

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA E FARMACOLOGIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA

Alterações renais causadas pelo veneno da *Crotalus durissus cascavella* e bloqueio farmacológico com Indometacina, Dexametasona e Nifedipina.

ALICE MARIA COSTA MARTINS

FC-00006121-8

FORTALEZA-CEARÁ
1997

Esta dissertação foi submetida como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Farmacologia, outorgado pela Universidade Federal do Ceará, e encontra-se a disposição dos interessados na Biblioteca do Centro de Ciência da Saúde da referida Universidade.

A citação de qualquer trecho desta dissertação é permitida, desde que seja feita de acordo com as normas da ética científica.

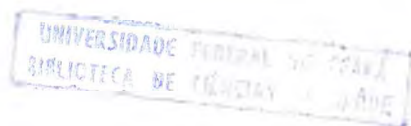
Alice Maria Costa Martins

Dissertação aprovada em 07-11-97

Prof. Dra. Helena Serra Azul Monteiro.

Prof. Dr. Manassés Claudino Fonteles

Prof. Dr. Henri Holanda Campos



Agradecimentos especiais

A DEUS
que ilumina minha vida

AOS MEUS PAIS
a quem devo todos os ensinamentos

AO HELANO
pelo apoio e incentivo em todos os momentos

Agradecimentos

- À Professora Helena Serra Azul Monteiro, pela orientação deste trabalho e participação pessoal em todos os momentos.
- Ao Professor Manassés Claudino Fonteles, por ter permitido a realização deste trabalho no seu laboratório de Farmacologia renal e metabólica e pela sua colaboração científica indispensável.
- Ao Professor Dalgimar Bezerra de Menezes, pelo auxílio ministrado junto ao estudo histológico, e pelo exemplo de trabalho e competência.
- À professora Rita Maria Dantas Nogueira pelo incentivo, encaminhamento na carreira científica e pela revisão ortográfica desta dissertação.
- Ao Professor José Santiago Lima Verde, por ter cedido o veneno da *Crotalus durissus cascavella*.
- À técnica do laboratório Maria Silvia Helena França, pela realização cuidadosa do preparo da solução de perfusão e pela colaboração na fase experimental.
- Ao Bioquímico Dr. Domingos Barreto de Oliveira, pela realização cuidadosa nos ensaios bioquímicos.
- Aos alunos de graduação Edmar O.Guedes Jr, João Aragão Ximenes Filho pela colaboração na parte experimental e na parte referente a estatística.
- Aos alunos Milena Câmara de Melo Jorge e Cleto Dantas Nogueira pela ajuda no estudo histológico.
- Ao estudante Gustavo Rêgo Coêlho pela colaboração indispensável na formatação final desta dissertação.
- Aos estudantes de iniciação científica, Cristina, Ernesto, Mércia pela contribuição na parte experimental.
- À amiga Janaína Serra Azul Monteiro pela tradução realizada no resumo desta tese.
- À bibliotecária Norma pela orientação nas referências bibliográficas.
- A todos os professores, colegas de mestrado e funcionários da Unidade de Pesquisas Clínicas e Departamento de Fisiologia e Farmacologia da UFC, que contribuíram direta e indiretamente para a realização deste trabalho.

ÍNDICE

	página
LISTA DE ABREVIATURAS	I
LISTA DE FIGURAS	II
LISTA DE TABELAS	IV
RESUMO	VII
ABSTRACT	IX
INTRODUÇÃO	1
• Aspectos gerais sobre ofidismo	1
Distribuição e características das serpentes do gênero <i>Crotalus</i>	6
Composição do veneno crotálico	8
Efeitos do veneno crotálico	13
Quadro clínico e tratamento	20
OBJETIVOS	23
MATERIAL E MÉTODOS	24
Animais experimentais	24
Veneno	24
Substâncias utilizadas	24
Grupos de animais	26
Técnica cirúrgica	27
Sistema de perfusão de rim isolado	29
Calibração do sistema	32
Protocolo Experimental	32
Solução perfusora	37
Análise Bioquímica	37
Análise Histológica	38
Determinação de sódio e potássio tissular	38

Parâmetros funcionais renais	39
Análise Estatística	41
RESULTADOS	42
Grupo controle	42
Efeito do veneno da <i>Crotalus durissus cascavella</i>	42
Efeito do veneno da <i>Crotalus durissus cascavella</i> na presença de indometacina	59
Efeito do veneno da <i>Crotalus durissus cascavella</i> na presença de dexametasona	76
Efeito do veneno da <i>Crotalus durissus cascavella</i> na presença de nifedipina	77
Composição eletrolítica tecidual de sódio e potássio nos rins controle e perfundidos	78
Avaliação histológica	81
DISCUSSÃO	91
CONCLUSÕES	101
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	103

LISTA DE ABREVIATURAS

1. *C. d. cascavella* - *Crotalus durissus cascavella*
2. Dexa - Dexametasona
3. Indo - Indometacina
4. Nif - Nifedipina
5. PP - Pressão de perfusão
6. FU - Fluxo urinário
7. FPR - Fluxo de perfusão renal
8. RVR - Resistência vascular renal
9. RFG - Ritmo de filtração glomerular
10. %TNa⁺ - Percentual de transporte de sódio
11. %pTNa⁺ - Percentual de transporte tubular proximal de sódio
12. %TK⁺ - Percentual de transporte de potássio
13. %TK⁺ - Percentual de transporte tubular proximal de potássio
14. Na_t⁺ - Sódio tissular
15. K_t⁺ - Potássio tissular

LISTA DE FIGURAS

1. Acidentes ofídicos segundo mês e ano de ocorrência	4
2. Serpente do gênero <i>Crotalus</i>	7
3. Hipótese de reação de fase aguda	17
4. Técnica cirúrgica	28
5. Sistema de perfusão de rim isolado	31
6. Retas de calibração da velocidade da bomba vs fluxo	33
7. Retas de calibração da velocidade da bomba vs pressão	34
8. Retas de calibração do fluxômetro vs fluxo	35
9. Retas de calibração do fluxômetro vs pressão de perfusão	36
10. Comparação entre as pressões de perfusão de rins dos grupos controle e tratado com veneno de <i>C. d. cascavella</i>	51
11. Comparação dos fluxos urinários de rins dos grupos controle e tratado com veneno de <i>C. d. cascavella</i> .	52
12. Comparação entre as resistências vasculares renais dos grupos controle e tratado com veneno de <i>C. d. cascavella</i>	54
13. Comparação entre os fluxos plasmáticos renais dos grupos controle e tratado com veneno de <i>C. d. cascavella</i>	55
14. Comparação entre os ritmos de filtração glomerular de rins dos grupos controle e tratado com veneno de <i>C. d. cascavella</i>	56
15. Comparação entre os percentuais de transporte tubular de sódio de rins dos grupos controle e tratado com veneno de <i>C. d. cascavella</i>	57
16. Comparação entre os percentuais de transporte tubular proximal de sódio de rins dos grupos controle e tratado com veneno de <i>C. d. cascavella</i>	58
17. Comparação entre as pressões de perfusão de rins controle e tratado com veneno na presença e na ausência de Indo, Dexa ou Nif	69
18. Comparação entre os fluxos urinários de rins controle e tratado com veneno na ausência e na presença de Indo, Dexa ou Nif	70

19. Comparação entre as resistências vasculares de rins controle e tratado com veneno na ausência e na presença de Indo, Dexa ou Nif	71
20. Comparação entre os fluxos plasmáticos de rins controle e tratado com veneno na ausência e na presença de Indo, Dexa ou Nif	72
21. Comparação entre os ritmos de filtração glomerular de grupo controle tratado com veneno na ausência e na presença de Indo, Dexa ou Nif	73
22. Comparação entre os percentuais de transporte tubular de sódio de rins controle e tratado com veneno na ausência e na presença de Indo, Dexa ou Nif	74
23. Comparação entre os percentuais de transporte tubular proximal de sódio de rins controle e tratado com veneno na ausência e na presença de Indo, Dexa ou Nif	75
24. Concentração tecidual de sódio em rins não perfundidos e perfundidos com veneno na ausência e presença de Indo, Dexa e Nif	80
25a. Rim controle - apresentando glomérulos sem alteração	84
25b. Rim controle - apresentando túbulos normais	85
26a. Fotografia de rim tratado com 10µg/ml de veneno apresentando glomérulo com material protéico no espaço urinário	86
26b. Fotografia de rim tratado com 10µg/ml de veneno apresentando cilindros hialinos nos túbulos renais	87
27. Rim previamente tratado com indometacina 10µg/ml apresentando material protéico em alguns glomérulos e túbulos normais	88
28. Rim previamente tratado com dexametasona 20µg/ml apresentando glomérulos e túbulos normais	89
29. Rim previamente tratado com nifedipina 10µg/ml apresentando glomérulos e túbulos normais	90

LISTA DE TABELAS

1. Parâmetros funcionais (PP, FU, RVR, FPR, RFG) de rins perfundidos com solução de Krebs-Henseleit na presença de 6% de albumina bovina (n = 9). 43
2. Parâmetros funcionais (% TNa⁺, % pTNa⁺, % TK⁺, % pTK⁺) de rins perfundidos com solução de Krebs-Henseleit na presença de 6% de albumina bovina (n = 9). 44
3. Parâmetros funcionais (PP, FU, RVR, FPR, RFG) de rins perfundidos com solução de Krebs Henseleit na presença de 6% de albumina bovina e indometacina (n =6). 45
4. Parâmetros funcionais (% TNa⁺, % pTNa⁺, % TK⁺, % pTK⁺) de rins perfundidos com solução de Krebs Henseleit na presença de 6% de albumina bovina e indodometacin a (n =6). 46
5. Parâmetros funcionais (PP, FU, RVR, FPR, RFG) de rins perfundidos com solução de Krebs-Henseleit na presença de 6% de albumina bovina e dexametasona (n =9). 47
6. Parâmetros funcionais (% TNa⁺, % pTNa⁺, % TK⁺, % pTK⁺) de rins perfundidos com solução de Krebs-Henseleit na presença de 6% de albumina bovina e dexametasona (n =9). 48
7. Parâmetros funcionais (PP, FU, RVR, FPR, RFG) de rins perfundidos com solução de Krebs-Henseleit na presença de 6% de albumina bovina (n =9) e veneno de *Crotalus durissus cascavella* (10 µg/ml) (n = 8). 49

8. Parâmetros funcionais (% TNa⁺, % pTNa⁺, % TK⁺, % pTK⁺) de rins 50
perfundidos com solução de Krebs-Henseleit na presença de 6% de
albumina bovina e veneno de *Crotalus durissus cascavella* (10µg/ml)
(n = 8).
9. Comportamento da pressão de perfusão mmHg) dos rins perfundidos de 60
ratos controle (n= 9) e tratados com veneno (n = 8), indometacina
(10µg/ml) + veneno (n= 6), dexametasona (20µg/ml) + veneno (n = 6) e
nifedipina (10µg/ml) + veneno (n =6).
10. Fluxo urinário (ml.g⁻¹.min⁻¹) dos rins perfundidos de rato nos grupos 61
controle (n = 9) e tratados com veneno (n = 8), indometacina (10µg/ml) +
veneno (n = 6), dexametasona (20µg/ml) + veneno (n = 6) e nifedipina
(10µg/ml) + veneno (n = 6).
11. Resistência vascular renal (mmHg/ml.g⁻¹.min⁻¹) dos grupos controle 62
(n = 9) e tratados com veneno (n = 8), indometacina (10µg/ml) + veneno
(n = 6), dexametasona (20µg/ml) + veneno e nifedipina (10µg/ml) +
veneno (n = 6).
12. Fluxo de perfusão renal (ml.g⁻¹.min⁻¹) dos grupos controle (n = 9) e 63
tratados com veneno (n = 8), indometacina (10µg/ml) + veneno (n = 6),
dexametasona (20µg/ml) + veneno e nifedipina (10µg/ml) + veneno
(n = 6).

13. Ritmo de filtração glomerular ($\text{ml.g}^{-1}.\text{min}^{-1}$) dos rins perfundidos de rato nos grupos controle ($n = 9$) e tratados com veneno ($n = 8$), indometacina ($10\mu\text{g/ml}$) + veneno ($n = 6$), dexametasona ($20\mu\text{g/ml}$) + veneno e nifedipina ($10\mu\text{g/ml}$) + veneno ($n = 6$). 64
14. Percentual de transporte tubular de sódio dos rins perfundidos de rato nos grupos controle ($n = 9$) e tratados com veneno ($n = 8$), indometacina ($10\mu\text{g/ml}$) + veneno ($n = 6$), dexametasona ($20\mu\text{g/ml}$) + veneno e nifedipina ($10\mu\text{g/ml}$) + veneno ($n = 6$). 65
15. Percentual de transporte tubular proximal de sódio dos rins perfundidos de rato nos grupos controle ($n = 9$) e tratados com veneno ($n = 8$), indometacina ($10\mu\text{g/ml}$) + veneno ($n = 6$), dexametasona ($20\mu\text{g/ml}$) + veneno e nifedipina ($10\mu\text{g/ml}$) + veneno ($n = 6$). 66
16. Percentual de transporte tubular de potássio dos rins perfundidos de rato nos grupos controle ($n = 9$) e tratados com veneno ($n = 8$), indometacina ($10\mu\text{g/ml}$) + veneno ($n = 6$), dexametasona ($20\mu\text{g/ml}$) + veneno e nifedipina ($10\mu\text{g/ml}$) + veneno ($n = 6$). 67
17. Percentual de transporte tubular proximal de potássio dos rins perfundidos de rato nos grupos controle ($n = 9$) e tratados com veneno ($n = 8$), indometacina ($10\mu\text{g/ml}$) + veneno ($n = 6$), dexametasona ($20\mu\text{g/ml}$) + veneno e nifedipina ($10\mu\text{g/ml}$) + veneno ($n = 6$). 68

Alterações renais causadas pelo veneno da *Crotalus durissus cascavella* e bloqueio farmacológico com indometacina, dexametasona e nifedipina.

Alice Maria Costa Martins, Dissertação de Mestrado, UFC, 1997.

Os acidentes ofídicos causados por serpentes do gênero *Crotalus* são de grande importância em virtude de sua toxicidade e sequelas que ocasionam. A sub-espécie *Crotalus durissus cascavella* é a mais encontrada no nordeste do Brasil. Ratos Wistar pesando entre 240 e 280g foram anestesiados com pentobarbital sódico (50mg/Kg). O ureter direito foi canulado, e em seguida o rim direito foi cateterizado através da artéria mesentérica, sem interrupção do fluxo vascular (Bowman, R. H & Maack. T. E. Amer. J. Physiol 226: 426-430, 1974). Para estabilização dos rins as novas condições demos início ao experimento após 20 min. Os primeiros 30 min após o período de estabilização foi considerado como controle interno. A cada 10 min foram coletadas amostras de urina e perfusato para dosagem de sódio, potássio, inulina e osmolaridade. O veneno testado foi colocado no sistema aos 30 minutos de perfusão. As substâncias testadas no intuito de reverter as alterações foram introduzidas 30min antes que o veneno fosse adicionado. O efeito do veneno da *C. d. cascavella* foi estudado sobre a pressão de perfusão (PP), fluxo urinário (FU), fluxo plasmático renal (FPR), resistência vascular renal (RVR), ritmo de filtração glomerular (RFG), percentual de transporte de sódio (%TNa⁺), percentual de transporte proximal de sódio (%pTNa⁺), percentual de transporte de potássio (%TK⁺), percentual de transporte proximal de potássio (%pTK⁺), concentração tissular de sódio (Na_t) e potássio (K_t). A infusão de 10μg/ml de veneno aumentou a PP (ct₆₀ = 113,0 ± 0,48 mmHg vs v₆₀ = 131,0 ± 4,19 mmHg) e o FU (ct₉₀ = 0,15 ± 0,006 vs v₉₀ = 0,30 ± 0,02 ml.g.min⁻¹) com efeito máximo aos 60 e 90min de perfusão respectivamente, aumentou também a RVR (ct₁₂₀ = 4,51 ± 0,19mmHg/ ml.g⁻¹.min⁻¹ vs v₁₂₀ = 7,26 ± 0,50mmHg/ ml.g⁻¹.min⁻¹) e diminuiu o FPR (ct₁₂₀ = 15,20 ± 0,38 ml. g⁻¹.min⁻¹ vs v₁₂₀ = 9,6 ± 0,42ml.g⁻¹.min⁻¹), RFG (ct₁₂₀ = 0,73 ± 0,04 ml.g⁻¹.min⁻¹ vs v₁₂₀ = 0,54 ± 0,03 ml.g⁻¹.min⁻¹), %TNa⁺ (ct₁₂₀ = 80,4 ± 2,6 vs v₁₂₀ = 62,3 ± 4,28), %pTNa⁺ (ct₁₂₀ = 81,9 ± 3,05 vs v₁₂₀ = 63,6 ± 3,2). O %TK⁺ e o %pTK⁺ não apresentaram alterações significativas em relação ao controle. Houve uma diminuição de sódio no tecido renal (ct = 170,0 ± 12μEq. g⁻¹ vs v = 117,14 ± 7,0μEq.g⁻¹), no entanto o potássio permaneceu inalterado. Dentre os glomérulos analisados do grupo tratado, 52% apresentaram intensa quantidade de material protéico no espaço urinário, foi também observado a presença de cilindros hialinos nos túbulos em rins tratados com veneno da *C. d. cascavella*. Na tentativa de bloquear estes efeitos tóxicos, utilizamos a indometacina (Indo 10μg/ml), dexametasona (Dexa 20μg/ml), e nifedipina (Nif 10μg/ml). Dexa protegeu os rins do aumento da PP (v = 131,0 ± 4,19 mmHg vs Dexa = 105,6 ± 2,04 mmHg), FU (v = 0,30 ± 0,02 ml.g⁻¹.min⁻¹ vs Dexa = 0,15 ± 0,01 ml.g⁻¹.min⁻¹), RVR (v = 7,26 ± 0,50mmHg/

ml. g⁻¹.min⁻¹ vs Dexa= 4,12 ± 0,21mmHg/ ml.g⁻¹.min⁻¹) e do decréscimo do FPR (v= 9,6 ± 0,42ml.g⁻¹. min⁻¹ vs Dexa= 13,9 ± 0,28ml.g⁻¹. min⁻¹), RFG (v = 0,54 ± 0,03 ml.g⁻¹. min⁻¹ vs Dexa= 0,70 ± 0,03 ml.g⁻¹.min⁻¹), %TNa⁺ (v = 62,3 ± 4,28 vs Dexa= 81,5 ± 2,7) e %pTNa⁺ (v = 62,3 ± 3,2 vs Dexa= 80,6 ± 2,62) observado no grupo experimental tratado com veneno. Dexa reverteu também a redução do Na_t induzida pelo veneno (v=108 ± 8,0μEq. g⁻¹ vs dexa= 175 ± 16,0μEq. g⁻¹). Indo antagonizou o efeito tóxico sobre PP (v= 131,0 ± 4,19 mmHg vs Indo= 116,0 ± 3,2 ml.g⁻¹.min⁻¹), FU (v = 0,30 ± 0,02 ml.g.min⁻¹ vs Indo= 0,18 ± 0,01 ml. g⁻¹. min⁻¹), RVR (v =7,26 ± 0,50mmHg/ ml.g⁻¹. min⁻¹ vs Indo= 4,4 ± 0,30 ml.g⁻¹. min⁻¹) e FPR (v= 9,6 ± 0,42 ml.g.min⁻¹ vs Indo= 13,4 ± 0,48 ml.g.min⁻¹). Indo também foi capaz de antagonizar a redução do %TNa⁺ (v = 62,3 ± 4,28 vs Indo= 73,7 ± 3,7) e %pTNa⁺ (v = 62,3 ± 3,2 vs Indo= 70,2 ± 3,27) observado após a infusão do veneno, mas não foi capaz de reverter as alterações ao nível de RFG (v = 0,54 ± 0,03 ml.g⁻¹.min⁻¹ vs Indo= 0,66 ± 0,04 ml.g⁻¹.min⁻¹). Os cilindros hialinos não foram visto no grupo tratado com Dexa, ou Nif, também não foi observado qualquer anormalidade em vasos e interstício. Foram observados raros cilindros hialinos nos túbulos de rins que receberam Indo previamente ao veneno. Nif protegeu o rim de todas alterações, exceto sobre o %TNa⁺, %pTNa⁺, pois essa droga apresenta uma ação natriurética, demonstrada pela diminuição da reabsorção de sódio. Foi observado uma reversão dos efeitos tóxicos sobre a PP (v= 131,0 ± 4,19 mmHg vs Nif= 98,0 ± 3,76 ml.g⁻¹.min⁻¹), FU (v = 0,30 ± 0,01 ml.g.min⁻¹ vs Nif= 0,17 ± 0,02 ml. g⁻¹. min⁻¹), RVR (v =7,26 ± 0,50mmHg/ ml.g⁻¹. min⁻¹ vs Nif= 3,8 ± 0,30 ml.g⁻¹. min⁻¹), FPR (v= 9,6 ± 0,42 ml.g.min⁻¹ vs Nif= 14,9 ± 0,13 ml.g⁻¹. min⁻¹) e RFG (v= 0,54 ± 0,03 ml.g⁻¹.min⁻¹ vs Nif= 0,74 ± 0,03 ml.g⁻¹.min⁻¹) Este grupo apresentou também uma diminuição de Na_t. Os cilindros hialinos não foram vistos nos grupos tratados com Indo, Dexa,ou Nif, também não foi observada qualquer anormalidade em vasos e interstício Os rins tratados com Indo e Nif apresentaram uma discreta quantidade de material protéico no espaço urinário. Concluimos que as alterações renais induzidas pelo veneno, pode ter sido causadas por um efeito direto sobre os rins e indiretamente por liberação de mediadores agindo sobre células endoteliais. Dexa protegeu as lesões renais causadas pelo veneno, talvez por inibir a fosfolipase A₂, um componente tóxico do veneno. A reversão induzida por indo pode ser explicada por impedir a liberação de mediadores derivados da via ciclooxigenase. Nif bloqueou as alterações renais em que o influxo de cálcio pode estar envolvido na lesão renal.

Renal alterations caused by the venom of *Crotalus durissus cascavella* and pharmacological blockage with indomethacin, dexamethasone and nifedipine.

The ophidian accidents caused by *Crotalus* snakes have great importance for their toxicity and sequelae. *Crotalus durissus cascavella* is a common subspecies in the northeast of Brazil. Wistar rats weighting between 240 and 280g were anaesthetized with sodium pentobarbital (50mg/kg). The right renal artery was cannulated through the upper mesenteric artery (Bowman, RH & Maack, T.E., Amer. J. Physiol. 226: 426-430, 1974) without blood flow interruption. The experiment started 20 min., after establishment renal function. The first 30 min. were considered internal control. Urine and perfusate samples were collected each 10min. for further laboratorial analysis (sodium, potassium, inulin and osmolality). The venom was added to the system at 30 min. of perfusion. Dexamethasone, indomethacin and nifedipine were added 30 min. prior to the venom. The venom's effect was analysed under perfusion pressure (PP), urinary flow (UF), renal plasmatic flow (RPF), renal vascular resistance (RVR), glomerular filtration rate (GFR), tubular sodium transport (%TNa⁺), proximal tubular sodium transport (%pTNa⁺), tubular potassium transport (%TK⁺), proximal tubular potassium transport (%pTK⁺), and sodium (Na⁺) and potassium (K⁺) tissue concentration values. Venom infusion (10µg/ml) induced increase in PP (ct₆₀ = 113,0 ± 0,48 mmHg vs v₆₀ = 131,0 ± 4,19 mmHg*) and UF (ct₉₀ = 0,15 ± 0,006 ml.g.min⁻¹ vs v₉₀ = 0,30 ± 0,02 ml.g.min⁻¹*), with peak values at 60 and 90min, respectively. The RVR (ct₁₂₀ = 4,51 ± 0,19 mmHg/ml.g⁻¹.min⁻¹ vs v₁₂₀ = 7,26 ± 0,50 mmHg/ml.g⁻¹.min⁻¹*) also increased, but RPF (ct₁₂₀ = 15,20 ± 0,38 ml.g⁻¹.min⁻¹ vs v₁₂₀ = 9,6 ± 0,42 ml.g⁻¹.min⁻¹*), GFR (ct₁₂₀ = 0,73 ± 0,04 ml.g⁻¹.min⁻¹ vs v₁₂₀ = 0,54 ± 0,03 ml.g⁻¹.min⁻¹*), %TNa⁺ (ct₁₂₀ = 80,4 ± 2,6 vs v₁₂₀ = 62,3 ± 4,28*) and %pTNa⁺ (ct₁₂₀ = 81,9 ± 3,05 vs v₁₂₀ = 63,6 ± 3,2) were reduced. TK⁺ and %pTK⁺ did not change. In addition a sodium decrease was seen in renal tissue (ct = 170,0 ± 12 µEq.g⁻¹ vs v = 108,0 ± 8,0 µEq.g⁻¹), however potassium level didn't change. Hyalin casts were seen within renal tubules of rats treated with venom. High amount of proteic material was observed within the urinary space of 52% of the glomeruli. In order to block the toxic venom effects, indomethacin (10µg/ml), dexamethasone (20µg/ml) and nifedipine (10µg/ml) were used. Indomethacin antagonized these toxic effects on PP (v = 131,0 ± 4,19 mmHg vs Indo = 116,0 ± 3,2 mmHg), UF (v = 0,30 ± 0,02 ml.g⁻¹.min⁻¹ vs Indo = 0,18 ± 0,01 ml.g⁻¹.min⁻¹), RVR (v = 7,26 ± 0,50 mmHg/ml.g⁻¹.min⁻¹ vs Indo = 4,4 ± 0,30 ml.g⁻¹.min⁻¹) and RPF (v = 9,6 ± 0,42 ml.g⁻¹.min⁻¹ vs Indo = 13,4 ± 0,48 ml.g⁻¹.min⁻¹). The %TNa⁺ (v = 62,3 ± 4,28 vs Indo = 73,7 ± 3,7) and %pTNa⁺ (v = 62,3 ± 3,2 vs Indo = 70,2 ± 3,27) were also antagonized, but the decrease of the GFR after venom infusion did not changed. (v = 0,54 ± 0,03 ml.g⁻¹.min⁻¹ vs Indo = 0,66 ± 0,04 ml.g⁻¹.min⁻¹). Dexamethasone protected the kidneys against increasing of PP (v = 131,0 ± 4,19 mmHg vs Dexa = 105,6 ± 2,04 mmHg), UF (v = 0,30 ± 0,02 ml.g⁻¹.min⁻¹ vs Dexa = 0,15 ± 0,01 ml.g⁻¹.min⁻¹) and RVR (7,26 ± 0,50

mmHg/ml.g⁻¹. min⁻¹ vs Dexa = 4,12 ± 0,21 mmHg/ml.g⁻¹.min⁻¹) and the decreasing of RPF (v = 9,6 ± 0,42 ml.g⁻¹.min⁻¹ vs Dexa = 13,9 ± 0,28 ml.g⁻¹.min⁻¹), GFR (v = 0,54 ± 0,03 ml.g⁻¹.min⁻¹ vs Dexa = 0,70 ± 0,03 ml.g⁻¹.min⁻¹), %TNa⁺ (v = 62,3 ± 4,28 vs Dexa = 81,5 ± 2,7) and %pTNa⁺ (v = 62,3 ± 3,2 vs Dexa = 80,6 ± 2,62). Dexametasone reversed the Na⁺ reduction caused by venom (v = 108 ± 8,0 μEq.g⁻¹ vs Dexa = 175,2 ± 16,0 μEq.g⁻¹). Nifedipine protected all renal alterations, except on %TNa⁺ and %pTNa⁺, because of its reducing sodium absorption effect. It was also seen a PP (v = 131,0 ± 4,19 mmHg vs Nif = 98,0 ± 3,76 mmHg), UF (v = 0,30 ± 0,02 ml.g⁻¹.min⁻¹ vs Nif = 0,17 ± 0,02 ml.g⁻¹.min⁻¹), RVR (v = 7,26 ± 0,50 mmHg/ml.g⁻¹.min⁻¹ vs Nif = 3,8 ± 0,10 ml.g⁻¹.min⁻¹), RPF (v = 9,6 ± 0,42 ml.g⁻¹.min⁻¹ vs Nif = 14,9 ± 0,33 ml.g⁻¹.min⁻¹) and GFR (v = 0,54 ± 0,03 ml.g⁻¹.min⁻¹ vs Nif = 0,74 ± 0,03 ml.g⁻¹.min⁻¹) toxic effects reduction. In the last group a Na⁺_t decrease was also seen. Neither hyalin casts were seen in the dexamethasone, indomethacin or nifedipine treated groups, nor vascular and interstitial abnormalities. Indomethacin and nifedipine treated kidneys showed a low amount of proteic material within the urinary space. In conclusion, we speculate that the venom-induced renal could be caused by direct or indirect actions, being the latter a result of alterations endothelial cells- acting mediators. Probably the kidney protection by dexametasone, was due to its action on a venom's toxic component, the phospholipase A₂. The blockage of the aradonic acid-derived mediators caused by indometacin explains its protective effect. In addition renal alterations in which calcium influx can act as a determinant factor were blocked by nifedipine.

INTRODUÇÃO

Aspectos gerais sobre ofidismo

A Organização Mundial de Saúde estima que aproximadamente 40.000 pessoas são vítimas de acidentes ofídicos por ano (Burdmann et al., 1993). Entre os numerosos animais peçonhentos que existem em todo mundo, as serpentes são as mais importantes, devido a frequência e sequelas que ocasionam, constituindo um problema de Saúde Pública (Barraviera, 1993).

O estudo da epidemiologia dos acidentes por serpentes peçonhentas no Brasil começou no início do século quando Vital Brazil, fundador e diretor do Instituto Butantan, realizou o primeiro levantamento de óbitos por picadas de serpentes no Estado de São Paulo (Ribeiro et al., 1993). Durante os anos de 1987, 1988 e 1989 foram notificados 21.463, 19.815 e 20.947 casos de acidentes ofídicos respectivamente, no território brasileiro (Barraviera, 1993), variando de acordo com a região (Barraviera et al., 1989).

Em nosso país duas famílias de serpentes despertam interesse em saúde pública, a *Elapidae* e a *Viperidae*, as quais são representadas pelos gêneros *Bothrops*, *Crotalus*, *Lachesis*, *Micrurus*. Os gêneros *Bothrops*, *Crotalus*, *Lachesis* pertencem à família *Viperidae*, enquanto que o gênero *Micrurus* pertence à família *Elapidae*. Várias espécies pertencem ao gênero *Bothrops* e várias ao gênero *Micrurus*, enquanto que apenas uma faz parte do gênero *Crotalus* (*Crotalus durissus*) e uma do gênero *Lachesis* (*Lachesis muta*) (Barraviera, 1993; Jorge & Ribeiro, 1990).

No gênero *Bothrops* as mais importantes espécies encontradas no Brasil são *B. jararaca*, *B. jararacussu*, *B. alternatus*, *B. neuwieddi*, *B. cotiara*, *B. pradoi*, *B. pirajai*, *B. moojeni*, *B. atrox*, *B. bilineatus*, *B. erythromelas*. Elas

habitam preferencialmente ambientes úmidos e possuem ampla distribuição geográfica no território nacional (Barraviera, 1993).

Os acidentes elapídicos têm baixa incidência (0,5%), mas geralmente são fatais, as serpentes que os representam são conhecidas como coral verdadeira e têm ampla distribuição em todo Brasil. As espécies pertencentes a esse gênero são *M. corallinus*, *M. frontalis*, *M. lemniscatus*, *M. ibiboboca*, *M. surinamensis* (Gualtiéri, 1987; Soerensen, 1990).

Os acidentes laquéticos humanos relatados são raros, constituem 1% do total de acidentes por serpentes peçonhentas no Brasil. As serpentes que representam esse gênero fazem parte de uma única espécie, com duas sub-espécies, a *Lachesis muta muta* e *Lachesis muta noctivaga* e estão distribuídas nas florestas tropicais, dentre elas, a Floresta Amazônica e a zona da Mata Atlântica. (França e Fan, 1982; Gualtieri, 1987; Cavalcante, 1995).

O gênero *Crotalus* encontra-se distribuído no território brasileiro em seis sub-espécies, *Crotalus durissus cascavella*, *Crotalus durissus terrificus*, *Crotalus durissus collilineatus*, *Crotalus durissus ruruima*, *Crotalus durissus marajoensis* e *Crotalus durissus trigonicus* (Azevedo-Marques, 1990, Barraviera, 1990; Jorge e Ribeiro, 1992).

O gênero *Bothrops* é responsável por 80% dos acidentes ofídicos em nosso país (Barraviera, 1993), enquanto que o gênero *Crotalus* corresponde entre 8 a 10% desses. Apesar da baixa frequência, os acidentes crotálicos têm toxicidade bastante elevada, com mortalidade chegando a 72% nos casos não tratados com soro anticrotálico e 11% nos casos tratados (Barraviera, 1990).

A quantidade média do veneno crotálico obtido em uma única extração é pequena, em torno de 35mg, bem inferior às fornecidas pela maioria das *Bothrops*, mas a gravidade desses acidentes não decorre da quantidade de veneno que a cascavel inocula, mas da grande toxicidade da peçonha (Vital Brasil, 1982). Essa toxicidade deve-se principalmente à crotovina, fração encontrada no veneno da *C. d. terrificus* (Faure et al., 1994), e que provavelmente existe em outras cascavéis, já que têm uma similaridade em relação aos efeitos.

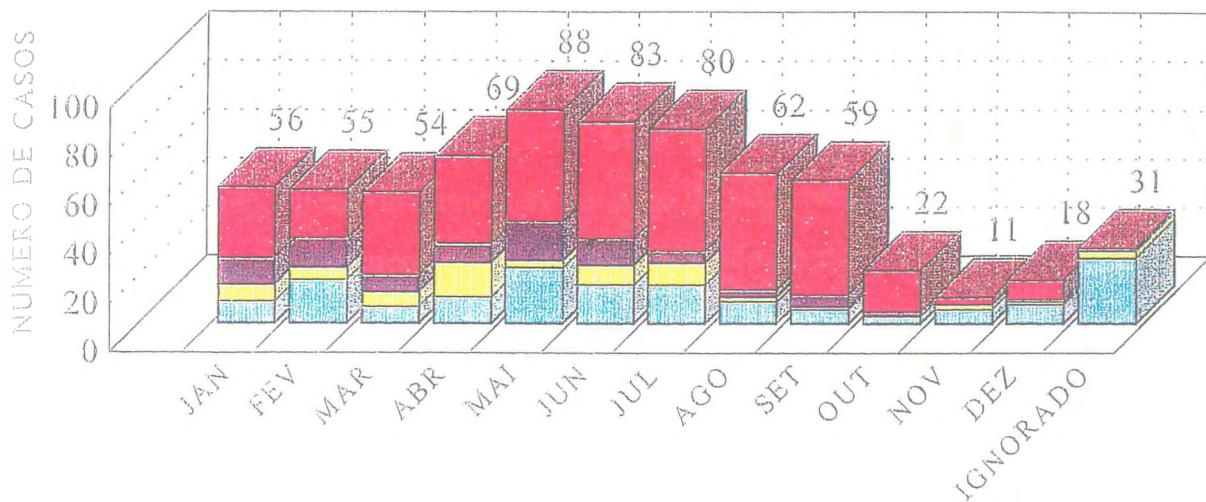
Os acidentes botrópicos e crotálicos podem ocasionar envenenamento sistêmico, podendo causar alterações graves no organismo, a ponto de colocar em risco a estabilidade dos sistemas fisiológicos (Amaral et al., 1986).

Quanto à dentição esses ofídios podem ser divididos em áglifas, opistóglifas, proteróglifas e solenóglifas, sendo as duas últimas peçonhentas (Tanus e Ribeiro, 1990).

Feitosa (1996) observou que dentre os acidentes ofídicos ocorridos no Brasil, no período de junho de 1986 a dezembro de 1989, o Nordeste foi a região que apresentou um maior coeficiente de letalidade.

De acordo com levantamento estatístico da divisão de Epidemiologia da Secretaria de Saúde do Estado do Ceará, entre os anos de 1986 a 1988, ocorreram 1079 casos de acidentes por serpentes peçonhentas e não peçonhentas, com 17 óbitos e letalidade de 1,6% (Guimarães et al., 1989).

Feitosa et al. (1997), em estudo epidemiológico realizado no estado do Ceará, observaram que no período de 1992 a 1995, 688 acidentes por serpentes peçonhentas foram notificados pela Secretaria de Saúde, com uma média anual de 172 casos. A maioria dos acidentes ocorreu entre os meses de abril a setembro coincidindo com o aumento das atividades agropecuárias (Figura 1). As serpentes



1995	29	20	34	36	46	48	50	48	47	17	3	8	1
1994	11	12	7	8	16	11	5	3	5	2	0	1	0
1993	7	5	6	14	3	8	9	2	1	0	2	1	3
1992	9	18	7	11	23	16	16	9	6	3	6	8	27



Figura 1: Acidentes ofídicos segundo mês e ano de ocorrência.
 Fonte: Feitosa et al (1997).

do gênero *Crotalus* foram responsáveis pela maioria dos óbitos nesse período, o que demonstra a alta letalidade. O sexo masculino foi o mais acometido (75,58%). Foi bastante elevado o número de casos cuja evolução clínica foi ignorada; isto ocorreu porque não houve um acompanhamento clínico do doente após a soroterapia.

Os soros produzidos no Brasil não são específicos para cada espécie, sendo importante conhecer o gênero a que pertencem para que possamos tomar medidas terapêuticas fundamentais em caso de acidentes, exceto quando o gênero possuir uma única espécie nacional. Quando não se dispõe do soro específico é recomendado o uso do soro de outro gênero (Jorge e Ribeiro, 1990), já que os venenos de gêneros diferentes possuem algumas substâncias antígenicamente semelhantes (Dias da Silva et al., 1989).

Feitosa (1996) estudou a toxicidade do veneno da *Crotalus durissus cascavella* e observou que a DL_{50} é $3,0 \pm 0,34$ mg/Kg, em ratos por via intraperitoneal, observou também que nas segunda e terceira horas após a inoculação do veneno, os animais apresentaram ptose palpebral, redução do tônus postural e respiração ofegante, e entre a terceira e a sexta hora houve uma evolução da intoxicação apresentando incoordenação motora, hipotonia muscular, taquipnéia intensa e morte. De modo geral, as mortes ocorreram principalmente nas seis primeiras horas após a inoculação do veneno.

Amaral et al. (1991) acompanharam alguns pacientes no Centro de Tratamento Intensivo do Hospital das Clínicas da UFMG e observaram manifestações de comprometimento respiratório, nas 48 horas após o acidente por serpentes do gênero *Crotalus*. Todos os pacientes relataram dispnéia e apresentaram, ao exame físico, sinais de comprometimento respiratório como taquipnéia e insuficiência respiratória, necessitando muitas vezes de respiração artificial assistida.

Distribuição e características das serpentes do gênero *Crotalus*

As serpentes crotálicas são frequentes nas regiões secas e pedregosas do Brasil, não sendo encontradas em florestas e matas úmidas (Barraviera, 1993). Seis sub-espécies foram identificadas, as quais são irregularmente distribuídas em todo o território brasileiro (Azevedo Marques et al., 1990).

- *Crotalus durissus cascavella*- encontrada em áreas de caatinga do Nordeste, desde o Maranhão até o norte de Minas Gerais, sendo a principal sub-espécie encontrada no nosso estado.

- *Crotalus durissus terrificus*- distribuída nas zonas altas e secas da Região Sul, desde o Rio Grande do Sul até Minas Gerais.

- *Crotalus durissus collilineatus*- encontrada nas áreas secas da zona Centro-Oeste desde o Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais até o norte do estado de São Paulo.

- *Crotalus durissus ruruima*- distribuída em algumas regiões dos estados de Roraima, Amapá, Pará, Amazonas e Rondônia.

- *Crotalus durissus marajoensis*- encontrada na Ilha de Marajó.

- *Crotalus durissus trigonicus*- distribuída no estado de Roraima.

As serpentes do gênero *Crotalus* encontradas no Brasil apresentam algumas características comuns observadas nas demais serpentes peçonhentas, tais como cabeça triangular, um par de fosseta loreal, olhos pequenos com pupilas em fenda, escamas na cabeça e dentes inoculadores de veneno. Além disso, apresentam na porção terminal da cauda o guizo ou chocalho, uma característica peculiar desse gênero de serpentes, que facilita a sua identificação (Barraviera, 1990). A função venenosa resulta da associação direta entre as glândulas secretoras e o aparelho inoculador, a dentição é do tipo solenóglifa, onde as presas inoculadoras são grandes, recurvadas e afiladas, com um canal interior que conduz o veneno, produzido e armazenado nas glândulas secretoras (Cardoso, 1982; Jorge e Ribeiro, 1990).

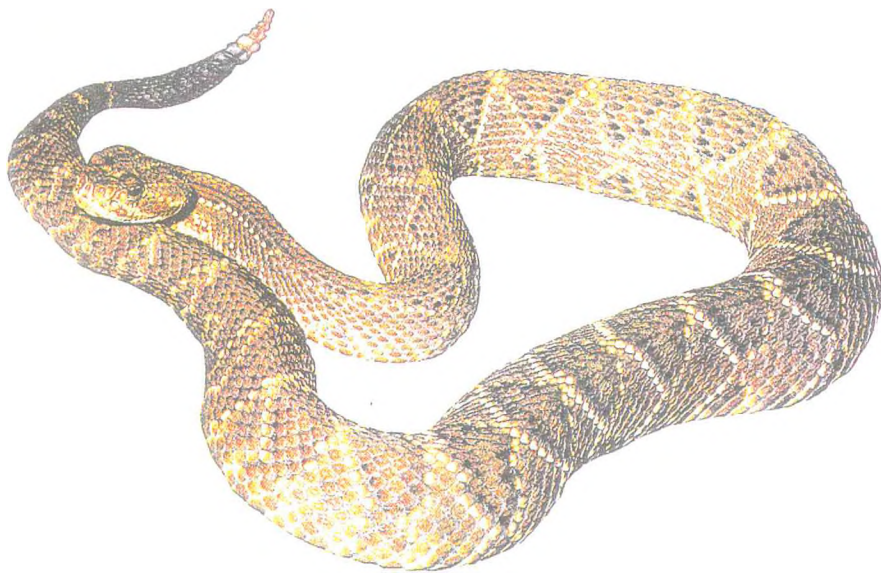


Figura 2- Serpente do gênero *Crotalus*

Composição do veneno crotálico

O veneno das serpentes peçonhentas é composto de várias substâncias, cuja proporção e características específicas variam entre as diferentes espécies conhecidas (Barraviera, 1994), sendo considerado o mais complexo de todos os venenos devido à composição e a multiplicidade dos efeitos provocados por seus componentes (Da Silva et al., 1979).

A composição do veneno crotálico é complexa, sendo constituído de enzimas (5-nucleotidase, fosfodiesterase, enzima tipo trombina, L-amino oxidase, calicreína tipo tissular e NAD hidrolase), toxinas (crotapotina, fosfolipase A₂, crotamina, convulxina, giroxina), peptídeos e substâncias biologicamente ativas (Barraviera, 1990, 1993), cujos efeitos biológicos variam nas diferentes sub-espécies (Azevedo- Marques et al, 1987).

Numerosas substâncias farmacologicamente ativas, tais como histamina, bradicinina, 5-hidroxitriptamina, lisofosfatídeos, prostaglandinas, catecolaminas, anafilatoxina e possivelmente outras, podem ser liberadas pelas peçonhas ofídicas (Vital Brazil, 1982).

A ação enzimática da fosfolipase sobre os fosfolipídios da membrana pode alterar a permeabilidade, causando hemólise indireta por formação de lisofosfatídeos (Lima et al., 1989).

O veneno de várias serpentes tem demonstrado a existência da 5-nucleotidase, caracterizada como uma fosfatase altamente específica para nucleosídeo 5-fosfato, com grande afinidade para ribonucleotídeo (Heredia et al., 1982). Esses venenos constituem a fonte mais rica da enzima L-amino-oxidase (Umanã, 1982), podendo conter substâncias inorgânicas como sódio, cálcio, potássio, magnésio e pequenas quantidades de metais como zinco, ferro, cobalto e níquel. A importância dos metais não é bem conhecida, mas evidências sugerem que tais substâncias estão intrinsecamente envolvidas com a atividade proteásica e

fosfolipásica de certos venenos, embora no caso do elapídico, o zinco demonstre se interrelacionar com a atividade anticolinesterásica. O cálcio pode ter um papel na ativação da fosfolipase A₂ e do fator lítico direto. Em algumas espécies, os componentes mais letais do veneno são os peptídeos ou polipeptídeos (Russel e Dart, 1991).

A fosfolipase A₂ (PLA₂) é encontrada em venenos de mais de 20 espécies de serpentes e parece estar amplamente distribuída em todos os venenos de elapídeos e viperídeos. Catalisa a hidrólise de um éster graxo ligado a diacil fosfatídeo, formando lisofosfatídeo e liberando ácidos graxos saturados e insaturados (Rosemberg, 1979; Faure, 1988; Russel e Dart, 1991).

A PLA₂ pode induzir vários efeitos incluindo neurotoxicidade pré e/ou pós-sináptica, miotoxicidade, cardiotoxicidade, iniciação ou inibição da agregação plaquetária, além disso pode induzir efeitos hemolítico, anticoagulante, convulsivante, hipotensivo e edematogênico, embora nem todas exibam tais atividades farmacológicas. A fosfolipase de diversos venenos, mesmo quando administrada na mesma dose, pode induzir a diferentes efeitos farmacológicos (Kini e Evans, 1989).

O veneno de serpente apresenta diversas atividades, entre elas a “trombina like” ou tipo trombina. Esta enzima encontra-se presente nos venenos das serpentes crotálicas e botrópicas. No Brasil, os estudos têm sido realizados principalmente com os venenos da *B. jararaca* (Tanizaki et al., 1989), *B. jararacussu* (Homsí-Branderburgo et al., 1988) e *C. d. terrificus* (Raw, 1986).

As enzimas isoladas do veneno, que possuem atividade tipo trombina, apresentam a capacidade de atuar sobre a molécula de fibrinogênio encontrada no sangue humano, transformando-a diretamente em fibrina, podendo causar consumo de fibrinogênio e conseqüentemente incoagulabilidade sanguínea e aumento do tempo de coagulação (Azevedo-Marques et al., 1987; Kamiguti et al., 1988).

A maioria dos componentes tóxicos e biologicamente ativos dos venenos ofídicos é de natureza protéica, embora possam também apresentar carboidratos (glicoproteínas), lipídios, aminas biogênicas (Habermehl, 1991; Russell, 1993).

A convulxina, toxina de elevado peso molecular, produz convulsões, alterações respiratórias e circulatórias, atua nas plaquetas induzindo sua agregação e liberação de ATP e formação de tromboxanos (Tx_s) (Prado-Franceschi, 1990). A ação sobre a agregação plaquetária é cálcio-dependente, sendo devida à ativação da fosfolipase C, liberação de ADP e síntese de TXA₂ (Prado-Franceschi, 1996).

A peçonha da *Crotalus durissus terrificus* induz a liberação de aminas e de ATP das plaquetas sanguíneas isoladas (Marlas, 1983). A convulxina é idêntica ao fator liberador de aminas das plaquetas.

Convulxina ou fração agregante plaquetária é uma glicoproteína isolada do veneno da *Crotalus durissus cascavella* não tóxica para camundongo e pode ser fortemente específica para receptor da membrana plaquetária. Essa glicoproteína é similar à da sub-espécie *Crotalus durissus terrificus*, com relação à atividade plaquetária, mas difere no que se relaciona ao efeito convulsivante observado em camundongos (Marlas, 1983).

Marlas (1983) demonstrou que a injeção intravenosa de convulxina da *C. d. terrificus* induz taquipnéia e apnéia seguida por crise convulsiva intensa e morte do camundongo. A injeção intravenosa de plaquetas incubadas com convulxina em animais protegidos com soro anticrotálico provoca perturbações respiratórias e circulatórias, efeitos decorrentes das ações de substâncias liberadas pelas plaquetas, muito provavelmente ATP e 5-HT, e não de ação direta da convulxina (Prado-Franceschi et al., 1981). A ação sobre os fosfolipídios da membrana leva à produção de inositol-trifosfato (IP₃) e diacilglicerol (DAG), segundos mensageiros que aumentam a acumulação intracelular de cálcio e ativa proteína-quinase C respectivamente (Prado-Franceschi, 1996).

Prado-Franceschi (1996) observou que EDTA e prostaciclina (PGI₂) inibem a agregação plaquetária induzida por convulxina indicando que as respostas intracelulares são cálcio-dependentes e também envolvem o sistema adenilato-AMPC.

Crotoxina é o maior componente do veneno da *Crotalus durissus terrificus*, formado por duas subunidades polipeptídicas associadas não covalentes, uma ácida denominada crotapotina, a qual não tem atividade enzimática, e uma básica com atividade enzimática fosfolipase A₂ (Bon et al., 1989; Laure, 1990; Araujo e Beirão, 1993; Souza-Filho et al., 1992; Cardi et al., 1992; Faure et al., 1994).

A crotoxina é uma potente neurotoxina com atividade fosfolipase A₂, que atua em nível pré-sináptico nas junções neuromusculares, diminuindo a liberação do neurotransmissor (Bon et al., 1989; Araújo et al., 1992; Faure et al., 1994), principal fator responsável pelo bloqueio neuromuscular e, portanto, pelas paralisias motoras e respiratórias observadas em animais (Azevedo-Marques et al., 1985). Estudos eletrofisiológicos mostraram que a crotoxina, além da atividade pré-sináptica já conhecida, também age a nível pós-sináptico (Bon et al., 1979; Dart e Russel, 1991). Foi observado que o cálcio é essencial para a atividade dessa fração (Araújo et al., 1992). O sítio primário de ação da crotoxina no músculo é a membrana plasmática e está relacionado com a hidrólise de fosfolipídios (Barraviera, 1990).

A crotoxina age também em doses altas sobre a membrana pós-sináptica por estabilizar os receptores de acetilcolina no estado conformacional inativo, similar ao estado de dessensibilização observado após a inoculação prolongada com agonista colinérgico (Bon et al., 1989).

Foi observado que as alterações anatomopatológicas decorrentes da inoculação da crotoxina são lesões subsarcolêmicas com edema intramitocondrial em animais, ocorrendo após 4 a 6 horas. Após 24 horas, as mitocôndrias

apresentaram depósitos densos com elevada concentração de cálcio. Inoculações apenas de crotapotina no músculo não evidenciaram lesões histológicas, mas quando diferentes quantidades de fosfolipase A₂ foram inoculadas, verificou-se necrose frente a qualquer dose utilizada, sugerindo que as lesões causadas pela crotoxina são as mesmas que as verificadas pela fosfolipase A₂, embora sejam mais intensas no segundo caso. Dessa maneira, a associação entre a fosfolipase A₂ e crotapotina leva a uma potencialização dos efeitos miotóxicos (Barraviera, 1990).

A crotapotina potencia a toxicidade da fosfolipase A₂ *in vivo*, mas inibe a atividade hemolítica *in vitro*. A combinação dessas frações restaura a toxicidade da crotoxina que em altas doses, age sobre a membrana pós-sináptica em receptores da acetilcolina, devendo ser interpretado como um fenômeno farmacocinético (Faure, 1994).

A crotamina é uma toxina polipeptídica básica presente no veneno de uma variedade de serpentes do gênero *Crotalus* (Vital Brazil, 1980), sendo uma miotoxina de peso molecular compreendido entre 4.000 e 5.000 dáltons, capaz de induzir a despolarização do potencial da membrana das células musculares. É possível que esta miotoxina atue nos canais de sódio da membrana dessas células musculares, induzindo um influxo deste cátion (Vital Brazil, 1990).

A crotamina é encontrada apenas nas cascavéis de certas regiões e tem atividade sinérgica à da crotoxina, no que se refere à sua miotoxicidade (Chang e Taseng, 1979), visto que os venenos crotamino-positivos causam aumento mais importante das enzimas séricas creatinofosfoquinase (CPK) e isoenzimas, quando comparados aos crotamino-negativos (Villarroel et al., 1981).

A farmacologia da giroxina é pouco conhecida; sabe-se apenas que ela produz uma síndrome convulsiva peculiar em camundongos, caracterizada por movimentos rápidos de rotação do corpo em torno de seu eixo longitudinal (Vital Brazil, 1982; Prado-Franceschi, 1990).

Efeitos do veneno crotálico

A maioria dos venenos exerce provavelmente seus efeitos sobre quase todas as células ou tecidos e suas propriedades farmacológicas são determinadas por muitos componentes biologicamente ativos. A ação do veneno ou de seus componentes no organismo é dependente de um número de variáveis, incluindo taxas de administração, absorção, distribuição, acumulação e ação no sítio receptor, metabolismo e excreção (Russell e Dart, 1991).

O veneno de serpentes do gênero *Crotalus* causa neurotoxicidade, alterações de coagulação, miotoxicidade sistêmica e insuficiência renal aguda (Barraviera, 1993; Magalhães et al., 1986). Além do sistema nervoso central, sangue, músculo esquelético e rim (Barraviera, 1993; Thomazini et al., 1991), outros órgãos como o fígado (Banher, 1973; Barraviera et al., 1990, 1995) e coração (Cupo, 1990; Siqueira, 1990) também podem ser afetados.

Peçonhas neurotóxicas causam efeitos como paralisias e perturbações visuais. Esses efeitos podem decorrer da ação de constituintes da peçonha nos receptores colinérgicos das placas terminais e não nas terminações nervosas ou sistema nervoso central. Dentre as peçonhas neurotóxicas, são de particular importância as dos escorpiões, de certas aranhas e de muitos ofídios (Vital Brazil, 1980; Barraviera, 1994).

A neurotoxicidade nos acidentes crotálicos decorre principalmente da ação da crotóxina em produzir paralisias musculares, por agir a nível de placa motora, impedindo a liberação de acetilcolina pré-sináptica e, portanto, a condução do estímulo nervoso (Jorge & Ribeiro, 1990, 1992; Amaral et al., 1991). Além disso, é descrita uma ação pós-sináptica, porém menos potente (Jorge & Ribeiro, 1990). Algumas horas após o acidente surge fácies neurotóxica com ptose palpebral uni ou bilateral e oftalmoplegia, como consequência, o paciente pode relatar diplopia e dificuldade de acomodação visual. As paralisias

flácidas observadas são semelhantes às produzidas pelo curare, sendo o diafragma um dos últimos músculos a ser paralisado (Amaral et al., 1991).

O comprometimento intenso da musculatura respiratória pela ação da crotoxina é uma complicação possível de ocorrer nos acidentes ofídicos crotálicos humanos (Amaral et al., 1991).

O veneno da cascavel sul-americana é capaz de ocasionar incoagulabilidade sanguínea em 40% dos pacientes picados por esta serpente. Essa atividade é do tipo trombina, convertendo o fibrinogênio diretamente em fibrina, mas dela difere pois a fibrina formada tende a ser instável, predominando o efeito hipofibrinogenante, sem que ocorram manifestações de coagulação intravascular disseminada (Amaral, 1988; Jorge & Ribeiro, 1992). A atividade coagulante é descrita no veneno de outras espécies do gênero *Crotalus* como a *Crotalus adamanteus* (cascavel norte-americana) (Amaral, 1988).

Foi observado que a enzima do tipo trombina encontrada no veneno das serpentes crotálicas, assim como das botrópicas, pode acelerar o processo de cicatrização de tecidos biológicos. Existe a perspectiva da produção de cola cirúrgica utilizando a trombina de serpente. (Barraviera, 1994).

Vital Brazil (1982) descreveu a propriedade do veneno de serpentes, incluindo da *C. d. terrificus* em controlar a dor em humanos. Recentemente, Giorgi (1996) observou que a administração de veneno bruto de *C. d. terrificus* por via subcutânea, intraperitoneal ou oral provoca um efeito antinociceptivo em camundongos, quando a dor é induzida pelos métodos do ácido acético e teste da placa quente.

Foi observado que o veneno da *Crotalus* interfere com a função plaquetária, possivelmente através da ação direta e/ou indireta sobre o consumo de fibrinogênio, com conseqüente elevação da concentração de produtos de degradação do fibrinogênio (Thomazini et al., 1991).

Injúria hepática pode ocorrer em acidentes ofídicos crotálicos, sendo observado um aumento expressivo de aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), e estudo histopatológico mostrou extensa necrose hepática em pacientes vítimas desses acidentes (Barraviera et al., 1989, 1993, 1995; Azevedo-Marques et al., 1985). O aumento de ALT é mais específica para diagnóstico de lesões hepáticas, pois essa enzima é encontrada em maior proporção no fígado (Moss et al., 1986).

Recentemente, Barraviera et al. (1995) avaliaram níveis séricos de IL-1, IL-6, IL-8 e TNF em pacientes vítimas de acidentes por *Bothrops ssp* e *Crotalus durrisus terrificus* e observaram principalmente um aumento de IL-6 e IL-8. Disfunções hepáticas podem ser devidas a um prejuízo mitocondrial causando redução no aporte energético para o hepatócito, ao lado do efeito de citocinas no fígado, especialmente IL-6.

A análise do fígado por microscopia eletrônica demonstrou lesões mitocondriais caracterizadas por edema importante, desaparecimento completo das cristas, rarefação da matriz e, em alguns casos, perda do conteúdo mitocondrial (Barraviera, 1993).

Os acidentes ofídicos, sobretudo os graves, podem ser interpretados, do ponto de vista fisiopatológico, como um trauma agudo, pois os doentes de maneira geral encontravam-se trabalhando e em perfeitas condições de saúde (Barraviera e Peraçoli, 1994).

Venenos ofídicos, principalmente o crotálico, devem interagir com células-alvo produtoras de interleucinas (macrófagos, monócitos, mastócitos, células endoteliais, linfócitos e fibroblastos), promovendo a liberação de IL-6 e IL-8 para o sangue periférico. Estas, por sua vez, atuarão nos hepatócitos, aumentando a produção de proteínas de fase aguda, como também na medula óssea, promovendo leucocitose, neutrofilia e liberação de células jovens para o sangue periférico. No hipotálamo irão mediar a febre, anorexia e sonolência e na hipófise promoverão a liberação de hormônio adrenocorticotrófico, que resultará em aumento do cortisol sérico com consequente linfopenia e aneosinofilia (Figura 3) (Barraviera et al, 1994).

Cupo et al. (1988) avaliaram a atividade miotóxica do veneno da *Crotalus durissus terrificus* medindo os níveis séricos de lactato desidrogenase (LDH), creatinoquinase (CK) e aspartato aminotransferase (AST), por detecção de mioglobina no soro e urina e por biópsia muscular. A atividade miotóxica sistêmica do veneno crotálico é caracterizada pela liberação de mioglobina do músculo esquelético no soro e urina.

A miotoxicidade do veneno é observada pela intensa mialgia generalizada, podendo ser acompanhada por edema muscular discreto, embora em alguns casos possa ser assintomático (Barraviera, 1993; Azevedo-Marques et al., 1985, 1987; Magalhães et al, 1986). A rabdomiólise é uma síndrome clínico-laboratorial de múltiplas etiologias, resultante da lesão muscular esquelética com liberação do conteúdo celular para o plasma (Gabow et al., 1982; Magalhães, 1986).

Venenos botrópicos e crotálicos apresentam ações nefrotóxicas diretas sobre túbulos renais, embora outros mecanismos possam contribuir para a patogênese dessas lesões (Sanchez et al., 1992).

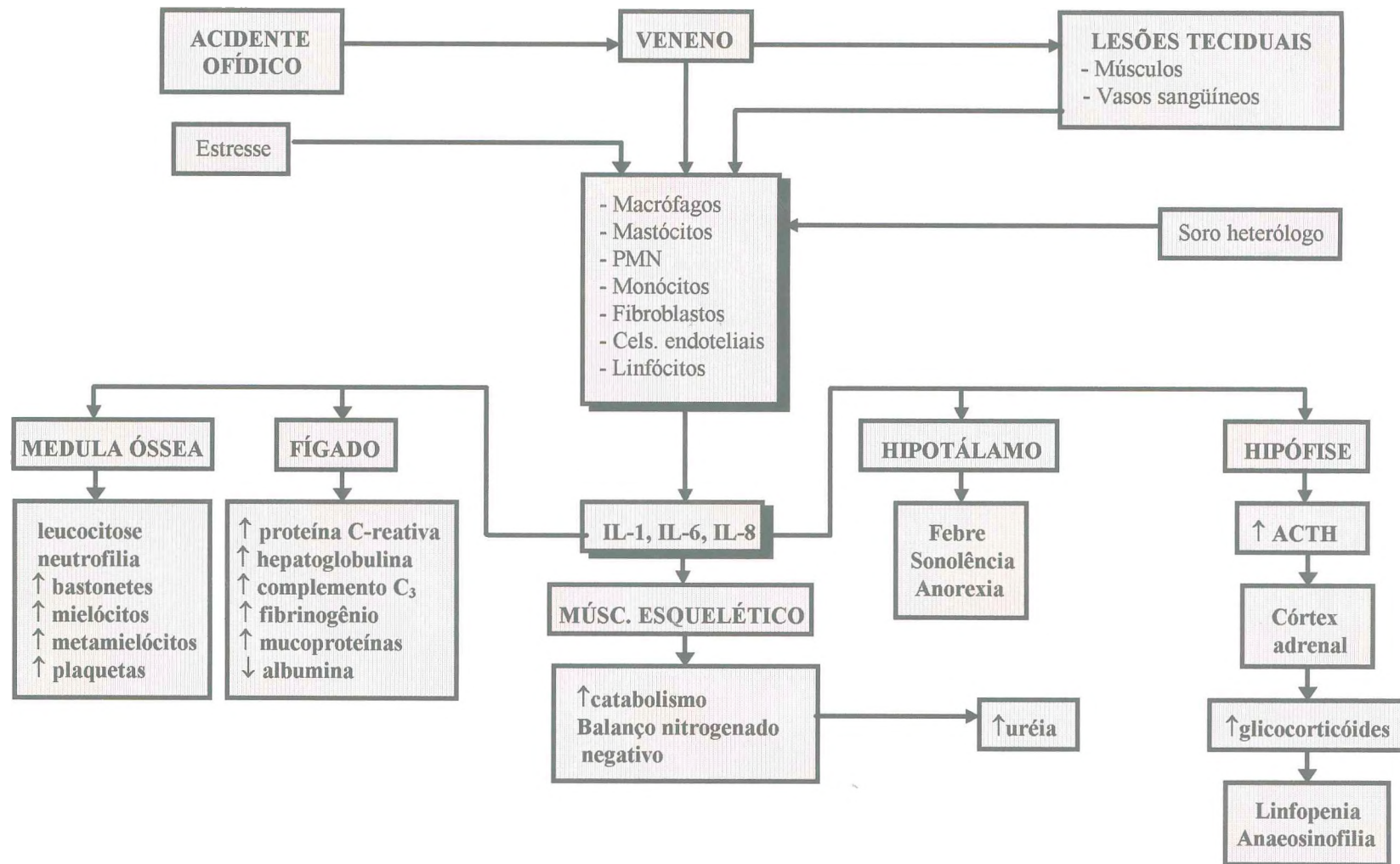


Figura 3: Hipótese da reação da fase aguda.
Fonte: Barraviera, 1994.

A ação nefrotóxica postulada para o veneno crotálico parece ocasionar lesão tubular renal diretamente, embora as lesões renais sejam também observadas nos acidentes botrópicos, não se sabe se as mesmas são secundárias a alguma ação nefrotóxica direta ou indireta do veneno (Barraviera, 1994).

Em geral, os possíveis mecanismos de lesão renal de envenenamentos ofídicos incluem isquemia (por hipotensão, vasoconstrição renal ou coagulação intravascular disseminada), hemorragia, nefrotoxicidade direta ou nefropatia por pigmentos (mioglobina, hemoglobina) (Warrell, 1991).

Lesão renal causada por veneno da *C. d. terrificus* em humanos foi descrita em trabalhos clássicos de Amorim e Mello (1952, 1954), como nefrose do néfron intermediário com presença de cilindros de hemoglobina nos túbulos renais, depois identificado como metemoglobina (Rosenfeld et al., 1968). Experimentos de Amorim et al. (1969) no qual o envenenamento por *C. d. terrificus* foi reproduzido em cães, revelaram constante hemoglobinúria e lesões renais idênticas àquelas relatadas no envenenamento humano.

A principal e mais séria complicação do envenenamento crotálico em humanos é a insuficiência renal aguda (Cupo, 1988; Nancy, 1991), sendo responsável por um grande número de óbitos em pacientes que sobreviveram à consequência inicial da picada. As lesões renais são atribuíveis à ação miotóxica, com liberação de mioglobina que é excretada pelos rins e provável ação nefrotóxica direta do veneno. A excreção de mioglobina apenas não leva à necrose tubular aguda, sendo necessárias outras condições, como hipovolemia, urina ácida ou agente nefrotóxico (Azevedo-Marques et al., 1985)

O diagnóstico de insuficiência renal aguda (IRA) baseia-se na instalação da oligúria seguida de anúria após a picada, com elevação progressiva dos níveis séricos de uréia e creatinina. Constatou-se a presença de hipocalcemia,

hiperuricemia e hiperfosfatemia significativas na fase oligúrica da IRA. (Magalhães et al., 1986). A fase inicial da IRA pode apresentar poliúria. (Vander, 1995).

A associação da rabdomiólise com a insuficiência renal aguda está bem estabelecida, porém a patogênese desta associação não se encontra totalmente elucidada. Entre os mecanismos propostos para explicá-la, encontram-se obstrução tubular por cilindros de mioglobina e lesão renal direta dos túbulos por miopigmento, outros fatores como desidratação, hipotensão arterial e acidose metabólica podem estar associados a rabdomiólise e contribuir para instalação da lesão renal (Magalhães et al., 1986).

A insuficiência renal aguda é uma complicação grave observada nos envenenamentos botrópicos e crotálicos e pode decorrer de alterações anatômicas do tipo glomerulonefrite aguda, necrose tubular aguda e necrose cortical. São escassos os trabalhos onde se avaliam os resultados do tratamento intensivo desta complicação observada nesses envenenamentos, por esse motivo muitos aspectos relacionados com a sua evolução permanecem obscuros (Da Silva et al., 1979; Amaral, 1986; Sanchez et al., 1992). Nos acidentes crotálicos, as lesões foram inicialmente atribuídas às ações hemolíticas e nefrotóxicas diretas do veneno. Entretanto embora observada *in vitro*, a hemólise não ocorre *in vivo*, o que a exclui como mecanismo patogénético (De Lima, 1989). A ação miotóxica do veneno crotálico pode ter uma participação na IRA, mas não como mecanismo único (Amaral e Rezende, 1994)

Quadro clínico e tratamento

Os acidentes ofídicos causados por serpentes *Crotalus durissus* provocam manifestações locais discretas. A dor no local é pouco frequente e quando existe não é intensa. Também podem ocorrer edema, eritema, parestesia e prurido. Nesse tipo de acidente não há relação entre os sintomas locais e a gravidade do envenenamento (Gualtiéri, 1987; Jorge e Ribeiro, 1990).

A miotoxicidade do veneno é evidenciada do ponto de vista clínico pela intensa mialgia generalizada, podendo ser acompanhada de edema muscular discreto, embora em alguns casos possa ser assintomática (Cupo et al., 1988; Barraviera, 1990).

A neurotoxicidade ocorre após algumas horas, com dor na região do pescoço, sonolência, diplopia, oftalmoplegia, diminuição ou mesmo perda da visão. A ptose palpebral uni ou bilateral, juntamente com diminuição da expressão facial, a boca entreaberta e o enrugamento da testa na tentativa de abrir os olhos dá ao paciente aspecto característico e denominado de fâcies neurotóxico de Rosenfeld (Soerensen, 1990; Jorge e Ribeiro, 1992). A insuficiência respiratória pode ocorrer em alguns casos. Cefaléia intensa, febre, hipertensão ou hipotensão arterial acompanhada de taquicardia ou de bradicardia, são sintomas que lembram a síndrome de hiperreatividade simpática. Esses sintomas acompanham casos graves e em geral atendidos tardiamente, e desaparecem após a primeira semana.

Outra alteração como leucocitose com neutrofilia, surge cerca de 6 horas após a picada por serpente *Crotalus durissus terrificus* (Amaral et al., 1986; Jorge e Ribeiro, 1990). Foi também observada eosinofilia em mielograma realizado em pacientes no terceiro dia após a picada (Jorge e Ribeiro, 1992).

A insuficiência renal é a principal causa de óbitos. Nos casos que evoluem para essa complicação, o quadro clínico é o clássico descrito

(Barraviera, 1994). A IRA é suspeitada quando o paciente, após a picada do ofídio, desenvolve oligúria ou anúria e apresenta elevação progressiva dos níveis de uréia e creatinina plasmáticas, mas a IRA pode se instalar sem a ocorrência de oligoanúria (IRA de alto débito), sendo diagnosticada pelas dosagens séricas de uréia e creatinina (Magalhães et al, 1986; Sanchez et al., 1992).

Os acidentes crotálicos devem ser considerados uma emergência médica, visto haver evidente correlação entre a precocidade na instalação da soroterapia e a evolução favorável dos pacientes (Barraviera, 1993).

Os dois procedimentos fundamentais no tratamento do paciente picado por *C. durissus* são a hidratação e a soroterapia, sendo esta última, a única terapêutica específica eficaz para o tratamento dos acidentes por serpentes peçonhentas, devendo ser empregada em tempo hábil, em doses e vias adequadas (Barraviera, 1994) e administrada o mais rapidamente, pois evidentemente só tem ação sobre o veneno e não se espera que atue nos tecidos já lesados (Jorge e Ribeiro, 1990).

Os soros para uso humano são do tipo heterólogo, e contêm imunoglobulinas específicas e purificadas, obtidas a partir do plasma de animais normais, geralmente eqüinos hiperimunizados com venenos de animais peçonhentos (Soerensen, 1990; Barraviera e Peraçoli, 1994).

Os principais laboratórios oficiais produtores de antivenenos para o uso humano são Instituto Butantan (SP), Instituto Vital Brazil (RJ) e Fundação Ezequiel Dias (MG) (Feitosa, 1996).

Os soros antiofídicos produzidos no Brasil são obtidos de eqüinos hiperimunizados. Desse modo podem ocorrer reações de hipersensibilidade imediata, entre os quais edema de glote, broncoespasmo e choque anafilático.

Santos et al. (1989) demonstraram que eqüinos adultos imunizados com o veneno da *C. d. terrificus* ou com a fosfolipase A₂ purificada da crotoxina tornavam-se resistentes à dose letal do veneno bruto.

O soro antiofídico da *Crotalus durissus terrificus* é capaz de inativar a fosfolipase A₂, que é o componente crucial para a ação tóxica do complexo crotoxina, sendo provável que o veneno seja inativado pelo soro através da formação de complexo inativo entre os dois (Mittal et al., 1986).

Estudos com camundongos inoculados com veneno de *Crotalus durissus terrificus* revelaram que, os animais tratados mais tardiamente necessitam de maior dose de soro que os demais, para sobreviverem (Jorge e Ribeiro, 1990).

A insuficiência renal aguda é uma complicação frequente, sendo a principal causa de óbito nos acidentes crotálicos em pacientes não tratados com o soro (Azevedo-Marques, 1986; Gualtiéri, 1987; Amaral e Rezende, 1994). A hidratação é extremamente importante na maioria destes envenenamentos, sobretudo no acidente crotálico e deve ser realizada precocemente, mesmo antes de chegar a uma unidade de saúde.

Uma vez estabelecida a IRA, os princípios de tratamento são os mesmos que para as suas demais formas. Deve ser levado em conta, porém, que a IRA mioglobínica frequentemente é hipercatabólica, mostrando elevação rápida dos níveis séricos de creatinina, ácido úrico, fósforo e potássio, devido à liberação dessas substâncias de tecido muscular lesado para a circulação. Tais achados orientam para a instalação precoce de métodos dialíticos, sendo frequentemente necessário no adulto, para maior eficiência, recorrer à hemodiálise (Amaral, 1986).

OBJETIVOS

Objetivo geral

-Estudar as alterações renais induzidas pelo veneno da *Crotalus durissus cascavella*.

Objetivos específicos

- Estudar os parâmetros funcionais em sistema de perfusão de rim isolado de rato.
- Avaliar as alterações histopatológicas dos rins perfundidos com o veneno.
- Verificar se dexametasona, indometacina e nifedipina exercem ação protetora sobre o efeito renal causado pelo veneno de cascavel.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais experimentais

Ratos Wistar, adultos, ambos os sexos, pesando entre 230 a 280g, provenientes do biotério da Unidade de Pesquisas Clínicas da Universidade Federal do Ceará, foram mantidos em jejum nas 24 horas que antecediam o experimento, com água *ad libitum*.

Veneno

O veneno utilizado em nossos experimentos foi da *Crotalus durissus cascavella*, cedido pelo Laboratório Regional de Ofiologia de Fortaleza (LAROF). Antes da extração as serpentes foram mantidas em um freezer a -20°C por 2 horas, para anestesia das mesmas, posteriormente foi feito um “pool” de veneno. Após a extração, o veneno foi colocado em um becker coberto com parafilm e transportado em isopor com gelo, sendo rapidamente congelado em nitrogênio líquido e liofilizado. O veneno seco foi acondicionado em frascos e estocados a -20°C .

Substâncias utilizadas

- NaCl (Synth)
- NaH_2PO_4 (Synth)
- KCl (Merck)
- NaHCO_3 (Synth)
- MgSO_4 (Reagen)
- CaCl_2 (Reagen)

- Albumina bovina fração V (Sigma)
- Glicose (Squibb)
- Heparina (CEME)
- Inulina (Sigma)
- Manitol (Reagen)
- Penicilina G Potássica Cristalina (Squibb)
- Pentobarbital Sódico (Sigma)
- Uréia (Reagen)
- Dexametasona (Prodome)
- Indometacina (Sigma)
- Nifedipina (Sigma)

Grupos de animais

Para avaliar o efeito renal induzido pelo veneno, sete grupos constituíram o trabalho experimental, os quais foram divididos em:

Grupo controle: Os rins foram perfundidos com solução de Krebs-Henseleit modificada, contendo 6% de albumina bovina (n=9)

Grupo controle/ indometacina: Neste grupo os rins foram perfundidos com solução de Krebs-Henseleit, contendo 6% de albumina bovina e aos 30 min de perfusão a indometacina foi adicionada (n=6).

Grupo controle/ dexametasona: Os rins foram perfundidos com solução de Krebs-Henseleit, contendo 6% de albumina e aos 30 min de perfusão a dexametasona foi adicionada (n=6).

Grupo tratado (veneno): Neste grupo, os rins foram perfundidos com solução de Krebs-Henseleit contendo 6% de albumina bovina e foi adicionado o veneno da *C. d. cascavella* aos 30 min de perfusão (n=8).

Grupo indo + veneno: Os rins foram perfundidos com solução de Krebs-Henseleit contendo 6% de albumina e foram adicionados a indometacina (tempo zero) e o veneno (tempo 30) (n=6).

Grupo dexta + veneno: Neste grupo, os rins foram perfundidos com solução de Krebs-Henseleit contendo 6% de albumina bovina e foram adicionados a dexametasona (tempo zero) e o veneno (tempo 30) (n=6).

Grupo nif + veneno: Neste grupo, os rins foram perfundidos com solução de Krebs-Henseleit contendo 6% de albumina bovina e foram adicionados a nifedipina (tempo zero) e o veneno (tempo 30) (n=6).

Técnica cirúrgica

Após a pesagem, os animais foram anestesiados por via intraperitoneal com pentobarbital sódico na dose de 50 mg/Kg de peso corporal. Em seguida os animais foram transportados a uma mesa cirúrgica, a veia femoral esquerda foi isolada e 3ml de manitol a 20% foram administrados. Foi feita assepsia da parede abdominal e iniciada a cirurgia com uma incisão mediana e duas perpendiculares à linha alba. Com isso a cavidade abdominal foi exposta e as vísceras abdominais afastadas para o lado esquerdo e mantidas úmidas usando gaze umedecida com soro fisiológico a 37°C. Após esse procedimento, o ureter direito foi isolado e dissecado do tecido conjuntivo e do tecido adiposo que o envolve, sendo em seguida canulado com tubo de polietileno (PE50), a uma distância aproximadamente de 3 cm do pedúnculo renal, através de uma pequena incisão. O rim foi descapsulado, e dissecado dos tecidos perirrenais, a supra-renal foi isolada e seccionada. A artéria renal direita e a artéria mesentérica superior foram identificadas e isoladas. O rim foi isolado com pinças hemostáticas e a artéria renal foi canulada através da artéria mesentérica superior (Weiss et al., 1959; Nishitsutsujuwo et al., 1967) e logo após o rim foi retirado junto com o ureter e fixado à cânula perfusora do sistema, sem interrupção do fluxo vascular (Figura 4).



Figura 4- Técnica cirúrgica

Sistema de perfusão de rim isolado

A necessidade do conhecimento dos mecanismos de controle da função renal levou vários pesquisadores a desenvolver a técnica de perfusão de rim isolado de rato.

Existem dois modelos para perfusão do rim isolado, um sistema aberto, onde o perfusato não recircula através do rim e que possui como principal vantagem a manutenção constante de parâmetros funcionais, porém apresenta um elevado gasto de albumina, e um outro sistema de perfusão com recirculação e diálise, o qual apresenta várias vantagens, como manutenção constante de parâmetros funcionais renais, utilização de albumina e outras substâncias na solução perfusora em pequena quantidade, manutenção constante de substâncias dialisáveis no perfusato e a oxigenação adaptada do próprio oxigenador.

Este modelo, de perfusão com circulação e diálise, sofreu modificações nas últimas duas décadas. Algumas descobertas propiciaram uma melhora considerável na perfusão do rim isolado, como o uso de albumina bovina (fração V) pura na solução (Bowman, 1972, Bowman e Maack, 1974; Little e Cohen, 1974; De Mello e Maack 1976; Ross et al., 1978; Schurek et al., 1978), o uso da solução de Krebs-Henseleit (Schurek, 1980), a adição de substratos na solução perfusora (Bahlman et al., 1967; Nishiitsuji-Uwo et al., 1967; Trimble e Bowman, 1973; De Mello e Maack, 1976), utilização de um filtro millipore para o rim de rato (Ross et al., 1973; Cohen et al., 1977; Fonteles, 1980; Fonteles, 1982).

O sistema de perfusão renal utilizado nesta pesquisa, representado na Figura 5, baseia-se no sistema desenvolvido por Bowman & Maack (1974) e Ross (1978), com modificações feitas por Fonteles (1980) através da adaptação de um pulmão artificial do tipo silástico, baseado no modelo de Hamilton et al. (1974) e descritas por Moreira Lima (1983).

Componentes do sistema de perfusão:

- a. Condensador- serve de reservatório de aquecimento da solução perfusora;
- b. Seringa graduada- para retirada de amostra de perfusato;
- c. Bomba de perfusão (Watson)- para manutenção do fluxo de perfusão renal;
- d. Filtro (USA-Millipore-8 μ m)- promove uma melhor perfusão através da filtração constante da solução perfusora;
- e. Oxigenador (pulmão artificial)- onde acontecem as trocas gasosas (95% de O₂ e 5 % de CO₂)- constituído de tubos silásticos;
- f. Banho maria (Fanem- modelo 100)- aquece e mantém o pulmão a 37°C;
- g. Fluxômetro- permite a leitura do fluxo de perfusão durante o experimento;
- h. Catabolhas- câmara que retém bolhas, evitando o embolismo gasoso do órgão;
- i. Manômetro de mercúrio- permite fazer a leitura direta da pressão de Perfusão;
- j. Bomba aquecedora com termostato- para manutenção de todo o sistema de perfusão a 37°C.

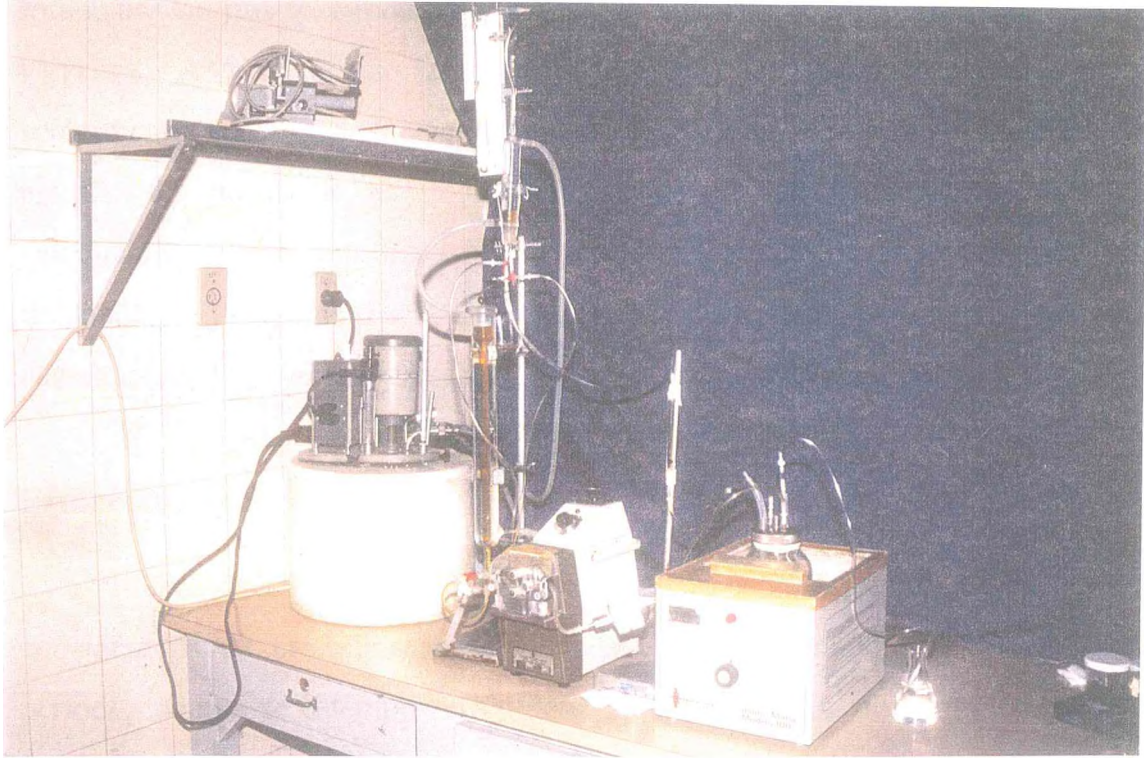


Figura 5- Sistema de perfusão de rim isolado.

Calibração do sistema

Antes de cada experiência, o sistema foi lavado com detergente e água bidestilada aquecida, sendo em seguida montado e calibrado. Na calibração foram usadas quatro curvas, tendo pressão (mmHg) e fluxo (ml/min) como variáveis. A bomba que compõe o sistema de perfusão possui cinco velocidades; em cada velocidade foi medido o fluxo na ponta da cânula e a pressão foi registrada em manômetro. Duas curvas foram feitas com a velocidade da bomba no eixo das abscissas (X), fluxo e pressão no eixo das ordenadas (Y) (Figuras 6 e 7) e as outras duas curvas com fluxômetro no eixo das abscissas (X), fluxo e pressão no eixo das ordenadas (Y) (Figuras 8 e 9).

Protocolo experimental

Após o rim ter sido colocado no sistema, os 20 minutos iniciais foram considerados de estabilização e adaptação às novas condições. Após esse período, marcou-se o tempo zero e determinou-se 30 min. de controle interno. A administração do veneno da *C. d. cascavella* foi feita sempre aos 30 min. de perfusão. As outras substâncias (dexametasona, indometacina e nifedipina) foram colocadas no tempo zero, início da experiência, e após 30 minutos colocou-se o veneno. A cada 5 min. foram registrados a pressão e o fluxo de perfusão em manômetro e fluxômetro respectivamente, em um período total de 120 min. As amostras de urina e perfusato foram coletadas a cada 10 min. durante o experimento, e depois foram congeladas a -20°C para posterior dosagem de sódio, potássio, inulina e osmolaridade, importantes na determinação dos parâmetros de função renal.

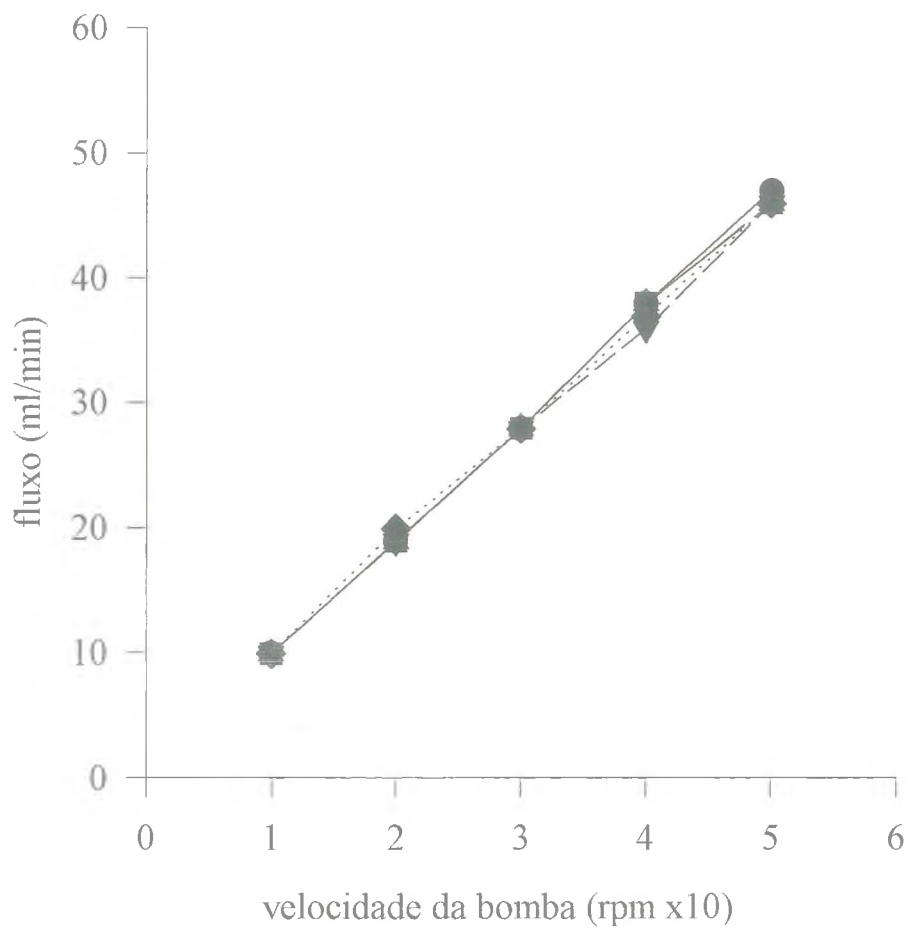


Figura 6: Retas de calibração da velocidade da bomba vs fluxo

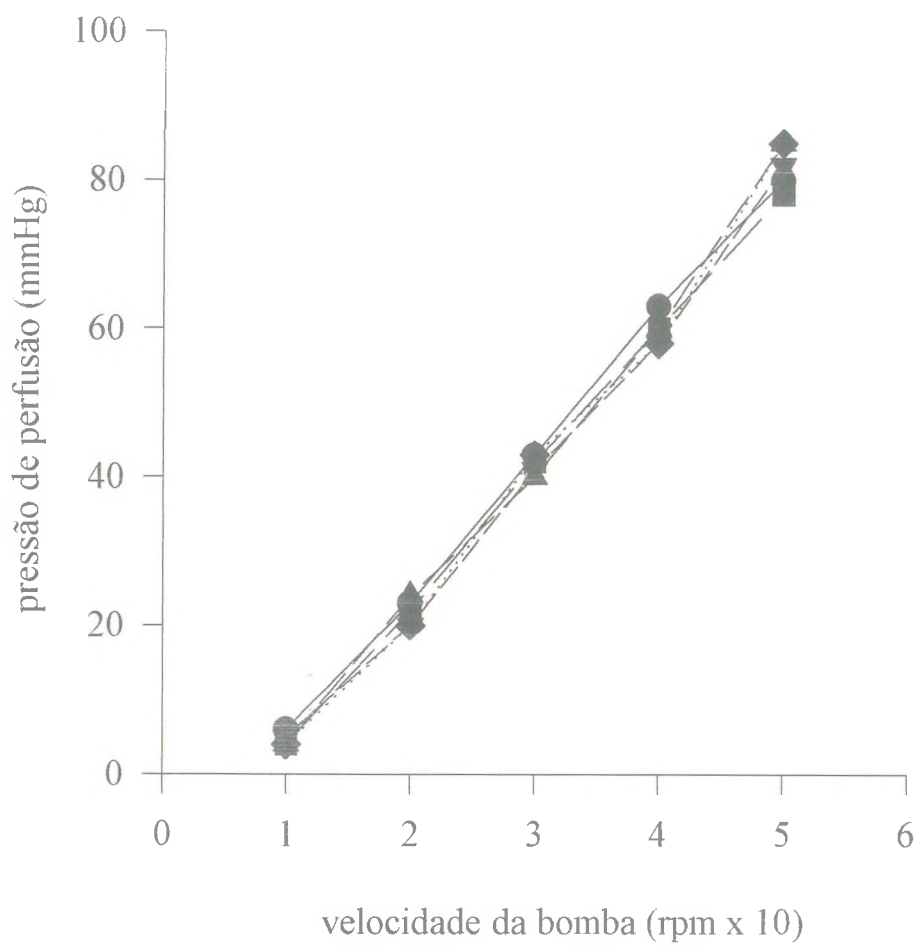


Figura 7: Retas de calibração da velocidade da bomba vs pressão de perfusão

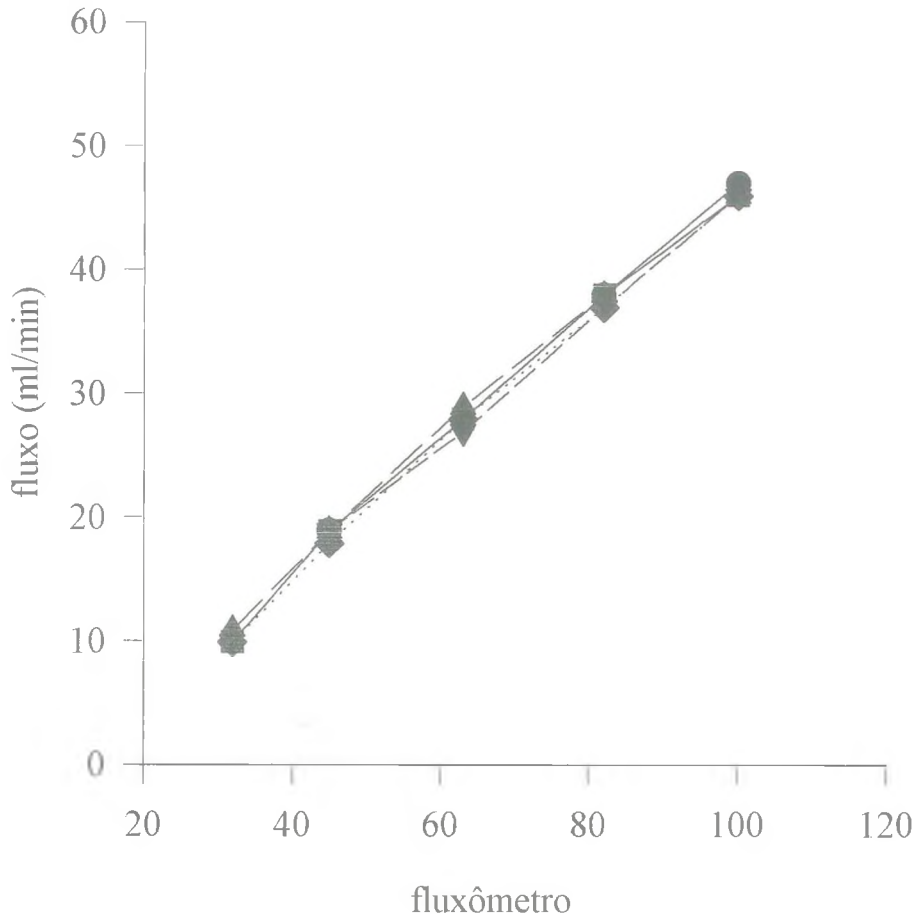


Figura 8: Retas de calibração do fluxômetro vs fluxo

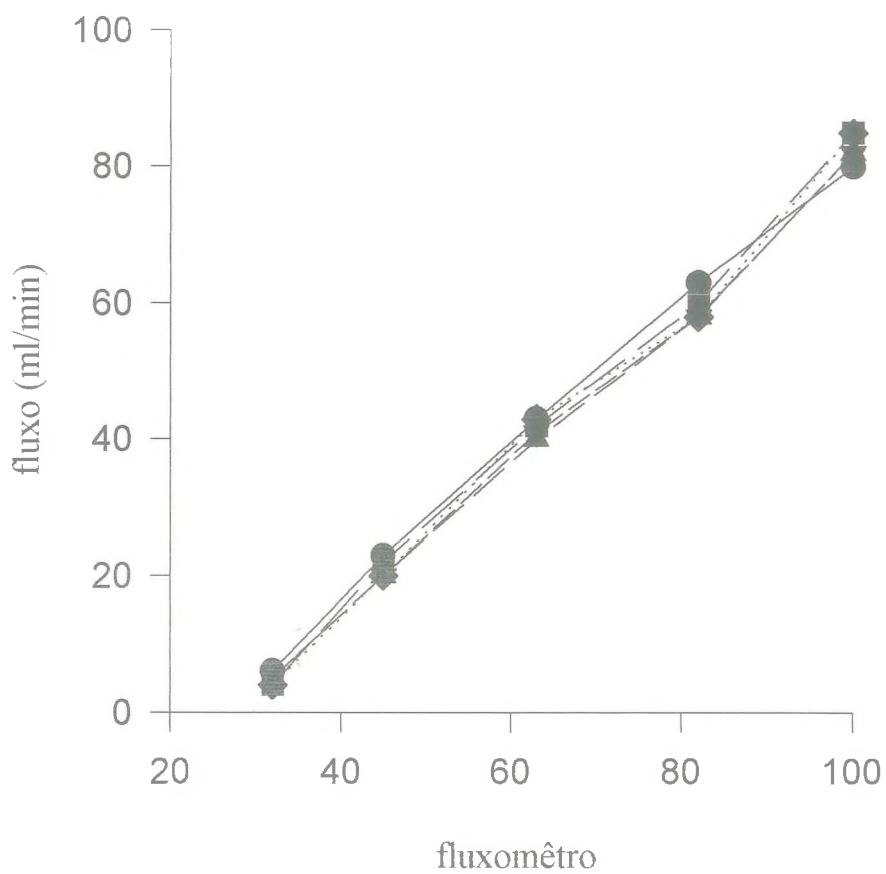


Figura 9: Retas de calibração do fluxômetro vs pressão de perfusão

Solução perfusora

A solução perfusora usada em nossos experimentos foi de Krebs-Henseleit modificada, concentrada 20 vezes com NaCl (138g), KCl (7,0g), NaH₂PO₄. H₂O (3,2g), MgSO₄. 7H₂O (5,8g) e uréia (10,0g). Em seguida foram retirados 100 ml da solução acima descrita e acrescentado NaHCO₃ (4,2g), CaCl₂. 2H₂O (0,74g), Glicose (2,0g), penicilina (50mg) e o volume completado para 2000 ml com água bidestilada. Após esse procedimento foram retirados 300 ml desta solução e adicionada albumina bovina 6% e em seguida a solução foi dialisada com uso de um homogeneizador. O restante da solução (1700 ml) serviu como solução de diálise, sendo trocada a cada 24 horas. Ao final da diálise (48 hs) o pH foi ajustado entre 7,3 e 7,4. Após a solução ter sido dialisada foi acrescentada inulina (0,15g).

Procedeu-se a diálise da solução perfusora contendo albumina com o objetivo de eliminar várias substâncias contaminantes como citrato, piruvato e lactato (Hanson & Ballard, 1968; Cohen et al., 1977; Schurek et al., 1970; Ross, 1978).

Análise bioquímica

Os testes bioquímicos foram realizados na Unidade de Pesquisas Clínicas. Foram feitas dosagens de sódio e potássio em amostras de urina e perfusato pelo método de fotometria de chama (Flame photometer- modelo 443 IL). A inulina do perfusato e urina foi determinada por hidrólise direta, conforme Walson et al. (1955) e Fonteles et al. (1983), com modificações que reduziram as quantidades de amostras e reagentes utilizados. A osmolaridade das amostras de urina e perfusato foi medida utilizando um osmômetro (Vapor pressure osmometer -modelo 5100c ESCOR).

Análise histológica

As lâminas usadas em nosso estudo histológico foram feitas no Laboratório de Anatomia Patológica-Biopse e o estudo das mesmas no Departamento de Patologia e Medicina Legal da UFC.

Ao final de cada experimento foi retirado um fragmento longitudinal do rim perfundido (direito) e do não perfundido (esquerdo) e colocados em formol a 10% para posterior exame histológico. Os fragmentos obtidos foram submetidos a desidratação e diafanização, para confecção dos cortes histológicos, os quais mediram 5 μ m de espessura. Foram realizadas coloração de hematoxilina-eosina para o estudo das lâminas através de um microscópio óptico (NIKON).

Também foi realizado o estudo histológico dos rins perfundidos somente com solução de Krebs-Henseleit modificada para servir de controle perfundido.

Determinação de sódio e potássio tissular

Na_t^+ = sódio tissular

K_t^+ = potássio tissular

Na_t^+ ou K_t^+ = (μ Eq/g peso do rim) = $Dk \cdot 10ml / \text{peso seco do rim}$

Dk (μ Eq/ml) = Concentração de K^+ ou Na^+ na amostra diluída

Após cada experimento os rins direito e esquerdo foram pesados e colocados na estufa (FANEM- Mod. 099EV) a 90°C por 48 horas para desidratar e determinar o peso seco. Depois de desidratados os rins foram novamente pesados e incinerados à 550°C (Forno Lavoisier-modelo 400-0) por 12 horas e após este procedimento foi adicionado 0,2 ml de ácido nítrico concentrado e 1,0 ml de água deionizada nas cinzas que foram obtidas por

incineração. Durante 2 minutos essa mistura foi aquecida e o volume foi completado com 10ml de água bidestilada em proveta graduada, e determinadas pelo método de Gregg et al. (1978), as concentrações de sódio e de potássio teciduais por fotometria de chama (Flame Photometer-modelo 443).

Parâmetros funcionais renais (Pitts, 1975; Martinez-Maldonado et al., 1978; Fonteles, 1980).

1- FU ($\text{ml.g}^{-1}.\text{min}^{-1}$) = Fluxo Urinário

$$\text{FU} = \text{Peso do volume urinário} / \text{Peso do rim esquerdo} \cdot 10$$

* admitiu-se que a urina possui a mesma densidade da água.

2- PP = Pressão de perfusão (mmHg) = Análise direta em manômetro

3- FPR ($\text{ml.g}^{-1}.\text{min}^{-1}$) = Fluxo plasmático renal ou fluxo de perfusão

* Fluxo registrado a cada 10min / intervalo de tempo. Peso do rim

4- RVR ($\text{mmHg} / \text{ml.g}^{-1}.\text{min}^{-1}$) = Resistência vascular renal.

$$\text{RVR} = \text{PP (mmHg)} / \text{FPR}$$

5- RFG ($\text{ml.g}^{-1}.\text{min}^{-1}$) = Ritmo de filtração glomerular

$$\text{RFG} = \text{DOUin} / \text{DOPin} \cdot \text{FU}$$

DOUin = Densidade ótica da inulina na urina

DOPin = Densidade ótica da inulina no perfusato

6- FNa^+ ($\mu\text{Eq. g}^{-1}.\text{min}^{-1}$) = Sódio filtrado

$$\text{FNa}^+ = \text{RFG} \cdot \text{PNa}^+$$

PNa^+ = Concentração de sódio no perfusato

7- ENa^+ ($\mu\text{Eq. g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$) = Sódio excretado

$$ENa^+ = FU \cdot UNa^+$$

UNa^+ = Concentração de sódio na urina

8- TNa^+ ($\mu\text{Eq. g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$) = Sódio transportado

$$TNa^+ = FNa^+ - ENa^+$$

9- $\%TNa^+$ = Percentual de sódio transportado

$$\%TNa^+ = TNa^+ \cdot 100 / FNa^+$$

10- $Cosm$ ($\text{ml} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$) = Clearance osmótico

$$Cosm = (Uosm/Posm) \cdot FU$$

$Uosm$ = Osmolaridade urinária

$Posm$ = Osmolaridade do perfusato

11- C_{H2O} ($\text{ml} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$) = Clearance de água livre

$$C_{H2O} = FU - Cosm$$

12- $dTNa^+$ ($\text{ml} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$) = Transporte distal de sódio

$$dTNa^+ = C_{H2O} \cdot PNa^+$$

13- Ad ($\mu\text{Eq} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$) = Aporte distal de sódio

$$Ad = dTNa^+ + ENa^+$$

14- $pTNa^+$ ($\mu\text{Eq} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$) = Transporte proximal de sódio

$$pTNa^+ = FNa^+ \cdot Ad^*$$

* Aporte distal de sódio

15- $\%pTNa^+$ = Percentual de transporte proximal de sódio

$$\%pTNa^+ = pTNa^+ \cdot 100 / FNa^+$$

16- FK^+ ($\mu\text{Eq. g}^{-1}.\text{min}^{-1}$) = Potássio filtrado

$$FK^+ = \text{RFG} \cdot PK^+$$

PK^+ = Concentração de potássio no perfusato

17 EK^+ ($\mu\text{Eq. g}^{-1}.\text{min}^{-1}$) = Potássio excretado

$$EK^+ = \text{FU} \cdot UK^+$$

UK^+ = Concentração de potássio na urina

18- TK^+ ($\mu\text{Eq. g}^{-1}.\text{min}^{-1}$) = Potássio transportado

$$TK^+ = FK^+ - EK^+$$

19- pTK^+ ($\mu\text{Eq. g}^{-1}.\text{min}^{-1}$) = Transporte proximal de potássio

$$pTK^+ = FK^+ \cdot \text{Ad}^*$$

* Aporte distal de potássio

20- $\%TK^+$ = Percentual de potássio transportado

$$\%TK^+ = TK^+ \cdot 100 / FK^+$$

21- $\%pTK^+$ = Percentual de transporte proximal de potássio

$$\%pTK^+ = pTK^+ \cdot 100 / FK^+$$

Análise estatística

Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) com significância $p < 0,05$ para comparação entre os grupos. Esta permitiu a avaliação da ocorrência de alterações funcionais renais durante o período de perfusão. Os dados desse trabalho foram expressos em média $(x) \pm E. P. M.$

Os trinta minutos iniciais de cada experimento serviram como controle interno e os resultados obtidos após esse período foram comparados estatisticamente através do teste “t” de Student.

A análise dos dados foi realizada em computador PC-DX-2. Usou-se o programa Sigmastat.

O teste “t” de Student foi aplicado para análise estatística de sódio e potássio tissulares dos rins controle e perfundidos, nos vários grupos experimentais e nas comparações dentro do próprio grupo.

As tabelas e os gráficos dos parâmetros funcionais renais foram analisados segundo a variável de tempo, que foi dividido em intervalos de 30 minutos.

Tabela 1: Parâmetros funcionais de rins perfundidos com solução de Krebs-Henseleit na presença de 6% de albumina bovina (n=9).

Tempo(min.)	PP	FU	RVR	FPR	RFG
30	110,8 ± 2,73	0,14 ± 0,005	4,8 ± 0,30	14,9 ± 0,36	0,79 ± 0,03
60	113,0 ± 4,48	0,15 ± 0,004	4,7 ± 0,15	14,8 ± 0,44	0,73 ± 0,02
90	110,6 ± 2,27	0,15 ± 0,006	4,45 ± 0,22	15,0 ± 0,32	0,75 ± 0,03
120	110,6 ± 3,03	0,15 ± 0,004	4,51 ± 0,19	15,2 ± 0,38	0,73 ± 0,04

Os dados representam a média ± E. P. M. ($p < 0,05$).

PP = Pressão de perfusão; FU = Fluxo urinário; RVR = Resistência vascular renal; FPR = Fluxo de perfusão renal; RFG = Ritmo de filtração glomerular.

Tabela 2: Parâmetros funcionais de rins perfundidos com solução de Krebs-Henseleit na presença de 6% de albumina bovina (n=9).

Tempo(min.)	%TNa ⁺	%pTNa ⁺	%TK ⁺	%pTK ⁺
30	82,1 ± 2,4	81,0 ± 2,9	66,0 ± 1,1	65,0 ± 2,0
60	80,8 ± 2,0	79,0 ± 3,14	65,7 ± 1,14	66,0 ± 1,5
90	80,6 ± 3,6	78,8 ± 2,95	66,8 ± 1,03	67,0 ± 3,5
120	80,4 ± 2,6	81,9 ± 3,05	67,0 ± 1,05	65,0 ± 1,2

Os dados representam a média ± E. P. M. (p<0,05).

%TNa⁺ = Percentual de transporte de sódio; %pTNa⁺ = Percentual de transporte proximal de sódio; %TK⁺ = Percentual de transporte de potássio; %pTK⁺ = Percentual de transporte proximal de potássio.

Tabela 3: Parâmetros funcionais de rins perfundidos com solução de Krebs-Henseleit na presença de 6% de albumina bovina e indometacina (n=6).

Tempo(min.)	PP	FU	RVR	FPR	RFG
30	106,0 ± 2,0	0,12 ± 0,010	3,9 ± 0,25	13,2 ± 0,49	0,71 ± 0,02
60	108,0 ± 3,4	0,13 ± 0,004	3,65 ± 0,17	13,8 ± 0,67	0,68 ± 0,05
90	106,0 ± 1,65	0,14 ± 0,004	3,70 ± 0,11	14,0 ± 0,57	0,69 ± 0,04
120	104,0 ± 3,1	0,13 ± 0,006	3,7 ± 0,12	13,4 ± 0,47	0,69 ± 0,05

Os dados representam a média ± E. P. M. ($p < 0,05$).

PP = Pressão de perfusão; FU = Fluxo urinário; RVR = Resistência vascular renal; FPR = Fluxo de perfusão renal; RFG = Ritmo de filtração glomerular.

Tabela 4: Parâmetros funcionais de rins perfundidos com solução de Krebs-Henseleit na presença de 6% de albumina bovina e indometacina (n=6).

Tempo(min.)	%TNa ⁺	%pTNa ⁺	%TK ⁺	%pTK ⁺
30	82,1 ± 2,4	81,0 ± 2,9	67,3 ± 2,03	64,0 ± 2,0
60	80,8 ± 2,0	79,0 ± 2,1	68,0 ± 2,14	65,0 ± 3,0
90	80,6 ± 2,6	78,8 ± 2,9	69,0 ± 1,6	63,0 ± 2,5
120	80,4 ± 2,6	81,9 ± 3,0	68,0 ± 1,2	65,9 ± 2,7

Os dados representam a média ± E. P. M. (p<0,05).

%TNa⁺ = Percentual de transporte de sódio; %pTNa⁺ = Percentual de transporte proximal de sódio; %TK⁺ = Percentual de transporte de potássio; %pTK⁺ = Percentual de transporte proximal de potássio.

Tabela 5: Parâmetros funcionais de rins perfundidos com solução de Krebs-Henseleit na presença de 6% de albumina bovina e dexametasona (n=9)

Tempo(min.)	PP	FU	RVR	FPR	RFG
30	116,0 ± 1,2	0,14 ± 0,01	4,03 ± 0,30	13,4 ± 1,0	0,75 ± 0,006
60	113,0 ± 1,2	0,15 ± 0,01	4,20 ± 0,35	13,2 ± 1,2	0,68 ± 0,07
90	115,0 ± 2,4	0,16 ± 0,01	4,23 ± 0,40	14,0 ± 1,3	0,68 ± 0,05
120	116,0 ± 2,0	0,15 ± 0,02	4,30 ± 0,38	13,0 ± 1,3	0,67 ± 0,03

Os dados representam a média ± E. P. M. ($p < 0,05$).

PP = Pressão de perfusão; FU = Fluxo urinário; RVR = Resistência vascular renal; FPR = Fluxo de perfusão renal; RFG = Ritmo de filtração glomerular.

Tabela 6: Parâmetros funcionais de rins perfundidos com solução de Krebs-Henseleit na presença de 6% de albumina bovina e dexametasona (n=9).

Tempo(min.)	%TNa ⁺	%pTNa ⁺	%TK ⁺	%pTK ⁺
30	81,3 ± 2,31	80,0 ± 1,7	60,8 ± 1,6	62,0 ± 2,5
60	78,0 ± 1,2	79,2 ± 1,6	59,0 ± 2,9	63,0 ± 3,7
90	77,0 ± 1,61	78,0 ± 3,0	62,0 ± 3,39	60,1 ± 1,2
120	76,0 ± 2,7	77,9 ± 3,1	63,0 ± 3,08	61,0 ± 2,0

Os dados representam a média ± E. P. M. (p<0,05).

%TNa⁺ = Percentual de transporte de sódio; %pTNa⁺ = Percentual de transporte proximal de sódio; %TK⁺ = Percentual de transporte de potássio; %pTK⁺ = Percentual de transporte proximal de potássio.

Tabela 7: Parâmetros funcionais de rins perfundidos com solução de Krebs-Henseleit na presença de 6% de albumina bovina e veneno de *Crotalus durissus cascavella* (10µg/ml) (n=8).

Tempo(min.)	PP	FU	RVR	FPR	RFG
30	110,0 ± 1,35	0,15 ± 0,01	4,70 ± 0,35	14,0 ± 0,78	0,77 ± 0,03
60	131,0 ± 4,19*	0,23 ± 0,02*	6,64 ± 0,48*	12,0 ± 0,80*	0,70 ± 0,04
90	126,8 ± 3,45*	0,30 ± 0,02*	7,12 ± 0,52*	11,4 ± 0,52*	0,73 ± 0,02
120	113,6 ± 4,80	0,18 ± 0,015*	7,26 ± 0,50*	9,6 ± 0,42*	0,54 ± 0,03*

Os dados representam a média ± E. P. M. (*p<0,05).

PP = Pressão de perfusão; FU = Fluxo urinário; RVR = Resistência vascular renal; FPR = Fluxo de perfusão renal; RFG = Ritmo de filtração glomerular.

Tabela 8: Parâmetros funcionais de rins perfundidos com solução de Krebs-Henseleit na presença de 6% de albumina bovina e veneno de *Crotalus durissus cascavella* (10µg/ml) (n=8).

Tempo	%TNa ⁺	%pTNa ⁺	%TK ⁺	%pTK ⁺
30	81,1 ± 5,4	82,1 ± 2,8	65,6 ± 1,31	64,8 ± 2,0
60	72,5 ± 5,87	73,2 ± 3,1	63,0 ± 2,65	61,0 ± 3,0
90	70,9 ± 5,66	69,0 ± 4,5	61,8 ± 2,00	63,0 ± 2,4
120	62,3 ± 4,28*	63,6 ± 3,2*	62,3 ± 3,02	62,0 ± 3,2

Os dados representam a média ± E. P. M. (*p<0,05).

%TNa⁺ = Percentual de transporte de sódio; %pTNa⁺ = Percentual de transporte proximal de sódio; %TK⁺ = Percentual de transporte de potássio; %pTK⁺ = Percentual de transporte proximal de potássio.

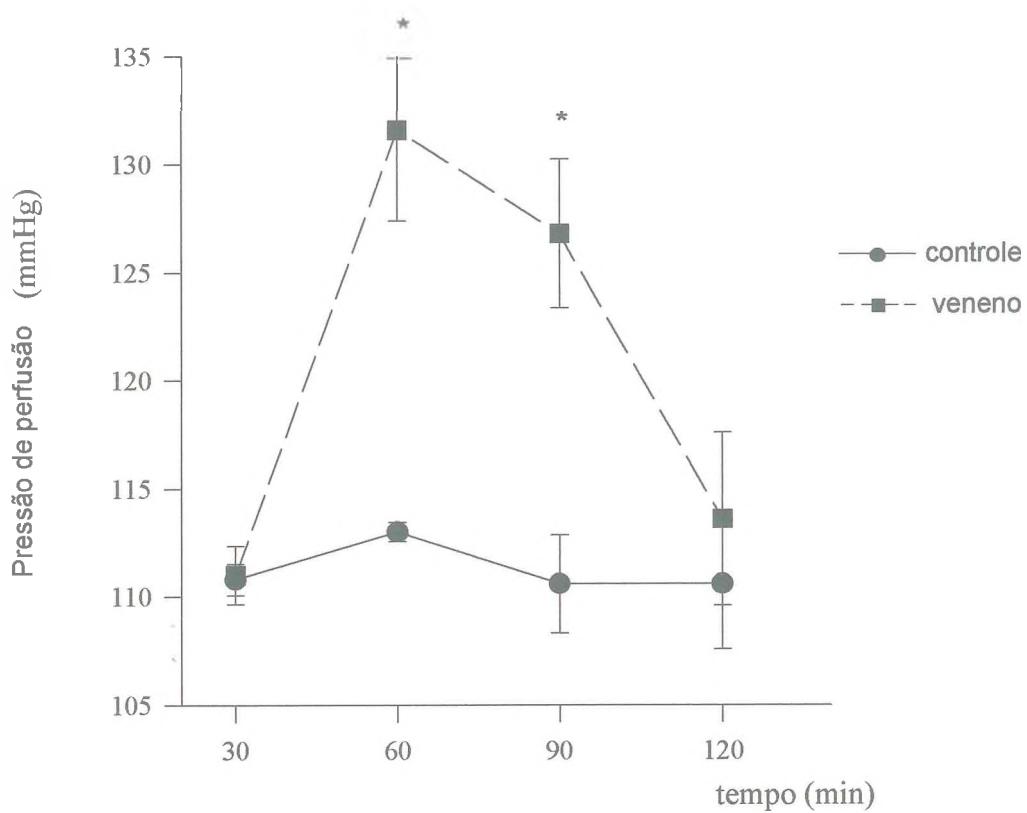


Figura 10: Comparação entre as pressões de perfusão de rins dos grupos controle e tratado com veneno da *Crotalus durissus cascavella*.

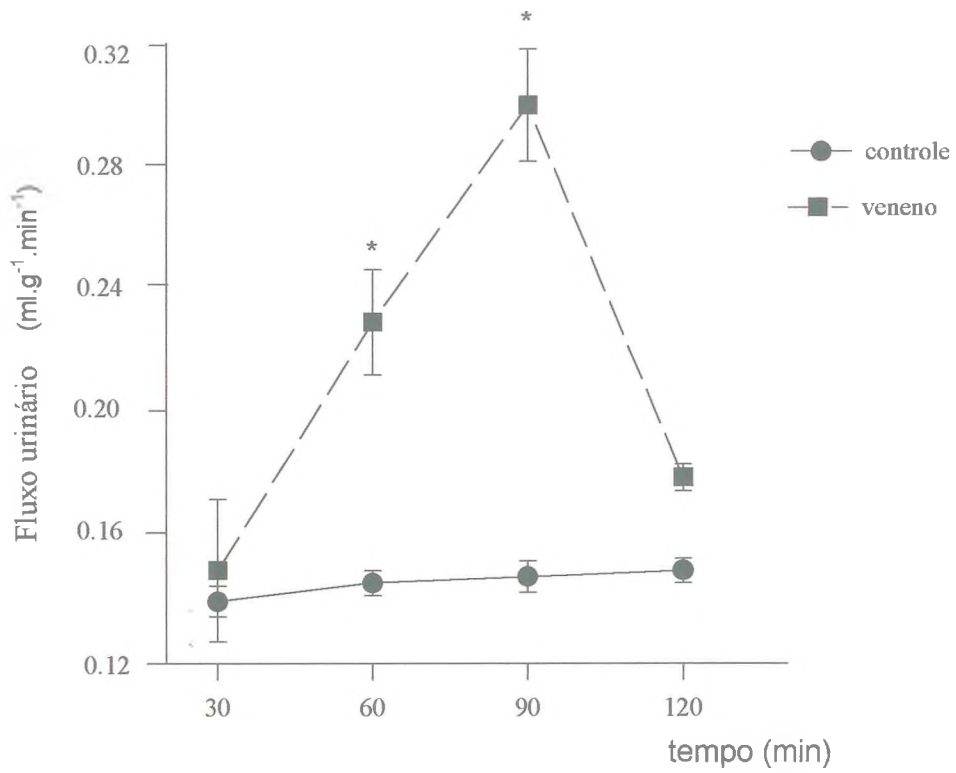


Figura 11: Comparação dos fluxos urinários de rins dos grupos controle e tratado com veneno da *Crotalus durissus cascavella*.

A resistência vascular renal dos animais tratados com o veneno foi significativamente ($p < 0,05$) maior que a obtida no grupo controle (Figura 12).

O fluxo plasmático renal diminuiu progressivamente após a infusão do veneno, com efeito máximo aos 120 min de perfusão (Figura 13).

A figura 14 mostra uma alteração importante na resposta fisiológica a nível do ritmo de filtração glomerular de rins perfundidos com o veneno. O grupo tratado apresentou uma intensa redução aos 120 min. de perfusão, com significância quando comparada com o grupo controle e com o controle interno.

O percentual de transporte tubular de sódio e o percentual de transporte tubular proximal de sódio foram reduzidos significativamente aos 120 min. de perfusão quando comparados com o grupo controle e com o controle interno do próprio experimento (Figuras 15 e 16). O túbulo renal proximal foi o maior sítio de ação do veneno.

O percentual de transporte tubular de potássio apresentou uma queda discreta, sem valor estatístico.

O percentual de transporte tubular proximal de potássio permaneceu estável, desse modo não apresentou significância em todo o tempo de perfusão.

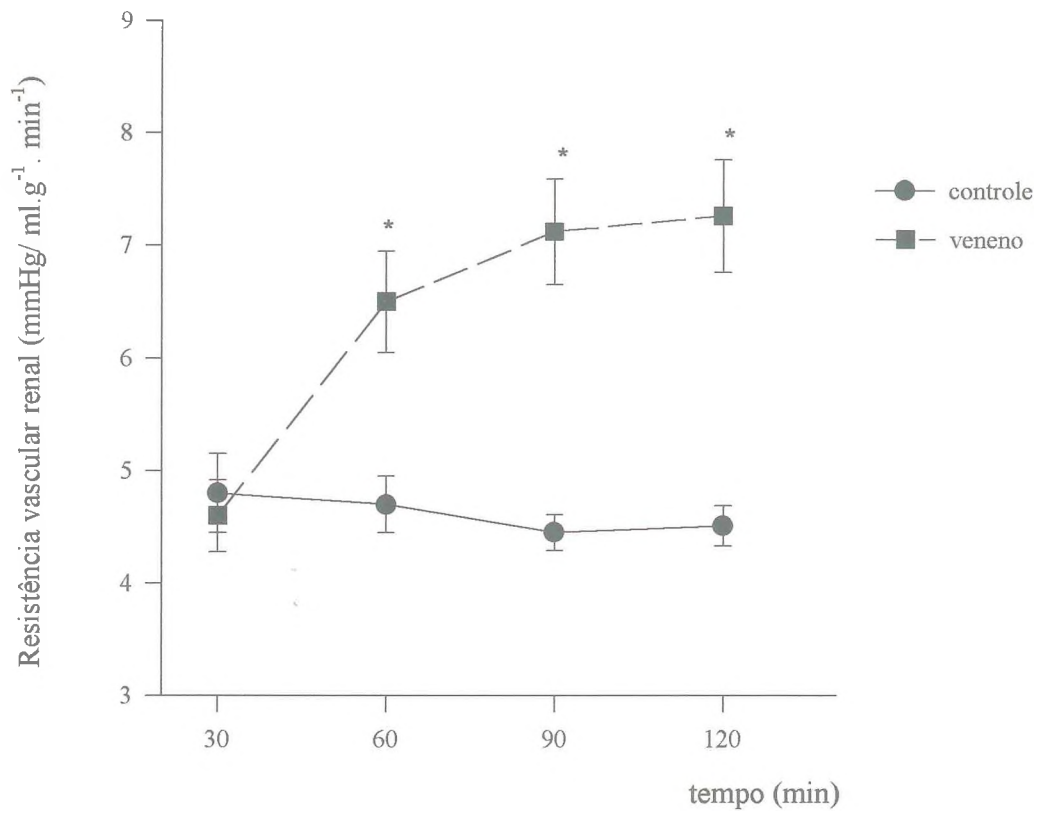


Figura 12: Comparação entre a resistência vascular renal dos grupos controle e tratado com veneno da *Crotalus durissus cascavella*.

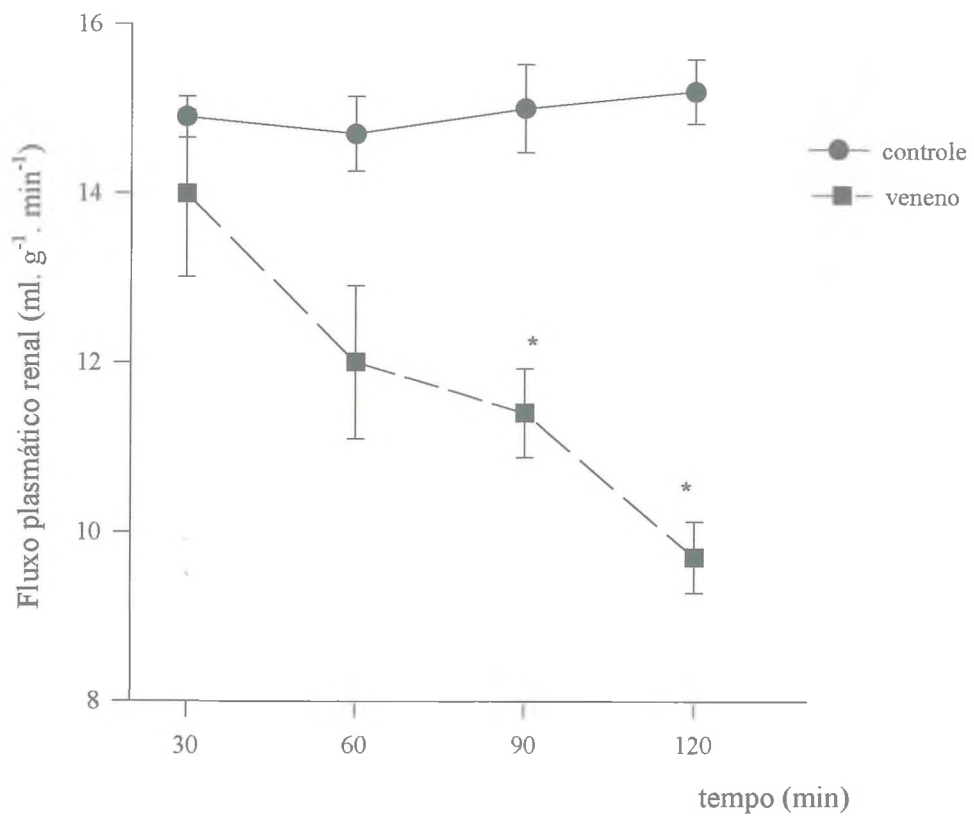


Figura 13: Comparação entre os fluxos plasmáticos renais dos grupos controle e tratado com veneno da *Crotalus durissus cascavella*.

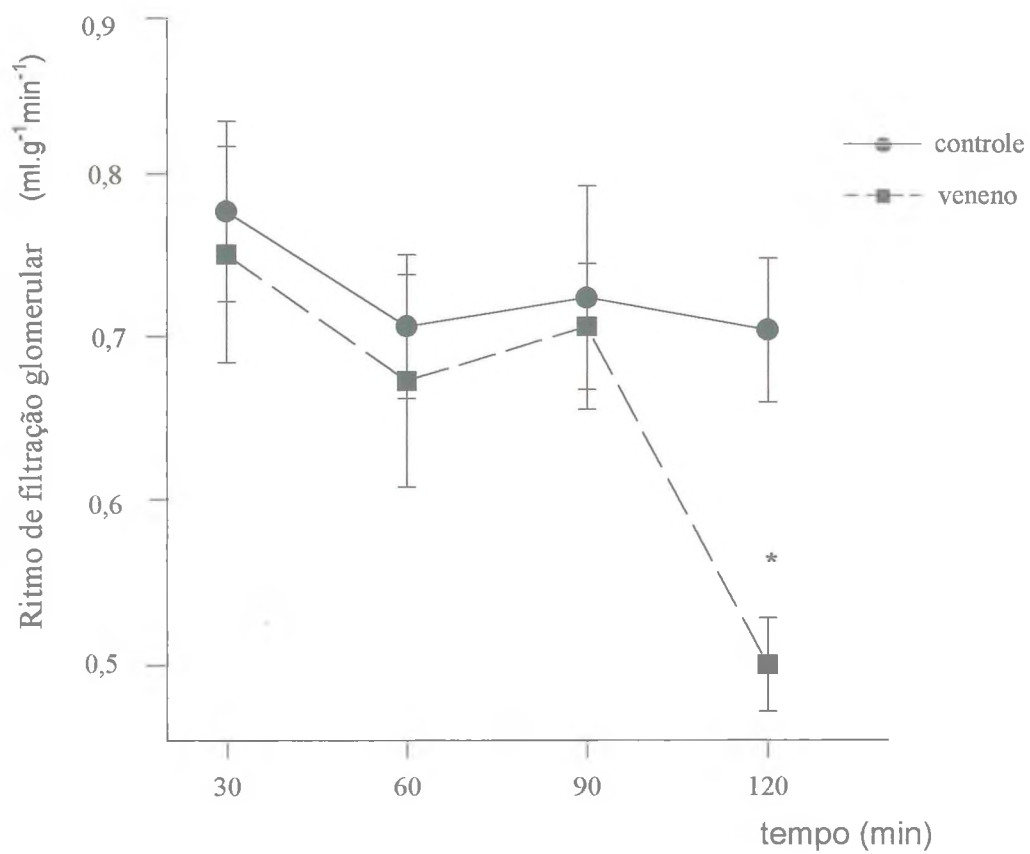


Figura 14: Comparação entre os ritmos de filtração glomerular de rins dos grupos controle e tratado com veneno da *Crotalus durissus cascavella*.

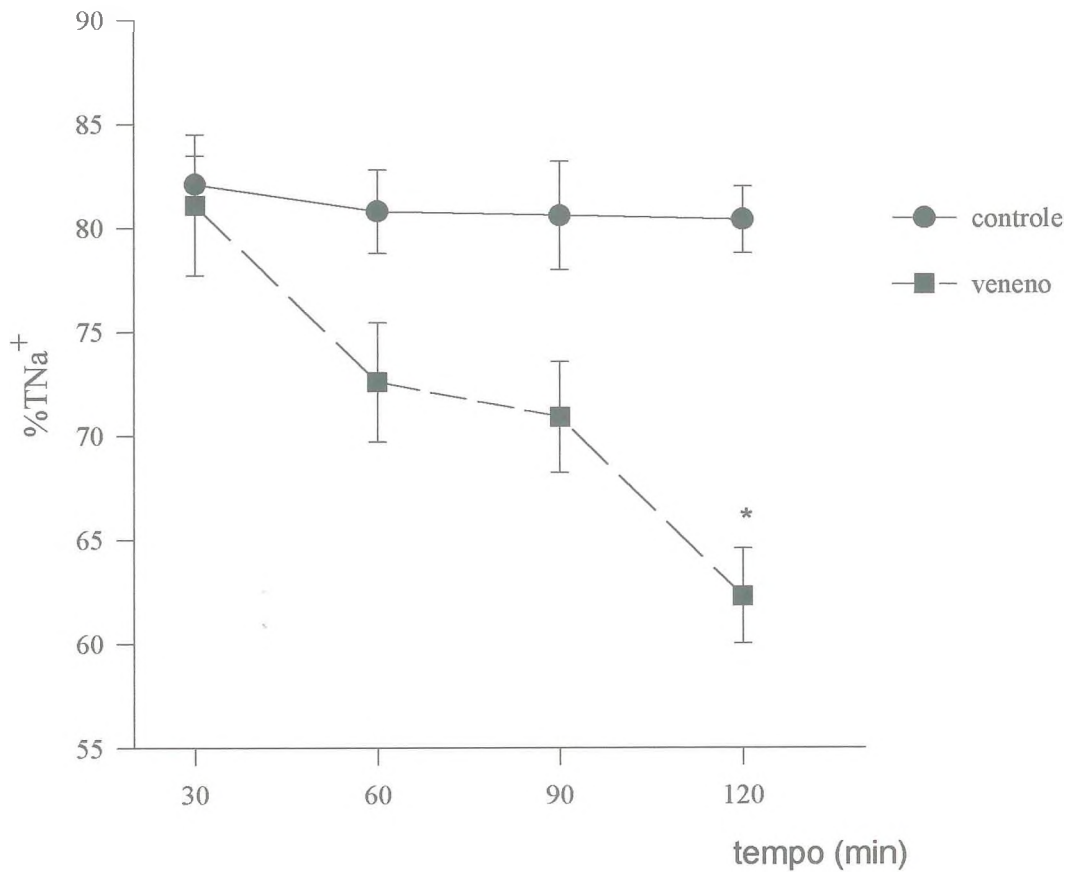


Figura 15: Comparação entre os percentuais de transporte tubular de sódio de rins dos grupos controle e tratado com veneno da *Crotalus durissus cascavella*.

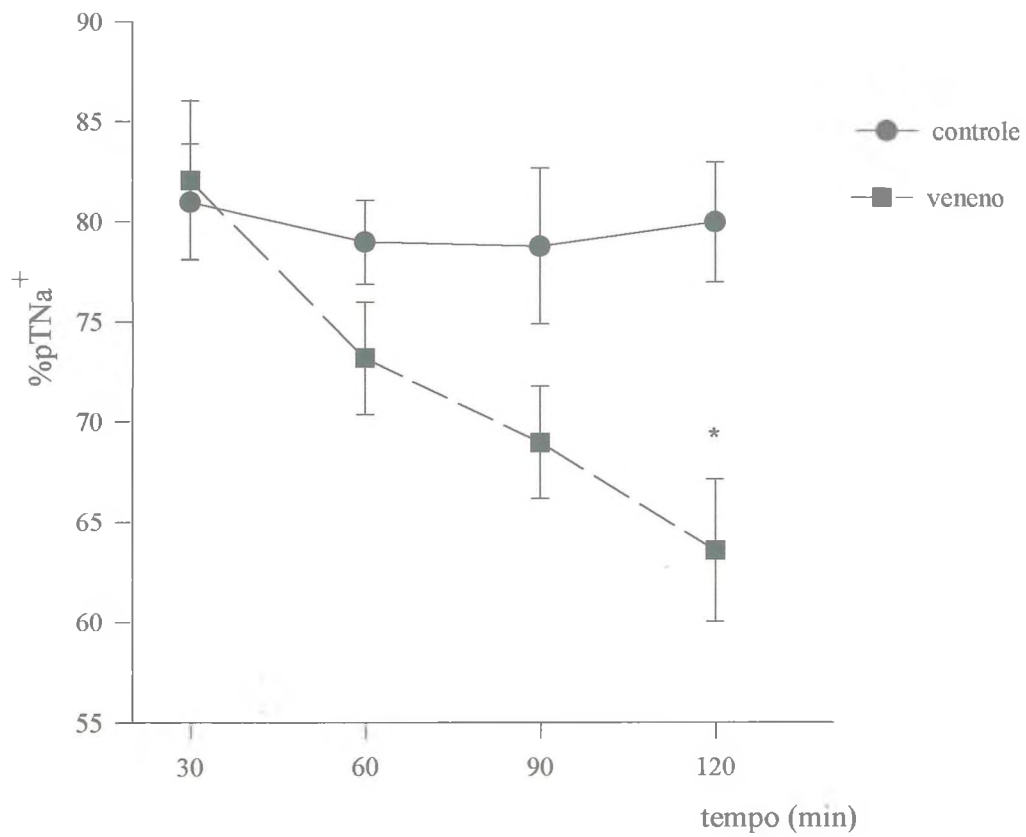


Figura 16: Comparação entre os percentuais de transporte proximal de sódio de rins dos grupos controle e tratado com veneno da *Crotalus durissus cascavella*.

Efeito do veneno da *C. d. cascavella* na presença de indometacina

A indometacina foi capaz de reverter a maioria das alterações renais provocadas pela ação do veneno. Estes dados estão sumarizados nas tabelas 9 a 17. Esta droga antagonizou o aumento da pressão de perfusão e fluxo urinário (Figuras 17 e 18). No grupo experimental tratado com indometacina e veneno, os valores da pressão de perfusão encontrados permaneceram muito próximos dos resultados do grupo controle.

O aumento da resistência vascular renal e a queda do fluxo de perfusão renal induzida pela ação do veneno foi também antagonizada com o uso desta substância (Figuras 19 e 20).

No grupo experimental tratado com indometacina e veneno não houve reversão da redução drástica do ritmo de filtração glomerular, observado no grupo tratado somente com o veneno (Figura 21), apesar desta droga ter melhorado o RFG. Além desse parâmetro, ela também foi capaz de bloquear a queda do percentual de transporte tubular de sódio (Figura 22) e do percentual de transporte tubular proximal de sódio (Figura 23) induzido pela peçonha.

O percentual de transporte tubular de potássio e o percentual de transporte tubular proximal de potássio se mantiverem estáveis durante os 120 min. de perfusão.

Tabela 9: Comportamento da pressão de perfusão (mmHg) dos rins perfundidos de rato nos grupos controle (n=9) e tratados com veneno (n=8), indometacina (10 µg/ml) + veneno (n=6), dexametasona (20 µg/ml) + veneno (n=6) e nifedipina (10 µg/ml) + veneno (n=6).

Tempo(min.)	Controle	Veneno	Indo + veneno	Dexa + veneno	Nif + veneno
30	110,8 ± 2,7	111,0 ± 1,35	113,0 ± 0,92	111,4 ± 2,50	99,0 ± 2,59
60	113,0 ± 4,48	131,6 ± 4,19*	116,0 ± 3,20	105,6 ± 2,04	98,0 ± 3,76
90	110,6 ± 2,27	126,8 ± 3,45*	114,1 ± 4,86	107,0 ± 2,61	97,3 ± 3,99
120	110,6 ± 3,03	112,6 ± 4,8	115,5 ± 0,60	100,2 ± 3,46	97,0 ± 4,17

Os dados representam a média ± E. P. M. (*p<0,05).

Veneno de *Crotalus durissus cascavella* (10 µg/ml).

Tabela 10: Fluxo urinário ($\text{ml.g}^{-1}.\text{min}^{-1}$) dos rins perfundidos de rato nos grupos controle (n=9) e tratados com veneno (n=8), indometacina (10 $\mu\text{g/ml}$) + veneno (n=6), dexametasona (20 $\mu\text{g/ml}$) + veneno (n=6) e nifedipina (10 $\mu\text{g/ml}$) + veneno (n=6).

Tempo(min.)	Controle	Veneno	Indo+ veneno	Dexa + veneno	Nif + veneno
30	0,14 \pm 0,005	0,15 \pm 0,01	0,15 \pm 0,01	0,14 \pm 0,002	0,14 \pm 0,01
60	0,15 \pm 0,004	0,23 \pm 0,02*	0,16 \pm 0,01	0,17 \pm 0,01	0,15 \pm 0,01
90	0,15 \pm 0,006	0,30 \pm 0,02*	0,18 \pm 0,01	0,15 \pm 0,01	0,17 \pm 0,02
120	0,15 \pm 0,004	0,18 \pm 0,01*	0,19 \pm 0,02	0,16 \pm 0,01	0,18 \pm 0,01

Os dados representam a média \pm E. P. M. (* $p < 0,05$).

Veneno de *Crotalus durissus cascavella* (10 $\mu\text{g/ml}$).

Tabela 11: Resistência vascular renal (mmHg/ ml.g⁻¹.min⁻¹) dos rins perfundidos de rato nos grupos controle (n=9) e tratados com veneno (n=8), indometacina (10 µg/ml) + veneno (n=6), dexametasona (20 µg/ml) + veneno (n=6) e nifedipina (10 µg/ml) + veneno (n=6).

Tempo(min.)	Controle	Veneno	Indo+ veneno	Dexa + veneno	Nif + veneno
30	4,8 ± 0,30	4,7 ± 0,35	4,6 ± 0,15	4,45 ± 0,14	3,9 ± 0,12
60	4,7 ± 0,15	6,64 ± 0,48*	4,0 ± 0,14	4,5 ± 0,23	3,6 ± 0,24
90	4,45 ± 0,22	7,12 ± 0,52*	4,2 ± 0,19	4,3 ± 0,26	3,5 ± 0,22
120	4,51 ± 0,19	7,26 ± 0,50*	4,4 ± 0,30	4,12 ± 0,21	3,8 ± 0,10

Os dados representam a média ± E. P. M. (*p<0,05).

Veneno de *Crotalus durissus cascavella* (10 µg/ml).

Tabela 12: Fluxo de perfusão renal ($\text{ml. g}^{-1}. \text{min}^{-1}$) dos rins perfundidos de rato nos grupos controle (n=9) e tratados com veneno (n=8), indometacina (10 $\mu\text{g/ml}$) + veneno (n=6), dexametasona (20 $\mu\text{g/ml}$) + veneno (n=6) e nifedipina (10 $\mu\text{g/ml}$) + veneno (n=6).

Tempo(min.)	Controle	Veneno	Indo+ veneno	Dexa + veneno	Nif+ veneno
30	14,9 \pm 0,36	14,0 \pm 0,78	13,9 \pm 0,65	14,5 \pm 0,59	14,8 \pm 0,12
60	14,8 \pm 0,44	12,0 \pm 0,80	14,1 \pm 0,64	13,8 \pm 0,53	15,5 \pm 0,40
90	15,0 \pm 0,32	11,4 \pm 0,52*	15,0 \pm 0,52	14,8 \pm 0,38	16,0 \pm 0,31
120	15,2 \pm 0,38	9,6 \pm 0,42*	13,4 \pm 0,48	13,9 \pm 0,28	14,9 \pm 0,33

Os dados representam a média \pm E. P. M. (* $p < 0,05$).

Veneno de *Crotalus durissus cascavella* (10 $\mu\text{g/ml}$).

Tabela 13: Ritmo de filtração glomerular ($\text{ml.g}^{-1}.\text{min}^{-1}$) dos rins perfundidos de rato nos grupos controle (n=9) e tratados com veneno (n=8), indometacina (10 $\mu\text{g/ml}$) + veneno (n=6), dexametasona (20 $\mu\text{g/ml}$) + veneno (n=6) e nifedipina (10 $\mu\text{g/ml}$) + veneno (n=6).

Tempo(min.)	Controle	Veneno	Indo+ veneno	Dexa+ veneno	Nif+ veneno
30	0,79 \pm 0,03	0,77 \pm 0,03	0,70 \pm 0,04	0,75 \pm 0,02	0,72 \pm 0,03
60	0,73 \pm 0,02	0,70 \pm 0,04	0,69 \pm 0,03	0,72 \pm 0,03	0,74 \pm 0,04
90	0,75 \pm 0,03	0,73 \pm 0,02	0,69 \pm 0,05	0,72 \pm 0,05	0,76 \pm 0,02
120	0,73 \pm 0,04	0,54 \pm 0,03*	0,66 \pm 0,06	0,70 \pm 0,03	0,74 \pm 0,03

Os dados representam a média \pm E. P. M. (*p<0,05).

Veneno da *Crotalus durissus cascavella* (10 $\mu\text{g/ml}$).

Tabela 14: Percentual de transporte tubular de sódio de rins perfundidos de rato nos grupos controle (n=9) e tratados com veneno (n=8), indometacina (10 µg/ml) + veneno (n=6), dexametasona (20 µg/ml) + veneno (n=6) e nifedipina (10 µg/ml) + veneno (n=6).

Tempo(min.)	Controle	Veneno	Indo + veneno	Dexa + veneno	Nif + veneno
30	82,1 ± 2,4	81,1 ± 5,4	74,8 ± 3,9	84,3 ± 1,09	82,6 ± 2,8
60	80,8 ± 2,0	72,6 ± 5,87	73,4 ± 4,07	83,6 ± 1,20	82,8 ± 1,83
90	80,6 ± 2,6	70,9 ± 5,66	72,3 ± 3,24	82,5 ± 1,60	71,4 ± 3,66
120	80,4 ± 2,6	62,3 ± 4,28*	73,7 ± 3,7	81,5 ± 2,7	69,4 ± 3,6*

Os dados representam a média ± E. P. M. (*p<0,05).

Veneno de *Crotalus durissus cascavella* (10 µg/ml).

Tabela 15: Percentual de transporte tubular proximal de Sódio de rins perfundidos de rato nos grupos controle (n=9) e tratados com veneno (n=8), indometacina (10 µg/ml) + veneno (n=6), dexametasona (20 µg/ml) + veneno (n=6) e nifedipina (10 µg/ml) + veneno (n=6).

Tempo(min.)	Controle	Veneno	Indo + veneno	Dexa + veneno	Nif + veneno
30	81,0 ± 2,9	82,1 ± 2,8	73,8 ± 3,9	84,3 ± 1,09	81,2 ± 2,8
60	79,0 ± 3,14	73,2 ± 3,1	70,4 ± 4,07	82,6 ± 1,20	79,4 ± 1,25
90	78,8 ± 2,95	69,0 ± 4,5*	72,3 ± 3,24	80,0 ± 2,5	77,4 ± 3,3
120	81,9 ± 3,05	63,6 ± 3,2*	70,2 ± 3,27	80,6 ± 2,62	67,4 ± 3,6*

Os dados representam a média ± E. P. M. (*p<0,05).

Veneno de *Crotalus durissus cascavella* (10 µg/ml).

Tabela 16: Percentual de transporte tubular de potássio de rins perfundidos de rato nos grupos controle (n=9) e tratados com veneno (n=8), indometacina (10 µg/ml) + veneno (n=6), dexametasona (20 µg/ml) + veneno (n=6) e nifedipina (10 µg/ml) + veneno (n=6).

Tempo(min.)	Controle	Veneno	Indo + veneno	Dexa + veneno	Nif + veneno
30	66,0 ± 1,1	65,6 ± 1,31	65,0 ± 2,78	60,3 ± 2,87	68,7 ± 4,8
60	63,7 ± 1,14	63,0 ± 2,65	66,0 ± 5,6	62,3 ± 1,03	70,5 ± 2,9
90	66,8 ± 1,03	61,8 ± 2,0	67,0 ± 3,24	61,0 ± 1,2	71,0 ± 2,0
120	67,0 ± 1,05	62,6 ± 3,02	67,2 ± 3,27	62,5 ± 1,2	69,8 ± 2,6

Os dados representam a média ± E. P. M. (*p<0,05).

Veneno de *Crotalus durissus cascavella* (10 µg/ml).

Tabela 17: Percentual de transporte tubular proximal de potássio de rins perfundidos de rato nos grupos controle (n=9) e tratados com veneno (n=8), indometacina (10 µg/ml) + veneno (n=6), dexametasona (20 µg/ml) + veneno (n=6) e nifedipina (10 µg/ml) + veneno (n=6).

Tempo(min.)	Controle	Veneno	Indo + veneno	Dexa + veneno	Nif + veneno
30	65,0 ± 2,0	64,8 ± 2,0	65,5 ± 2,1	62,3 ± 3,8	66,7 ± 4,8
60	66,0 ± 1,5	61,0 ± 3,0	64,0 ± 4,6	65,3 ± 1,3	63,5 ± 2,9
90	67,0 ± 3,5	63,0 ± 2,4	64,7 ± 2,2	62,9 ± 1,2	67,0 ± 2,0
120	65,0 ± 1,2	62,6 ± 3,2	63,9 ± 1,7	64,5 ± 1,2	65,8 ± 2,6

Os dados representam a média ± E. P. M. (p<0,05).

Veneno de *Crotalus durissus cascavella* (10 µg/ml).

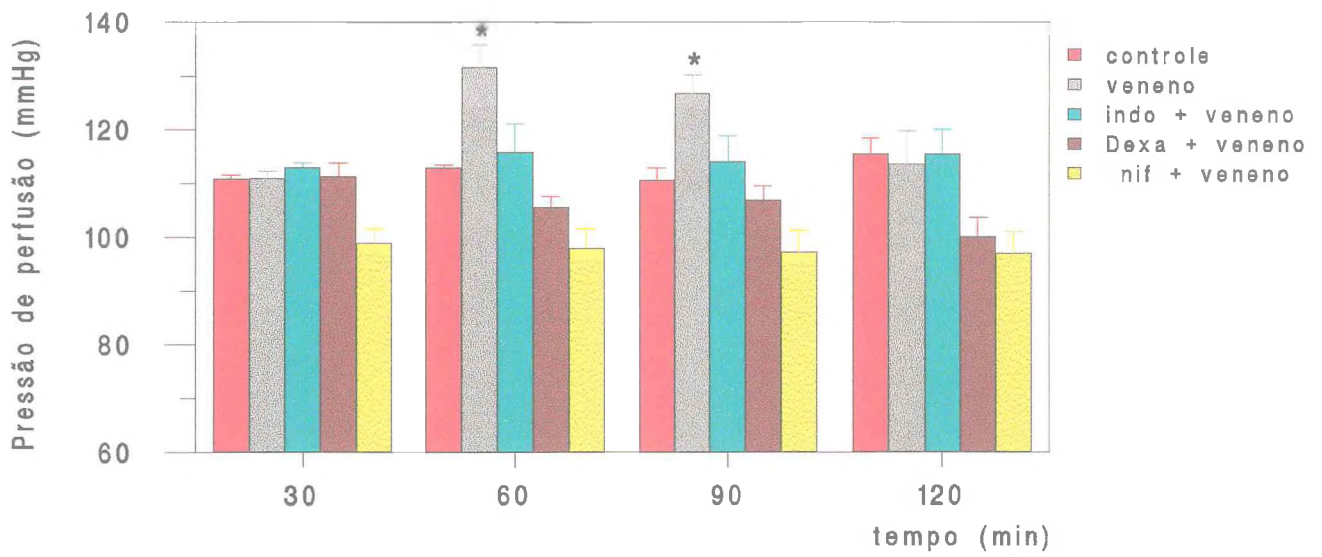


Figura 17: Comparação entre as pressões de perfusão de rins controle e tratado com veneno na ausência e na presença de Indo, Dexa ou Nif. Os 30 minutos iniciais funcionaram como controle interno de cada grupo.

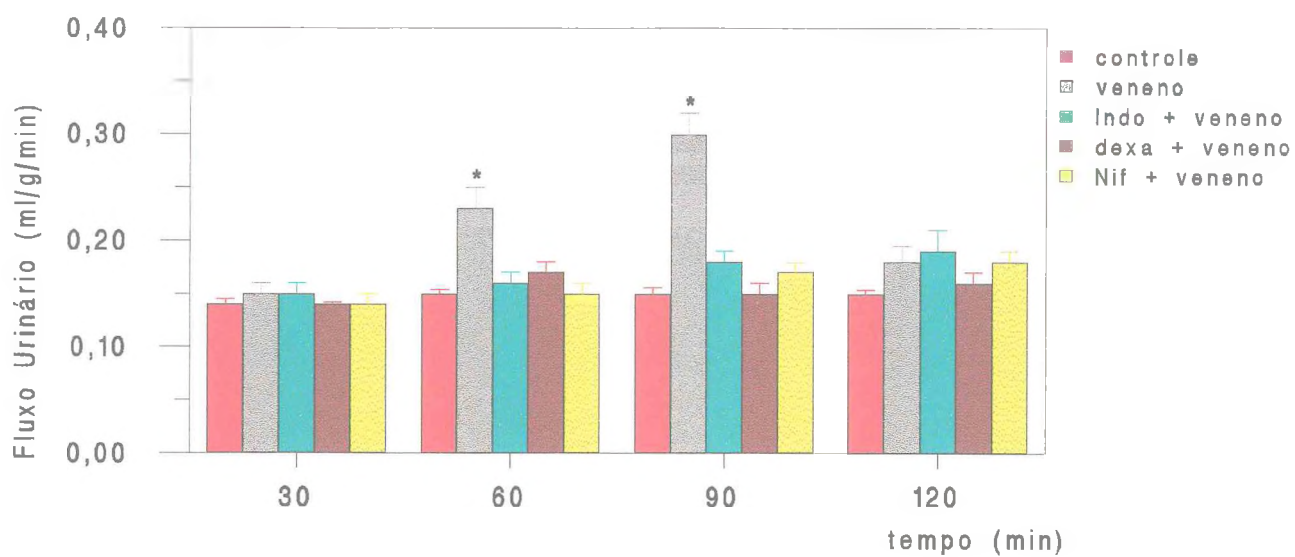


Figura 18: Comparação entre os fluxos urinários de rins controle e tratado com veneno na ausência e na presença de Indo, Dexa ou Nif. Os 30 minutos iniciais funcionaram como controle interno de cada grupo.

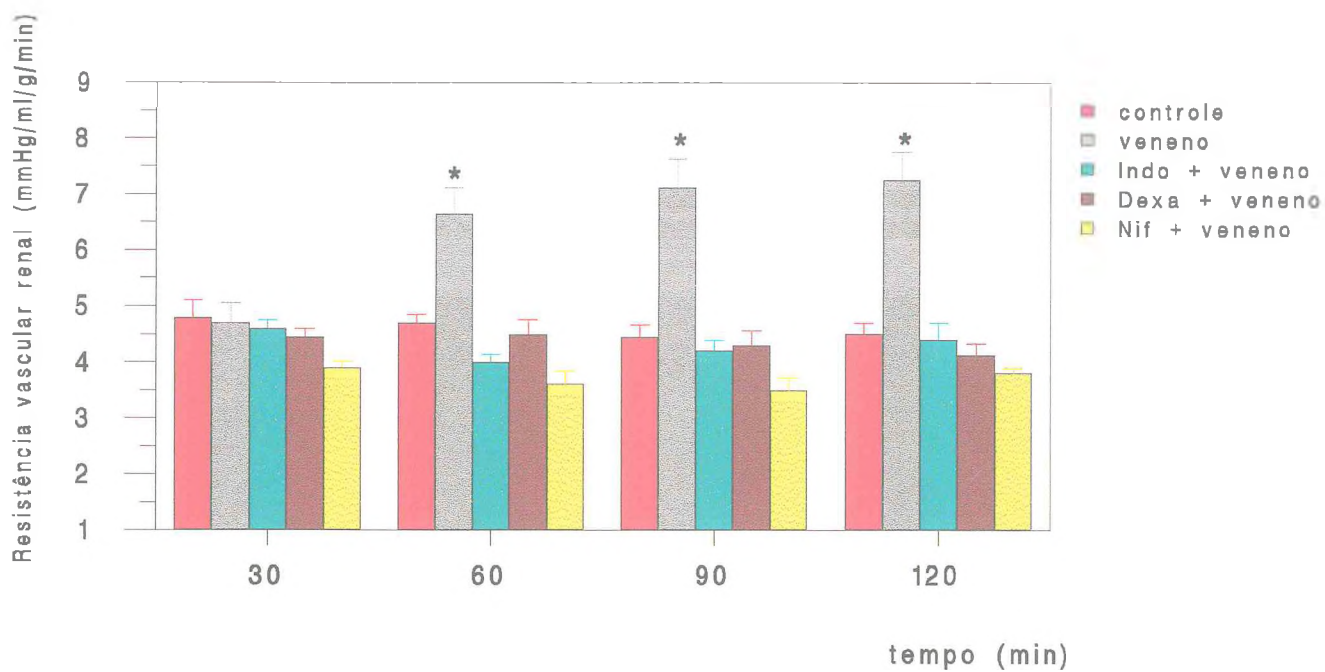


Figura 19: Comparação entre as resistências vasculares de rins controle e tratado com veneno na ausência e na presença de Indo, Dexa ou Nif. Os 30 minutos iniciais funcionaram como controle interno de cada grupo.

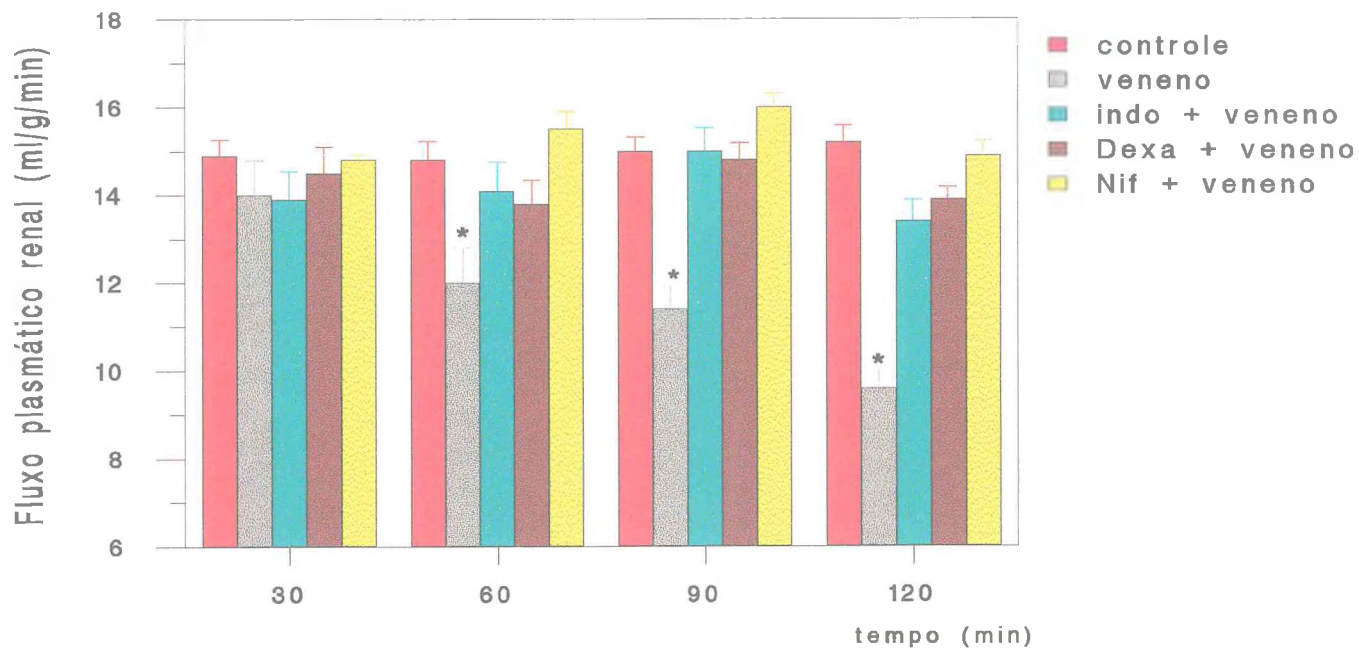


Figura 20: Comparação entre os fluxos plasmáticos de rins controle e tratado com veneno na ausência e na presença de Indo, Dexa ou Nif. Os 30 minutos iniciais funcionaram como controle interno de cada grupo.

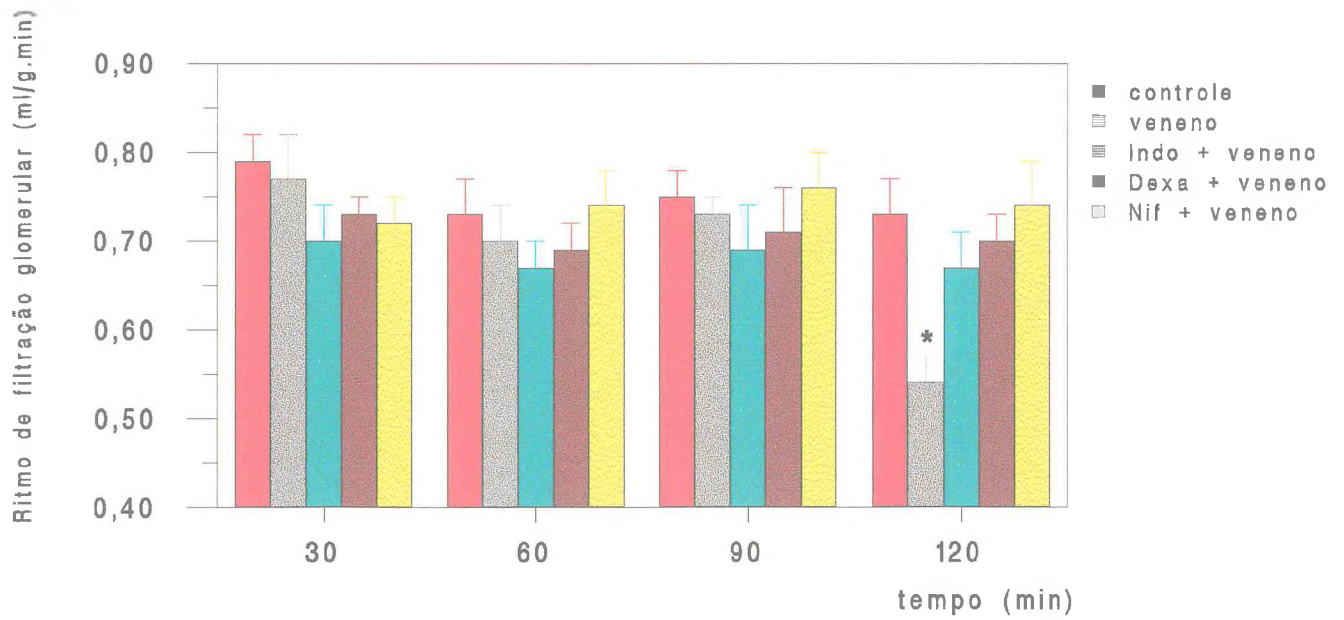


Figura 21: Comparação entre os ritmos de filtração glomerular de grupo controle e tratado com veneno na ausência e na presença de Indo, Dexa ou Nif. Os 30 minutos iniciais funcionaram como controle interno de cada grupo.

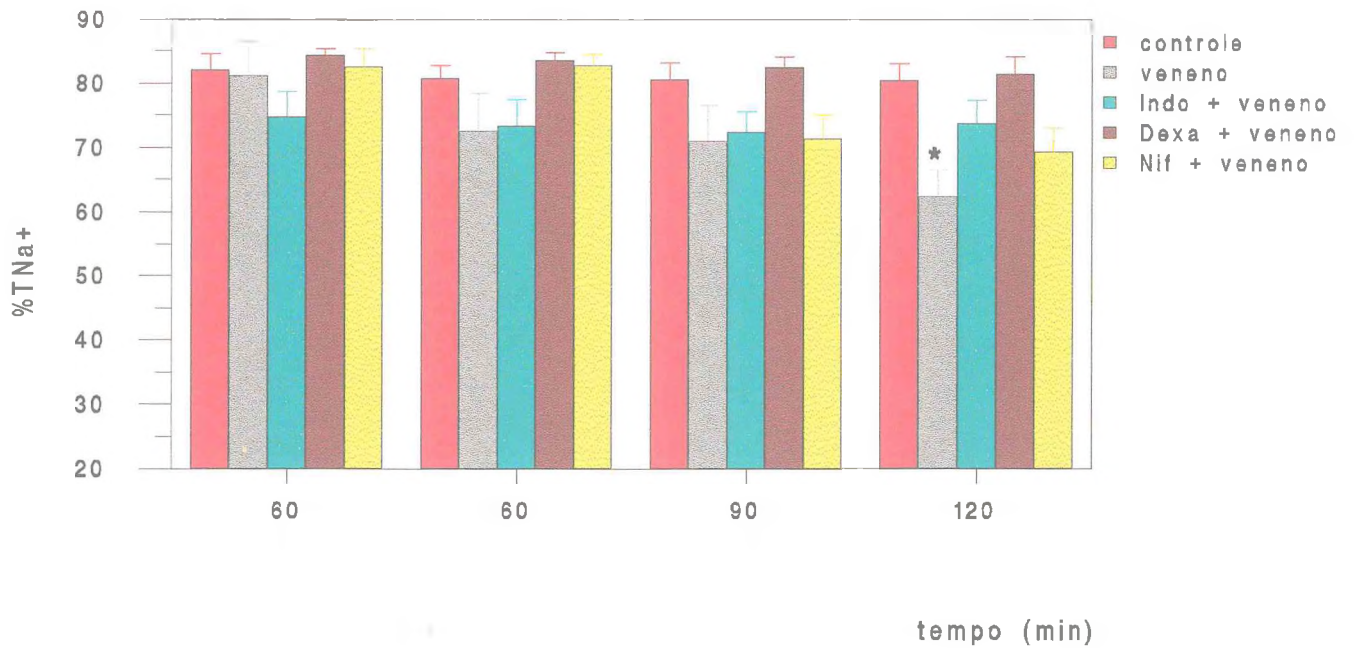


Figura 22: Comparação entre os percentuais de transporte tubular de sódio de rins controle e tratado com veneno na ausência e na presença de Indo, Dexta ou Nif. Os 30 minutos iniciais funcionaram como controle interno de cada grupo.

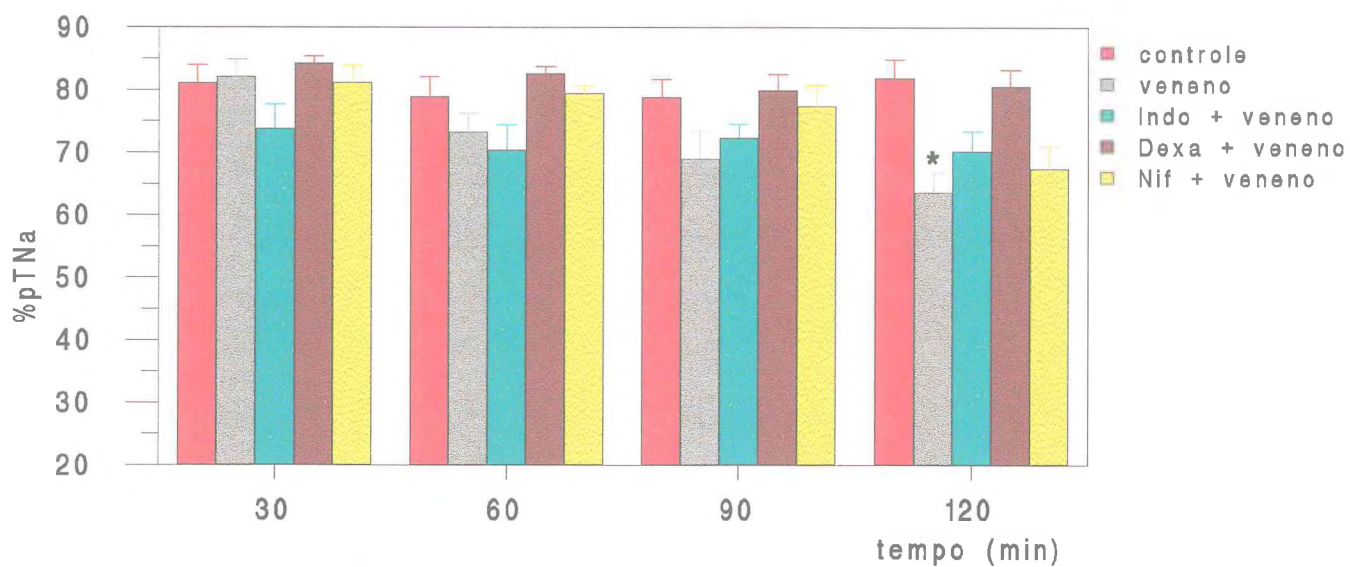


Figura 23: Comparação entre os percentuais de transporte tubular proximal de sódio de rins controle e tratado com veneno na ausência e na presença de Indo, Dexa ou Nif. Os 30 minutos iniciais funcionaram como controle interno de cada grupo.

Efeito do veneno da *C. d. cascavella* na presença de dexametasona

A dexametasona na dose de 20 $\mu\text{g/ml}$ protegeu os rins dos efeitos tóxicos do veneno. Estes dados estão demonstrados nas tabelas 9 a 16. Observou-se uma reversão do aumento da pressão de perfusão e fluxo urinário (Figuras 17 e 18) causada pela infusão de 10 $\mu\text{g/ml}$ do veneno aos 60 e 90 min., quando comparado com o grupo tratado somente com o veneno.

A dexametasona também foi capaz de reverter a queda do fluxo plasmático renal (Figura 20), o aumento da resistência vascular renal (Figura 19) e o decréscimo do ritmo de filtração glomerular (Figura 21) durante a perfusão com o uso isolado do veneno.

No grupo experimental tratado com dexametasona e veneno, o percentual de transporte tubular de sódio e o percentual de transporte tubular proximal de sódio não mostraram alteração significativa, desse modo essa substância preveniu o decréscimo dos mesmos, pois nesse grupo não observamos a queda aos 120 min. desses parâmetros, como visto no grupo tratado somente com o veneno (Figuras 22 e 23).

No grupo controle em que houve perfusão com a solução de Krebs Henseleit e dexametasona, foi observada uma redução do percentual de transporte tubular de potássio em relação ao grupo controle (Tabela 2), o qual foi perfundido somente com solução de Krebs-Henseleit modificada (Tabela 6), no entanto no grupo experimental em que a dexametasona foi adicionada previamente ao veneno (Tabela 17) esse efeito persistiu.

Efeito do veneno da *C. d. cascavella* na presença de nifedipina

A nifedipina antagonizou o aumento da pressão de perfusão e fluxo urinário (Figuras 17 e 18), bem como o decréscimo do ritmo de filtração glomerular (Figura 15).

No grupo tratado com nifedipina e veneno, a resistência vascular renal foi reduzida a níveis mais baixos que o controle, devido à capacidade dos antagonistas de canal de cálcio em diminuir a resistência (Figura 19).

Com a adição de nifedipina no início do experimento observamos um aumento do fluxo de perfusão renal (Figura 20), e após a infusão do veneno esse efeito persistiu, mostrando a reversão do decréscimo desse parâmetro provocado pelo veneno.

O percentual de transporte tubular de sódio (Figura 22) e o percentual de transporte tubular proximal de sódio (Figura 23) continuaram reduzidos com o uso deste fármaco. em trabalho anterior, quando foi utilizada a perfusão somente de solução de Krebs-Henseleit e nifedipina, também foi observada uma redução desses dois parâmetros (Monteiro et al., 1994).

Observamos que durante todo o período de perfusão, o percentual de transporte tubular de potássio e o percentual de transporte tubular proximal de potássio permaneceram estáveis, sem ocorrência de alterações significativas entre os intervalos de tempo analisados, mas a média desse grupo foi maior que a média do grupo isolado do veneno.

Composição eletrolítica tecidual de sódio e potássio nos rins controle e perfundidos

Os dados apresentados na tabela 18 mostram os resultados obtidos pela dosagem de sódio e potássio tissulares no rim perfundido e no rim controle contralateral. Os diferentes grupos de perfusão incluem o controle e os diversos grupos tratados com o veneno, indometacina, dexametasona e nifedipina.

A infusão do veneno da *Crotalus durissus cascavella* causou uma redução no sódio tissular quando comparado ao controle (Figura 24), mas ao utilizar a dexametasona, indometacina houve um bloqueio deste efeito.

No grupo em que a nifedipina foi administrada previamente ao veneno, houve queda do sódio tissular de forma semelhante ao uso isolado de nifedipina em perfusão renal, já descrito anteriormente por Monteiro et al. (1994). O uso do veneno também reduziu o potássio no tecido renal, mas não foi significativo em relação ao controle.

Tabela 18: Composição eletrolítica tecidual de sódio e potássio em rins não perfundidos (RE) e rins perfundidos (RD) com o veneno (n=8), indometacina (10 µg/ml) + veneno (n=6), dexametasona (20 µg/ml) + veneno (n=6) e nifedipina (10 µg/ml) + veneno (n=6).

		Controle	Veneno	Indo + veneno	Dexa + veneno	Nif + veneno
Na ⁺ µ.Eq.g ⁻¹	RE	162,2 ± 14	160,1 ± 11	146,14 ± 14	154,5 ± 13	150,84 ± 9,0
	RD	170,0 ± 12	115,0 ± 8,0*	154,93 ± 11	175,2 ± 16	129,25 ± 10,0*
K ⁺ µ.Eq.g ⁻¹	RE	127,64 ± 10	120,7 ± 8,0	129,44 ± 7,0	118,2 ± 7,0	110,8 ± 8,0
	RD	117,14 ± 7,0	114,7 ± 9,0	119,1 ± 9,0	110,43 ± 9,0	93,6 ± 6,8

Os dados representam a média ± E.P.M.

Veneno de *Crotalus durissus cascavella* (10 µg/ml).

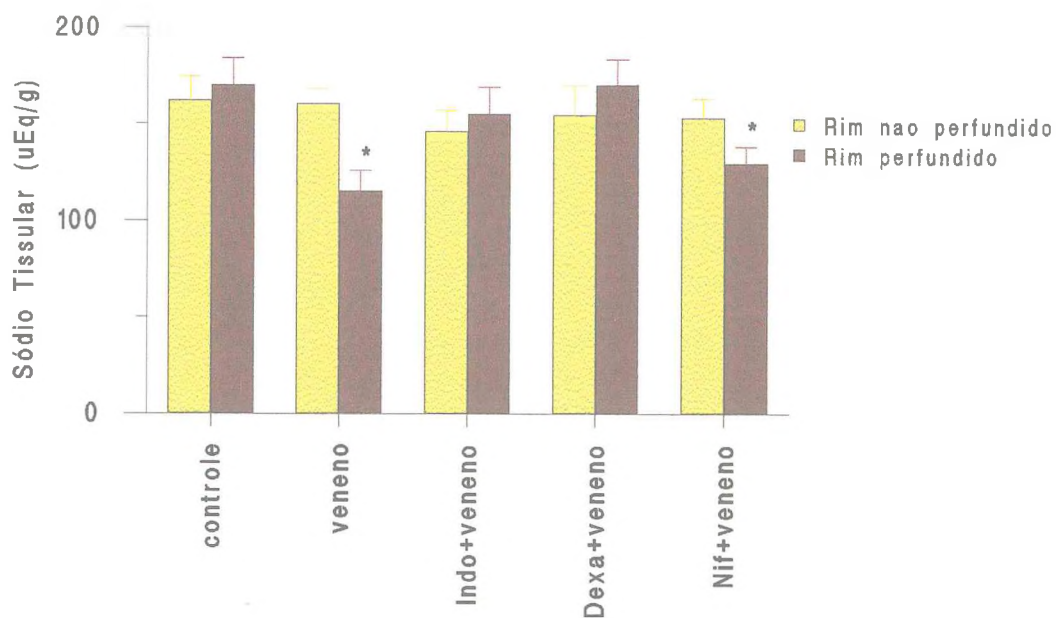


Figura 24: Concentração tecidual de sódio em rins não perfundidos e perfundidos com veneno na ausência e na presença de Indo, Dexa ou Nif

Avaliação histológica

Os dados deste estudo estão sumarizados nas tabelas 19 e 20.

Na análise histológica dos rins de animais pertencentes ao grupo controle, foi observado uma pequena quantidade de material protéico no espaço urinário em 8% dos glomérulos analisados. Não foi encontrada qualquer alteração a nível de túbulos, vasos e interstício (Figura 25).

No grupo em que os rins foram perfundidos somente com o veneno, foram analisados 985 glomérulos, dentre eles 52% apresentaram intensa quantidade de material protéico no espaço urinário. Cilindros hialinos foram evidenciados nos túbulos renais. Não foi encontrada qualquer anormalidade a nível de vasos e interstício (Figura 26).

Foi observada uma pequena quantidade de material protéico no espaço urinário em 30% de 548 glomérulos analisados do grupo em que os rins foram perfundidos com indometacina previamente ao veneno. Não foi encontrada alterações a nível de túbulos, vasos e interstício(Figura 27).

Os rins que receberam dexametasona previamente ao veneno não apresentaram cilindros hialinos nos túbulos renais. Neste grupo foram analisados 372 glomérulos, dentre eles somente 13% apresentaram material protéico no espaço urinário (Figura 28).

No grupo em que os rins foram perfundidos com nifedipina e veneno, 795 glomérulos foram analisados, mas somente 21% apresentaram material protéico no espaço urinário e não apresentaram cilindros hialinos nos túbulos renais (Figura 29).

Tabela 19: Alterações histopatológicas de rins perfundidos com veneno de *Crotalus durissus cascavella* (10 µg/ml) e rim controle.

	GLOMÉRULOS (material protéico)			TÚBULOS (cilindros hialinos)		
	discreta	moderada	intensa	discreta	moderada	intensa
V1			+		+	
V2			+		+	
V3			+		+	
V4						+
V5		+				+
C1						
C2						
C3						
C4	+					
C5	+					

V: rins tratados com veneno de *Crotalus durissus cascavella* (10 µg/ml).

C: rins controle contralateral.

Tabela 20: Alterações histopatológicas de rins perfundidos com veneno de *Crotalus durissus cascavella* (10 µg/ml) e bloqueio farmacológico com indometacina (10 µg/ml), dexametasona (20 µg/ml), e nifedipina (10 µg/ml).

	GLOMÉRULOS (material protéico)			TÚBULOS (cilindros hialinos)		
	discreta	moderada	intensa	discreta	moderada	intensa
V1			+		+	
V2			+		+	
V3			+		+	
V4						+
V5		+				+
I1	+					
I2	+					
I3	+					
I4	+					
I5						
D1						
D2	+					
D3	+					
D4	+					
N1						
N2	+					
N3						
N4	+					
N5	+					

V: rins tratados com veneno de *Crotalus durissus cascavella* (10 µg/ml).

N: rins tratados com veneno + nifedipina.

I: rins tratados com veneno + indometacina.

D: rins tratados com veneno + dexametasona.

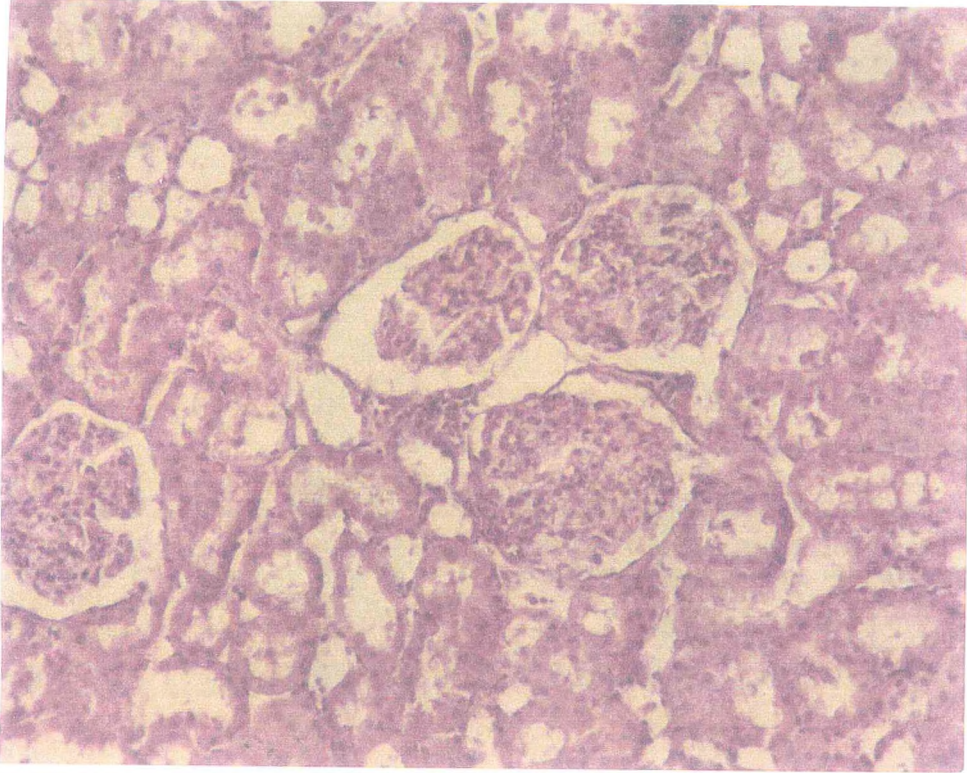


Figura 25a - Rim controle: apresentando glomérulo sem alteração (HE-100x).

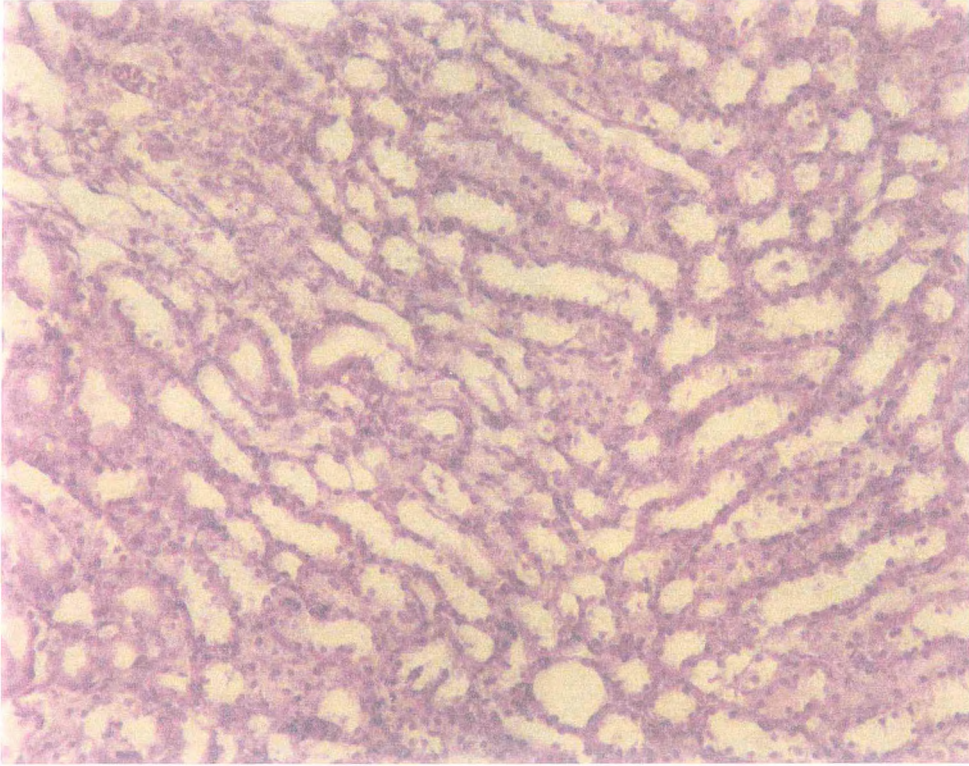


Figura 25b - Rim controle- apresentando túbulos normais (HE-100x).

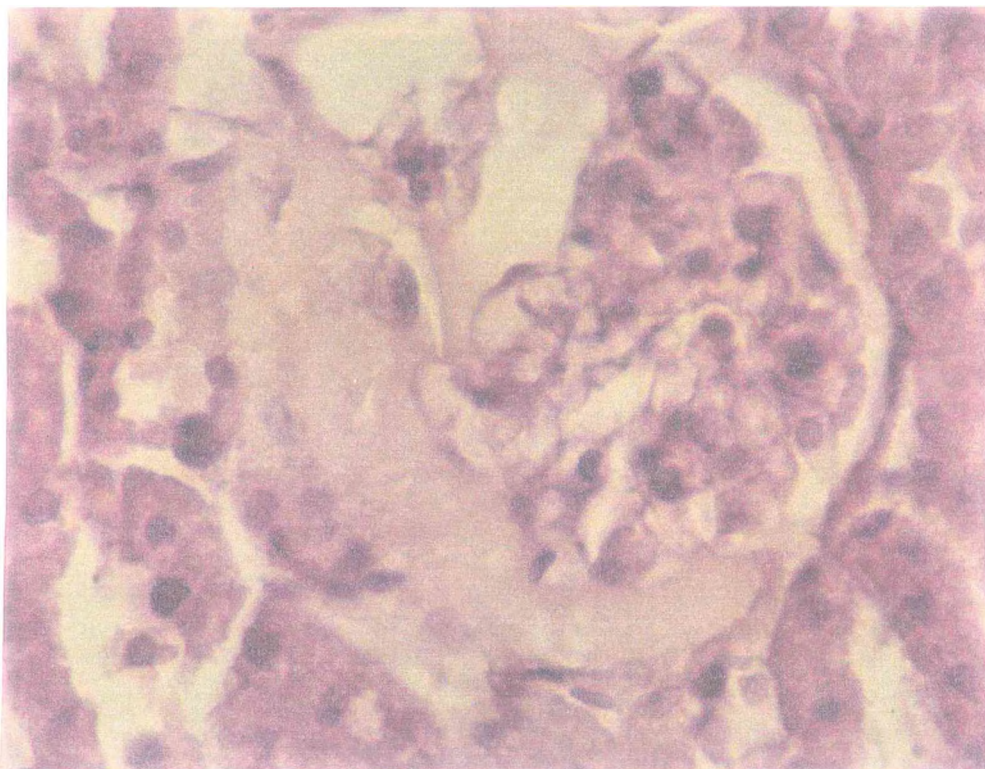


Figura 26a- Fotografia de rim tratado com 10 $\mu\text{g/ml}$ de veneno apresentando glomérulo com material protéico no espaço urinário (HE-400x).

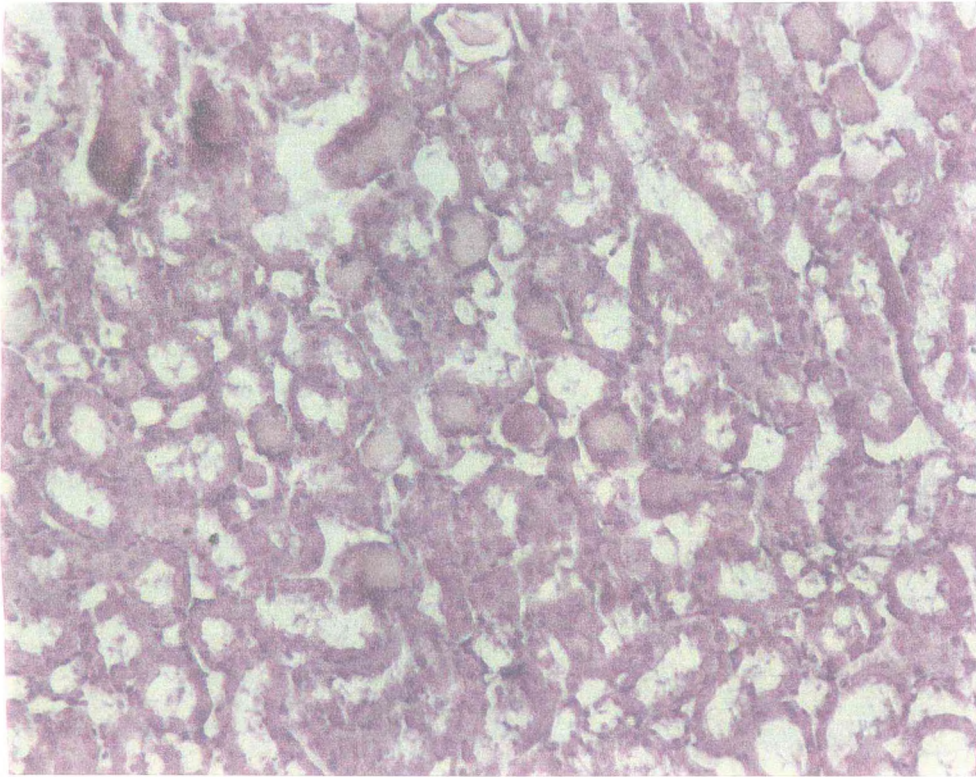
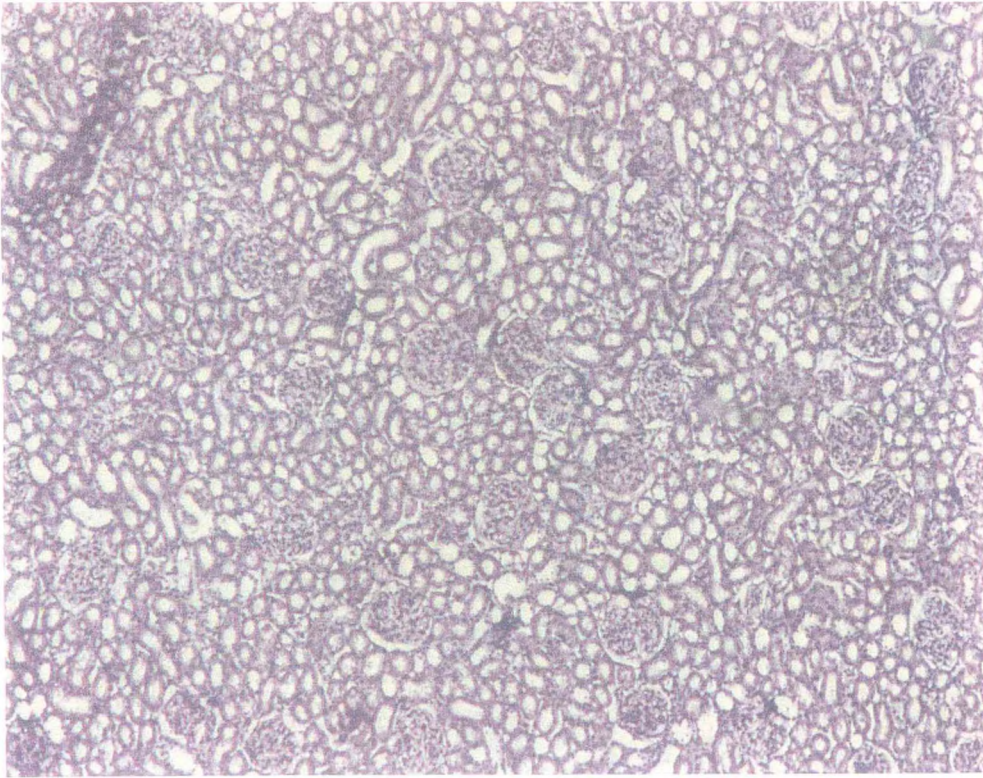


Figura 26b- Fotografia de rim tratado com 10 $\mu\text{g/ml}$ de veneno apresentando cilindros hialinos nos túbulos renais. (HE-100x).



Figural 27- Rim previamente tratado com indometacina (10 $\mu\text{g/ml}$) apresentando material protéico em alguns glomérulos e túbulos normais (HE-40x).

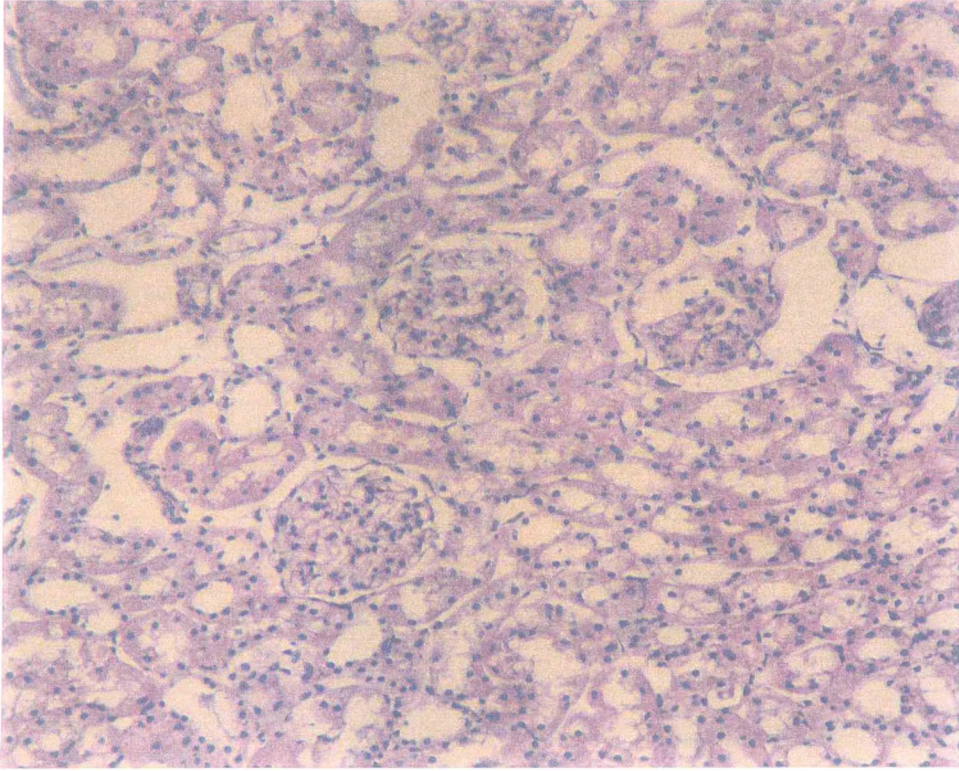


Figura 28- Rim previamente tratado com dexametasona (20 $\mu\text{g/ml}$).
apresentando glomérulos e túbulos normais (HE-100x).

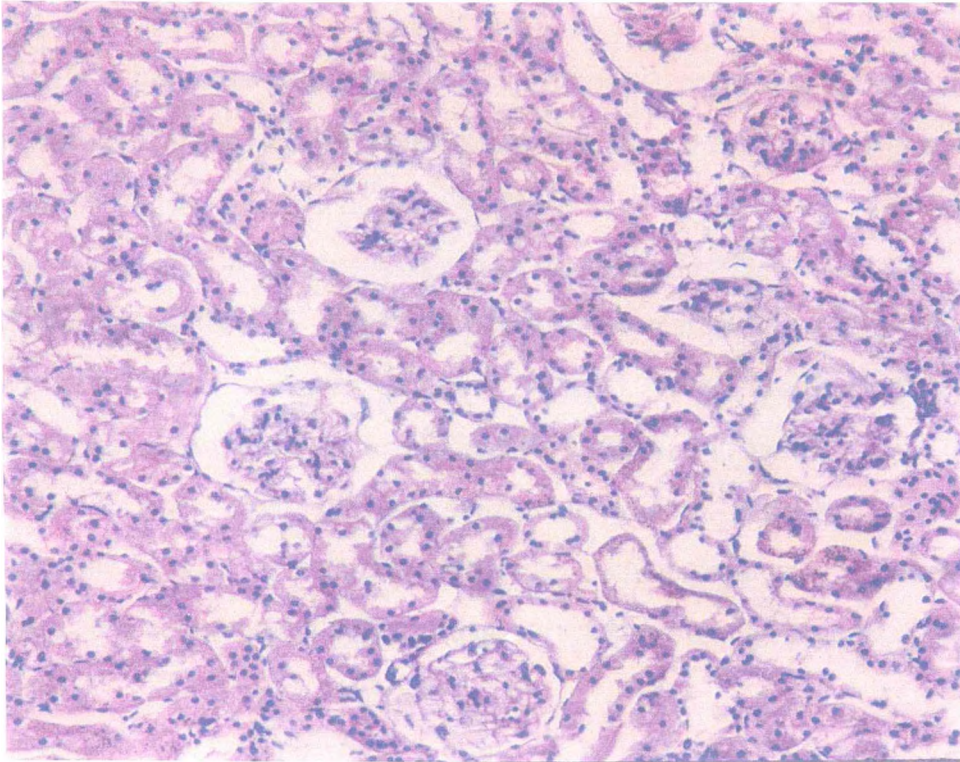


Figura 29- Rim previamente tratado com nifedipina (10 $\mu\text{g/ml}$) apresentando glomérulos e túbulos normais (HE-100x).

DISCUSSÃO

O rim é particularmente vulnerável a toxinas, por causa do alto fluxo sanguíneo e da capacidade de concentrar substâncias na urina (Burdmann, 1993).

A nefrotoxicidade é uma complicação frequentemente observada em pacientes vítimas dos acidentes ofídicos (Amaral, 1980; Burdmann, 1993), sendo responsável por um grande número de mortes. Em geral, os possíveis mecanismos de lesão renal, por envenenamento ofídico, incluem isquemia e nefrotoxicidade direta. A isquemia deve-se, principalmente à hipotensão, vasoconstrição renal ou coagulação intravascular disseminada (Warrell, 1991).

O veneno da *C. d. terrificus* tem atividade fisiopatológica hemolítica e neurotóxica no homem, com frequente ocorrência de insuficiência renal acompanhada de necrose tubular aguda (Azevedo-Marques, 1985).

A doença renal que provoca a insuficiência renal aguda é uma entidade conhecida como necrose tubular aguda (NTA), um termo que descreve uma síndrome clínica caracterizada por um declínio da taxa de filtração glomerular alguns minutos a vários dias após a agressão isquêmica ou nefrotóxica aguda. Na maioria dos pacientes com necrose tubular aguda, o evento desencadeador consiste na redução do fluxo plasmático renal ou exposição a algum agente nefrotóxico. Apesar do uso regular do termo necrose tubular aguda, pode não haver necrose dos túbulos, e o quadro histológico pode não ser diagnosticado (Andreoli et al, 1994).

As peçonhas ofídicas produzem efeitos no organismo animal, indiretamente através da liberação de substâncias farmacologicamente ativas, ou diretamente através de ações nas membranas celulares (Vital Brazil, 1980).

Foi utilizado o sistema de perfusão de rim isolado, um modelo experimental para o estudo de efeitos diretos do veneno, excluindo outros fatores que poderiam interferir nos resultados.

Barraviera et al. (1989) acompanharam 40 pacientes que sofreram envenenamento ofídico e observaram que alguns pacientes vítimas de serpentes do gênero *Crotalus* apresentaram episódios hipertensivos. No presente estudo de perfusão de rim isolado de rato, o aumento da pressão de perfusão após a infusão do veneno da *C. d. cascavella*, pode ter sido devido à participação de mediadores vasoconstritores ocasionando alteração vascular.

Uma intensa diurese foi observada como provável lesão renal precoce e liberação de substâncias com ação diurética, onde o aumento da pressão de perfusão também pode ter contribuído para o aumento do fluxo urinário, no modelo de rim isolado de rato.

Pelo menos duas classes de peptídeos natriuréticos estão presentes no veneno da *B. jararaca*, peptídeo potenciador de bradicinina (BPP) e o peptídeo natriurético tipo C (CNP), esses agem sinergicamente sobre a pressão sanguínea, e provavelmente contribuem para os efeitos cardiovasculares causados por esse veneno (Murayama et al., 1997).

Amaral et al. (1986) em estudos realizados em vítimas de serpentes *C. d. terrificus*, observaram que estes desenvolveram insuficiência renal aguda de alto débito, com elevação progressiva dos níveis séricos de uréia e creatinina, portanto a ausência de oligoanúria não afasta a possibilidade de comprometimento renal.

A determinação da creatinina sérica possibilita uma estimativa da função glomerular, pois esta é eliminada quase que completamente pela filtração glomerular (Andreoli et al., 1994).

Feitosa (1996) em estudo experimental *in vivo*, observou que o veneno da *C. d. cascavella* provoca um aumento dos níveis séricos de creatinina e redução dos níveis séricos de albumina, globulina e sódio.

Em geral, os venenos de cascavéis produzem alterações na resistência e integridade de vasos sanguíneos (Dart e Rusell, 1991). Em nossos experimentos, a resistência vascular renal do grupo de animais tratados com o veneno da *C. d. cascavella* foi significativamente maior do que a obtida no grupo controle, podendo ser resultado de uma ação vascular do veneno. No estudo histológico não se observou obstrução a nível dos vasos, podendo sugerir então uma vasoconstrição arteriolar.

Amorim e Melo em 1952 já descreviam que todo agente que diminui a circulação sanguínea nos capilares glomerulares e peritubulares, reduzindo a pressão nestes capilares, levava a uma diminuição da filtração e do suprimento sanguíneo (hipóxia). Ainda segundo os mesmos autores, as alterações de permeabilidade dos capilares glomerulares que surgem no envenenamento crotálico, seriam devidas à falta de oxigênio subsequente à vasoconstrição arteriolar. Estudos mais recentes demonstraram que a constrição da arteríola aferente reduz a velocidade do fluxo sanguíneo pelo glomérulo (Guyton, 1997).

Paralelo ao aumento da resistência vascular renal, observa-se no grupo perfundido com o veneno, uma queda progressiva do fluxo de perfusão renal e do ritmo de filtração glomerular, sugerindo um aumento da resistência da arteríola glomerular aferente, que pode ser resultante da liberação de substâncias vasoconstritoras.

Os fatores produzidos e liberados pelas células endoteliais vasculares, desempenham uma função importante na modulação da hemodinâmica. Os agentes vasoconstritores derivados da via ciclooxigenase nas células endoteliais vasculares incluem tromboxanos e prostaglandinas (Guyton, 1997).

Existem prostaglandinas com efeito vasodilatador, como a PGE₂ e PGI₂, enquanto outras como a PGF_{2α} e TXA₂ têm efeito vasoconstritor. Pequeno aumento de suas concentrações com diminuição discreta dos níveis de PGE₂ e PGI₂, podem causar uma vasoconstrição acentuada (Pinheiro, 1995), podendo a prostaglandina estar envolvida na vasoconstrição renal, seguida de um aumento da resistência vascular renal e decréscimo do ritmo de filtração glomerular.

De maneira geral, a alteração da hemodinâmica renal pode também afetar o processo funcional de reabsorção e secreção tubular (Pinheiro, 1995). A excreção de sódio depende do ritmo de filtração glomerular e da taxa de reabsorção deste íon (Vander, 1995). No presente experimento, o percentual de transporte tubular de sódio foi reduzido no grupo tratado com veneno, por provável diminuição da reabsorção de sódio. Este efeito provavelmente ocorreu nos túbulos renais proximais, pois a redução foi paralela à do percentual de transporte tubular de sódio.

Defeitos tubulares podem levar à absorção incompleta de sódio, pois os túbulos perdem a capacidade de funcionar efetivamente após várias lesões isquêmicas.

Já foram sugeridas diversas alterações bioquímicas como fatores responsáveis de lesão celular na insuficiência renal aguda, incluindo disfunção mitocondrial, depleção de ATP, degradação de fosfolipídios, elevação do cálcio livre no citosol, diminuição da atividade de Na⁺-K⁺ ATPase, alteração no metabolismo dos substratos, alterações lisossômicas e produção de radicais livres de oxigênio, mas ainda não estão bem definidas as alterações que atuam como causa e as que representam apenas consequências de lesão celular avançada (Andreoli et al, 1994).

Os derivados do ácido araquidônico estão envolvidos em vários processos biológicos e patológicos. Este ácido é um poliinsaturado que se origina de fontes alimentares ou de conversão endógena a partir do ácido linoléico. Para que seja utilizado na formação de eicosanóides, ele é inicialmente liberado dos fosfolídeos por ação da fosfolipase A₂ (Lewis, 1985).

A ação de enzimas do veneno botrópico em fosfolídeos de membranas celulares pode levar a liberação do ácido araquidônico (França & Fan, 1992). Uma vez liberado, é convertido em prostaglandinas, tromboxanos e prostaciclina (através da via catalisada pela cicloxigenase), ou em ácido hidroxieicosatetraenóico e leucotrienos (derivados da via catalisada pela lipoxigenase).

Barraviera (1993) observou que o sítio primário de ação da crotoxina, principal fração do veneno da *Crotalus durissus terrificus*, é a membrana plasmática, estando assim relacionada com a hidrólise de fosfolípidios. Araújo et al. (1992) afirmaram que o cálcio é importante para a atividade dessa fração. A fosfolipase A₂ é o principal componente responsável pelo complexo crotoxina. Devido à similaridade dos efeitos parece que a *C. d. cascavella* também contém essa toxina.

Silva (1995) observou que a crotoxina da *Crotalus durissus terrificus* exerce efeito renal através de um mecanismo direto e/ou indireto. O indireto provavelmente ocorreu devido aos múltiplos mediadores químicos liberados pelas células do endotélio renal. A atividade fosfolipásica desta fração pode estar relacionada com a produção de PAF, produtos de cicloxigenase e lipoxigenase.

Monteiro (1990) testou o efeito direto da peçonha *Bothrops jararaca*, serpente da família *Viperidae*, em sistema de rim isolado de rato e constatou

alterações compatíveis com insuficiência renal aguda, tais como necrose tubular em alguns animais após a exposição ao veneno.

Um componente importante do glomérulo é o mesângio, que consiste de células mesangiais e uma matriz (Koeppen e Stanton, 1992). Tais células estão localizadas entre a lâmina basal e o endotélio glomerular (Ganong, 1995), exibem atividade fagocitária e secretam prostaglandinas, além disso muitas delas contêm miofilamentos e podem se contrair em respostas a uma variedade de estímulos (Vander, 1995). As células mesangiais são adjacentes aos capilares glomerulares e podem influenciar a taxa de filtração a partir da regulação do fluxo sanguíneo através dos capilares (Koeppen e Stanton, 1992).

A obstrução do fluxo por fragmentos ou cilindros na luz dos túbulos e a redução do coeficiente de ultrafiltração capilar glomerular parecem desempenhar um papel fisiológico na persistência do quadro clínico da necrose tubular aguda (Andreoli et al, 1994).

No estudo histopatológico foi encontrado material protéico nos glomérulos e túbulos. No grupo tratado com veneno, esses depósitos foram mais intensos, tanto devido aos efeitos tóxicos do veneno sobre essas estruturas, como à alteração da permeabilidade vascular, com grave disfunção dos parâmetros renais.

Pequena quantidade de material protéico estava presente nos glomérulos e túbulos renais no grupo controle, como descrito anteriormente em rins perfundidos de coelhos (Moraes, 1984) e ratos (Monteiro, 1990), porém todos os parâmetros renais permaneceram estáveis durante os 120 minutos de perfusão, sem alteração funcional.

A indometacina é uma droga inibidora da cicloxigenase que previne a formação de prostaglandinas e tromboxanos (Gordon e Samuels, 1995).

A ação da indometacina foi estudada sobre os parâmetros funcionais renais, sendo observada uma reversão de quase todas as alterações. A pressão de perfusão e o fluxo urinário permaneceram estáveis, não ocorrendo o aumento desses parâmetros como visto no grupo em que os rins foram perfundidos somente com o veneno.

Quando os animais foram submetidos ao tratamento com a indometacina antes do veneno, foram observadas uma redução da resistência vascular e um aumento do fluxo de perfusão renal e conseqüentemente houve uma melhora do ritmo de filtração glomerular, entretanto esse último parâmetro não teve significância estatística em relação ao grupo em que os rins foram perfundidos com o veneno, sugerindo a participação de mediadores que fazem parte da via ciclooxigenase, como prostaglandinas, no mecanismo de lesão renal.

A dexametasona é um glicocorticóide que exerce atividade através da inibição da fosfolipase A₂, comprometendo assim a formação de mediadores químicos liberados pela ação desta enzima.

Os glicocorticóides são capazes de suprimir a liberação de mediadores lipídicos (PAF, prostaglandinas, leucotrienos, tromboxanos). Eles também suprimem a ação da interleucina-2, fator de necrose tumoral, interferon- γ além de inibir histamina e bradicinina (Scheimer, 1989; Barnes, 1995).

A dexametasona protegeu o rim do aumento da pressão de perfusão e do fluxo urinário induzidos pelo veneno.

Os animais tratados com dexametasona não apresentaram aumento da resistência vascular renal, também não foi observada redução do fluxo de perfusão renal e do ritmo de filtração glomerular, como visto no grupo em que os rins foram tratados somente com o veneno. Estes resultados sugerem que a

nefrotoxicidade do veneno pode ser devida à ação da fosfolipase A₂, que é um possível componente do veneno, nos fosfolipídeos da membrana liberando ácido araquidônico e conseqüentemente mediadores vasoconstritores.

Dexametasona, indometacina e nifedipina provavelmente protegem o rim dos efeitos tóxicos do veneno, já que elas bloqueiam a formação de cilindros hialinos.

O rim é capaz de liberar histamina, serotonina e PAF, depois de exposto ao ionóforo A23187 (2,5 µg/ml). O ionóforo também causa secreção de metabólitos do ácido araquidônico com atividade espasmogênica sobre os vasos renais (Pirotzky et al., 1984; Summer e Albert, 1995).

A lesão renal que se observa após o envenenamento pela *C. d. terrificus* tem sido atribuída à miotoxicidade e nefrotoxicidade direta do veneno (Azevedo-Marques et al., 1987; Nancy, 1991). A peçonha da *C. d. terrificus* e sua principal fração, a crotoxina, causaram nefrotoxicidade através da utilização do sistema de rim de rato como modelo experimental (Silva, 1995).

Uma ação indireta sobre as células renais leva a uma mioglobinúria como consequência de uma rabdomiólise (Lopez et al., 1972; Magalhães et al., 1986).

A metodologia de perfusão aqui empregada elimina a rabdomiólise como fator determinante, no entanto, outros mecanismos devem ser responsáveis pelos efeitos tóxicos observados.

Mittal et al. (1986) estudaram durante quatorze anos acidentes ofídicos causados pelos gêneros *Bothrops* e *Crotalus*, realizando autópsia e biópsia nas vítimas. Os resultados mostraram necrose tubular em 15% dos casos.

Concluíram que a patogênese de necrose tubular pode ser causada por ação tóxica do veneno, através de ações da fosfolipase. Nos glomérulos foram encontradas outras mudanças significativas, como a dilatação endotelial e ruptura de membrana basal em dezessete casos.

A nifedipina é um antagonista do canal de cálcio, assim diminui o influxo de cálcio para dentro da célula.

Os antagonistas do canal de cálcio não alteram a hemodinâmica renal em modelo de perfusão de rim isolado de rato, mas quando o rim isolado é tratado com vasoconstritores, eles exercem forte efeito sobre a hemodinâmica renal (Loutzenhiser e Epstein, 1988).

A administração do veneno de serpente causa alteração glomerular, alteração tubular e infarto renal. As alterações glomerulares consistem em inflamação e as tubulares ocorrem por ação direta do veneno através de hipóxia vascular (Raab e Kaiser, 1966).

Em nossos experimentos ao utilizar nifedipina, um antagonista do canal de cálcio, observou-se o bloqueio de quase todas as alterações que foram induzidas pelo veneno. Os animais tratados previamente com nifedipina e após 30 min. de perfusão quando o veneno foi adicionado apresentaram uma queda acentuada da pressão de perfusão e da resistência vascular renal. Neumayer et al. (1993) mostrou que antagonistas do canal de cálcio agudamente antagonizam a vasoconstrição pré-glomerular, enquanto que as arteríolas eferentes parecem ser refratárias ao efeito dessas drogas.

Yokoyama e Kaburagi (1993) descreveram que a excreção de sódio por antagonista de cálcio é causado por uma ação direta dessa droga inibindo a reabsorção tubular.

No grupo experimental em que os animais foram tratados com nifedipina e veneno, o fluxo plasmático renal e o ritmo de filtração glomerular não apresentaram alterações quando comparados ao controle, mostrando que a nifedipina protegeu o rim das alterações a que se refere esse parâmetro.

A administração de nifedipina frequentemente resulta em aumento do ritmo de filtração glomerular, quando existe uma vasoconstrição renal, mas na ausência do tônus vascular esses efeitos não são sempre observados (Epstein, 1993; Pinheiro, 1995).

A nível renal, a nifedipina parece atuar preferencialmente sobre a arteríola aferente, o que poderia explicar o aumento do ritmo de filtração glomerular (Loutzenhiser e Epstein, 1988).

O percentual de transporte tubular de sódio e o percentual de transporte tubular proximal de sódio continuaram reduzidos no grupo em que se utilizou o antagonista do canal de cálcio previamente ao veneno, pois a nifedipina tem efeito natriurético, observado no grupo controle, em que o rim foi perfundido somente com albumina e nifedipina na ausência do veneno de acordo com o que foi demonstrado por (Monteiro et al, 1994).

A ação da nifedipina inibindo o efeito tóxico do veneno mostrou que o cálcio parece ter um papel na lesão renal.

CONCLUSÕES

- O veneno da serpente *Crotalus durissus cascavella* causou nefrotoxicidade no modelo de rim isolado de rato.
- O efeito nefrotóxico foi evidenciado pelo aumento da PP, FU e RVR e pelo progressivo decréscimo do FPR, seguidos da queda do RFG, bem como pela redução do $\%TNa^+$, $\%pTNa^+$ e a concentração de sódio tissular. Foi também observada intensa quantidade de cilindros hialinos nos túbulos renais. Tais efeitos do veneno provavelmente ocorreram devido à ação da fosfolipase A_2 , agindo sobre os fosfolipídeos da membrana, sendo responsável pela produção de prostaglandinas ou tromboxanos vasoconstritores.
- A dexametasona foi capaz de reverter o aumento da PP, FU, RVR e o decréscimo do FPR e RFG, também não foram observadas alterações a nível de glomérulos e túbulos renais. Essa proteção provavelmente foi devida à inibição da fosfolipase A_2 .
- A administração de indometacina previamente ao veneno protegeu o aumento da PP, FU, RVR e o decréscimo do fluxo plasmático renal, talvez por ser inibidora da cicloxigenase, prevenindo assim, a formação de mediadores vasoconstritores.
- A nifedipina reverteu o aumento da PP, FU, RVR e o decréscimo do fluxo plasmático renal e ritmo de filtração glomerular. O $\%TNa^+$ permaneceu baixo, provavelmente devido à sua ação natriurética. O estudo histológico mostrou glomérulos e túbulos normais. Esses achados sugerem que a nifedipina pode bloquear as alterações decorrentes do

cálcio, provavelmente o mecanismo envolvido seria a nível de arteríola aferente.

- A ação do veneno sobre o rim isolado parece resultar de uma interação incluindo prostaglandina e cálcio.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMARAL, C.F.S., REZENDE, N.A., DA SILVA, O.A., RIBEIRO, M.M.F., MAGALHÃES, R.A., REIS, R.J., CARNEIRO, J.G., CASTRO, J.R.S. Insuficiência renal aguda secundária a acidentes ofídicos botrópico e crotálico. Análise de 63 casos. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v.28, p.220-227, 1986.
- AMARAL, C.F.S., REZENDE, N.A., PEDROSA, T.M.G. Afibrinogenemia secundária a acidente ofídico crotálico (*Crotalus durissus terrificus*). **Rev. Inst. Med. Trop. São. Paulo**, v.30, p.288-292, 1988.
- AMARAL, C.F.S., MAGALHÃES, R.A., REZENDE, N.A. Comprometimento respiratório secundário a acidente ofídico crotálico (*Crotalus durissus*). **Rev. Inst. Med. Trop. São. Paulo**, v.33, n.4, p.251-255, 1991.
- AMARAL, C.F.S., RESENDE, N.A. Tratamento das complicações dos acidentes por animais peçonhentos. In: BARRAVIERA, B. **Venenos animais - uma visão integrada**. Rio de Janeiro: EPUC, 1994, cap 27, p. 346-347.
- AMORIM, M.F., MELLO, R.F. Nefrose do néfron intermediário no envenenamento crotálico humano. Estudo anátomo - patológico. **Mem. Inst. Butantan**, v.24, p.281-316, 1952.
- _____. Intermediate nephron nephrosis from snake poisoning in man. Histopathologic study. **Am. J. Pathol.**, v.30, p.479-499, 1954.
- _____. Saliba, F. Lesões renais induzidas experimentalmente no cão pelo veneno crotálico. **Mem. Inst. Butantan**, v.34, p.137-157, 1969.
- ANDREOLI, T.E., BENNETT, J.C., CARPENTER, C.C.J., PLUM, F., SMITH, L.H. Insuficiência Renal aguda. In: ____ Cecil medicina interna básica. 3. ed, Rio de Janeiro: Guanabara koogan, 1994, cap 30, p.203.
- ARAÚJO, D.A.M., BEIRÃO, P.S.L., GOMEZ, M.V. The effect of crotoxin on the release of acetylcholine and lactate dehydrogenase from rat brain cortical slices. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v.25, p.707-711, 1992.
- ARAÚJO, D.M, BEIRÃO, P.S.C. Effect of crotoxin on the action potencial kinetics of frog skeletal muscle. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v.26, p.1111-1121, 1993.

- AZEVEDO-MARQUES, M.M., CUPO, P., COIMBRA, T.M., HERING, S.E., ROSSI, M.A., LAURE, C.J. Myonecrosis, myoglobinuria and acute renal failure induced by South-America rattlesnake (*Crotalus durissus terrificus*) envenomation in Brazil. **Toxicon**, v.23, p.631-636, 1985.
- AZEVEDO-MARQUES, M. M., CUPO, P., HERING, S. E. Detecção precoce da mioglobina no acidente crotálico humano. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v.19, p.1929-1930, 1986.
- AZEVEDO-MARQUES, M.M., CUPO, P., HERING, S.E. Evidence that *Crotalus durissus terrificus* (South America rattlesnake) envenomation in human causes myolysis rather than hemolysis. **Toxicon**, v.25, p.1663-1668, 1987.
- AZEVEDO-MARQUES, M.M., CUPO, P., AMARAL, C.F.S., HERING, S.E. Rattlesnake bites clinical features and complementary tests. **Mem. Inst. Butantan**, v.52, supl., p.27-29, 1990.
- BALHLMANN, J., GIEBISCH, G., OCHWADT, B. Micropuncture study of isolated perfused rat kidney. **Amer. J. Physiol.**, v.212, p.77-82, 1967.
- BANCHER, W., ROSA, R.R., FURLAMENTO, R.S. Estudo sobre a fixação eletiva e quantitativa do veneno de *Crotalus durissus terrificus* nos tecidos nervoso, renal, hepático e muscular de *Mus musculus linnaeus*, 1758. **Mem. Inst. Butantan**, v.37, p.139-142, 1973.
- BARNES, P.J. Anti-inflammatory mechanisms of glucocorticoids. **Biochem. Soc. Trans.**, v.23, p.940-945, 1995.
- BARRAVIERA, B., BONJORNO JÚNIOR, J.C., ARAKAKI, D., DOMINGUES M.A.C., PEREIRA, P.C.M., MENDES, M.P., MACHADO J.M., MEIRA, D.A.A. Retrospective study of 40 victims of crotalus snake bites. Analyses of the hepatic necrosis observed in one patient. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v.22, n.1, p.5-12, 1989.
- BARRAVIERA, B. Curso sobre acidentes por animais peçonhentos: Acidentes por serpentes do gênero *Crotalus*. **Arq. Bras. Med.**, v.64, p.14-20, 1990.
- _____. Estudo clínico dos acidentes ofídicos. **JBM.**, v.65, n.4, p.209-250, 1993.
- BARRAVIERA, B., PERAÇOLI, M.T.S. Soroterapia heteróloga In: BARRAVIERA, B. (coord.) **Venenos animais: uma visão integrada**. Rio de Janeiro: EPUC, 1994. cap.28, p.361.

- BARRAVIERA, B. LOMONTE, B., TARKOWIKI, A., HANSON, L.A., MEIRA, D.A. Acute phase reactions, including cytokines, in patients bitten by *Bothrops* spp. And *Crotalus durissus terrificus* in Brasil. **J. Venom. Anim. Toxins**, v.1, p.11-22, 1995.
- BON, C., CHANGEUX, J.P., JENG, T.W., FRAENKEL-CONRAT, H. Post synaptic effects of crotoxin and of its isolated subunits. **Eur. J. Biochem.**, v.99, p.471-481, 1979.
- BON, C., BOUCHIER, C., CHOUMET, V., FAURE, G., JIANG, M., LAMBEZAT, M., RADVANYI, F., SALIOU, B. Crotoxin, half-century of investigation on a phospholipase A₂ neurotoxin. **Acta. Physiol. Pharmacol. Latinoam.**, v. 39, p. 439-448, 1989.
- BOWMAN, R.H., MAACK, T. Glucose transport by the isolated perfused rat kidney. **Am. J. Physiol.**, v.222, n.6, p.1499-1504, 1972.
- _____. Effect of albumin concentration and ADH on H₂O and eletrolyte in perfused rat kidney. **Am. J. Physiol.**, v.226, n.2. p.426-430, 1974.
- BURDMANN, E. A., WORONIK, V., PRADO, E.B.A., ABDULKADER, R.C., SALDANHA, L.B., BARRETO, O.C.O., MARCONDES, M. Snakebite induced acute renal failure: an experimental model. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v,48, n.1, p.82-88, 1993.
- CARDI, B., NASCIMENTO, N., ROGERO, J.R., ANDRADE JR, H.F. Immunochemical detection of purified crotoxin from *Crotalus durrisus terrificus* venom in the motor end plate of striated muscle in CBA/j mice. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 25, p.905-908, 1992.
- CARDOSO, J.L.C., BELLUZO BRANDO, R. **Acidentes por animais peçonhentos**. São Paulo: Santos, 1982.
- CAVALCANTI, T.T.B. Acidente botrópico. **JBM.**, v.68, n.4, p.42-46, 1995.
- CHANG, C.C., TSENG, K.H. Effects of crotamine, a toxic of South American rattlesnake venom on the sodium channel of murine skeletal muscle. **Br. J. Pharmacol.**, v.63, p.551-559, 1979.
- COHEN, J.J., KOOK, Y.J. AND LITTLE, J.R. Substrate-limited function and metabolism of the isolated perfused rat kidney: Effects of Lactate and Glucose. **J. Physiol.**, v.226, p.103-21,1977.

- CUPO, P., AZEVEDO-MARQUES, M.M., HERING, S.E. Clinical and laboratory features of South American rattlesnake (*Crotalus durissus terrificus*) envenomation in children. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v.82, p.924-929, 1988.
- CUPO, P., AZEVEDO-MARQUES, M.M., HERING, S.E. Acute miocardial infarction-like enzymes profile in human victims of *Crotalus durissus terrificus* envenomation. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v.84, p.447-451, 1990.
- DA SILVA, O.A., LOPEZ, M., GODOY, P. Intensive case unit treatment of acute renal failure following snake bite. **Amer. J. Trop. Med. Hyg.**, v.28, p.401-407, 1979.
- DE LIMA, E.G., DA COSTA, P.I., LAURE, C.J. South American rattlesnake venom: its hemolytic power. **Rev. Braz. Med. Trop.**, v.22, n.4, p.171-175, 1989.
- DE MELLO, G., MAACK, T. Nephron function of isolated perfused rat kidney. **Am. J. Physiol.**, v.231, n.6, p.699-707, 1976.
- DIAS DA SILVA, W., GUIDOLIN, R., RAW, I., HIGASHI, M.G., GARICATI, C.P., MORAES, J.F., LIMA, M.L.R., YAMAGUCHI, I.K., MISHIKAWA, A.K., STEPHANO, M.A., MARCELINO, J.R., PINTO, J.R. Reatividade de antivenenos monovalentes contra venenos de dez serpentes do gênero *Bothrops*. **Rev. Soc. Braz. Toxicol.**, v.2, p.2, 1989.
- EPSTEIN, M. Calcium antagonists and the kidney: Future therapeutic perspective. **Am. J. Kidney. Dis.**, v.21, n.6, Supl. 31, p.16-25, 1993.
- FAURE, G., BON, C. Crotoxin-A phospholipase A₂ neurotoxin from the South of American rattlesnake *Crotalus durissus terrificus*: purification of several isoforms and comparison of their molecular structure and of their biological activities. **Biochemistry.**, v.27, p.730-738, 1988.
- FAURE, G., CHOUMET, V., BOUCHIER, C., CAMOIN, L., GUILLAURME, J., MONEGIER, B., VUILHORGNE, M., BON, C. The origin of the diversity of crotoxin isoforms in the venom of *Crotalus durissus terrificus*. **Eur. J. Biochem.**, v.223, p.161-164, 1994.
- FEITOSA, R.F.G. **Efeitos renais e pulmonares do veneno de cascavel (*Crotalus durissus cascavella*) em ratos. Estudos epidemiológicos dos acidentes ofídicos no Ceará.** Fortaleza, 1996. Dissertação (Mestrado). Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Ceará.

- FEITOSA, R.F.G., MELO, I.M.L.A., MONTEIRO, H.S.A. Epidemiologia dos acidentes por serpentes peçonhentas no Estado do Ceará - Brasil. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v.30, n.4, p. 295-301, 1997.
- FONTELES, M.C. **Efeitos do ácido 2-tetradecilglicídido no rim isolado: papel dos lipídios endógenos no transporte de sódio e função renal.** Fortaleza, 1980. Dissertação (Mestrado)-Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências da Saúde.
- FONTELES, M.C., LEIBACH, F. H. Glucose formation from glutathione in the isolated perfused rat kidney. **Arch. Int. Physiol. Biochim.** v. 90, p. 159-161, 1982.
- FONTELES, M.C., COHEN, J.J., BLACK, A.J., WERTHEIM, S.J. Support of renal kidney function by long-chain fatty acids derived from renal tissue. **Am. J. Physiol.**, v.244, p.235-246, 1983.
- FRANÇA, F.O.S., FAN, H.W. Acidente botrópico. In: SCHVARTSMAN, S. **Plantas venenosas e animais peçonhentos.** 2ed., São Paulo: Sarvier, 1982. p.149-160.
- GABOW, P.A., KAEHNY, W.D., KELLENER, S. P. The spectrum of rbdomyolysis. **Medicine**, v.61, p. 141-152, 1982.
- GUYTON, A.C., HALL, E.J. Formação de urina pelos rins: Filtração glomerular, fluxo sanguíneo renal e seu controle. In: _____ **Tratado de Fisiologia Médica.** 9.ed. Philadelphia: W.B.Saunders, 1997. Cap.26, p. 292-300.
- GANONG, W.F. Formation and secretion of urine. In: _____ **Review of medical physiology.** 17.ed. Norwalk: Appleton & Lange, 1995, cap.38. p.641-654.
- GIORGI, R. Antinociceptive activity of *Crotalus durissus terrificus* snake venom. In: SIMPÓSIO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TOXINOLOGIA, 4, 1996. Recife. **Programas e resumos....**p.100.
- GORDON, M. C., SAMUELS, P. Indomethacin. **Clin. Obstet. Gynecol.**, v.38, p.697-705, 1995.
- GREG, G.M., COHEN, J.J., BLACK, A.Y., ESPELAND, M.A., FELDSTAIN, M.C. Effects of glucose and insulin metabolism and function of perfused rat kidney. **Am. J. Physiol.**, v.235, p.52-61, 1978.

- GUALTIÉRI, V.B.F. Toxicologia dos venenos de ofidios brasileiros. **Rev. Homeopatic.**, v.174, p.33-39, 1987.
- GUIMARÃES, J.A., FONSECA NETO, M.D., ROUQUAYROL, M.Z., LIMA VERDE, J.S. **Acidentes ofídicos: Identifique- previna- trate.** Fortaleza: CEATOX, 1989.
- HABERMEHL, G.G., **Venomous animals and their toxins.** Berlim: Springer Verlag, 1991.
- HAMILTON, R. L., BENNY, N. M., WILLIAMS, M. C., SEVERIN-GHAUS, E. M. A. Simple and inexpensive membrane “lung” for small organ perfusion **J. Lipid. Res.**, v.15, p.182-186, 1974.
- HANSON, R. W., BALLARD, F. S. Citrate, pyruvate and lactate contaminants of comercial serum albumin. **J. Lipid. Res.**, v.9, p.667-668, 1968.
- HEREDIA, V, CAMPOS, S, YARLEQUÉ, A. Actividad de una 5' nucleotidase en el veneno de la serpiente *Bothrops atrox*. **Acta. Cient. Venez.**, v.33, p. 333-337, 1982.
- HOMSI-BRANDEBURGO, M. I., QUEIROZ, L. S., SANTOS NETO, H., RODRIGUES-SIMIONI, L., GIGLIO, J. R. Fractionation of *Bothrops jararacussu* snake venom: partial chemical characterization and biological activity of bothropstoxin. **Toxicon**, v.26, n.7, p.615, 1988.
- JORGE, M. T., RIBEIRO, L. A. Acidentes por serpentes peçonhentas do Brasil. **Rev. Assoc. Med. Brasil.**, v.36, n.2, p.66-77, 1990.
- JORGE, M. T., RIBEIRO, L. A. Epidemiologia e quadro clínico por cascavel sul-americana (*Crotalus durissus*). **Rev. Inst. Med.Trop. São Paulo.**, v.34, n.4, p. 347-354, 1992.
- KAMIGUTI, A. S., CARDOSO, J.L., MARUYAMA, M., SANO-MARTINS, I.S., MORENA, P., CHUDZINSKI, A. M., TOMY, S.C., ANTÔNIO, L.S., SANTOS, M.L., KELEN, E. M. A Studies on blood coagulation and fibrinolysis in patients bitten by *bothrops jararaca* snake In: Encontro Brasileiro da Hemostasia e Trombose, 5/ Jornada Brasileira de Hemofilia, 7., 1988. Florianópolis. p.14.
- KINI, R.M., EVANS, H.J. A model to explain the pharmacological effects of snake venom phospholipase A₂. **Toxicon**, v.27, n.6, p.613-635, 1989.

- KOEPPER, B.M., STANTON, B.A. **Renal physiology**. St Louis: Mosby, 1992, 22-23.
- LAURE, C.J. *Crotalus durissus terrificus* venom: crotoxin and inter-cro. **Mem. Inst. Butantan.**, v.52, supl., p.17-19, 1990.
- LEWIS, R.A.A., Presumptive role for leucotrienes in obstructive airways diseases. **Chest.**, v.88, p.987-1025, 1985.
- LIMA, E.G., COSTA, P.I., LAURE. J.C. South American rattlesnake venom: its hemolytic power. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v.22, n.4, p. 171-175, 1989.
- LITTLE, J.R., COHEN, J.J. Effect of albumin concentration of functional isolated perfused rat kidney. **Am. J. Physiol.**, v.226, n.3, p.512-7, 1974.
- LOPEZ, M., FOSCARINI, L.G., ALVARES, J.M., DINIZ FILHO, I., MARRA, V.D., PROCÓPIO, N.P.M.M. Tratamento intensivo das complicações do acidente ofídico. **Rev. Assoc. Med. Minas Gerais**, v.23, p.107-12, 1972.
- LOUTZENHISER, R., EPSTEIN, M. Calcium antagonists and the renal hemodynamic response to vasoconstrictors. **Ann. N.Y. Acad. Sci.**, v.522, p.771-784, 1988.
- MAGALHÃES, R., RIBEIRO, M.M.F., RESENDE. N., AMARAL, C.F.S. Rbdomiólise secundária a acidentes ofídicos crotálico (*Crotalus durissus terrificus*). **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**. v.28, p.228-233, 1986.
- MARLAS, G., JOSEPH, D., HUET, C. Isolation and electron microscope y studies of a potent plaquet agregatting glycoprotein from the venom of *Crotalus durissus cascavella*. **Biochimie.**, v.65, p.405-416, 1983.
- MARTINEZ-MALDONADO, M., STAWROULAKI-TSAPARA, A., TSAPARA, N., SUKI, W.N., EKNOYAN, G. Renal effects of lithium administration in rats: alteration in water and electrolyte metabolism and the response to vasopressin and cyclic-adenosine monophosphate during prolonged administration. **J. Lab. Clin. Med.**, v.80, n.3, p.445-61, 1978.
- MITTAL, B.V., KINARE, S.G., ACHARYA, V.N. Renal lesions following viper bites a study of 14 years. **Indian. J. Med. Res.**, v.83, p.642-651, 1986.

- MONTEIRO, H.S.A. **Efeitos nefrotóxicos do veneno de *Bothrops Jararaca* no rim perfundido de rato. Estudo de antagonistas do PAF e da indometacina.** Campinas, 1990. Tese (Doutorado)- Centro de Ciências da Saúde, Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP.
- MONTEIRO, H.S.A., SANTOS NETO, M.S., OLIVEIRA, AV., VIEIRA, A.A., RODRIGUES FILHO, F., FONTELES, M. C., MORAES, M. E. A. Alterações na função renal promovidas pela nifedipina. In: REUNIÃO ANUAL DA FEDERAÇÃO DE SOCIEDADES DE BIOLOGIA EXPERIMENTAL, 10, 1994, Caxambu. p.145.
- MORAES, M.E.A. **Perfusão de rim isolado de coelho: estudo comparativo de aminoglicosídeos.** Fortaleza, 1984. Dissertação (Mestrado)- Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Ceará.
- MOREIRA LIMA, A.A. **Estudos dos efeitos das toxinas do *V. cholerae* e *E. coli* no rim isolado de rato.** Fortaleza, 1983. Dissertação (Mestrado)- Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Ceará.
- MOSS, D.N., HENDERSON, A.R., KACHMAR, J. **Enzymes.** In: TIETZ, N.W. **Textbook of clinical chemistry.** London: W.B. Saunders, 1986. p.619-774.
- MURAYAMA, N., HAYASHI, M.A.F., OHI, H., FERREIRA, L.A.F., HERMANN, V.V., SAITO, H., FUJITA, Y., HIGUCHI, S., FERNANDES, B. L., YAMANE, T., CAMARGO, A.C.M. Cloning and sequence analysis of a *Bothrops jararaca* cDNA encoding a precursor of seven bradykinin-potentiating peptides and a C-type natriuretic peptide. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.**, v.94, p. 1189-1193, 1997.
- NANCY, G., AHLSTROM, M.D., LUGINBUHL, M.D.W., TISHER, M.D.C. Acute anuric renal failure after pigmy rattlesnake bite. **South. Med. J.**, v.84, n.6, p.783-785, 1991.
- NEUMAYER, H.H., GELLERT, J., LUFT, F.C. Calcium Antagonists and Renal Protection. **Ren. Fail.**, v.15, n.3, p. 353-358, 1993.
- NISHIITSUTJI-UWO, G.M., ROSS, B.D., KREBS, H.A. Metabolic activities of the isolated perfused rat kidney. **Biochem. J.**, v.103, p.852-862, 1967.
- PINHEIRO, H. N. **Efeitos da nifedipina e do PCA 4248, um antagonista do fator ativador de plaquetas, na nefrotoxicidade induzida por ciclosporina,** 1995. Tese (Mestrado)- Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências da Saúde.

- PIROTZKY, E., BIDAULT, J., BURTIN, C., GUBLER, M.C., BENVENISTE, J. Biosynthesis of platelet-activating factor and acetyltransferase activity in isolated rat kidney cells. **Lab. Invest.**, v.51, n.5, p.567-572, 1984.
- PITTS, R.F. Metabolism of aminoacids by the perfused rat kidney. **Am. J. Physiol.**, v.220, n.4, p.862-7, 1971.
- PRADO-FRANCESCHI, J., TAVARES, D.Q., HERTEL, R., ARAÚJO, A.L. Effects of convulxin a toxin from rattlesnake venom on rabbit plaquets. **Toxicon**, v.19, p.661, 1981.
- PRADO-FRANCESCHI, J. Convulxin: retrospective and perspectives. In: SIMPÓSIO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TOXINOLOGIA, 4, 1996, Recife. **Programas e Resumos...**p.98.
- _____. On the pharmacology of convulxin and gyroxin. **Mem. Inst. Butantan.**, v.52, suppl., p.25-26, 1990.
- RAAB, W., KAISER, E. Nephrotoxic action of snake venoms. **Mem. Inst. Butantan.**, v.33, p.1017-1020, 1966.
- RAW, J., ROCHA, M.C., STEVE, M.J., KAMIGUTI, A.S. Isolation and characterization of a thrombin- like enzyme from the venom of *Crotalus durissus terrificus*. **Braz. J. Med. Biol. Res.**,v.19, p 333-338, 1986.
- RIBEIRO, L.A., PIRES DE CAMPO, V.A.F., ALBUQUERQUE, M.J., TARAORA, N.Y. Acidente ofídico no Estado de São Paulo. **Rev. Ass. Med. Braz.**, v.39, n.1, p.4-7, 1993.
- ROSEMBERG, P. Pharmacology of phospholipase A₂ from snake venoms. In: LEE, C. Y.(Ed) **Snake venoms**. New York: Springer Verlag, 1979. p.11-12
- ROSENFELD, G. Symptomatology, pathology and treatment of snake bites in South America. In: BUCHERL, W., BUCKLEY, E. E., DEULOFEU, V. (Eds). **Venomous animals and their venoms.**, New York, Academic Press, 1968. v.2, p.345.
- ROSS, B. D., EPSTEIN, F. H., LEAF, A. Sodium reabsorption in the perfused rat kidney. **Am. J. Physiol.**, v.225, n.5, p.1165-1171, 1973.
- ROSS, B.D. The isolated perfused rat kidney. **Clin. Sci. Mol. Med.**, v.55, p.13-21, 1978.

- RUSSELL, F.E., DART, R.C. **Toxic effects of animal toxins**. In: Amdur, M. O., Doull, J., Klaassen, C.D. (Eds) *Toxicology: The basic science of poisons*. 4. Ed. New York: Mcgraw Hill, 1991. p.753-803.
- RUSSELL, F.E. **Snake venom poisoning**. New York: Schdium International Great, 1983.
- SANCHEZ, E.F., FREITAS, T.V., FERREIRA-ALVES, D.L., VELARDE, D.T., DINIZ, M.R., CORDEIRO, M.N., AGOSTINI-COTTA, G., DINIZ, C.R. Biological actives of venoms from South American snake. **Toxicon**, v.30, n.1, p.95-103, 1992.
- SANTOS, M.C., YAMAGUCHI I.K., CRICATTI, C.P, HIGASHI, H.G., SILVA, N. Immunization of equines with phospholipase A₂ protects against the letal effects of *C. d. terrificus* venom. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v.22, p.509-512, 1989.
- SCHEIMER, R. P. The effects of glucocorticoides on mast cells and basophilis. In: **Anti-inflammatory steroid action basic and clinical**. London: Academic Press, 1989.p. 226-248.
- SCHUREK, H.J. Albumin filtration and effective pressure in nephroons in the isolated perfused rat kidney In: INTERNATIONAL CONGRESS OF NEPHROLOGY, 7, 1978, Montreal. Proceedings...
- _____. Application of the isolated perfused rat kidney. **Contr. Nephrol.**, v.19, p.176-90,1980.
- SILVA, I.M.S.C. **Efeitos da peçonha da (*Crotalus durissus terrificus*) em rim isolado de rato**. Fortaleza, 1995. Dissertação (Mestrado)- Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Ceará.
- SIQUEIRA, J.E., HIGUCHI, M.L., NABUT, N., LOSE, A., SOUZA, J.K., NAKASHIMA, M. Lesão miocárdica em acidentes ofídicos pela espécie *Crotalus durissus terrificus* (cascavel). Relato de caso. **Arq. Bras. Cardiol.**, v.54, p.323-325, 1990.
- SOERENSEN, B. **Animais peçonhentos**. São Paulo: Atheneu, 1990. cap.19. p.138.
- SOUZA-FILHO, M.C., GUARNIERE-CRUZ, Y., MURATA, Y., ROGEO, J. R. Detoxification of the crotoxin complex by gamma radiation. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v.25, p.103-113, 1992.

- SUMMER, J.B, ALBERT, D.H. Platelet activating factor antagonists. **Adv. Pharmacol.**, v.12, p.167-168, 1995.
- TANIZAKI, M.M., OLIVEIRA, E.P., MANDELBAUM, F.R. Purification and specificity of a protein inhibitor isolated from the plasma of *Bothrops jararaca*. **Arq. Biol. Tecnol.**, v.32, n.1, p.146, 1989.
- TANUS, M.J., RIBEIRO, L.A. Acidentes por serpentes peçonhentas do Brasil, **Rev. Assoc. Med. Braz.**, v.36, n.2, p.66-76, 1990.
- THOMAZINI, I.A., IUAN, F.C., CARVALHO, L., HERNANDES, D., AMARAL, I.F., PEREIRA, P.M.C., BARRAVIERA, B. Evaluation of platelet function of serum fibrinogen levels in patients bitten by snakes of the genus *Crotalus*. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v.33, p. 219-220, 1991.
- TRIMBLE, M.E, BOWMAN, R.H. Renal Na⁺ and K⁺ transport: effects of glucose, pelmitate and alfa-bromopalmitate. **Am. J. Physiol.**, v.225, n.5, p. 771-784, 1973.
- UMANÃ, V. Purificación y separación de isoenzimas de L-aminoácido oxidasa del veneno de *Bothrops asper*. **Rev. Biol. Trop.**, v.30, n.1, p.59-64, 1982.
- VANDER, A.J. **Renal physiology**. 5.ed. New york: Mcgraw-Hill, 1995. p.7-8.
- VILLARROEL, M.S., ROSA, R.R., ZELANTE, W., PIOTO, H.M. Verificação da atividade tóxica de venenos crotálicos e da capacidade neutralizante dos antivenenos específicos em camundongos. **Mem. Inst. Butantan.**, v.45, p.271-279, 1981.
- VITAL BRAZIL, O. Peçonhas. In: CORBETT, C. E. **Farmacodinâmica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1982. cap. 71, p. 1044-1074.
- _____. Pharmacology of coral snake venoms. **Mem. Inst. Butantan**, v.52 supl., p.31-32, 1990.
- _____. Os venenos ofídicos neurotóxicos. **Rev. Ass. Med. Braz.**, v. 26, p.212-218, 1980.
- WALSON, M., DAVIDSON. D.G., ORLOFF. J. The renal clearance of alkali- stable inulin. **J. Clin. Invest.**, v.34, p.1520-1523, 1955.
- WARRELL, D.A. **Snakes**. In: STRICKLAND, G.T. **Tropical medicine**. 7.ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1991. p. 877-888.

WEISS, J. autoregulation of flow in isolated rat kidney in the absence of red cells. **Am. J. Physiol.**, v.195, n.5, p1115-1118, 1959.

YOKOYAMA, S, KABURAGI, T. Clinical effects of intravenous nifedipine on renal function. **J. Cardiovasc. Pharmacol.**,v. 5, p.67-71, 1983.