e MCP-1 urinários estão associados a inflamação renal,

dano glomerular e atrofia tubular, principalmente em túbulos contorcidos distais e proximais. Nefrite intersticial relacionada ao aumento de MCP-1 não poderia ser afastada e deve provavelmente piorar o fluxo sanguíneo na microcirculação. Neste estudo, a proteinúria sugere dano glomerular ou tubular proximal relacionado ao veneno da *Bothrops*. Anormalidades na FE_K , FE_{Na} e FE_{Ur} e defeitos na concentração urinária sugerem atrofia tubular. Além de $Ur [Na]^+ > 40 \text{ mEq/L}$ é um outro sinal de necrose tubular aguda.

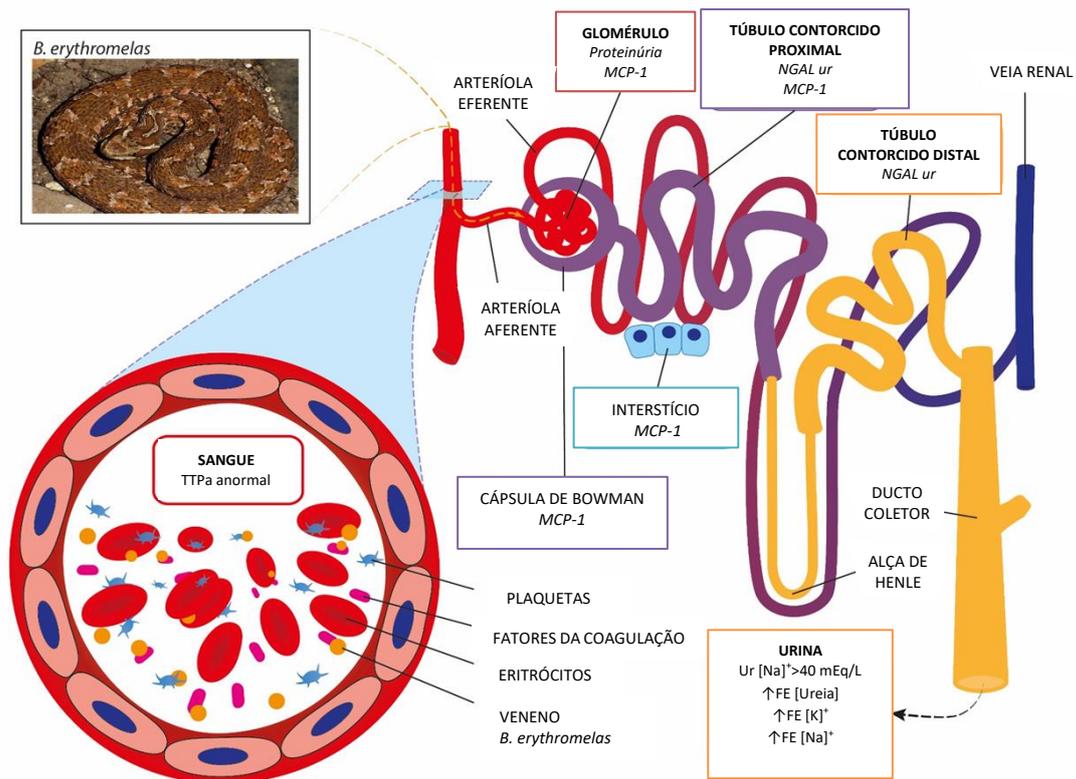


Figura 17. Modelo proposto dos mecanismos fisiopatológicos da lesão renal aguda em envenenamento por *Bothrops*.

*Fonte: próprio autor (ALBUQUERQUE et al., 2019).

Discussão

6 DISCUSSÃO

Este estudo explorou LRA após envenenamento por serpentes do gênero *Bothrops*, possivelmente *B. erythromelas*, a espécie responsável pela maioria dos casos de mordedura de serpente em nossa região, no nordeste do Brasil. As principais espécies de *Bothrops* no Brasil são: *Bothrops jararaca* (região Sul e Sudeste), *B. moojeni* (Centro-Oeste), *B. atrox* (Norte) e *B. erythromelas* (Nordeste) (JORGE et al., 2015). Este é o primeiro estudo clínico a descrever a associação entre coagulopatia, disfunção tubular renal e novos biomarcadores na LRA relacionada a *Bothrops*, e nossos achados elucidam alguns aspectos da fisiopatologia desse tipo de lesão renal.

O perfil geral de toxinas do veneno de *Bothrops erythromelas* explica os principais efeitos locais e sistêmicos relatados neste estudo. O espectro de suas toxinas de veneno foi relatado aplicando uma abordagem venômica para *pools* de veneno de diferentes áreas dentro da ecorregião da caatinga no Nordeste do Brasil (JORGE et al., 2015), proporcionando um melhor entendimento dos mecanismos patogênicos dos achados clínicos, tais como LRA.

Os dados demográficos dos pacientes foram distribuídos uniformemente em ambos os grupos, evidenciando um cenário invariável na mordedura de serpente. Nos países tropicais, a mordedura de serpente continua afetando predominantemente adultos jovens, economicamente ativos, sem comorbidades pré-existentes e agricultores de comunidades rurais (JHA, PARAMESWARAN, , 2013; MOHAMED et al., 2015).

Longos períodos entre a mordedura de serpente e a prestação de assistência médica / administração de soro antiofídico representaram um exemplo de um sistema de saúde deficiente, com recursos médicos escasso em áreas inóspitas (GUTIÉRREZ et al., 2017) . Ambos os grupos receberam um número similar de frascos de soro antiofídico, indicando uma severidade leve de acordo com o Ministério da Saúde do Brasil (2005). Hemorragia grave e hipotensão não foram observadas neste estudo. O maior ônus mensurável foi a longa permanência hospitalar no grupo LRA, associado com alta morbidade e gastos com cuidados de saúde (ZUK, BONVENTRE, 2016).

Níveis mais baixos de hemoglobina no grupo LRA sugerem uma contribuição do mecanismo hematotóxico após LRA relacionada ao veneno de *Bothrops*. Os efeitos hemostáticos são caracterizados por hemorragia local e sistêmico (SLAGBOOM et al., 2017).

A análise proteômica do veneno de *B. erythromelas* revelou predominância de SVMPs, classe P-III (JORGE et al., 2015). P-III SVMPs contribuem para a hipotensão, aumentando a permeabilidade vascular via degradação das membranas basais capilares, resultando em vazamentos e reduções da pressão arterial (GUTIERREZ et al., 2016). Berytractivase, a única SVMP P-III caracterizada da *B. erythromelas*, é não-hemorrágica e capaz de desencadear respostas pró-coagulantes endoteliais e pró-inflamatórias, contribuindo para a depleção de fibrinogênio circulante, potencializando sinergicamente as SVMPs hemorrágicas P-III e, em seguida, aumentando a incidência de sangramento sistêmico (JORGE et al., 2015). O veneno de *B. erythromelas* no Ceará apresenta <0,1% de fosfolipase B (PLB-*phospholipase B*) na composição protéica total, o que contribui com atividade hemolítica direta no gênero *Bothrops* (JORGE et al., 2015). Anormalidades hemorrágicas no envenenamento por *Bothrops* têm sido independentemente associadas ao desenvolvimento de LRA em um estudo anterior (ALBUQUERQUE et al., 2014). A maioria dos pacientes do presente estudo não apresentou LRA (70%) ou apresentou estágio 1 ou 2 de acordo com a classificação KDIGO (25%), com gravidade leve. Portanto, não houve evidência de sintomas hemorrágicos. De forma correspondente, mesmo no grupo LRA, que apresentava níveis mais baixos de hemoglobina, a anemia não era grave.

Trombocitopenia não foi associada com o desenvolvimento de LRA neste estudo. Apesar de um TTPa anormal ter sido associado ao desenvolvimento de LRA, o presente estudo não apresentou diferenças nos níveis de plaquetas entre os grupos LRA e sem LRA. Um grande número de constituintes dos venenos de serpente pode inibir ou ativar a agregação plaquetária, como SVMPs, SVSPs, PLA2, desintegrinas, LAAOs, lectinas do tipo C e 5'-nucleotidases (QUEIROZ et al., 2017). Um grupo de PLA2 de *B. pauloensis* (BpPLA2-TXI) foi isolado no veneno de *B. erythromelas* e pode inibir a agregação plaquetária (FERREIRA et al., 2013). Uma quantidade insignificante de SVSPs, referente às TLEs, em *B. erythromelas* do Ceará, em comparação com as principais espécies de *Bothrops*, (FERREIRA et al., 2013; JORGE et al., 2015) pode causar a ausência de trombocitopenia, com TLEs induzindo a liberação e agregação de plaquetas (SLAGBOOM et al., 2017). O perfil dos outros componentes do veneno de *B. erythromelas* foi semelhante aos pertencentes a outras espécies de *Bothrops* (FERREIRA et al., 2013; JORGE et al., 2015).

A maior incidência de TTPa anormal / incoagulável no grupo LRA aponta para a contribuição do comprometimento da via de coagulação intrínseca no mecanismo da LRA relacionada ao veneno de *Bothrops*. Globalmente, o teste de coagulação mais comum é o teste

de coagulação do sangue total de 20 minutos (ISBISTER et al., 2013), mas alguns lugares têm realizado TP, TTPa, *International Normalized Ratio* (INR) e tempo de coagulação de trombina (TCT) (SOTELO, 2008; ISBISTER et al., 2013). Apesar das anormalidades nos testes de coagulação, muitos pacientes com coagulopatia de consumo induzida por veneno (CCIV) podem apresentar achados clínicos mínimos (MADUWAGE, ISBISTER, 2014). Conseqüentemente, este estudo não relatou sangramentos graves ou fatalidades devido à mordedura de serpentes do gênero *Bothrops*. Curiosamente, na análise comparativa das atividades de coagulação do veneno botrópico, o veneno de *B. erythromelas* apresentou os maiores níveis de fator X e ativadores da protrombina sem apresentar atividade semelhante à trombina. Além disso, um estudo recente destacou a menor eficácia do soro antibotrópico fabricado no Brasil em neutralizar toxinas ativadoras do Fator X do que as toxinas ativadoras da protrombina, o que pode impactar no quadro clínico dos pacientes (SOUZA et al., 2008). A análise multivariada evidenciou o TTPa anormal ou incoagulável como importante fator de risco para o desenvolvimento de LRA (Tabela 10). No entanto, o modelo ajustado não foi adequado devido ao pequeno número da amostra. Embora não tenha havido evento hemorrágico grave neste estudo, a correlação entre o dano renal e as anormalidades de coagulação representam fenômenos microcirculatórios que exigem uma análise aprofundada.

O estado de hipervolemia causado por LRA oligúrica relacionada ao veneno de *Bothrops* contribui para níveis mais baixos de $[Na]^+$ e hematócrito no grupo LRA, devido a um efeito dilucional. A hiponatremia foi relatada na síndrome da víbora de Russell e é considerada um fator independente associado à LRA (AYE et al., 2017). Na admissão, nossos pacientes comumente apresentavam sinais e sintomas hipervolêmicos após um longo período pós-mordedura em ambos os grupos. O peptídeo potenciador de bradicinina 13a (BPP13a-*Bradykinin-potentiating-peptide 13a*), um inibidor do SRAA, que potencializa o efeito hipotensivo da bradicinina circulante, foi isolado do veneno de *B. erythromelas* e representou apenas $1,1 \pm 0,3\%$ das proteínas totais do veneno em um estudo proteômico recente (JORGE et al., 2015). No estudo atual, a hipotensão provavelmente ocorreu antes da internação hospitalar e não foi relatada aqui devido ao longo tempo de admissão pós-mordedura. Conseqüentemente, os níveis normais de $[K]^+$ sérico e gradiente transtubular de $[K]^+$ (TTKG) em ambos os grupos (<6) não sugeriram ativação do SRAA (ETHIER et al., 1990; CHOI, ZIYADEH, 2008). O TTKG é usado para medir a secreção de $[K]^+$ renal pelo ducto coletor cortical, avaliando indiretamente a bioatividade mineralocorticóide. O cálculo do TTKG requer que o $[Na]^+$ esteja

> 25 mEq/L e a osmolaridade urinária seja igual ou maior que a osmolaridade plasmática (CHOI, ZIYADEH, 2008). Aqui, ambos os pré-requisitos foram apresentados no estudo.

Os níveis de creatina quinase não apresentaram diferenças estatisticamente significantes entre os grupos LRA e Sem LRA, o que sugeriu que a rabiólise não foi um mecanismo decisivo de lesão renal no envenenamento por *Bothrops*. A mionecrose pode ser explicada pela hidrólise dos fosfolípidios, causando ruptura da membrana plasmática dos miócitos do músculo esquelético e um grande influxo de Ca^{2+} nas células musculares (JORGE et al., 2015). Entretanto, o veneno de *Bothrops erythromelas* não apresentou atividade miotóxica importante, sugerindo atividade miotóxica em BE-I-PLA2 (MOURA-DA-SILVA et al., 1991). Enquanto a associação entre rabiólise e LRA ter sido relatada no envenenamento por *Crotalus durissus* como um mecanismo crucial de nefrotoxicidade, poucos estudos relataram altos níveis de creatina quinase em acidentes ofídicos por *Bothrops* (AMARAL et al., 1986).

Hematúria e proteinúria são manifestações clínicas renais comuns em acidentes ofídicos (SITPRIJA, 2006) e fornecem informações sobre a base do dano renal. Este é o primeiro estudo clínico que avalia a proteinúria no envenenamento por *Bothrops erythromelas*. O grupo LRA apresentou níveis significativamente mais elevados de proteinúria, indicando alterações glomerulares após o envenenamento por *Bothrops*. Lesão glomerular foi demonstrada pela primeira vez em modelo animal após administração intravenosa de veneno de *B. moojeni* em ratos (BOER-LIMA et al., 2002). O veneno de *B. moojeni* causou proteinúria e alterações ultraestruturais no epitélio visceral e nos capilares glomerulares, compatíveis com a disfunção renal descrita, contribuindo para a nefrotoxicidade (BOER-LIMA et al., 2002). Em outro estudo, a glomerulonefrite induzida por veneno de Serpente Habu (VSH) mostrou um curso progressivo de migração de células mesangiais, proliferação, infiltração de células mononucleares e acúmulo de matriz extracelular, em células mesangiais cultivadas *in vitro*. Além disso, os níveis de RNA mensageiro (RNAm – *Messenger ribonucleic acid*) de MCP-1 em células mesangiais cultivadas foram aumentados pela estimulação com VSH, mesmo no tempo de recuperação (KUBO, 2002). Outro estudo relatou que o MCP-1 produzida nas células tubulares renais é liberada na urina proporcionalmente ao grau de proteinúria na nefropatia diabética (PANEE, 2012). No presente estudo, a proteinúria correlacionou-se fortemente com altos níveis de MCP-1 normalizados por creatinina urinária.

Níveis significativamente mais altos de uMCP-1/CCL2 no grupo LRA podem refletir outra via patogênica no envenenamento por *Bothrops*. O MCP-1 é uma quimiocina- CC de baixo peso molecular (13KDa) ligada à imunidade inata, facilmente filtrada na urina. O

primeiro passo de recrutamento parece ser condições inflamatórias sistêmicas. Em segundo lugar, o MCP-1 é liberada em locais de inflamação e armazenada no glicocálice local. Em terceiro lugar, a produção local de MCP-1 leva à liberação de citocinas inflamatórias, diferenciação e recrutamento de monócitos / macrófagos (HALLER et al., 2016). Assim, nosso estudo evidenciou níveis aumentados de MCP-1 urinária no grupo LRA em comparação com voluntários Sem LRA e saudáveis. Além disso, ela induz uma firme adesão dos monócitos ao endotélio vascular sob condições de fluxo (KIM, TAM, 2011). Muitos estudos relataram uma correlação positiva de MCP-1 urinária e dano renal, tal como hanseníase, schistosomose crônica, diabetes, cancer, aterosclerose e lúpus (MENESES et al., 2014; BIANCONI et al., 2018; DING et al., 2018). Entretanto, este é o primeiro estudo realizado em LRA relacionada ao envenenamento botrópico.

O uMCP-1 / CCL2 correlacionou-se positivamente com a FE_{Na} . O MCP-1 é secretada por leucócitos mononucleares, células epiteliais tubulares corticais e podócitos e está implicada na inflamação renal, dano glomerular, atrofia tubular e fibrose (WADA et al., 2000; BARBADO et al., 2012). No entanto, a localização da expressão de MCP-1 foi encontrada predominantemente em células tubulares e não em glomérulos (HALLER et al., 2016). É expresso em células renais infiltrantes e residentes na glomerulonefrite aguda (HALLER et al., 2016). Além disso, os níveis urinários de MCP-1 aumentaram de acordo com os danos das lesões tubulointersticiais na nefropatia diabética (WADA et al., 2000). O aumento da FE_{Na} de acordo com o MCP-1 urinário pode representar comprometimento tubular devido à LRA em envenenamento por *Bothrops erythromelas*.

O uNGAL foi significativamente maior no grupo LRA, o que reflete lesão renal estrutural (PICKERING, ENDRE, 2013). O NGAL é uma pequena proteína siderofórica intensamente supra-regulada e excretada quando há dano tubular agudo (GEUS et al., 2016). Pode ser detectada no plasma e na urina nas fases iniciais da LRA, sendo prontamente filtrada no glomérulo e reabsorvida nos segmentos tubulares proximais (GEUS et al., 2016). A proteína NGAL é sintetizada na medula óssea durante a mielopoiese e armazenada nos grânulos de neutrófilos de diferentes tecidos (BORREGAARD, COWLAND, 1997). Pode ser um marcador de LRA mais específico em pacientes com inflamação sistêmica quando o dano de múltiplos órgãos é menos pronunciado (MARTENSSON, BELLOMO, 2014). Nesse sentido, no presente estudo, o sNGAL não apresentou diferença estatisticamente significante entre os grupos, provavelmente porque ocorreram os mesmos efeitos sistêmicos em todos os indivíduos. No entanto, o uNGAL apresentou níveis aumentados no grupo LRA em comparação com controles

saudáveis e o grupo sem LRA. Além disso, a uNGAL correlacionou-se positivamente com a FE_{Na} e proteinúria, o que pode enfatizar a associação com lesão tubular aguda.

Os demais biomarcadores mensurados neste estudo, tais como VCAM-1, KIM-1 e IL-6 não apresentaram resultados aceitáveis quando distribuídos de acordo com os respectivos níveis séricos e tempo pós- mordedura, não sendo considerados nas análises estatísticas. Tal fato deve-se provavelmente por apresentarem picos séricos precoces, não detectados por prolongado tempo pós- mordedura e respectiva coleta. Novos estudos sobre o papel destes marcadores devem ser considerados.

A fração de excreção de $[K]^+$ (FE_K) foi significativamente maior no grupo LRA e precisa na predição da LRA. No entanto, não houve diferenças entre FE_{Na} e FE_{Ur} . Embora a FE_{Ur} e a FE_{Na} possam ser úteis na distinção da LRA funcional (pré-renal) e estrutural (secundária à isquemia, toxinas ou ambas, onde a função tubular está comprometida), respectivamente com ou sem uso diurético, a interpretação desses parâmetros permanece conflitante (PEPIN et al., 2007; SCHONERMARCK et al., 2008; MACIEL et al., 2014; MACIEL et al., 2016).

Poucos estudos relataram o desempenho da FE_K na predição da LRA (MACIEL et al., 2014; MACIEL et al., 2016). A FE_K foi analisada em pacientes, com diferentes diagnósticos em uma unidade de terapia intensiva, sem LRA, LRA transitória e persistente sem terapia de substituição renal. A FE_K não foi alterada pelo uso de diuréticos (MACIEL et al., 2014). Assim, a FE_K apresentou em nosso estudo a maior precisão pela AUC-ROC na previsão do diagnóstico de LRA quando comparada com FE_{Na} e FE_{Ur} . A maioria do $[K]^+$ urinário pode ser contabilizada pela secreção eletrogênica, mediada pelas células principais no ducto coletor inicial e cortical (PALMER, 2015), levando a variações maiores e mais evidentes na FE_K do que na FE_{Na} ou FE_{Ur} . A secreção de $[K]^+$ é parcialmente dependente da taxa de fluxo tubular luminal, que não foi medida entre os grupos. No entanto, o volume de urina não está incluído na FE_K , o que contraria essa ideia (MACIEL et al., 2014). Em nosso estudo, a FE_{Na} foi superior a 1% e a FE_{Ur} foi superior a 35% no grupo LRA, o que pode representar comprometimento da capacidade tubular de retenção de $[Na]^+$ e uréia. Este fato poderia interferir na secreção do $[K]^+$, que é potencializado pela reabsorção de $[Na]^+$, estimulada pela aldosterona. Apesar de a ingestão de $[K]^+$ poder interferir na sua mensuração, as diferenças entre as dietas dos pacientes no hospital são improváveis. Alguns estudos têm descrito a FE_K , mas não a FE_{Ur} e FE_{Na} , como um preditor clinicamente importante nos desfechos renais (SMYTH et al., 2014). A FE_K foi relacionada à LRA com uma precisão razoável e é, provavelmente, resultado de uma diminuição na TFG e

da ativação da aldosterona (para manter a homeostase do $[K]^+$). É necessária uma análise adicional com amostras sequenciais.

A hiponatremia observada no presente estudo é possivelmente por sobrecarga de volume e pode estar associada à menor diluição urinária, representada pela baixa osmolaridade urinária (Uosm). O Uosm é o método padrão-ouro para testar a concentração urinária (CHADHA et al., 2001), mas na prática médica é geralmente estimado pela gravidade específica na urina ou medições indiretas. O $[Na]^+$ é o íon mais abundante no fluido extracelular e o principal determinante do volume extracelular. Sua concentração plasmática é rigidamente determinada, portanto seu manejo é essencial para a sobrevivência. Assim, o controle da concentração de $[Na]^+$ na urina representa uma medida da função tubular. A alta concentração urinária de $[Na]^+$ em ambos os grupos é compatível com o comprometimento tubular renal, conhecido como necrose tubular aguda (NTA) (SCHRIER, 2018).

O envenenamento por *Bothrops* causou disfunção tubular renal assintomática, manifestando-se como a incapacidade de concentrar a urina nos grupos LRA e Sem LRA. Este é o primeiro estudo descrevendo a capacidade anormal de concentração de urina na mordedura de serpentes do gênero *Bothrops*. Essas anormalidades provavelmente estavam relacionadas a transportadores renais, como os cotransportadores aquaporina 2 ou $[Na]^+[K]^+2[Cl]^-$, que foram encontrados alterados em outras doenças tropicais (OLIVEIRA et al., 2011). No entanto, um teste pós-desmopressina não foi realizado, o que poderia interferir nos resultados. A análise dos transportadores urinários pode ser útil na detecção dessa disfunção em nível molecular, o que deve ser feito em estudos posteriores.

A creatinina sérica na admissão hospitalar revelou o melhor desempenho diagnóstico para detecção precoce de LRA neste estudo clínico com envenenamento por *Bothrops erythromelas*, pela análise AUC-ROC. No entanto, a uNGAL e a uMCP-1 na admissão podem ser biomarcadores úteis, com modesto desempenho diagnóstico.

6.1 LIMITAÇÕES DO ESTUDO

O estudo unicêntrico em questão apresenta algumas limitações, como o pequeno número de pacientes. A falta de amostras seriadas mais precoces de cada paciente, de acordo com os tempos estabelecidos pós-mordedura pode ter subestimado o papel de biomarcadores renais com picos mais precoces. Amostras seriadas, volume urinário diário e parâmetros clínicos, como pressão arterial, peso e altura, podem melhorar a estimativa do clearance de creatinina em estudos futuros. Dados mais detalhados não estavam disponíveis por razões práticas em se tratando de serviço de emergência com recursos materiais e humanos insuficientes. Um grande ponto forte deste estudo é o relato detalhado da função renal, que fornece novos conhecimentos sobre a fisiopatologia da LRA associada ao envenenamento por *Bothrops*. A aplicabilidade de novos biomarcadores renais foi relevante dentro de um cenário real de um país em desenvolvimento, revelando a importância deste estudo e podendo apontar posteriormente novos alvos terapêuticos para abordagem da própria LRA.

6.2 PERSPECTIVAS FUTURAS

O estudo de biomarcadores renais precoces no contexto do envenenamento ofídico permitiu a identificação de possíveis mecanismos de lesão renal, revelando novos “insights” sobre a doença renal aguda em si. Em si tratando de pacientes previamente saudáveis e de menor gravidade clínica, o estudo com biomarcadores apresenta boa especificidade renal. Estudos com a população pediátrica separadamente pode revelar achados ainda não identificados. A pesquisa em um maior grupo de pacientes, admitidos mais precocemente após o acidente ofídico e com dosagens seriadas de sangue e urina permitirá o conhecimento do comportamento destes biomarcadores no corpo humano, bem como da própria LRA. A realização de estudos multicêntricos com seguimento à longo prazo destes pacientes identificará possíveis marcadores de prognóstico e contribuirá para o entendimento da interface entre LRA e DRC.

6.3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A lesão renal aguda em envenenamento humano por serpentes do gênero *Bothrops* apresenta características peculiares, melhor caracterizadas através do uso de novos biomarcadores renais, como NGAL e MCP-1 urinários. Ressalta-se a forte associação entre coagulopatia e LRA indicando um mecanismo fisiopatogênico próprio deste envenenamento. A correlação entre os biomarcadores urinários e alterações funcionais túbulo- glomerulares vem corroborar com a possível necrose tubular aguda nestes pacientes. A realização deste estudo pôde produzir evidências que contribuirão significativamente para melhoria do manejo e elaboração de terapêuticas mais efetivas na abordagem do paciente vítima de mordedura por serpentes *Bothrops*.

Conclusão

7 CONCLUSÕES

1. Novos biomarcadores de LRA são ferramentas diagnósticas muito importantes no envenenamento humano por serpentes do gênero *Bothrops*.
2. O grupo com LRA e sem LRA apresentaram características epidemiológicas de base semelhantes. O grupo LRA apresentou menor nível de hemoglobina e $[Na]^+$ séricos. O menor nível de $[Na]^+$ sérico apresentado durante o internamento foi associado independentemente com o desenvolvimento da LRA, provavelmente consequência da hipervolemia associada a oligúria.
3. O grupo LRA apresentou maiores níveis urinários de NGAL e MCP-1 com forte correlação com FE_{Na} e proteinúria, respectivamente, sugerindo danos túbulo-glomerulares precoces em mordeduras por serpentes.
4. MCP-1 e NGAL urinários na admissão foram bons preditores de LRA em acidentes ofídicos, porém, a dosagem de creatinina sérica à admissão apresentou melhor acurácia no estudo. A FE_K na admissão hospitalar apresentou a maior acurácia na detecção precoce da LRA, sendo uma promissora ferramenta diagnóstica.
5. A coagulopatia induzida pelo veneno da *Bothrops*, caracterizada por TTPa anormal foi forte e independentemente associada ao desenvolvimento da LRA.

Referências

KDIGO: Clinical Practice Guideline for Acute Kidney Injury. **Kidney International**, v. 2, n. 1, p. 1-138, March/ 2012.

A. HAVT, M. C. F., MONTEIRO, H. S. A. The renal effects of Bothrops jararacussu venom and the role of PLA2 and PAF blockers. **Toxicon**, v. 39, p. 1841-1846, 2001.

ABASSI, Z. et al. Why Have Detection, Understanding and Management of Kidney Hypoxic Injury Lagged Behind those for the Heart? **J Clin Med**, v. 8, n. 2, Feb 21 2019. ISSN 2077-0383 (Print) 2077-0383 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30795640> >.

AL-REFAI, A. A. et al. Urinary Neutrophil Gelatinase Associated Lipocalin as a Marker of Tubular Damage in Type 2 Diabetic Patients with and without Albuminuria. **Open Journal of Nephrology**, v. 04, n. 01, p. 37-46, 2014. ISSN 2164-2842 (Electronic) 2164-2869.

ALBUQUERQUE, P. et al. Acute Kidney Injury Induced by Bothrops Venom: Insights into the Pathogenic Mechanisms. **Toxins (Basel)**, v. 11, n. 3, Mar 5 2019. ISSN 2072-6651 (Electronic) 2072-6651 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30841537> >.

ALBUQUERQUE, P. et al. Acute kidney injury caused by Crotalus and Bothrops snake venom: a review of epidemiology, clinical manifestations and treatment. **Rev Inst Med Trop Sao Paulo**, v. 55, n. 5, p. 295-301, Sep-Oct 2013. ISSN 1678-9946 (Electronic) 0036-4665 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24037282> >.

ALBUQUERQUE, P. et al. Acute kidney injury after snakebite accident treated in a Brazilian tertiary care centre. **Nephrology (Carlton)**, v. 19, n. 12, p. 764-70, Dec 2014. ISSN 1440-1797 (Electronic) 1320-5358 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25123203> >.

ACOSTA A. R. et al. Análisis clínico y epidemiológico de los accidentes por mordeduras de serpientes del género Bothrops en Venezuela [Clinical and epidemiological analysis of

snakebite accidents by genus Bothrops in Venezuela]. **Rev Cubana Med Trop**, v. 52, n. 2, p. 90-94, 2000.

ALVES, E. C. et al. Predicting acute renal failure in Bothrops snakebite patients in a tertiary reference center, Western Brazilian Amazon. **PLoS One**, v. 13, n. 8, p. e0202361, 2018. ISSN 1932-6203 (Electronic) 1932-6203 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30118505> >.

AMARAL, C. F. et al. Insuficiência renal aguda secundária a acidentes ofídicos botrópico e crotálico. Análise de 63 casos. **Rev Inst Med Trop Sao Paulo**, v. 28, n. 220, p. 27, 1986.

MOURA-DA-SILVA, A. M., CARDOSO, D. F., TANIZAKI, M. M. Differences in distribution of myotoxic proteins in venoms from different Bothrops Species. **Toxicon**, v. 28, n. 11, p. 1293-1301, 1990.

CHISARI, A. et al. Phospholipase A2-Related Snake Venom (from *Crotalus durissus terrificus*) Stimulates Neuroendocrine and Immune Functions: Determination of Different Sites of Action. **Endocrinology**, v. 139, n. 2, p. 617-625, 1998.

ARAGON, F., GUBENSEK, F. Bothrops asper venom from the Atlantic and Pacific zones of Costa Rica. **Toxicon**, v. 19, n. 6, p. 797-805, 1981.

ARAÚJO, P. et al. Interlaboratory study for the establishment of Brazilian Bothrops Reference Venom and Antivenom for potency evaluation of Bothrops antivenom. **Biologicals**, v. 49, p. 1-5, Sep 2017. ISSN 1095-8320 (Electronic) 1045-1056 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28818424> >.

AYE, K. P. et al. Clinical and laboratory parameters associated with acute kidney injury in patients with snakebite envenomation: a prospective observational study from Myanmar. **BMC Nephrol**, v. 18, n. 1, p. 92, Mar 16 2017. ISSN 1471-2369 (Electronic) 1471-2369 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28302077> >.

BARBADO, J. et al. MCP-1 in urine as biomarker of disease activity in Systemic Lupus Erythematosus. **Cytokine**, v. 60, n. 2, p. 583-6, Nov 2012. ISSN 1096-0023 (Electronic) 1043-4666 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22857869> >.

BARONE, J. M. et al. Differential efficiency of simvastatin and lipoic acid treatments on Bothrops jararaca envenomation-induced acute kidney injury in mice. **Toxicon**, v. 57, n. 1, p. 148-56, Jan 2011. ISSN 1879-3150 (Electronic) 0041-0101 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21087618> >.

BARONE, J. M.; FREZZATTI, R.; SILVEIRA, P. F. Effects of N-acetyl-L-cysteine on redox status and markers of renal function in mice inoculated with Bothrops jararaca and Crotalus durissus terrificus venoms. **Toxicon**, v. 79, p. 1-10, Mar 2014. ISSN 1879-3150 (Electronic) 0041-0101 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24412461> >.

BELLOMO, R.; KELLUM, J. A.; RONCO, C. Acute kidney injury. **The Lancet**, v. 380, n. 9843, p. 756-766, 2012. ISSN 01406736.

BERNARDE, P. S. Changes in the Brazilian Poisonous Snake Classification and their implications in the medical literature. **Gazeta Medica da Bahia**, v. 81, n. 1, p. 55-63, Jan-Jun 2011.

BESBAS, N. et al. MCP1 2518 A/G polymorphism affects progression of childhood focal segmental glomerulosclerosis. **Ren Fail**, v. 37, n. 9, p. 1435-9, 2015. ISSN 1525-6049 (Electronic) 0886-022X (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26335292> >.

BIANCONI, V. et al. The regulation and importance of monocyte chemoattractant protein-1. v. 25, n. 1, p. 44-51, 2018. ISSN 1065-6251.

BOCHNER, R. The international view of envenoming in Brazil: myths and realities. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, v. 19, p. 29, 2013. Available at: < <http://www.jvat.org/content/19/1/29> >.

BOER-LIMA, P. A. et al. Bothrops moojeni snake venom-induced renal glomeruli changes in rat. v. 67, n. 2, p. 217-222, 2002. ISSN 0002-9637.

BONVENTRE, J. V. Kidney injury molecule-1 (KIM-1): a urinary biomarker and much more. **Nephrol Dial Transplant**, v. 24, n. 11, p. 3265-8, Nov 2009. ISSN 1460-2385 (Electronic) 0931-0509 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19318357> >.

BOONPUCKNAVIG, V. S. A. V. Glomerular Changes in Tropical Viper Bite in Man. **Toxicon**, v. 3, p. 401-403, 1983.

BORREGAARD, N.; COWLAND, J. B. J. B. Granules of the human neutrophilic polymorphonuclear leukocyte. v. 89, n. 10, p. 3503-3521, 1997. ISSN 0006-4971.

MINISTÉRIO DA SAÚDE DO BRASIL. **Guia de vigilância epidemiológica** 6a. Brasilia, DF, Brazil: 2005. ISBN 85-334-1047-6. Available at: < www.saude.gov.br/svs >.

BUCARETCHI, F. et al. Thrombotic microangiopathy following Bothrops jararaca snakebite: case report. **Clin Toxicol (Phila)**, p. 1-6, Nov 16 2018. ISSN 1556-9519 (Electronic) 1556-3650 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30444155> >.

CARDOSO, G. T. **Ação do Veneno de Bothrops moojeni e sua fracão L- aminoácido oxidase, submetida ao tratamento com raios Gama de 60 CO, em Leishmania spp.** 1999. (Mestre em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear). INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES - Autarquia associada à Universidade de São Paulo, Universidade de Sao Paulo, São Paulo.

AMARAL, C. F. et al. [Acute Kidney Injury secondary to Bothropic and Crotalic Ophidic Accident. Analysis of 63 cases.]Insuficiencia renal Aguda secundaria a accidentes ofidicos bothropico e crotalico. Analise de 63 casos. **Rev Inst Med Trop Sao Paulo**, v. 28, n. 4, p. 220-227, julho-agosto, 1986 1986.

CARRASCO, P. A. et al. Morphology, phylogeny and taxonomy of South American bothropoid pitvipers (Serpentes, Viperidae). **Zoologica Scripta**, v. 41, n. 2, p. 109-124, 2012. ISSN 03003256.

PEDROSA, D. C. et al. Urinary KIM-1 in children undergoing nephrotoxic antineoplastic treatment: a prospective cohort study. **Pediatr Nephrol**, v. 30, n. 12, p. 2207-13, Dec 2015. ISSN 1432-198X (Electronic) 0931-041X (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26248472> >.

CHADHA, V. et al. Measurement of urinary concentration: a critical appraisal of methodologies. v. 16, n. 4, p. 374-382, 2001. ISSN 0931-041X.

CHIPPAUX, J. P. Incidence and mortality due to snakebite in the Americas. **PLoS Negl Trop Dis**, v. 11, n. 6, p. e0005662, Jun 2017. ISSN 1935-2735 (Electronic) 1935-2727 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28636631> >.

CHOI, M. J.; ZIYADEH, F. N. The utility of the transtubular potassium gradient in the evaluation of hyperkalemia. **J Am Soc Nephrol**, v. 19, n. 3, p. 424-6, Mar 2008. ISSN 1533-3450 (Electronic) 1046-6673 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18216310> >.

CHUGH, K. S. Snake-bite-induced acute renal failure in India. **Kidney International**, v. 35, n. 3, p. 891-907, 1989. ISSN 00852538.

COCA, S. G.; SINGANAMALA, S.; PARIKH, C. R. Chronic kidney disease after acute kidney injury: a systematic review and meta-analysis. **Kidney Int**, v. 81, n. 5, p. 442-8, Mar 2012. ISSN 1523-1755 (Electronic) 0085-2538 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22113526> >.

COLLARES-BUZATO, C. B.; DA CRUZ-HOFLING, M. A. Disarray of glomerular and tubular cell adhesion molecules in the course of experimental Bothrops moojeni envenomation. **Toxicon**, v. 78, p. 41-6, Feb 2014. ISSN 1879-3150 (Electronic) 0041-0101 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24291462> >.

COSTA H.C. AND BERNILS, R. S. Répteis do Brasil e suas Unidades Federativas: Lista de espécies. **Herpetologia Brasileira**, v. 7, p. 11-57, 2018. ISSN ISSN: 2316-4670.

CRUZ, L. S. et al. Snakebite envenomation and death in the developing world. v. 19, n. 1, p. 42, 2009. ISSN 1049-510X.

CUPO P. et al. [**Ophidic Accidents: analysis of 102 cases**] **Acidentes ofídicos: análise de 102 casos**. XXI Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. Sao Paulo, Brazil: 23-24 p. 1985.

DANIS, R. et al. Snakebite-induced acute kidney injury: data from Southeast Anatolia. **Ren Fail**, v. 30, n. 1, p. 51-5, 2008. ISSN 0886-022X (Print) 0886-022X (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18197543> >.

DANTAS, R. T. et al. l-amino acid oxidase from Bothrops marajoensis causes nephrotoxicity in isolated perfused kidney and cytotoxicity in MDCK renal cells. **Toxicon**, v. 104, p. 52-6, Sep 15 2015. ISSN 1879-3150 (Electronic) 0041-0101 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26263888> >.

DANTAS, R. T. et al. Evaluation of KIM-1 as an early biomarker of snakebite-induced AKI in mice. **Toxicon**, v. 151, p. 24-28, Sep 1 2018. ISSN 1879-3150 (Electronic) 0041-0101 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29909065> >.

DAVID L. HARDY, S. Bothrops asper (Viperidae) Snakebite and Field Researchers in Middle America. **Biotropica**, v. 26, n. 2, p. 198-207, 1994.

MODESTO, J. C. et al. BE-I-PLA2, a novel acidic phospholipase A2 from Bothrops erythromelas venom: isolation, cloning and characterization as potent anti-platelet and inductor of prostaglandin I2 release by endothelial cells. **Biochem Pharmacol**, v. 72, n. 3, p. 377-84, Jul 28 2006. ISSN 0006-2952 (Print) 0006-2952 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16750518> >.

CASTRO, I. et al. Bothrops venom induces direct renal tubular injury: role for lipid peroxidation and prevention by antivenom. **Toxicon**, v. 43, n. 7, p. 833-9, Jun 1 2004. ISSN 0041-0101 (Print) 0041-0101 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15284018> >.

GEUS, H. R. et al. The cardiac surgery-associated neutrophil gelatinase-associated lipocalin (CSA-NGAL) score: A potential tool to monitor acute tubular damage. **J Thorac Cardiovasc Surg**, v. 151, n. 6, p. 1476-81, Jun 2016. ISSN 1097-685X (Electronic) 0022-5223 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26952930> >.

MORAIS, I. C. et al. Bothrops leucurus venom induces nephrotoxicity in the isolated perfused kidney and cultured renal tubular epithelia. **Toxicon**, v. 61, p. 38-46, Jan 2013. ISSN 1879-3150 (Electronic) 0041-0101 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23127898> >.

NEVES, F. M. et al. Fibroblast growth factor 23, endothelium biomarkers and acute kidney injury in critically-ill patients. **J Transl Med**, v. 17, n. 1, p. 121, Apr 11 2019. ISSN 1479-5876 (Electronic) 1479-5876 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30971270> >.

OLIVEIRA, R. A. et al. Renal tubular dysfunction in patients with American cutaneous leishmaniasis. v. 80, n. 10, p. 1099-1106, 2011. ISSN 0085-2538.

ORNELLAS STRAPAZZON, J. et al. Systemic oxidative stress in victims of Bothrops snakebites. **Journal of Applied Biomedicine**, v. 13, n. 2, p. 161-167, 2015. ISSN 1214021X 12140287.

QUEIROZ, M. R. et al. The role of platelets in hemostasis and the effects of snake venom toxins on platelet function. **Toxicon**, v. 133, p. 33-47, Jul 2017. ISSN 1879-3150 (Electronic) 0041-0101 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28435120> >.

SOUSA, F. C. et al. Bothrops erythromelas venom induces apoptosis on renal tubular epithelial cells. **Toxicon**, v. 118, p. 82-5, Aug 2016. ISSN 1879-3150 (Electronic) 0041-0101 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27112269> >.

DESHMANE, S. L. et al. Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1): an overview. **J Interferon Cytokine Res**, v. 29, n. 6, p. 313-26, Jun 2009. ISSN 1557-7465 (Electronic) 1079-9907 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19441883> >.

DEVARAJAN, P. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL): a new marker of kidney disease. **Scand J Clin Lab Invest Suppl**, v. 241, p. 89-94, 2008. ISSN 0085-591X (Print)0085-591X (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18569973> >.

DING, Y. et al. Composite urinary biomarkers to predict pathological tubulointerstitial lesions in lupus nephritis. v. 27, n. 11, p. 1778-1789, 2018. ISSN 0961-2033.

EDELSTEIN, C. L. Acute Kidney Injury: Pathogenesis, Diagnosis and Management. In: SCHRIER, R. W. (Ed.). **Renal and Electrolyte Disorders**. 8. China: Wolters Kluwer, 2018. chap. 10, p.325-400. ISBN 9781496340245.

EDGARDO MORENO, A. A., MANUEL SANCHEZ AND JOSE MARIA GUTIERREZ. A New Method for the detection of phospholipase A2 variants: Identification of Isozymes in the venoms of newborn and adult Bothrops asper (Terciopelo) snakes. **Toxicon**, v. 26, n. 4, p. 363-371, 1988.

BURDMANN, E. A. et al. Snakebite-induced Acute Renal Failure: An Experimental Model. **The American Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 48, n. 1, p. 82-88, 1993.

ENDRE, Z. H. Assessing Renal Recovery after Acute Kidney Injury: Can Biomarkers Help? **Nephron**, v. 140, n. 2, p. 86-89, 2018. ISSN 2235-3186 (Electronic) 1660-8151 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30153675> >.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATISTICA. **Projeção da população do Brasil e das Unidades da Federação**. Brasil 2019. Available at: < <http://ces.ibge.gov.br/base-de-dados/metadados/ministerio-da-saude/sistema-de-informacoes-de-agrivos-denotificacao-sinan> >. Acesso em 29/05/2019.

ESTEVAO-COSTA, M. I. et al. Neutralization of toxicological activities of medically-relevant Bothrops snake venoms and relevant toxins by two polyvalent bothropic antivenoms produced in Peru and Brazil. **Toxicon**, v. 122, p. 67-77, Nov 2016. ISSN 1879-3150 (Electronic) 0041-0101 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27641748> >.

ETHIER, J. H. et al. The transtubular potassium concentration in patients with hypokalemia and hyperkalemia. v. 15, n. 4, p. 309-315, 1990. ISSN 0272-6386.

EVANGELISTA, I. L. et al. Renal and cardiovascular effects of Bothrops marajoensis venom and phospholipase A2. **Toxicon**, v. 55, n. 6, p. 1061-70, Jun 1 2010. ISSN 1879-3150 (Electronic) 0041-0101 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20036276> >.

BUCARETCHI, F. et al. Snakebites by Bothrops spp in children in Campinas, Sao Paulo, Brazil. **Rev Inst Med Trop Sao Paulo**, v. 43, n. 6, p. 329-333, Nov- Dec 2001 2001.

MANDELBAUM, F.R. et al. Immunological Comparison of Hemorrhagic Principles Present in Venoms of the Crotalinae and Viperinae Subfamilies. **Toxicon**, v. 27, n. 2, p. 169-177, 1989.

FERNANDES, C. M. et al. Inflammatory effects of BaP1 a metalloproteinase isolated from Bothrops asper snake venom: leukocyte recruitment and release of cytokines. **Toxicon**, v. 47, n. 5, p. 549-59, Apr 2006. ISSN 0041-0101 (Print) 0041-0101 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16529786> >.

FERREIRA, F. B. et al. Molecular cloning and pharmacological properties of an acidic PLA2 from Bothrops pauloensis snake venom. v. 5, n. 12, p. 2403-2419, 2013.

FLOWER, D. R. The lipocalin protein family : structure and function. **Biochem J**, v. 318, p. 1-14, 1996.

FONTELES, H. S. A. M. A. M. C. The Effect of Botlirops Jararaca Venom on Rat Kidney After Short-Term Exposure: Preliminary Results. **Pharmacology & Toxicology**, v. 85, p. 198-200, 1999.

FRANCA, F. O. et al. Envenoming by Bothrops jararaca in Brazil: association between venom antigenaemia and severity at admission to hospital. **Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 97, p. 312-317, 2003.

FUENTES, Y. et al. Urinary MCP-1/creatinine in Henoch-Schonlein purpura and its relationship with nephritis. **Pediatr Nephrol**, v. 29, n. 6, p. 1047-52, Jun 2014. ISSN 1432-198X (Electronic) 0931-041X (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24414608> >.

FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAUDE. [Guidance of Diagnosis and Treatment of Accidents by Venomous Animals] **Manual de Diagnostico e Tratamento de Acidentes por Animais Peconhentos**. Brasilia: 2001. 37 - 44.

GN, Y. M.; PONNUSAMY, A.; THIMMA, V. Snakebite Induced Thrombotic Microangiopathy Leading to Renal Cortical Necrosis. **Case Rep Nephrol**, v. 2017, p. 1348749, 2017. ISSN 2090-6641 (Print) 2090-665X (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28884034> >.

GOIS, P. H. et al. Allopurinol attenuates acute kidney injury following Bothrops jararaca envenomation. **PLoS Negl Trop Dis**, v. 11, n. 11, p. e0006024, Nov 2017. ISSN 1935-2735 (Electronic) 1935-2727 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29155815> >.

GONCALVES-MACHADO, L. et al. Combined venomomics, venom gland transcriptomics, bioactivities, and antivenomics of two Bothrops jararaca populations from geographic isolated regions within the Brazilian Atlantic rainforest. **J Proteomics**, v. 135, p. 73-89, Mar 1 2016. ISSN 1876-7737 (Electronic) 1874-3919 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25968638> >.

GUERREIRO, J. R. et al. Argininosuccinate synthetase is a functional target for a snake venom anti-hypertensive peptide: role in arginine and nitric oxide production. **J Biol Chem**, v. 284, n. 30, p. 20022-33, Jul 24 2009. ISSN 0021-9258 (Print) 0021-9258 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19491403> >.

GUNATILAKE, M. et al. Direct nephrotoxic effect of Sri Lankan Russell's viper venom – an experimental study using *in vitro* models. **Ceylon Journal of Medical Science**, v. 45, n. 2, p. 59, 2002. ISSN 0011-2232.

GUNDAPPA, R. K. et al. Snakebite Induced Acute Interstitial Nephritis: Report of a Rare Entity. **Renal Failure**, v. 24, n. 3, p. 369-372, 2009. ISSN 0886-022X 1525-6049.

GUTIÉRREZ, J. M. et al. Snakebite envenoming. v. 3, p. 17063, 2017. ISSN 2056-676X.

GUTIERREZ, J. M.; ESCALANTE, T.; RUCAVADO, A. Experimental pathophysiology of systemic alterations induced by Bothrops asper snake venom. **Toxicon**, v. 54, n. 7, p. 976-87, Dec 01 2009. ISSN 1879-3150 (Electronic) 0041-0101 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19303034> >.

GUTIERREZ, J. M. et al. Hemorrhage Caused by Snake Venom Metalloproteinases: A Journey of Discovery and Understanding. **Toxins (Basel)**, v. 8, n. 4, p. 93, Mar 26 2016. ISSN 2072-6651 (Electronic) 2072-6651 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27023608> >.

GUTIÉRREZ, J. M.; ESCALANTE, T.; RUCAVADO, A. J. T. Experimental pathophysiology of systemic alterations induced by Bothrops asper snake venom. v. 54, n. 7, p. 976-987, 2009. ISSN 0041-0101.

GUTIERREZ, J. M. et al. Hemorrhage induced by snake venom metalloproteinases: biochemical and biophysical mechanisms involved in microvessel damage. **Toxicon**, v. 45, n. 8, p. 997-1011, Jun 15 2005. ISSN 0041-0101 (Print) 0041-0101 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15922771> >.

HALL, I. E. et al. IL-18 and urinary NGAL predict dialysis and graft recovery after kidney transplantation. **J Am Soc Nephrol**, v. 21, n. 1, p. 189-97, Jan 2010. ISSN 1533-3450 (Electronic) 1046-6673 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19762491> >.

HALLER, H. et al. Monocyte chemoattractant protein-1 and the kidney. v. 25, n. 1, p. 42-49, 2016. ISSN 1062-4821.

HAMZA, M. et al. Cost-Effectiveness of Antivenoms for Snakebite Envenoming in 16 Countries in West Africa. **PLoS Negl Trop Dis**, v. 10, n. 3, p. e0004568, Mar 2016. ISSN

1935-2735 (Electronic) 1935-2727 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27027633> >.

HANEMANN, A. L. et al. Monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1) in patients with chronic schistosomiasis mansoni: evidences of subclinical renal inflammation. **PLoS One**, v. 8, n. 11, p. e80421, 2013. ISSN 1932-6203 (Electronic) 1932-6203 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24265821> >.

HEPOKOSKI, M. et al. Ventilator-induced lung injury increases expression of endothelial inflammatory mediators in the kidney. **Am J Physiol Renal Physiol**, v. 312, n. 4, p. F654-F660, Apr 1 2017. ISSN 1522-1466 (Electronic) 1522-1466 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28365585> >.

HERING, M. M. et al. [Chapter IV: Accidents due to Venomous Animals - Venomous Serpents]Capitulo IV: Acidentes por Animais Peconhentos: Serpentes Peconhentas. In: FACULDADE DE MEDICINA, R. P., SAO PAULO. (Ed.). **Urgencias e Emergencias Dermatologicas e Toxicologicas**. Sao Paulo, Brasil, v.36, 2003. p.480-489.

HOLMES, J. et al. Utility of electronic AKI alerts in intensive care: A national multicentre cohort study. **J Crit Care**, v. 44, p. 185-190, Apr 2018. ISSN 1557-8615 (Electronic) 0883-9441 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29145061> >.

HROVAT, A. et al. Evaluation of snake envenomation-induced renal dysfunction in dogs using early urinary biomarkers of nephrotoxicity. **Vet J**, v. 198, n. 1, p. 239-44, Oct 2013. ISSN 1532-2971 (Electronic) 1090-0233 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23916665> >.

HUANG, C. Y. et al. Predictive value of plasma neutrophil gelatinase-associated lipocalin for acute renal failure in patients with severe sepsis. **J Chin Med Assoc**, v. 79, n. 8, p. 428-34, Aug 2016. ISSN 1728-7731 (Electronic) 1726-4901 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27234975> >.

HUANG, Y. et al. Baseline urinary KIM-1 concentration in detecting acute kidney injury should be interpreted with patient pre-existing nephropathy. **Pract Lab Med**, v. 15, p. e00118,

May 2019. ISSN 2352-5517 (Print) 2352-5517 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30989103> >.

ISBISTER, G. et al. Diagnostic 20-min whole blood clotting test in Russell's viper envenoming delays antivenom administration. v. 106, n. 10, p. 925-932, 2013. ISSN 1460-2393.

ISBISTER, G. et al. A randomized controlled trial of fresh frozen plasma for treating venom-induced consumption coagulopathy in cases of Australian snakebite (ASP-18). **J Thromb Haemost**, v. 11, n. 7, p. 1310-8, Jul 2013. ISSN 1538-7836 (Electronic) 1538-7836 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23565941> >.

CHIPPAUX, J. P., WILLIAMS, V. WHITE, G. Review Article: Snake Venom Variability: Methods of Study, Results and Interpretation. **Toxicon**, v. 29, n. 11, p. 1279-1303, 1991.

JHA, V.; PARAMESWARAN, S. Community-acquired acute kidney injury in tropical countries. **Nat Rev Nephrol**, v. 9, n. 5, p. 278-90, May 2013. ISSN 1759-507X (Electronic) 1759-5061 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23458924> >.

JIMÉNEZ-PORRAS, J. M. Intraspecific Variations in Composition of Venom of the jumping Viper, *Bothrops nummifera*. **Toxicon**, v. 2, p. 187-195, 1964.

JIMÉNEZ-PORRAS, J. M. **Differentiation between *Bothrops nummifer* and *Bothrops picadoi* by means of the biochemical properties of their venoms.** First International Symposium on Animal Toxins. PRESS, N. Y. P. New Jersey, U.S.: 307-321 p. 1966.

CARDOSO, J. L. et al. Distúrbios Hemostáticos em Envenenamentos por Animais Peçonhentos no Brasil. In: SARVIER (Ed.). **Animais Peçonhentos do Brasil: biologia, clínica e terapêutica dos acidentes**. 2. São Paulo, 2009. chap. 32, p.331-351. ISBN 978-85-7378-194-6.

JORGE, L. A. R. M. T. [Accidents by *Bothrops* genera serpents: 3.139 cases] Acidente por Serpentes do Gênero *Bothrops*: série de 3.139 casos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 30, n. 6, p. 475-480, nov-dez, 1997 1997.

JORGE, M. et al. A randomized 'blinded' comparison of two doses of antivenom in the treatment of Bothrops envenoming in São Paulo, Brazil. v. 89, n. 1, p. 111-114, 1995. ISSN 1878-3503.

JORGE, R. J. et al. Differences between renal effects of venom from two Bothrops jararaca populations from southeastern and southern Brazil. **Toxicon**, v. 125, p. 84-90, Jan 2017. ISSN 1879-3150 (Electronic) 0041-0101 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27867094> >.

JORGE, R. J. et al. Venomics and antivenomics of Bothrops erythromelas from five geographic populations within the Caatinga ecoregion of northeastern Brazil. **J Proteomics**, v. 114, p. 93-114, Jan 30 2015. ISSN 1876-7737 (Electronic) 1874-3919 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25462430> >.

GENE, J. A. et al. Comparative Study on Coagulant, Defibrinating, Fibrinolytic and Fibrinogenolytic Activities of Costa Rican Crotaline Snake Venoms and their Neutralization by a polyvalent antivenom. **Toxicon**, v. 27, n. 8, p. 841-848, 1989.

JULIETTE, C. **Inflammatory response to naturally occurring "Tiger snake" envenomation in dogs with a special emphasis on IL-6**. 2016. 110 (DOCTEUR VETERINAIRE). Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, Université Paul-Sabatier de Toulouse, France.

IDE, L. et al. Identification and cloning of snake venom vascular endothelial growth factor (svVEGF) from Bothrops erythromelas pitviper. **Toxicon**, v. 44, n. 5, p. 571-5, Oct 2004. ISSN 0041-0101 (Print) 0041-0101 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15450933> >.

MIYASHITA, K. et al. Natriuretic Peptides/cGMP/cGMP-Dependent Protein Kinase Cascades Promote Muscle Mitochondrial Biogenesis and Prevent Obesity. **Diabetes**, v. 58, p. 2880-2892, 2009.

KELLUM, J. A. et al. Kidney disease: improving global outcomes (KDIGO) acute kidney injury work group. KDIGO clinical practice guideline for acute kidney injury. v. 2, n. 1, p. 1-138, 2012. ISSN 2157-1724.

KHREBA, N. A. et al. Kidney Injury Molecule 1 (KIM-1) as an Early Predictor for Acute Kidney Injury in Post-Cardiopulmonary Bypass (CPB) in Open Heart Surgery Patients. **Int J Nephrol**, v. 2019, p. 6265307, 2019. ISSN 2090-214X (Print). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30993020> >.

CARDOSO, K. C. et al. A transcriptomic analysis of gene expression in the venom gland of the snake *Bothrops alternatus* (urutu). **BMC Genomics**, v. 11, n. 605, 2010. Available at: < <http://www.biomedcentral.com/1471-2164/11/605> >.

KIM, M. J.; TAM, F. W. Urinary monocyte chemoattractant protein-1 in renal disease. **Clin Chim Acta**, v. 412, n. 23-24, p. 2022-30, Nov 20 2011. ISSN 1873-3492 (Electronic) 0009-8981 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21851811> >.

KISHIMOTO, T. IL-6: From laboratory to bedside. **Clinical Reviews in Allergy and Immunology**, v. 28, p. 177-185, 2005.

KLEYMAN, T. R.; CARATTINO, M. D.; HUGHEY, R. P. ENaC at the cutting edge: regulation of epithelial sodium channels by proteases. **J Biol Chem**, v. 284, n. 31, p. 20447-51, Jul 31 2009. ISSN 1083-351X (Electronic) 0021-9258 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19401469> >.

KOSCINCZUK, P. O., H.; DAILLARD, B.; MUSSART, N.B. Biochemical, histopathological and immunohistochemical evaluation of the renal damage caused by *Bothrops neuwiedii* venom in rats. **Rev. vet**, v. 18, n. 1, p. 14-19, 2007.

KOUYOUMDJIAN, J. A., POLIZELLI, C., LOBO, S. M. [Ophidic Accidents caused by *Bothrops moojeni* in Sao Jose do Rio Preto, Sao Paulo] Acidentes ofídicos causados por *Bothrops moojeni* na Região de São José do Rio Preto-SP. **Arq Bras Med**, v. 64, n. 64, p. 164-171., 1990.

KOYNER, J. L. et al. Biomarkers predict progression of acute kidney injury after cardiac surgery. **J Am Soc Nephrol**, v. 23, n. 5, p. 905-14, May 2012. ISSN 1533-3450 (Electronic) 1046-6673 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22383693> >.

KUBO, A. I. et al. In vitro effects of Habu snake venom on cultured mesangial cells. **Nephron**, v. 92, p. 665-672, 2002.

RIBEIRO, L. A. et al. [Deaths caused by venomous snakes in the State of São Paulo: evaluation of 43 cases from 1988 to 1993]. **Rev Ass Med Brasil**, v. 44, n. 4, p. 312-318, 1998.

LAINES, J. et al. Toxicity of Bothrops sp snake venoms from Ecuador and preclinical assessment of the neutralizing efficacy of a polyspecific antivenom from Costa Rica. **Toxicon**, v. 88, p. 34-7, Sep 2014. ISSN 1879-3150 (Electronic) 0041-0101 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24950051> >.

LAMEIRE, N.; VAN BIESEN, W.; VANHOLDER, R. Acute renal failure. **The Lancet**, v. 365, n. 9457, p. 417-430, 2005. ISSN 01406736.

LAN, L. et al. Monocyte Chemoattractant Protein-1, Fractalkine, and Receptor for Advanced Glycation End Products in Different Pathological Types of Lupus Nephritis and Their Value in Different Treatment Prognoses. **PLoS One**, v. 11, n. 7, p. e0159964, 2016. ISSN 1932-6203 (Electronic) 1932-6203 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27458981> >.

LEVEY, A. S. et al. A new equation to estimate glomerular filtration rate. v. 150, n. 9, p. 604-612, 2009. ISSN 0003-4819.

LIANGOS, O. et al. Urinary N-acetyl-beta-(D)-glucosaminidase activity and kidney injury molecule-1 level are associated with adverse outcomes in acute renal failure. **J Am Soc Nephrol**, v. 18, n. 3, p. 904-12, Mar 2007. ISSN 1046-6673 (Print) 1046-6673 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17267747> >.

LIBORIO, A. B. et al. Endothelial glycocalyx damage is associated with leptospirosis acute kidney injury. **Am J Trop Med Hyg**, v. 92, n. 3, p. 611-6, Mar 2015. ISSN 1476-1645

(Electronic) 0002-9637 (Linking). Available at: <
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25624405>>.

LINARDI, A. et al. Histological and functional renal alterations caused by *Bothrops alternatus* snake venom: expression and activity of Na⁺/K⁺-ATPase. **Biochim Biophys Acta**, v. 1810, n. 9, p. 895-906, Sep 2011. ISSN 0006-3002 (Print) 0006-3002 (Linking). Available at: <
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21704674>>.

LINDBERG, S. et al. Plasma Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin Reflects Both Inflammation and Kidney Function in Patients with Myocardial Infarction. **Cardiorenal Med**, v. 6, n. 3, p. 180-90, May 2016. ISSN 1664-3828 (Print) 1664-5502 (Linking). Available at: <
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27275154>>.

LING, W. et al. Urinary IL-18 and NGAL as early predictive biomarkers in contrast-induced nephropathy after coronary angiography. **Nephron Clin Pract**, v. 108, n. 3, p. c176-81, 2008. ISSN 1660-2110 (Electronic) 1660-2110 (Linking). Available at: <
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18287807>>.

VALE, L. H. et al. Neutralization of Pharmacological and Toxic Activities of *Bothrops* Snake Venoms by *Schizolobium parahyba* (Fabaceae) Aqueous Extract and Its Fractions. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, v. 103, p. 104-107, 2008.

LIMA, et al. Ophidian accident-related multi-organ failure: a case report. **Rev Bras Ter Intensiva**, v. 22, n. 4, p. 399-402, 2010.

JORGE, M. T. et al. Prognostic factors for amputation in the case of envenoming by snakes of the *Bothrops* genus (Viperidae). **Annals of Tropical Medicine & Parasitology**, v. 93, n. 4, p. 401-408, 1999.

BRAGA, M. D. et al. Purification and renal effects of phospholipase A(2) isolated from *Bothrops insularis* venom. **Toxicon**, v. 51, n. 2, p. 181-90, Feb 2008. ISSN 0041-0101 (Print) 0041-0101 (Linking). Available at: <
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17953979>>.

MACIEL, A. T. et al. Simple blood and urinary parameters measured at ICU admission may sign for AKI development in the early postoperative period: a retrospective, exploratory study. **Ren Fail**, v. 38, n. 10, p. 1607-1615, Nov 2016. ISSN 1525-6049 (Electronic) 0886-022X (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27101843> >.

MACIEL, A. T.; PARK, M.; MACEDO, E. J. R. B. D. T. I. Fractional excretion of potassium in the course of acute kidney injury in critically ill patients: potential monitoring tool? , v. 26, n. 2, p. 143-147, 2014. ISSN 0103-507X.

MADUWAGE, K.; ISBISTER, G. K. Current treatment for venom-induced consumption coagulopathy resulting from snakebite. **PLoS Negl Trop Dis**, v. 8, n. 10, p. e3220, Oct 2014. ISSN 1935-2735 (Electronic) 1935-2727 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25340841> >.

MALAQUE, C. M. S.; DUAYER, I. F.; SANTORO, M. L. Acute kidney injury induced by thrombotic microangiopathy in two cases of Bothrops envenomation. **Clin Toxicol (Phila)**, p. 1-4, Nov 15 2018. ISSN 1556-9519 (Electronic) 1556-3650 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30430871> >.

MAMEDE, C. C. et al. Comparative analysis of local effects caused by Bothrops alternatus and Bothrops moojeni snake venoms: enzymatic contributions and inflammatory modulations. **Toxicon**, v. 117, p. 37-45, Jul 2016. ISSN 1879-3150 (Electronic) 0041-0101 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26975252> >.

MUREA, M. et al. Relationships between serum MCP-1 and subclinical kidney disease: African American-Diabetes Heart Study. **BMC Nephrol**, v. 13, p. 148, 2012.

MARINHO, A. D. et al. Bothropoides pauloensis venom effects on isolated perfused kidney and cultured renal tubular epithelial cells. **Toxicon**, v. 108, p. 126-33, Dec 15 2015. ISSN 1879-3150 (Electronic) 0041-0101 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26410111> >.

MARTENSSON, J.; BELLOMO, R. The rise and fall of NGAL in acute kidney injury. **Blood Purif**, v. 37, n. 4, p. 304-10, 2014. ISSN 1421-9735 (Electronic) 0253-5068 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25170751> >.

MÅRTENSSON, J.; BELLOMO, R. J. B. P. The rise and fall of NGAL in acute kidney injury. v. 37, n. 4, p. 304-310, 2014. ISSN 0253-5068.

MARTINES, M. S. et al. Effects of Schizolobium parahyba extract on experimental Bothrops venom-induced acute kidney injury. **PLoS One**, v. 9, n. 2, p. e86828, 2014. ISSN 1932-6203 (Electronic) 1932-6203 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24551041> >.

MARTINS, A. M., et al. Action of anti-bothropic factor isolated from Didelphis marsupialis on renal effects of Bothrops erythromelas venom. **Toxicon**, v. 46, n. 6, p. 595-9, Nov 2005. ISSN 0041-0101 (Print) 0041-0101 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16168450> >.

MCGUIRE, T. R. et al. IL6 Plasma Concentrations in Patients with Sepsis Receiving SLED and Antibiotics: A Predictor for Survival. **In vivo**, v. 28, p. 1131-1134, 2014.

MCWILLIAM, S. J. et al. Mechanism-based urinary biomarkers to identify the potential for aminoglycoside-induced nephrotoxicity in premature neonates: a proof-of-concept study. **PLoS One**, v. 7, n. 8, p. e43809, 2012. ISSN 1932-6203 (Electronic) 1932-6203 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22937100> >.

MELLO, S. M. et al. Renal kinetics of Bothrops alternatus (Urutu) snake venom in rats. **Toxicon**, v. 55, n. 2-3, p. 470-80, Feb-Mar 2010. ISSN 1879-3150 (Electronic) 0041-0101 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19818360> >.

MENDES, M. M. et al. Anti-snake venom properties of Schizolobium parahyba (Caesalpinoideae) aqueous leaves extract. **Phytother Res**, v. 22, n. 7, p. 859-66, Jul 2008. ISSN 1099-1573 (Electronic) 0951-418X (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18567056> >.

MENESES G. C. et al. Urinary monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1) in leprosy patients: increased risk for kidney damage. **BMC Infectious Diseases**, v. 14, p. 451, 2014. Available at: < <http://www.biomedcentral.com/1471-2334/14/451> >.

MENESES, G. C. et al. Visceral leishmaniasis-associated nephropathy in hospitalised Brazilian patients: new insights based on kidney injury biomarkers. **Trop Med Int Health**, v. 23, n. 10, p. 1046-1057, Oct 2018. ISSN 1365-3156 (Electronic) 1360-2276 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29987885> >.

MENESES, G. C. et al. Urinary monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1) in leprosy patients: increased risk for kidney damage. v. 14, n. 1, p. 451, 2014. ISSN 1471-2334.

MENEZES, R. R. et al. Involvement of Nitric Oxide on Bothropoides insularis Venom Biological Effects on Murine Macrophages In Vitro. **PLoS One**, v. 11, n. 3, p. e0151029, 2016. ISSN 1932-6203 (Electronic) 1932-6203 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26974665> >.

MEVES, H. Arachidonic acid and ion channels: an update. **Br J Pharmacol**, v. 155, n. 1, p. 4-16, Sep 2008. ISSN 0007-1188 (Print) 0007-1188 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18552881> >.

MINISTÉRIO DA SAÚDE DO BRASIL, S. **DATASUS Tecnologia da Informação a Serviço do SUS**. Anual. Brasil: SINAN- Sistema de Informação de Agravos de Notificação 2019. Available in < <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sinanet/cnv/animaisbr.def> >. Acesso em 20/05/2019.

MOHAMED, F. et al. Kidney damage biomarkers detect acute kidney injury but only functional markers predict mortality after paraquat ingestion. **Toxicol Lett**, v. 237, n. 2, p. 140-50, Sep 02 2015. ISSN 1879-3169 (Electronic)0378-4274 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26071311> >.

MOHAMED, F.; ENDRE, Z. H.; BUCKLEY, N. A. Role of biomarkers of nephrotoxic acute kidney injury in deliberate poisoning and envenomation in less developed countries. **Br J Clin**

Pharmacol, v. 80, n. 1, p. 3-19, Jul 2015. ISSN 1365-2125 (Electronic) 0306-5251 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26099916> >.

MOHAMED, F. et al. Mechanism-specific injury biomarkers predict nephrotoxicity early following glyphosate surfactant herbicide (GPSH) poisoning. **Toxicol Lett**, v. 258, p. 1-10, Sep 06 2016. ISSN 1879-3169 (Electronic) 0378-4274 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27288352> >.

MOREIRA, V. et al. Local inflammatory events induced by Bothrops atrox snake venom and the release of distinct classes of inflammatory mediators. **Toxicon**, v. 60, n. 1, p. 12-20, Jul 2012. ISSN 1879-3150 (Electronic) 0041-0101 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22465491> >.

MOREIRA, V. et al. The crucial role of the MyD88 adaptor protein in the inflammatory response induced by Bothrops atrox venom. **Toxicon**, v. 67, p. 37-46, Jun 1 2013. ISSN 1879-3150 (Electronic) 0041-0101 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23474268> >.

_____. The role of TLR2 in the acute inflammatory response induced by Bothrops atrox snake venom. **Toxicon**, v. 118, p. 121-8, Aug 2016. ISSN 1879-3150 (Electronic) 0041-0101 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27109323> >.

MORENO, J. A. et al. AKI associated with macroscopic glomerular hematuria: clinical and pathophysiologic consequences. **Clin J Am Soc Nephrol**, v. 7, n. 1, p. 175-84, Jan 2012. ISSN 1555-905X (Electronic) 1555-9041 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22096039> >.

MOURA-DA-SILVA, A. et al. Isolation and comparison of myotoxins isolated from venoms of different species of Bothrops snakes. v. 29, n. 6, p. 713-723, 1991. ISSN 0041-0101.

MOURA-DA-SILVA, A. M.; BALDO, C. Jararhagin, a hemorrhagic snake venom metalloproteinase from Bothrops jararaca. **Toxicon**, v. 60, n. 3, p. 280-9, Sep 1 2012. ISSN 1879-3150 (Electronic) 0041-0101 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22534074> >.

MUNSHI, R. et al. MCP-1 gene activation marks acute kidney injury. **J Am Soc Nephrol**, v. 22, n. 1, p. 165-75, Jan 2011. ISSN 1533-3450 (Electronic) 1046-6673 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21071523> >.

MURRAY, P. T. et al. Potential use of biomarkers in acute kidney injury: report and summary of recommendations from the 10th Acute Dialysis Quality Initiative consensus conference. **Kidney Int**, v. 85, n. 3, p. 513-21, Mar 2014. ISSN 1523-1755 (Electronic) 0085-2538 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24107851> >.

REZENDE, N. A., AMARAL, C. F., BAMBIRRA, E. M. Functional and Histopathological renal changes induced in rats by Bothrops jararaca venom. **Brazilian J Med Biol Res**, v. 22, p. 407-416, 1989.

SISTEMA DE INFORMACAO DE AGRAVOS DE NOTIFICACÃO. **Accidents due to Venomous Animals - Reported Cases in System of Diseases of Compulsory Declaration - Brazil [Acidentes por Animais peconhentos - Notificacoes registradas no Sistema de Informacao de Agravos de Notificacao - Brasil]**. Ministerio da Saúde do Brasil 2018. Available at < <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sinannet/cnv/animaisbr.def> >. Acesso em 15/05/2019.

OLUYOMBO, R. O. et al. Snakebite nephrotoxicity: A case report and review of the literature. **Tropical Journal of Medical Research**, v. 20, n. 1, p. 91, 2017. ISSN 1119-0388.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Snakebite Envenoming** 2017a. Available at: < <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs337/en/> >. Acesso em 28/04/2019.

_____. **Venomous snakes distribution and species risk categories** 2017b. Available at: < <http://apps.who.int/bloodproducts/snakeantivenoms/database/default.htm> > . Acesso em 28/04/2019.

SILVA, O. A., LOPEZ, M., GODOY, P. Intensive Care Unit Treatment of Acute Renal Failure following Snakebite. **The American Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 28, n. 2, p. 401-407, 1979.

OTERO-PATINO, R. Epidemiological, clinical and therapeutic aspects of Bothrops asper bites. **Toxicon**, v. 54, n. 7, p. 998-1011, Dec 01 2009. ISSN 1879-3150 (Electronic) 0041-0101 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19591857> >.

OTERO-PATINO, R. J. T. Epidemiological, clinical and therapeutic aspects of Bothrops asper bites. v. 54, n. 7, p. 998-1011, 2009. ISSN 0041-0101.

BARBOSA, P. S. et al. Renal toxicity of Bothrops moojeni snake venom and its main myotoxins. **Toxicon**, v. 40, p. 1427-1435, 2002.

PACHECO, U. P.; ZORTÉA, M. Snakebites in southwestern Goiás State, Brazil. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, v. 14, n. 1, p. 141-151, 2008. ISSN 1678-9199.

PALMER, B. F. Regulation of Potassium Homeostasis. **Clin J Am Soc Nephrol**, v. 10, n. 6, p. 1050-60, Jun 5 2015. ISSN 1555-905X (Electronic) 1555-9041 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24721891> >.

PANDEY, D. P.; GHIMIRE, A.; SHRESTHA, B. R. Retrospective Documentation of a Confirmed White-Lipped Green Pit Viper (*Trimeresurus albolabris* Gray, 1842) Bite in the South-Central Hills of Nepal. **Wilderness Environ Med**, v. 30, n. 1, p. 79-85, Mar 2019. ISSN 1545-1534 (Electronic) 1080-6032 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30737155> >.

PANEE, J. Monocyte Chemoattractant Protein 1 (MCP-1) in obesity and diabetes. **Cytokine**, v. 60, n. 1, p. 1-12, Oct 2012. ISSN 1096-0023 (Electronic) 1043-4666 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22766373> >.

PATRAO-NETO, F. C. et al. Dexamethasone antagonizes the in vivo myotoxic and inflammatory effects of Bothrops venoms. **Toxicon**, v. 69, p. 55-64, Jul 2013. ISSN 1879-3150 (Electronic) 0041-0101 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23416798> >.

BOER-LIMA, P. A. Bothrops moojeni snake venom-induced renal glomeruli changes in rat. **The American Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 67, n. 2, p. 217-222, 2002.

PEPIN, M. N. et al. Diagnostic performance of fractional excretion of urea and fractional excretion of sodium in the evaluations of patients with acute kidney injury with or without diuretic treatment. **Am J Kidney Dis**, v. 50, n. 4, p. 566-73, Oct 2007. ISSN 1523-6838 (Electronic) 0272-6386 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17900456> >.

PICKERING, J. W.; ENDRE, Z. H. J. B. P. The clinical utility of plasma neutrophil gelatinase-associated lipocalin in acute kidney injury. v. 35, n. 4, p. 295-302, 2013. ISSN 0253-5068.

PINHO, F. M.; YU, L.; BURDMANN, E. A. Snakebite-induced acute kidney injury in Latin America. **Semin Nephrol**, v. 28, n. 4, p. 354-62, Jul 2008. ISSN 0270-9295 (Print) 0270-9295 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18620958> >.

PINHO, F. M.; ZANETTA, D. M.; BURDMANN, E. A. Acute renal failure after Crotalus durissus snakebite: a prospective survey on 100 patients. **Kidney Int**, v. 67, n. 2, p. 659-67, Feb 2005. ISSN 0085-2538 (Print) 0085-2538 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15673314> >.

PINHO, F. M. O.; DE ALMEIDA BURDMANN, E. Fatal Cerebral Hemorrhage and Acute Renal Failure after Young Bothrops Jararacussu snake Bite. **Renal Failure**, v. 23, n. 2, p. 269-277, 2009. ISSN 0886-022X 1525-6049.

PINTO R. N. et al. [Clinical epidemiologic Study of 774 cases of ophidic accidents] Estudo clinico-epidemiologico de 774 casos de acidentes ofidicos. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 20, n. Suppl, p. 56, 1987.

POLIZELLI, J. A. K. C. Snake bites accidents caused by Bothrops moojeni: report of 37 cases. **Rev Inst Med Trop Sao Paulo**, v. 30, n. 6, p. 424-432, 1988. ISSN 1678-9946. . Available at: < <http://dx.doi.org/10.1590/S0036-46651988000600007> >.

_____. Snake bite accidents caused by Bothrops moojeni: clinical picture related to the animal length. **Rev Inst Med Trop Sao Paulo**, v. 31, n. 2, p. 84-90, March- April 1989. ISSN 1678-9946. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1590/S0036-46651989000200004> >.

PRAKASH, J.; SINGH, V. P. Changing picture of renal cortical necrosis in acute kidney injury in developing country. **World J Nephrol**, v. 4, n. 5, p. 480-6, Nov 6 2015. ISSN 2220-6124 (Print) 2220-6124 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26558184> >.

PRIYAMVADA, P. S. et al. Acute Interstitial Nephritis Following Snake Envenomation: A Single-Center Experience. **Wilderness Environ Med**, v. 27, n. 2, p. 302-6, Jun 2016. ISSN 1545-1534 (Electronic) 1080-6032 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26970860> >.

QUEIROZ LP, M. R. [Bothropic Accidents in Florianopolis] Acidente botrópico em Florianópolis. **Arq Catarinenses Med**, v. 18, p. 163-166, 1989.

MILANI JR, R. et al. Snake bites by the jararacucu (Bothrops jararacussu): clinicopathological studies of 29 proven cases in Sao Paulo State, Brazil. **Q J Med**, v. 90, p. 323-334, 1997.

OTERO, R. 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**, v. 40, p. 1107-1114, 2002.

MATSA, R. et al. Plasma and urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin in the diagnosis of new onset acute kidney injury in critically ill patients. **Critical Care**, v. 18, 2014.

MEHTA, R. et al. Acute Kidney Injury Network: report of an initiative to improve outcomes in acute kidney injury. **Crit Care Med**, v. 11, p. R31, 2007.

RESTREPO-ANGULO, I.; DE VIZCAYA-RUIZ, A.; CAMACHO, J. Ion channels in toxicology. **J Appl Toxicol**, v. 30, n. 6, p. 497-512, Aug 2010. ISSN 1099-1263 (Electronic) 0260-437X (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20583319> >.

REZENDE, N. et al. Functional and histopathological renal changes induced in rats by Bothrops jararaca venom. v. 22, n. 3, p. 407-416, 1989. ISSN 0100-879X.

RIBEIRO, L. et al. Obits by venomous snakes in the State of São Paulo: evaluation of 43 cases from 1988 to 1993. v. 44, n. 4, p. 312-318, 1998. ISSN 0104-4230.

RIBEIRO, L. A.; JORGE, M. T. J. R. D. S. B. D. M. T. Acidente por serpentes do gênero Bothrops: série de 3.139 casos. v. 30, n. 6, p. 475-480, 1997. ISSN 0037-8682.

OLIVEIRA, R. B., RIBEIRO, L. A., JORGE, M. T. Risk factors associated with coagulation abnormalities in Bothrops envenoming. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 36, n. 6, p. 657-663, 2003.

BELLOMO, R. et al. Acute renal failure – definition, outcome measures, animal models, fluid therapy and information technology needs: the Second International Consensus Conference of the Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI) Group. **Crit Care Med**, v. 8, p. 204-212, 2004.

ROBERTS, D. M. et al. Changes in the concentrations of creatinine, cystatin C and NGAL in patients with acute paraquat self-poisoning. **Toxicol Lett**, v. 202, n. 1, p. 69-74, Apr 10 2011. ISSN 1879-3169 (Electronic) 0378-4274 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21291964> >.

ROCHA, M. L. et al. Pharmacokinetics of the venom of Bothrops erythromelas labeled with ¹³¹I in mice. **Toxicon**, v. 52, n. 3, p. 526-9, Sep 1 2008. ISSN 0041-0101 (Print) 0041-0101 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18619993> >.

SGRIGNOLLI, L. et al. Acute kidney injury caused by bothrops snake venom. **Nephron Clin Pract**, v. 119, n. 2, p. c131-6; discussion c137, 2011. ISSN 1660-2110 (Electronic) 1660-2110 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21757950> >.

ROSSIER, B. C.; STUTTS, M. J. Activation of the epithelial sodium channel (ENaC) by serine proteases. **Annu Rev Physiol**, v. 71, p. 361-79, 2009. ISSN 1545-1585 (Electronic) 0066-4278 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18928407> >.

MALAUQUE, C. M.; GUTIÉRREZ, J. M. Snakebite Envenomation in Central and South America. p. 1-22, 2015.

SANTORO, M. L. et al. Ontogenetic Variation in Biological Activities of Venoms from Hybrids between Bothrops erythromelas and Bothrops neuwiedi Snakes. **PLoS One**, v. 10, n. 12, p. e0145516, 2015. ISSN 1932-6203 (Electronic) 1932-6203 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26714190> >.

SARTIM, M. A. et al. Moojenactivase, a novel pro-coagulant PIIIId metalloprotease isolated from Bothrops moojeni snake venom, activates coagulation factors II and X and induces tissue factor up-regulation in leukocytes. **Arch Toxicol**, v. 90, n. 5, p. 1261-78, May 2016. ISSN 1432-0738 (Electronic) 0340-5761 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26026608> >.

MINISTÉRIO DA SAÚDE DO BRASIL. **Manual de Diagnóstico e Tratamento de Acidentes por Animais Peçonhentos**: Ministério da Saúde Brasília 2001.

SCHATTNER, M. et al. The snake venom metalloproteases berythraactivase and jararhagin activate endothelial cells. **Biol Chem**, v. 386, n. 4, p. 369-74, Apr 2005. ISSN 1431-6730 (Print) 1431-6730 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15899699> >.

SCHENBERG, S. Immunological (Ouchterlony method) Identification of Intrasubspecies Qualitative Differences in Snake Venom Composition. **Toxicon**, v. 1, p. 67-75, 1963.

SCHIEMEIER, Q. Africa braced for snakebite crisis. Health specialists warn that stocks of antivenom will run out in 2016. **Nature**, v. 525, p. 299, 2015.

SCHONERMARCK, U.; KEHL, K.; SAMTLEBEN, W. Diagnostic performance of fractional excretion of urea and sodium in acute kidney injury. **Am J Kidney Dis**, v. 51, n. 5, p. 870-1; author reply 871, May 2008. ISSN 1523-6838 (Electronic) 0272-6386 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18436107> >.

SCHRIER, R. W. **Renal and Electrolyte Disorders**. 8th. Philadelphia: 2018. ISBN 9781496389183.

SECRETARIA DE VIGILANCIA EM SAUDE. Acidentes de trabalho por animais peçonhentos entre trabalhadores do campo, floresta e águas, Brasil 2007 a 2017. **Boletim Epidemiológico**, v. 50, n. 11, p. 1-14, March 2019 2019. ISSN ISSN 9352-7864. Accessed on: May, 23rd, 2019.

SHINKE, H. et al. Urinary kidney injury molecule-1 and monocyte chemoattractant protein-1 are noninvasive biomarkers of cisplatin-induced nephrotoxicity in lung cancer patients. **Cancer Chemother Pharmacol**, v. 76, n. 5, p. 989-96, Nov 2015. ISSN 1432-0843 (Electronic) 0344-5704 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26407820> >.

NISHIOKA, S. A., SILVEIRA, P. V. Clinical and Epidemiologic Study of 292 Cases of Lance-Headed Viper bite in a Brazilian Teaching Hospital. **The American Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 47, n. 6, p. 805-810, 1992.

SIMPSON, I. D. Time for an Alternative Perspective: The Eternal Problem of Supply and Quality of Anti Snake Venom in the Developing World—“It’s the Economy, Stupid”. **Wilderness and Environmental Medicine**, v. 19, p. 186-194, 2008.

SITPRIJA, N. S. A. V. Tropical diseases: a public health problem with impact on nephrology. In: BALIERO, L. (Ed.). **Nefrologia Tropical**. 1a. Fortaleza, Ceara, Brazil, v.1, 2019. chap. 1, p.1-17. ISBN 978-85-69540-08-3.

SITPRIJA, V. Snakebite nephropathy. **Nephrology (Carlton)**, v. 11, n. 5, p. 442-8, Oct 2006. ISSN 1320-5358 (Print) 1320-5358 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17014559> >.

SITPRIJA, V.; SITPRIJA, S. Renal effects and injury induced by animal toxins. **Toxicon**, v. 60, n. 5, p. 943-53, Oct 2012. ISSN 1879-3150 (Electronic) 0041-0101 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22750531> >.

_____. Animal toxins and renal ion transport: Another dimension in tropical nephrology. **Nephrology (Carlton)**, v. 21, n. 5, p. 355-62, May 2016. ISSN 1440-1797 (Electronic) 1320-5358 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26421422> >.

SITPRIJA, V.; SITPRIJA, S. J. N. Animal toxins and renal ion transport: Another dimension in tropical nephrology. v. 21, n. 5, p. 355-362, 2016. ISSN 1320-5358. Available at: < <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/nep.12633> >.

SLAGBOOM, J. et al. Haemotoxic snake venoms: their functional activity, impact on snakebite victims and pharmaceutical promise. **Br J Haematol**, v. 177, n. 6, p. 947-959, Jun 2017. ISSN 1365-2141 (Electronic) 0007-1048 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28233897> >.

SMYTH, A. et al. The relationship between estimated sodium and potassium excretion and subsequent renal outcomes. **Kidney Int**, v. 86, n. 6, p. 1205-12, Dec 2014. ISSN 1523-1755 (Electronic) 0085-2538 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24918156> >.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEFROLOGIA, S. B. N. Biomarcadores na Nefrologia. In: ABENSUR, H. (Ed.). **Biomarcadores na Nefrologia**. 1st. São Paulo, 2011. chap. Biomarcadores na Injúria Renal Aguda, p.114.

SOE, S. et al. Renal histopathology following Russel's Viper (*Vipera russeli*) bite. **Southeast Asian J Trop Med Public Health**, v. 24, n. 1, p. 193-197, 1993.

SOTELO, N. J. C. P. Review of treatment and complications in 79 children with rattlesnake bite. v. 47, n. 5, p. 483-489, 2008. ISSN 0009-9228.

SOUSA, L. F. et al. Comparison of phylogeny, venom composition and neutralization by antivenom in diverse species of bothrops complex. **PLoS Negl Trop Dis**, v. 7, n. 9, p. e2442, 2013. ISSN 1935-2735 (Electronic) 1935-2727 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24069493> >.

SOUZA, G. H. et al. Peptide fingerprinting of snake venoms by direct infusion nano-electrospray ionization mass spectrometry: potential use in venom identification and taxonomy. **J Mass Spectrom**, v. 43, n. 5, p. 594-9, May 2008. ISSN 1076-5174 (Print) 1076-5174 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18200607> >.

SRISAWAT, N. et al. Neutrophil Gelatinase Associated Lipocalin (NGAL) in Leptospirosis Acute Kidney Injury: A Multicenter Study in Thailand. **PLoS One**, v. 10, n. 12, p. e0143367, 2015. ISSN 1932-6203 (Electronic) 1932-6203 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26629810> >.

STADS, S. et al. Predictors of short-term successful discontinuation of continuous renal replacement therapy: results from a prospective multicentre study. **BMC Nephrol**, v. 20, n. 1, p. 129, Apr 15 2019. ISSN 1471-2369 (Electronic) 1471-2369 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30987604> >.

STAPLES, A. et al. Validation of the revised Schwartz estimating equation in a predominantly non-CKD population. v. 25, n. 11, p. 2321-2326, 2010. ISSN 0931-041X.

SUAREZ-KURTZ, P. A. M. G. Release of sarcoplasmic enzymes from skeletal muscle by Bothrops jararacussu venom: Antagonism by heparin and by the serum of south American marsupialis. **Toxicon**, v. 26, n. 1, p. 87-95, 1988.

SUPAVEKIN, S. et al. Differential gene expression following early renal ischemia/reperfusion. **Kidney Int**, v. 63, n. 5, p. 1714-24, May 2003. ISSN 0085-2538 (Print) 0085-2538 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12675847> >.

TESCH, G. H. Review: Serum and urine biomarkers of kidney disease: A pathophysiological perspective. **Nephrology (Carlton)**, v. 15, n. 6, p. 609-16, Sep 2010. ISSN 1440-1797 (Electronic) 1320-5358 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20883281> >.

TORREZ, P. P. et al. Forest pit viper (*Bothriopsis bilineata bilineata*) bite in the Brazilian Amazon with acute kidney injury and persistent thrombocytopenia. **Toxicon**, v. 85, p. 27-30, Jul 2014. ISSN 1879-3150 (Electronic) 0041-0101 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24726466> >.

URBSCHAT, A.; OBERMULLER, N.; HAFERKAMP, A. Biomarkers of kidney injury. **Biomarkers**, v. 16 Suppl 1, p. S22-30, Jul 2011. ISSN 1366-5804 (Electronic) 1354-750X (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21707441> >.

VARGAS, L. S. C. R.; LOPES, A. A. Snakebite Envenomation and Death in the Developing World. **Ethnicity & Disease**, v. 19, 2009.

VELEZ, S. M. et al. Geographical variability of the venoms of four populations of *Bothrops asper* from Panama: Toxicological analysis and neutralization by a polyvalent antivenom. **Toxicon**, v. 132, p. 55-61, Jun 15 2017. ISSN 1879-3150 (Electronic) 0041-0101 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28392273> >.

VENCIO, D. [Ophidism Study in Goias: Damage in Renal Function] Estudo do ofidismo em Goias: comprometimento da funcao renal. **Rev. Goiana Med**, v. 34, p. 95-116, 1988.

VILELA, E. G. et al. Evaluation of the Behavior of Levels of Hmgb1 and Il6 as Predictors of Infection, Acute Kidney Injury and Mortality in Cirrhotic Patients with Variceal Bleeding. **Arq Gastroenterol**, v. 55, n. 4, p. 338-342, Oct-Dec 2018. ISSN 1678-4219 (Electronic) 0004-2803 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30785515> >.

GOLAY, V. et al. Acute Interstitial Nephritis in Patients with Viperine Snake Bite: Single Center Experience of a Rare Presentation. **Saudi Journal of Kidney Diseases and Transplantation**, v. 23, n. 6, p. 1262-1267, 2012.

SITPRIJA, V. et al. Acute Interstitial Nephritis in Snakebite. **The American Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 31, n. 2, p. 408-410, 1982.

WADA, T. et al. Up-regulation of monocyte chemoattractant protein-1 in tubulointerstitial lesions of human diabetic nephropathy. **Kidney International**, v. 58, n. 4, p. 1492-1499, 2000. ISSN 00852538. Available at: < [https://www.kidney-international.org/article/S0085-2538\(15\)47248-5/pdf](https://www.kidney-international.org/article/S0085-2538(15)47248-5/pdf) >.

WAIDDYANATHA, S. et al. Long-term Effects of Snake Envenoming. **Toxins (Basel)**, v. 11, n. 4, Mar 31 2019. ISSN 2072-6651 (Electronic) 2072-6651 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30935096> >.

WAIKAR, S. S.; BONVENTRE, J. V. Biomarkers for the diagnosis of acute kidney injury. **Nephron Clin Pract**, v. 109, n. 4, p. c192-7, 2008. ISSN 1660-2110 (Electronic) 1660-2110 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18802367> >.

WANDERLEY, C. W. et al. Bothrops jararacussu snake venom-induces a local inflammatory response in a prostanoid- and neutrophil-dependent manner. **Toxicon**, v. 90, p. 134-47, Nov 2014. ISSN 1879-3150 (Electronic) 0041-0101 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25127849> >.

AUNG et al. Renal involvement in Russell's viper bite patients without disseminated intravascular coagulation. **Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 92, p. 322-324, 1998.

AUNG et al. Urinary NAG as an early indicator of renal damage in Russell's viper bite envenomation. **Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 90, p. 169-172, 1996.

AUNG et al. Isoenzyme profile of urinary NAG in Russell's viper bite patients with renal damage. **Clinica Chimica Acta**, v. 264, p. 251-254, 1997.

XIAO-YAN, D. U. Snake Venom L-amino Acid Oxidases. **Toxicon**, v. 40, p. 659-665, 2002.

XU, K. et al. Household catastrophic health expenditure: a multicountry analysis. **The Lancet**, v. 362, n. 9378, p. 111-117, 2003. ISSN 01406736.

DING, et al. Composite urinary biomarkers to predict pathological tubulointerstitial lesions in lupus nephritis. **Lupus**, v. 0, p. 1-12, 2018. Available at: < <http://www.sagepub.co.uk/journalsPermissions.nav> >.

GUI, Y., HOLLENBERG, M. D. Bidirectional regulation of renal hemodynamics by activation of PAR1 and PAR2 in isolated perfused rat kidney. **Am J Physiol Renal Physiol**, v. 285, p. 95-104, 2003.

ZHOU, R. et al. Urinary KIM-1: a novel biomarker for evaluation of occupational exposure to lead. **Sci Rep**, v. 6, p. 38930, Dec 14 2016. ISSN 2045-2322 (Electronic) 2045-2322 (Linking). Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27966578> >.

ZUK, A.; BONVENTRE, J. V. Acute kidney injury. v. 67, p. 293-307, 2016. ISSN 0066-4219.

Apêndices

APÊNDICE A

INSTITUTO DR. JOSÉ FROTA -
IJF/ PREFEITURA DE
FORTALEZA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Elaborado pela Instituição Coparticipante

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: INVESTIGAÇÃO DE NOVOS BIOMARCADORES DE LESÃO RENAL E INFLAMAÇÃO EM PACIENTES VÍTIMAS DE INTOXICAÇÕES EXÓGENAS E ACIDENTES COM ANIMAIS PEÇONHENTOS EM UM CENTRO DE REFERÊNCIA DO NORDESTE DO BRASIL

Pesquisador: Geraldo Bezerra da Silva Junior

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 41664214.5.3001.5047

Instituição Proponente: Fundação Edson Queiroz

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.128.282

Data da Relatoria: 30/06/2015

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa é relevante e contribuirá para o tratamento da população em estudo e também para a comunidade científica.

O projeto apresentado atende aos requisitos éticos legais.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

São apresentados:

Folha de rosto;

Carta de Anuência do Laboratório de Pesquisa em Nefrologia e Doenças Tropicais;

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido;

Termo de Fiel Depositário assinado pela Chefia do Centro de Assistência Toxicológica do IJF.

Recomendações:

Apresentar relatório ao CEP após conclusão da pesquisa.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sem pendências.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Rua Barão do Rio Branco, nº 1816

Bairro: Centro

CEP: 60.025-061

UF: CE

Município: FORTALEZA

Telefone: (85)3255-5093

Fax: (85)3255-5093

E-mail: cepijf@outlook.com

APÊNDICE B

INSTITUTO DR. JOSÉ FROTA -
IJF/ PREFEITURA DE
FORTALEZA

**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**

Elaborado pela Instituição Coparticipante

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: INVESTIGAÇÃO DE NOVOS BIOMARCADORES DE LESÃO RENAL E INFLAMAÇÃO EM PACIENTES VÍTIMAS DE INTOXICAÇÕES E ACIDENTES COM ANIMAIS PEÇONHENTOS EM UM CENTRO DE REFERÊNCIA DO NORDESTE DO BRASIL

Pesquisador: Geraldo Bezerra da Silva Junior

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 41664214.5.3001.5047

Instituição Proponente: Fundação Edson Queiroz

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.254.441

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

FORTALEZA, 01 de Setembro de 2017

Assinado por:

Márcia Maria Pinheiro Dantas
(Coordenador)

Endereço: Rua Barão do Rio Branco, nº 1816

Bairro: Centro

CEP: 60.025-061

UF: CE

Município: FORTALEZA

Telefone: (85)3255-5093

Fax: (85)3255-5093

E-mail: cepijf@outlook.com

APÊNDICE C



INSTITUTO DR. JOSE FROTA
"24 horas de proteção à vida"

FICHA DE NOTIFICAÇÃO E DE ATENDIMENTO
CENTRO DE ASSISTÊNCIA TOXICOLÓGICA

CENTRO: _____ NÚMERO: _____ DATA: ____/____/____ HORA: _____

IDENTIFICAÇÃO DO PACIENTE Nº REG. ATEND. _____

Nome: _____ Vítima Humana Animal Informação

Idade: ____/____/____ E D M A Sexo: Masc. Fem. Ignorado Gestante: 1º Trim 2º Trim 3º Trim Trim Desc.

Espécie (se Animal): _____ 5 Não 6 Não se aplica 9 Ignorado

Peso: _____ Kg Profissão/Ocupação: _____

Endereço: _____ Telefone: _____

UF: _____ Município: _____ Bairro: _____ CEP: _____

Cartão SUS _____ Nome da mãe (se menor): _____

IDENTIFICAÇÃO DO SOLICITANTE

Nome: _____ UF: _____ Município: _____

Instituição: _____ Bairro: _____

Endereço: _____ Tel: _____ Roteiro: _____

Categoria: 1 Próprio 2 Médico 3 Parente 4 Veterinário 9 Jgn. 5 Outro Prof. Saúde: _____ 8 Outro: _____

ATENDIMENTO TELEFÔNICO	HOSPITALAR	TIPO DE OCORRÊNCIA	CIRCUNSTÂNCIA
<input type="checkbox"/> 1 Hosp/Clinicas	<input type="checkbox"/> 1 PS	<input type="checkbox"/> 1 Intoxicação	<input type="checkbox"/> 1 Acidente Individual
<input type="checkbox"/> 2 CS/UBS	<input type="checkbox"/> 2 Enfermaria	<input type="checkbox"/> 2 Exposição	<input type="checkbox"/> 2 Acidente Coletivo
<input type="checkbox"/> 3 Consult/Ambel	<input type="checkbox"/> 3 Ambulatório	<input type="checkbox"/> 3 Reação Adversa	<input type="checkbox"/> 3 Acidente Ambiental
<input type="checkbox"/> 4 Local Trabalho	<input type="checkbox"/> 4 UTI	<input type="checkbox"/> 4 Diagnóstico Diferencial	<input type="checkbox"/> 4 Ocupacional
<input type="checkbox"/> 5 Outros CIT's	<input type="checkbox"/> 8 Outro: _____	<input type="checkbox"/> 8 Outro: _____	<input type="checkbox"/> 5 Uso Terapêutico
<input type="checkbox"/> 6 Outros Serv. Públicos		<input type="checkbox"/> 9 Ignorada	<input type="checkbox"/> 6 Presc. Médica Inadequada
<input type="checkbox"/> 7 Residência			<input type="checkbox"/> 7 Erro de Administração
<input type="checkbox"/> 8 Outro: _____			<input type="checkbox"/> 8 Auto Medicação
<input type="checkbox"/> 9 Ignorado			<input type="checkbox"/> 9 Abstinência
			<input type="checkbox"/> 10 Abuso
			<input type="checkbox"/> 11 Ingestão de Alimentos
			<input type="checkbox"/> 12 Tent. Suicídio
			<input type="checkbox"/> 13 Tent. Aborto
			<input type="checkbox"/> 14 Violência/Homicídio
			<input type="checkbox"/> 99 Ignorada
			<input type="checkbox"/> 88 Outra: _____

EXPOSIÇÃO

ZONA	VIA	TIPO
<input type="checkbox"/> 1 Urbana <input type="checkbox"/> 2 Rural <input type="checkbox"/> 9 Ignorada	<input type="checkbox"/> 01 Oral	<input type="checkbox"/> 1 Aguda - única
LOCAL	<input type="checkbox"/> 02 Cutânea	<input type="checkbox"/> 2 Aguda - repetida
<input type="checkbox"/> 1 Residência	<input type="checkbox"/> 03 Respiratória	<input type="checkbox"/> 3 Crônica
<input type="checkbox"/> 2 Amb. Trabalho	<input type="checkbox"/> 04 Parenteral	<input type="checkbox"/> 4 Aguda sobre crônica
<input type="checkbox"/> 3 Trazido de Trabalho	<input type="checkbox"/> 05 Nasal	<input type="checkbox"/> 9 Ignorada
<input type="checkbox"/> 4 Serviços de Saúde	<input type="checkbox"/> 06 Ocular	
UF: _____	<input type="checkbox"/> 07 Retal	Tempo decorrido da exposição:
Município: _____	<input type="checkbox"/> 08 Vaginal	____/____/____ <input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> D <input type="checkbox"/> M <input type="checkbox"/> A
Bairro: _____	<input type="checkbox"/> 09 Mordedura/Picada	Duração da exposição:
Endereço: _____	<input type="checkbox"/> 99 Ignorada	____/____/____ <input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> D <input type="checkbox"/> M <input type="checkbox"/> A
	<input type="checkbox"/> 88 Outra: _____	

AGENTE TÓXICO

<input type="checkbox"/> 01 Medicamentos	<input type="checkbox"/> 06 Domissaniticos	<input type="checkbox"/> 11 Plantas	<input type="checkbox"/> 16 Outros An. Peçonhentos/Venenosos
<input type="checkbox"/> 02 Agrotóxicos/Use Agrícola	<input type="checkbox"/> 07 Cosméticos	<input type="checkbox"/> 12 Alimentos	<input type="checkbox"/> 17 Animais Não Peçonhentos
<input type="checkbox"/> 03 Agrotóxicos/Use Doméstico	<input type="checkbox"/> 08 Produtos Químicos Industriais	<input type="checkbox"/> 13 An Peçonhentos/Serpentes	<input type="checkbox"/> 99 Desconhecido
<input type="checkbox"/> 04 Produtos Veterinários	<input type="checkbox"/> 09 Metais	<input type="checkbox"/> 14 An Peçonhentos/Aranhas	<input type="checkbox"/> 88 Outro: _____
<input type="checkbox"/> 05 Raticidas	<input type="checkbox"/> 10 Drogas de Abuso	<input type="checkbox"/> 15 An Peçonhentos/Escoorpões	

NOME COMERCIAL/ESPÉCIE _____ DOSE/QUANTIDADE _____ CLASSIFICAÇÃO _____ CLANDESTINO Sim Não

APÊNDICE E



Rev Soc Bras Med Trop 51(5):695-699, Sep-Oct, 2018
doi: 10.1590/0037-8682-0465-2017

Short Communication

Acute kidney injury due to systemic Loxoscelism: a cross-sectional study in Northeast Brazil

Polianna Lemos Moura Moreira Albuquerque^{[1],[2]}, Louise Donadello Tessarolo^[3],
Fernanda Holanda Menezes^[4], Thyanne Barreto de Lima^[4],
José Hícaro Hellano Gonçalves Lima Paiva^[5], Geraldo Bezerra da Silva Júnior^[6],
Alice Maria Costa Martins^[3] and Elizabeth de Francesco Daher^[1]

[1]. Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, Brasil.

[2] Hospital Instituto Doutor Jose Frota, Prefeitura Municipal de Fortaleza, Fortaleza, CE, Brasil.

[3]. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, Brasil.

[4]. Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, Brasil.

[5]. Faculdade de Medicina, Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, CE, Brasil.

[6]. Programas de Pós-Graduação em Saúde Coletiva e Ciências Médicas, Faculdade de Medicina, Universidade de Fortaleza, Fortaleza, CE, Brasil.

Abstract

Introduction: Loxoscelism is a clinical condition involving spiders of the genus *Loxosceles*. One of the most severe complications is acute kidney injury (AKI). This study aimed to investigate AKI and other complications associated with loxoscelism. **Methods:** We analyzed cases diagnosed with loxoscelism in an area where most accidents were caused by *Loxosceles amazonica* from January 2010 to December 2015. AKI was defined according to the KDIGO criteria. **Results:** Forty-five patients were recorded: 95.6% presented characteristic necrotic skin lesions and 13.3% AKI. **Conclusions:** Loxoscelism could cause kidney involvement which is uncommon and could lead to the death of these patients.

Keywords: Loxoscelism. AKI. Spider bites. Coagulation abnormalities.

Loxoscelism is a term used to cover envenomation involving spiders of the genus *Loxosceles* (family Sicariidae), known as recluse, fiddle-back, or brown spiders¹.

In Brazil, seven species of these spiders have been reported, most of them in the South and South-East regions and three (*Loxosceles intermedia*, *Loxosceles gaucho*, and *Loxosceles laeta*) have been most implicated in human envenomations². However, currently, *Loxosceles amazonica* has been described in some states in the North, Midwest and Northeast states, like Ceará³.

The diagnosis is made from epidemiological and clinical symptoms and findings². We observed patients with the characteristic time-course of loxoscelism lesions and occasionally, non-specific systemic symptoms. Hence, the other clinical presentations were excluded.

Brown spider bites can have many different clinical repercussions, from small local inflammatory reactions to large necrotic skin degeneration and gravitational spread⁴, besides systemic effects.

The cutaneous form of loxoscelism occurs in most cases, and the systemic or viscerocutaneous form occurs less frequently². Cutaneous loxoscelism manifests as mild pain and evolves into extensive skin necrosis and ulcerations. Systemic loxoscelism is characterized by fever, malaise, weakness, nausea and vomiting, hemolysis, hematuria, jaundice, thrombocytopenia, disseminated intravascular coagulation, and acute kidney injury (AKI), which is the main cause of death in loxoscelism^{2,5}, although non-specific symptoms can occur in cutaneous loxoscelism.

AKI has been described in systemic loxoscelism in single case reports^{6,7}. AKI induced by nephrotoxic agents such as spider venom, is a clinicopathologic entity morphologically characterized by the destruction of tubular epithelial cells and clinically by acute suppression of renal function^{4,8}. Renal injury in loxoscelism can be attributed to pigmentary nephropathy due to hemoglobin or myoglobin, secondary to hemolysis or rhabdomyolysis⁹. Furthermore, some articles identified possible cellular and molecular mechanisms for nephrotoxicity due to *Loxosceles* spiders, indicating that *Loxosceles* venom is directly and potentially nephrotoxic⁴.

This study aimed to describe AKI and other complications associated with loxoscelism. This cross-sectional study covered envenomations due to brown spider bites from January 2010

Corresponding author: Dra. Polianna Lemos Moura Moreira Albuquerque

e-mail: polylemos78@gmail.com

Received 29 November 2017

Accepted 11 April 2018



APÊNDICE F



Article

Acute Kidney Injury Induced by *Bothrops* Venom: Insights into the Pathogenic Mechanisms

Polianna Lemos Moura Monteiro Albuquerque^{1,2,3,*}, Geraldo Bezerra da Silva Junior², Gdayllon Cavalcante Menezes¹, Alize Maria Costa Martins⁴, Danyá Bandeira Lima⁴, Jacques Raubenheimer⁵, Shihana Fathima⁵, Nicholas Buckley⁵ and Elizabeth De Francesco Daher¹

¹ Medical Sciences of Post-Graduate Program, Department of Internal Medicine, Federal University of Ceará, CEP 60416-200 Fortaleza, Ceará, Brazil; gdayllon@yahoo.com.br (G.C.M.); e.f.daher@ufce.com.br (E.D.F.D.)

² School of Medicine, Public Health and Medical Sciences Post-Graduate Programs, School of Medicine, University of Fortaleza, CEP 60811-905 Fortaleza, Ceará, Brazil; geraldobezerra@ufce.com.br

³ Center for Toxicological Assistance, Dr. José Frota Institute, CEP 60025-061 Fortaleza, Ceará, Brazil

⁴ Pharmacology and Pharmaceutical Sciences Post-Graduate Programs, Federal University of Ceará, CEP 60430-275 Fortaleza, Ceará, Brazil; martinsalize@gmail.com (A.M.C.M.); danya.dbl@gmail.com (D.B.L.)

⁵ Clinical Pharmacology, Sydney Medical School, University of Sydney Sydney, NSW 2006, Australia; jacques.raubenheimer@sydney.edu.au (J.R.); fathimashihana20@gmail.com (S.F.); nicholas.buckley@sydney.edu.au (N.B.)

* Correspondence: polianna.monteiro@ufce.com.br; Tel: +55-85-3477-3280 or +55-85-3477-3424

Received: 26 January 2019; Accepted: 28 February 2019; Published: 5 March 2019



Abstract: Acute kidney injury (AKI) following snakebite is common in developing countries and *Bothrops* genus is the main group of snakes in Latin America. To evaluate the pathogenic mechanisms associated with *Bothrops* venom nephrotoxicity, we assessed urinary and blood samples of patients after hospital admission resulting from *Bothrops* snakebite in a prospective cohort study in Northeast Brazil. Urinary and blood samples were evaluated during hospital stay in 63 consenting patients, divided into AKI and No-AKI groups according to the KDIGO criteria. The AKI group showed higher levels of urinary MCP-1 (Urinary monocyte chemoattractant protein-1) (median 547.5 vs. 274.1 pg/mgCr; $p = 0.02$) and urinary NGAL (Neutrophil gelatinase-associated lipocalin) (median 21.28 vs. 12.73 ng/mgCr; $p = 0.03$). Risk factors for AKI included lower serum sodium and hemoglobin levels, proteinuria and aPTT (Activated Partial Thromboplastin Time) on admission and disclosed lower serum sodium ($p = 0.01$, OR = 0.73, 95% CI 0.57–0.94) and aPTT ($p = 0.031$, OR = 26.27, 95% CI 1.34–512.11) levels as independent factors associated with AKI. Proteinuria showed a positive correlation with uMCP-1 ($r = 0.70$, $p < 0.0001$) and uNGAL ($r = 0.47$, $p = 0.001$). FE_{Na} (Fractional Excretion of sodium) correlated with uMCP-1 ($r = 0.47$, $p = 0.001$) and uNGAL ($r = 0.56$, $p < 0.0001$). sCr (serum Creatinine) showed a better performance to predict AKI (AUC = 0.85) in comparison with new biomarkers. FE_{K} showed fair accuracy in predicting AKI (AUC = 0.92). Coagulation abnormality was strongly associated with *Bothrops* venom-related AKI. Urinary NGAL and MCP-1 were good biomarkers in predicting AKI; however, sCr remained the best biomarker. FE_{K} (Fractional Excretion of potassium) emerged as another diagnostic tool to predict early AKI. Positive correlations between uNGAL and uMCP-1 with proteinuria and FE_{Na} may signal glomerular and tubular injury. Defects in urinary concentrations highlighted asymptomatic abnormalities, which deserve further study.

Keywords: *Bothrops*; envenomation; acute kidney injury; renal tubular dysfunction; coagulopathy; novel biomarkers

Key Contribution: Snakebite envenomation is an important, yet neglected, tropical disease. *Bothrops* genus is the main group of snakes in Latin America. Acute kidney injury (AKI) is a clinical complication leading to higher mortality and morbidity following snakebites. The pathophysiological

APÊNDICE G

Acute kidney injury and pancreatitis due to scorpion sting: case report and literature review

Polianna Lemos Moura Moreira Albuquerque^{1,2}, Karla do Nascimento Magalhães³, Tamiris de Castro Sales⁴, José Hicaro Hellano Gonçalves Lima Palva², Elizabeth de Francesco Daher¹, Geraldo Bezerra da Silva Junior⁴

ABSTRACT

Despite the high number of accidents due to scorpion stings in Brazil, severe cases in adults are seldomly reported. In the Northeast region of Brazil, *Tityus stigmatarius* is the most prevalent species. A 69 year-old woman who was stung by a scorpion attended the emergency room 5 hours after envenomation. She got worse due to abdominal pain. Clinical findings were concordant with class III scorpion envenomation (major systemic manifestations), complicated by acute kidney injury and acute pancreatitis. Intensive supportive therapy was adopted. In the follow-up, 3 months later, she was completely recovered. This report is being brought to recommend the thorough management of victims of scorpion accidents, enabling early diagnosis of severe complications, which could lead to death if aggressive supportive measures are not early and adequately taken.

KEYWORDS: Scorpionism. Acute kidney injury. *Tityus stigmatarius*. Acute pancreatitis.

INTRODUCTION

Scorpion envenomation is reported in many parts of the world and is more frequent in tropical and subtropical countries^{1,2}. It is an important public health problem in Brazil due to its high frequency and potential to cause severe clinical manifestations, which could even be fatal^{3,4}. It is estimated that almost 2.5 million people in the world live in areas at risk for scorpion stings and more than 1.5 million of envenomations occur each year, causing around 2,600 deaths⁵. However, according to World Health Organization (2007), the real number of scorpion's stings in the world are underestimated⁶ and literature data are insufficient⁷.

Since the early 2000s, the number of scorpion envenoming cases in Brazil have increased. In the State of Ceará, Northeast of Brazil, from 2007 to 2016, 28,402 accidents due to venomous animals were registered, from which 65.1% were caused by scorpion stings, followed by snakebites (23.4%)⁷.

Scorpion sting is a relevant cause of human envenomation, which is included in the group of neglected tropical diseases in developing countries⁸. Although 1,500 scorpion species have been described, about 30 species are considered dangerous to humans. In Brazil, the majority of scorpion envenomations are caused by four species: *Tityus stigmatarius*, *T. bahiensis*, *T. paraxensis* and *T. serrulatus*. Most scorpion sting victims present a benign course, but complications can occur, and severe envenoming is usually due to *T. serrulatus*⁹⁻¹².

The diagnosis of scorpion sting is based on epidemiological features, clinical signs, symptoms, and exclusion of other etiologies. The clinical presentation

¹Universidade Federal do Ceará, Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, Fortaleza, Ceará, Brazil

²Instituto Dr. José Frota, Centro de Informação e Assistência Toxicológica, Fortaleza, Ceará, Brazil

³Universidade Estadual do Ceará, Faculdade de Medicina, Fortaleza, Ceará, Brazil

⁴Universidade de Fortaleza, Curso de Medicina, Programas de Pós-Graduação em Saúde Coletiva e Ciências Médicas, Fortaleza, Ceará, Brazil

Correspondence to: Geraldo Bezerra da Silva Junior
Universidade de Fortaleza, Curso de Medicina, Programas de Pós-Graduação em Saúde Coletiva e Ciências Médicas, Rua 25 de Março, 907, Bloco S, Sala S-01, CEP: 60811-905, Fortaleza, CE, Brazil
Tel: +55 85 3477 3280, Fax: +55 85 85 3477 3424

E-mail: geraldobezerra@unifor.br, polylamos78@gmail.com

Received: 21 March 2018

Accepted: 8 May 2018

APÊNDICE H

OXFORD
UNIVERSITY PRESS

ISSN 1460-2385 (Online)

ndt

NEPHROLOGY DIALYSIS TRANSPLANTATION

AN INTERNATIONAL BASIC SCIENCE AND CLINICAL RENAL JOURNAL

Held jointly with the Danish Society of Nephrology
era edta LEADING EUROPEAN NEPHROLOGY
55th ERA-EDTA CONGRESS
Copenhagen
 Denmark May 24th - 27th 2018
www.era-edta2018.org

ABSTRACTS



academic.oup.com/ndt

APÊNDICE I

Nephrology Dialysis Transplantation

Abstracts

SP220 **LONG TERM OUTCOME AND MORTALITY OF A PROSPECTIVE STUDY OF PATIENTS WITH ACUTE KIDNEY INJURY FROM A TERTIARY CENTRE IN SINGAPORE**

Su Hooi Teo², Kian-Guan Lee², Riece Koniman², Alvin Ren Kwang Tng², Zhong Hong Liew², Thin Thiri Naing¹, Huihua Li¹, Han Khim Tan², Hui Lin Choong², WY Marjorie Foo², Manish Kaushik²

¹Health Services Research Unit, Health Services Research Unit, Singapore, Singapore and ²Renal Medicine, Singapore General Hospital, Singapore, Singapore

INTRODUCTION AND AIMS: The incidence of acute kidney injury (AKI) has increased and with significant mortality risk. We aim to evaluate our single-center outcomes after AKI.

METHODS: Electronic medical records and clinical data were prospectively collected for patients diagnosed with AKI by KDIGO criteria from 15th July to 22nd October 2016, excluding patients with baseline estimated GFR (eGFR) of <15ml/min. Patients were followed up till 12 months after AKI diagnosis.

RESULTS: Among the 404 patients (mean age 65.8 ± 14.1), 276 (68%) survived 365 days from AKI episode. Majority of patients were male (58%) of Chinese ethnicity (68.8%) with a mean eGFR (CKD-EPI) of 50.2 ± 27.7ml/min. Three hundred ten (76.7%) patients had single etiology of AKI with the 3 most common etiologies of AKI being pre-renal (27.7%) followed by sepsis-associated (25.5%) and ischemic acute tubular necrosis (15.3%). One hundred two (27.7%) patients received renal replacement therapy (RRT). At 3 months post-AKI, 27.1% had complete recovery (serum creatinine fell below or to the baseline level), 28.9% had partial recovery (serum creatinine decreased by ≥ 25% from peak level but remained above baseline level) and 44% had non-recovery of renal function (dialysis-dependent or serum creatinine decreased by <25% from serum creatinine at RRT initiation). At 12 months, 19.6%, 31.4% and 49% had complete, partial and non-recovery, respectively. On survival analysis, patients with KDIGO Stage 1 and 2 AKI had significantly better survival than stage 3 AKI.

CONCLUSIONS: AKI is associated with significant 6-month mortality and development of renal partial or non-recovery. The association of better survival with early AKI stages suggests a strong need for early AKI detection.

SP221 **LONG-TERM CLINICAL IMPACTS OF CUMULATIVE FLUID BALANCE IN CONTINUOUS RENAL REPLACEMENT THERAPY**

Chun Soo Lim¹, Jung Nam An¹, Jung Pyo Lee¹, Yun Kyu Oh¹

¹Department of Internal Medicine, Seoul National University Boramae Medical Center, Seoul, Korea, Republic of

INTRODUCTION AND AIMS: Renal functional assessment at 3 months after continuous renal replacement therapy (CRRT) initiation can be useful in predicting long-term mortality and progression to ESRD.

METHODS: We investigated the association between fluid balance before and after CRRT initiation and long-term outcomes after acute kidney injury (AKI) episode requiring CRRT. Among 1764 adult AKI patients started on CRRT from 2009 to 2013 in intensive care units in four tertiary academic hospitals in Korea, 331 survivors at 3 months after CRRT initiation were enrolled. Chronic kidney disease (CKD) progression was defined as a worsening renal status assessed at 3 months after CRRT initiation, comprising RRT continuation, an increase in serum creatinine of more than 50%, and a decrease in the estimated glomerular filtration rate of 35% or more than the baseline values.

RESULTS: Cumulative fluid balance during 5 days after CRRT initiation was not associated with CKD progression. However, a positive fluid balance during 24 hours before CRRT initiation had the protective effect for CKD progression [Odds ratio 0.46 (0.23-0.91); P = 0.026]. This result was significant after adjustment for gender, age, and baseline serum creatinine. During the median 20.4 (7.5-39.7) months of follow-up, fluid balance was not associated with the long-term mortality.

CONCLUSIONS: Cumulative fluid balance after CRRT initiation was not associated with the long-term clinical outcomes. However, positive fluid balance during 24 hours before CRRT initiation was a favorable factor for CKD progression. The monitoring and management of fluid balance before CRRT initiation could be important.

SP222 **PERFORMANCE OF URINARY MONOCYTE CHEMOATTRACTANT PROTEIN-1 (MCP-1) TO DIAGNOSE ACUTE KIDNEY INJURY IN SNAKEBITE ENVENOMATION DUE TO BOTHROPS**

Polianna Lemos Moura Moreira Albuquerque¹, Glayllon Cavalcante Meneses¹, Bruna Luiza Pantoja¹, Marina Pinto Custodio¹, Alice Maria Costa Martins², Geraldo Bezerra da Silva Junior³, Nicholas Buckley⁴, Elizabeth De Francescos Daher¹

¹Medical Sciences Graduate Program, Federal University of Ceara, Fortaleza, Brazil,

²Pharmacology Graduate Program, Federal University of Ceara, Fortaleza, Brazil,

³School of Medicine, Public Health Graduate Program, University of Fortaleza,

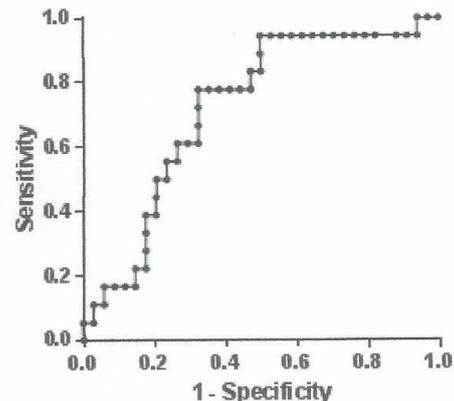
Fortaleza, Brazil and ⁴Clinical Pharmacology, Sydney Medical School, University of Sydney, Sydney, Australia

INTRODUCTION AND AIMS: Acute kidney injury (AKI) is an important cause of mortality and morbidity in patients with snakebite envenomation. In Brazil, *Bothrops* sp cause most envenomation induced AKI. The aim of this study is to investigate new biomarkers, such as monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), kidney injury molecule-1 (KIM-1), serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin (sNGAL), and urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin (uNGAL), which might detect AKI earlier than creatinine in these patients.

METHODS: This is a prospective study of 64 patients victims of snakebites (*Bothrops* genus) attended at the Center for Information and Toxicological Assistance, Instituto Doutor José Frota Hospital, Fortaleza city, state of Ceara, Brazil, between January 2015 and June 2017. The study protocol was approved by the Ethical Committee of University of Fortaleza. Blood and urine samples were collected at admission, after they signed informed consent. AKI was defined according to KDIGO criteria. The normal range was defined using 13 healthy volunteers. We compared the group which developed AKI (AKI group) with those that did not develop AKI (non-AKI group). The following biomarkers were measured in blood (sNGAL) and urine (uNGAL, MCP-1, KIM-1) using sandwich enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) (R&D systems Inc).

RESULTS: AKI group (n=22) was not statistically different to non-AKI group (n=42) in: age (42.9 ± 4.2 vs 37.69 ± 3.0 years old; p=0.321), time elapsed between snakebite and antivenom administration (21.57 ± 7.41 vs 13.77 ± 1.89 hours; p=1.193), number of antivenom vials (5.86 ± 0.51 vs 6.64 ± 0.41; p=0.43), creatine kinase (298.7 ± 66.21 vs 421.1 ± 93.07 U/L; p=0.429), sNGAL (183.9 ± 14.36 vs 177 ± 7.55 ng/ml; p=0.642), uNGAL (15.47 ± 1.43 vs 15.79 ± 5.5ng/ml; p=0.969), or KIM-1 (4.962 ± 4.3 vs 1.559 ± 0.915ng/ml; p=0.325). On admission, the AKI group had higher levels of urinary MCP-1 (417.2 ± 60.4 vs 280.3 ± 41.08pg/ml; p=0.010), and serum creatinine (2.086 ± 0.352 vs 0.91 ± 0.036 mg/dl; p<0.0001). Moreover, admission MCP-1 predicted AKI in snakebite envenomations (ROC-AUC=0.719; 95% CI 0.575 - 0.863; p=0.01), as illustrated in Figure 1.

CONCLUSIONS: Urinary MCP-1 could be a useful tool to diagnose AKI in snakebite envenomations. Further studies are needed to compare this and other urinary biomarkers with creatinine in a large group of patients. Early diagnosis of AKI is needed to improve the management and prognosis of snakebite victims.



SP223 **CIPROFLOXACIN INDUCED ACUTE KIDNEY INJURY-AN UNUSUAL CASE PRESENTATION**

Yogesh Varadarajan¹, Kumaran R Senthil¹, G Krithika¹

¹Nephrology, KG Multispecialty Hospital & Research Institute, Thanjavur, India

INTRODUCTION AND AIMS: Ciprofloxacin is the commonly used antimicrobial fluoroquinolone. Acute kidney injury (AKI) due to ciprofloxacin are usually immune mediated. Crystal nephropathy secondary to ciprofloxacin are rarely reported. So far around 6 cases have been reported in the literature. We report a young female who developed crystal nephropathy after consuming 14 tablets of ciprofloxacin for suicide and ended up requiring dialysis for her renal failure.

METHODS: Case Report: A 27 year old female with no-comorbidities presented with reduced urine output and swelling of legs of 2 days duration. She took 14 tablets of 500mg of ciprofloxacin (total dose of 7 g) 5 days before because of a family quarrel to end her life. She was attended in the emergency department and was given gastric lavage, nil by mouth and other supportive measures for almost 30 hours and was discharged. Now investigations revealed Urea -181mg/dl, creatinine - 10.5 mg/dl and

doi:10.1093/ndt/gfy104 | i417

APÊNDICE J



Poster Presentation Certificate

This is to certify that

Geraldo Da Silva Jr.

presented the abstract "RENAL TUBULAR DYSFUNCTION, COAGULATION DISTURBANCES AND NOVEL BIOMARKES IN ACUTE KIDNEY INJURY DUE TO SNAKEBITES"

(Abstract co-authors: P.L.M.M. Albuquerque ¹, G. Da Silva Jr. ², G.C. Moneses ², A.M.C. Martins ⁴, J. Raubenheimer ³, F. Shihana ³, H. Buckley ³, E.F. Daher ², ¹Instituto Dr. José Frota, Toxicological Assistance Center, Fortaleza, Brazil; ²University of Fortaleza, Public Health Post-Graduation Program, Fortaleza, Brazil; ³Federal University of Ceara, Medical Sciences Post-Graduation Program, Fortaleza, Brazil; ⁴Federal University of Ceara, Pharmacology Post-Graduation Program, Fortaleza, Brazil; ⁵University of Sydney, Translational Australian Clinical Toxicology Program, Sydney, Australia.)

in a moderated poster session at

The ISN World Congress of Nephrology

April 12-15, 2019, Melbourne, Australia

For and on behalf of the ISN World Congress of Nephrology 2019

David Harris
ISN President and Congress Chair

Masaomi Nangaku
Chair, WCN 2019 Scientific Program Committee



RIO DE JANEIRO - 2018
**XXIX CONGRESSO BRASILEIRO
DE NEFROLOGIA**

XVII CONGRESSO BRASILEIRO DE ENFERMAGEM EM NEFROLOGIA

CERTIFICADO

Certificamos que o trabalho

PAPEL DA PROTEÍNA QUIMIOTÁTICA DE MONÓCITOS-1 NO DIAGNÓSTICO PRECOCE DA LESÃO RENAL AGUDA INDUZIDA POR PICADA DE COBRAS

dos autores: GERALDO BEZERRA DA SILVA JUNIOR; POLIANNA LEMOS MOURA MOREIRA ALBUQUERQUE; GDAYLLON CAVALCANTE MENESES; BRUNA LUIZA PANTOJA; MARINA PINTO CUSTODIO; ALICE MARIA COSTA MARTINS; NICHOLAS BUCKLEY; ELIZABETH DE FRANCESCO DAHER, foi apresentado, na modalidade Apresentação Oral, no evento XXIX Congresso Brasileiro de Nefrologia ocorrido de 19 a 22 de setembro de 2018 no Windsor Oceânico Hotel em Rio de Janeiro/RJ.

Rio de Janeiro, 22 de setembro de 2018


JOEMIR RONALDO EUGON
Presidente do CBN 2018


CARMEN TZANNO BRANCO MARTINS
Presidente da SBN - Gestão 2017/2018


MARCELO MAZZA DO NASCIMENTO
Diretor Científico da SBN - Gestão 2017/2018

REALIZAÇÃO:



Sociedade
Brasileira de
Nefrologia

GERENCIAMENTO:



CCM
CONGRESSES



UNIVERSITAS UDAYANA

APAMT 2018 17th Annual Scientific Congress of Asia Pacific Association of Medical Toxicology

Certificate of Attendance

Awarded to

Polianna Lemos. M.M. Albuquerque

in recognition of his/her participation as
PARTICIPANT ORAL PRESENTATION

Renal Tubular Dysfunction in Bothrops Venom-Induced Acute Kidney Injury

**17th Annual Scientific Congress of Asia Pacific Association of Medical Toxicology
Providing Comprehensive Medical Toxicology Care, from Pre-Hospital to In-Hospital**

**Prime Plaza Hotel, Sanur, Bali, Indonesia
16th -18th November 2018**

President,
Asia Pacific Association of Medical Toxology

Indika Gawaramana

Prof. Indika Gawaramana

Chair,
Organizing Committee

[Signature]

dr. Anak Agung Ayu Yuli Gayatri

**APAMT
2018**

Chair,
Scientific Committee

[Signature]

A/Prof. Darren Roberts

APÊNDICE M



SA-PO531

New Perspectives on Bothrops-Induced AKI: Novel Biomarkers and Coagulation Disturbances

Roliana Lemos m.m. albuquerque,² Geraldo B. Silva Junior,¹ Gdayllon Cavalcante meneses,² Alice maria Costa martins,² Jacques Raubenheimer,³ Fathima Shihana,³ Nicholas Buckley,⁴ Elizabeth De francesco daher,² ¹University of Fortaleza, Fortaleza, Brazil; ²Federal University of Ceara, Fortaleza, Brazil; ³University of Sydney, Sydney, NSW, Australia; ⁴The University of Sydney, Sydney, NSW, Australia.

Background: *Bothrops sp* is the most common snake genus associated with acute kidney injury (AKI) in Latin America. We evaluated novel biomarkers and coagulation disturbances among patients with *Bothrops* venom-induced AKI.

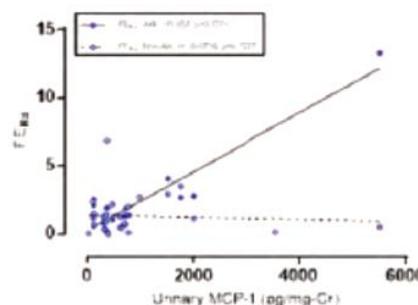
Methods: This is a prospective study of patients with snakebite (*Bothrops*)-induced AKI admitted to a referral emergency hospital in Fortaleza city, Brazil, from December 2015 to December 2016. Biomarkers were measured in blood (sNGAL) and urine (uNGAL, uMCP-1, uKIM-1, VCAM-1 and IL-6) using ELISA.

Results: 63 patients were included, and 22 (34.9%) developed AKI. The age, time elapsed between snakebite and administration of antivenom, number of administered antivenom vials, gender distribution and severity of the envenomation were similar in the groups. The biomarkers uMCP-1 and uNGAL were significantly higher in the AKI group: uMCP-1 (471.2 ± 60.40 vs. 288.8 ± 41.42 pg/ml; $p=0.014$) and uNGAL (15.27 ± 1.28 vs. 10.29 ± 1.06 ng/ml; $p=0.006$). The activated partial thromboplastin time (APTT) on admission, was significantly longer in the AKI group ($p=0.011$). Urinary proteinuria correlated highly with two specific urine biomarkers: uMCP-1 ($r=0.5242$, $p=0.0003$) and uNGAL ($r=0.4938$, $p=0.0008$). The fractional excretion of sodium (FE_{Na}) also strongly correlated with uMCP-1 ($r=0.8696$, $p<0.0001$) and uNGAL ($r=0.6833$, $p<0.0001$). The correlation between FE_{Na} and uMCP-1 was largely confined to the AKI group (Figure 1). The FE_{Na} also positively correlated with uMCP-1 ($r=0.5775$, $p<0.0001$) and uNGAL ($r=0.5647$, $p=0.0001$).

Conclusions: Coagulation abnormalities seem to be a pivotal factor in AKI development in *Bothrops*-induced AKI. The higher levels of uMCP-1 and uNGAL could represent early tubular and glomerular dysfunction caused by snakebite venom, and the abnormalities in fractional excretion of electrolytes point to tubular transport dysfunction.

Funding: Government Support - Non U.S.

Correlation between urinary MCP-1 and FE_{Na} on admission



APÊNDICE N

Artigo de Revisão – abstract

(Aguarda submissão)

**Bothropic Venom-related Acute Kidney Injury in Latin America:
Pathophysiology and Clinical Management**

Running title: *Bothrops*, Acute kidney injury.

Abstract:

Bothropic envenomation is caused by bites from the large group of pit vipers (Lance-Headed) which are the most common snakes in Latin America. Snakebite-related acute kidney injury (AKI) is one frequent and potentially fatal complication. Coagulation abnormalities are usually present and likely contribute to AKI development. Better comprehension of AKI pathogenesis following Bothropic syndrome may improve patients' management by primary healthcare providers, allowing earlier diagnosis and treatment. This review highlights the main experimental and animal studies of Bothropic venom-related AKI and the most recent recommendations for the clinical management. A model of pathophysiology is proposed which summarizes the major pathways of AKI caused by Bothropic snakebites.

Key words: *Bothrops*. Snakebite. Acute kidney injury. Envenomation.