



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA E FARMACOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA

RANIERI SALES DE SOUZA SANTOS

BIOMARCADORES ENDOTELIAIS E DE COAGULAÇÃO EM
ENVENENAMENTO BOTRÓPICO

FORTALEZA

2024

RANIERI SALES DE SOUZA SANTOS

BIOMARCADORES ENDOTELIAIS E DE COAGULAÇÃO EM ENVENENAMENTO
BOTRÓPICO

Dissertação apresentada à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito total para obtenção do título de mestre em Farmacologia. Linha de pesquisa: Toxinas, venenos e peptídeos biologicamente ativos.

Orientadora: Profa. Dra. Alice Maria Costa Martins.

Coorientadora: Profa. Dra. Polianna Lemos Moura Moreira Albuquerque.

FORTALEZA

2024

FICHA CATALOGRÁFICA

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- S238b Santos, Ranieri Sales de Souza.
Biomarcadores endoteliais e de coagulação em envenenamento botrópico / Ranieri Sales de Souza Santos. –
2024.
75 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-
Graduação em Farmacologia, Fortaleza, 2024.
Orientação: Profa. Dra. Alice Maria Costa Martins.
Coorientação: Profa. Dra. Polianna Lemos Moura Moreira Albuquerque.
1. Bothrops. 2. Envenenamento. 3. Coagulação. 4. Biomarcadores. I. Título.

CDD 615.1

RANIERI SALES DE SOUZA SANTOS

BIOMARCADORES ENDOTELIAIS E DE COAGULAÇÃO EM ENVENENAMENTO
BOTRÓPICO

Dissertação apresentada à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito total para obtenção do título de mestre em Farmacologia.

Aprovado em: ___/___/___

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Alice Maria Costa Martins (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Profa. Dra. Roberta Jeane Bezerra Jorge
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Profa. Dra. Carla Freire Celedonio Fernandes
Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ)

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer a Deus pela sua infinita misericórdia, paixão, amor, bondade e luz comigo, por me compreender em meus piores momentos e principalmente, por nunca me desamparar, mesmo quando eu poderia achar que Ele tinha feito isso. Toda honra e toda Glória a Ele, gratidão por tudo.

A minha avó e mãe Maria, meu anjo no céu, sem você não seria nada do que sou hoje, você me criou sempre, principalmente quando a mãe precisou fazer faculdade fora e ficamos algum tempo afastados, você sempre foi minha fortaleza, minha luz, minha vida e hoje brilha como uma estrela linda no céu e ao lado do criador, gratidão por tudo, te amo eternamente.

A minha mãe Francineide, você é e sempre foi minha vida, minha fortaleza, minha guerreira, minha heroína, sou grato por tudo que você sacrificou e lutou por mim, para me criar “sozinha”, para ser pai e mãe ao mesmo tempo, principalmente nos momentos mais difíceis que nós passamos, hoje vejo que vencemos mais uma etapa e vencemos juntos, você é meu tudo, sem você não existo, gratidão por tudo, te amo eternamente.

Meu tio Francisco Degor, porém, mais conhecido como Maninho, você foi sempre um pai quando eu nunca tive um de verdade, sempre me apoiou e me ajudou como podia, gratidão por tudo, você é luz e conte comigo sempre para o que precisar.

A Mazé Brauna, minha terceira mãe, que me criou desde quando eu tinha 2 anos e poucos meses, sou grato a Deus pela sua vida, são mais de 20 anos de convivência, gratidão por tudo, você sempre será uma das minhas mães.

A toda minha família, principalmente minhas tias Lúcia, Socorro e Fátima, todas vocês são como se fossem minhas mães também, gratidão por tudo que vocês fizeram, fazem ou farão por mim, vocês são luzes, amo vocês eternamente.

A meu amor que desde 2018 me atura ou surta comigo, José Danrley, gratidão pela presença, convivência e paciência, mas principalmente por me apoiar nos meus momentos de incertezas, dúvidas, medo e tantos outros que tive durante esses anos. Gratidão por me ajudar a levantar muitas vezes, espero que nosso amor dure tanto quanto as estrelas duram no céu, te amo.

A minha outra mãe e orientadora que encontrei ao decorrer desse processo, a Profa. Alice Martins, tens sido mais que uma orientadora, mas também uma grande amiga e mãe, gratidão por todos os ensinamentos, momentos e trocas de experiência, jamais irei esquecer, mas principalmente, gratidão por acreditar em mim, mesmo quando eu mesmo não acreditava, a senhora é luz, e é uma das melhores orientadoras que alguém poderia merecer.

A minha coorientadora, Dra. Polianna Lemos, uma médica incrível que conheci ao decorrer dessa trajetória, e que também acreditou bastante em mim, mesmo quando também não conseguia acreditar, minha eterna gratidão, a senhora é luz.

A Sandra Brasileiro e toda equipe do CIATOX do IJF, foi um prazer imenso conhecer vocês durante essa trajetória, e saber que temos pessoas incríveis trabalhando nesses locais e que também são luzes, minha eterna gratidão.

Ao meu líder e mentor no laboratório, Gdayllon Cavalcante, gratidão pelas trocas de experiências, saídas, e por tudo que me ensinou ao decorrer desse processo, jamais esquecerei de nada, gratidão.

Ao meu quarteto no laboratório, Paula, Saskya e Nicole, a partir do momento que conheci vocês, soube que podia contar para o resto da vida com vocês, pessoas incríveis e jamais esquecerei nossos experimentos juntos, de todos os sufocos, força, paciência, e acima de tudo perseverança de que esse dia chegaria, e de que tudo daria sempre certo no final, gratidão, vocês são luzes.

A duas pessoas incríveis que também conheci ao decorrer desse processo, mas que tivemos pouco tempo de convívio, Letícia e Bruna, gratidão por tudo, vocês são luzes e tem uma carreira incrível pela frente.

Aos meus amigos, professores (as) e mentores do Laboratório de Bioprospecção Farmacêutica e Bioquímica Clínica (LBFBC) que encontrei e reencontrei nessa trajetória, como Danya, Emanuel, Gabi, Erlânia, Lili, Lyanna, Mac, Mateus, Yasmin, Brenna, Igor, Manoela, Mariana, Pedro, profs. Izabel Bandeira, Tiago Sampaio e Ramon Bezerra, gratidão por toda ajuda, conhecimento e trocas de experiências repassadas, vocês são luzes.

Aos meus amados professores, amigos e mentores, Cinara Vidal, Carla Patrícia, Karla Bruna, Isabel Cristina, Leina Mercia, Donato Mileno, Rogério Nunes, Jamille Cabral e Alessandra Vieira, vocês são incríveis, admiro demais todos, gratidão por todo apoio, vocês são luzes.

Ao Departamento de Farmacologia, por todo convívio e trocas de experiências durante os dois anos que fui representante discente, mas principalmente as secretárias Laura e Milena, vocês são incríveis, são luzes.

Aos membros da minha banca de defesa, vocês são inspirações para mim e para todos os futuros pesquisadores, somente gratidão pelo aceite e por tudo, vocês são luzes.

Aos pacientes que participaram da nossa pesquisa, gratidão pelo aceite, e por nos proporcionar esse trabalho brilhante.

E por último, mas não menos importante, as agências de fomento, CNPq e CAPES, pelo apoio financeiro, e por acreditar que a pesquisa no Brasil vale a pena.

Enfim, gratidão a todos que me fizeram ser quem eu sou hoje, que me ajudaram de forma direta ou indiretamente, minha gratidão eterna a todos, que sejamos luz!

DEDICATÓRIA

Que possamos ser luz nas nossas vidas e nas vidas do próximo.

RESUMO

O acidente ofídico é uma preocupação de saúde pública subestimada em todo o mundo. Atinge cerca de 5,4 milhões de pessoas, resultando em 1,8 a 2,7 milhões de adoecimentos e, aproximadamente, 81.410 a 137.880 mortes. As serpentes da família Viperidae são as de maior interesse médico no Brasil, ocasionando os acidentes botrópicos. O gênero *Bothrops* sp. é responsável por mais de 70% dos casos de acidentes ofídicos notificados anualmente no Brasil. Este estudo investigou a associação entre distúrbios de coagulação e disfunção endotelial em pacientes após envenenamento botrópico, através dos biomarcadores angiopoietina-1, angiopoietina-2, sindecano-1, VCAM-1, IL-33 e VWF-A2. Foi conduzido como um estudo de coorte prospectivo e unicêntrico, analisando três coletas em diferentes intervalos de tempo (0-8, 12-16 e 24-28 horas) de 34 pacientes admitidos em um serviço de emergência devido a mordeduras de serpentes *Bothrops erythromelas*. O estudo foi realizado com pacientes atendidos no CIATOX do Instituto Doutor José Frota, hospital de referência em atendimentos de emergência toxicológica, Fortaleza-CE. O envenenamento ocorreu principalmente em pessoas do gênero masculino, com uma idade média de $46,3 \pm 14,5$ anos. Cerca de 80% dos pacientes apresentaram incoagulabilidade sanguínea. Na primeira coleta, não houve diferenças nos parâmetros de plaquetas, leucócitos, hemoglobina, hematócrito, eritrócitos, glicose, sódio, potássio, cálcio e cloreto entre os pacientes com e sem sangramento. Na segunda coleta, foi observada uma diminuição no hematócrito e na quantidade de hemácias nos pacientes que apresentaram sangramento. Na terceira coleta, os pacientes com sangramento registraram menores quantidades de hemoglobina, hematócrito e hemácias em comparação com aqueles sem sangramento. Entre 12 e 16 horas após a mordedura de serpente, os pacientes que sangraram apresentaram níveis séricos mais altos de syndecan-1 e níveis mais baixos de IL-33 em comparação com aqueles que não sangraram. Essas diferenças diminuíram após 24 horas da mordedura, sem observar diferenças significativas nos biomarcadores não convencionais VWFA2, syndecan-1 e IL-33. A IL-33 mostrou um aumento entre a primeira e a segunda coleta, mas não foi significativo. O fator de Von Willebrand teve uma redução seguida por um aumento entre as coletas, não sendo estatisticamente significativo, mas indicando uma queda inicial seguida de uma tentativa de normalização. As novas biomoléculas são importantes para o diagnóstico do envenenamento por serpentes *Bothrops erythromelas*. O grupo com sangramento mostrou níveis significativos de biomarcadores angiopoietina-1, angiopoietina-2, IL-33 e vWFA2, relacionados com os exames de hemoglobina, hematócrito, eritrócito e coagulopatia induzida pelo veneno da *Bothrops*. Finalmente, biomarcadores angiopoietina-1, angiopoietina-2 e VWF-A2 apresentam potencial para serem usados no diagnóstico precoce de alterações na coagulação, podendo contribuir em intervenções terapêuticas e clínicas relacionadas ao envenenamento por serpentes do gênero *Bothrops erythromelas*.

Palavras-chave: Bothrops. Envenenamento. Coagulação. Biomarcadores.

ABSTRACT

ENDOTHELIAL AND COAGULATION BIOMARKERS IN BOTROPIC ENVENOMATION

Ophidian accidents are an underestimated public health concern worldwide. It affects around 5.4 million people, resulting in 1.8 to 2.7 million illnesses and approximately 81,410 to 137,880 deaths. Snakes from the Viperidae family are the ones of greatest medical interest in Brazil, causing botropic accidents. The genus *Bothrops* sp. is responsible for more than 70% of the cases of snakebite accidents reported annually in Brazil. This study investigated the association between coagulation disorders and endothelial dysfunction in patients after botropic envenomation, using the biomarkers angiopoietin-1, angiopoietin-2, syndecan-1, VCAM-1, IL-33 and VWF-A2. It was conducted as a prospective, single-center cohort study, analyzing three collections at different time intervals (0-8, 12-16 and 24-28 hours) from 34 patients admitted to an emergency department due to *Bothrops erythromelas* snake bites. The study was carried out with patients treated at CIATOX at the Instituto Doutor José Frota, a renowned hospital for emergency toxicology care in Fortaleza-CE. Poisoning occurred mainly in the male population, at an average age of 46.3 ± 14.5 years. Around 80% of the patients had blood incoagulability. In the first sampling, there were no differences in the parameters of platelets, leukocytes, hemoglobin, hematocrit, erythrocytes, glucose, sodium, potassium, calcium and chloride between the patients with and without bleeding. In the second sampling, a decrease in hematocrit and red blood cell count was observed in the patients with bleeding. In the third collection, patients with bleeding had lower hemoglobin, hematocrit and red blood cell counts compared to those without bleeding. Between 12 and 16 hours after the snakebite, patients who bled had higher serum levels of syndecan-1 and lower levels of IL-33 compared to those who did not bleed. These differences decreased 24 hours after the bite, with no significant differences in the non-conventional biomarkers VWFA2, syndecan-1 and IL-33. IL-33 showed an increase between the first and second sampling, but it was not significant. Von Willebrand factor showed a reduction followed by an increase between samples, which was not statistically significant, but indicated an initial drop followed by an attempt to normalize. The new biomolecules are important for diagnosing *Bothrops erythromelas* snake envenomation. The bleeding group showed significant levels of angiopoietin-1, angiopoietin-2, IL-33 and vWFA2 biomarkers, related to hemoglobin, hematocrit, erythrocyte and *Bothrops* venom-induced coagulopathy tests. Finally, the biomarkers angiopoietin-1, angiopoietin-2 and VWF-A2 have the potential to be used in the early diagnosis of coagulation alterations and could contribute to therapeutic and clinical interventions related to *Bothrops erythromelas* snake envenomation.

Keywords: *Bothrops*. Envenomation. Coagulation. Biomarkers.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Número de acidentes relacionados à taxa de letalidade e o tempo entre a picada e o atendimento médico, Ceará, 2018-2022.	16
Figura 2 – Distribuição Espacial dos acidentes por <i>Bothrops</i> sp., (Jararaca) no estado do Ceará, 2012 a 2022*.	18
Figura 3 – Representação do glicocálix	21
Figura 4 – Integrinas	23
Figura 5 – Representação esquemática da estrutura tridimensional das angiopoietinas.	25
Figura 6 – Domínios do VWF-A2 e suas interações.	26
Figura 7 – Representação esquemática da estrutura tridimensional do fator de von Willebrand.	27
Figura 8 – Representação esquemática dos domínios da IL-33.	27
Figura 9 – Representação esquemática da estrutura tridimensional da IL-33.	28
Figura 10 – Representação esquemática da estrutura tridimensional do VCAM-1.	30
Figura 11 – Estrutura espacial dos syndecanos	31
Figura 12 - Coleta e processamento de amostras sangue para o estudo dos novos biomarcadores.	40
Figura 13 – Fluxograma da sequência metodológica da análise estatística.	42
Figura 14 – Desenho da pesquisa de acordo com a classificação do paciente.	45
Figura 15. Níveis de angiopoietina-1 entre 12-28h antes e após a administração do antiveneno.	52
Figura 16. Níveis de angiopoietina-2 entre 12-16h antes e após a administração do antiveneno.	53
Figura 17. Níveis de fator de von Willebrand (VWF-A2) entre 12-16h antes e após a administração do antiveneno.	54
Figura 18 – Resumo geral dos achados dos biomarcadores no estudo.	57

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Principais serpentes do gênero <i>Bothrops</i> sp., nomes populares e distribuição geográfica.	17
Tabela 2. Classificação de acidente botrópico, manifestação clínica e tratamento farmacológico.	20
Tabela 3 – Valores de referência de TAP e TTPa.	36
Tabela 4. Características demográficas e parâmetros laboratoriais de pacientes com envenenamento botrópico e comparações, segundo sintoma de sangramento.	43
Tabela 5 – Níveis de biomarcadores endoteliais de pacientes com envenenamento botrópico e comparações de acordo com sintoma de sangramento.	47
Tabela 6 – Comparação pareada entre os períodos de acordo com o uso do antiveneno dos níveis de biomarcadores endoteliais em pacientes com ou sem sintoma hemorrágico.	48

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	15
1.1 Aspectos epidemiológicos do envenenamento por serpentes.....	15
1.2 Gênero Bothrops sp.....	16
1.3 Veneno de serpentes do gênero Bothrops sp.....	18
1.4 Manifestações clínicas do envenenamento botrópico.....	19
1.5 Biomoléculas endoteliais e de coagulação.....	21
1.5.1 Endotélio e glicocálix.....	21
1.5.1.1 Molécula de Adesão Celular (CAM).....	22
1.5.2 Angiopietina-1 (ANG-1) e Angiopietina-2 (ANG-2)	23
1.5.3 Fator de Von Willebrand (VWF-A2)	24
1.5.4 Interleucina 33 (IL-33)	26
1.5.5 Molécula de Adesão Vascular-1 (VCAM-1)	27
1.5.6 Sindecano-1: Papel Crucial na Interação Molecular e Regulação Fisiológica.....	28
2 JUSTIFICATIVA.....	31
3 OBJETIVOS.....	33
3.1 OBJETIVO GERAL.....	33
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	33
4 METODOLOGIA.....	35
4.1 Tipo de Estudo.....	35
4.2 Local do Estudo.....	35
4.3 População do Estudo.....	35
4.3.1 Critérios de inclusão.....	35
4.3.2 Critérios de exclusão.....	35
4.4 Coleta de informações epidemiológicas.....	36
4.5 Coleta dos parâmetros laboratoriais.....	36
4.6 Coleta e processamento das amostras biológicas.....	37
4.7 Biomoléculas analisadas.....	38
4.8 Dosagem das biomoléculas através da técnica de ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)	38
4.9 Análise Estatística.....	39
4.10 Aspectos Éticos.....	40
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	42

6 LIMITAÇÕES DO ESTUDO.....	55
7 CONCLUSÃO.....	57
8 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	59
REFERÊNCIAS.....	61

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

1.1 Aspectos epidemiológicos do envenenamento por serpentes

Globalmente, os acidentes ofídicos acometem cerca de 5,4 milhões de pessoas, resultando em 1,8 a 2,7 milhões de adoecimentos e, aproximadamente, 81.410 a 137.880 mortes (WHO, 2023). Em países tropicais e subtropicais, onde as condições climáticas e ambientais favorecem a adaptação de diferentes espécies de serpentes, esses acidentes representa um problema de saúde pública, visto que são os mais frequentes e ocasionam um grande número de sequelas e óbitos, além de afetarem as questões sociais e econômicas (Mise; Lira-da-Silva; Carvalho, 2007; Mendonça-da-Silva et al., 2017; WHO, 2023). Devido a isso, a Organização Mundial da Saúde (OMS), em 2009, incluiu o ofidismo na lista de Doenças Tropicais Negligenciadas (DTN) (WHO, 2014).

No Brasil, as informações e/ou notificações em relação aos envenenamentos por animais peçonhentos são coletados através de alguns sistemas, como o Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN) e o Sistema Nacional de Informações Tóxico-Farmacológicas da Fundação Oswaldo Cruz (SINITOX/FIOCRUZ/MS), sendo os primeiros acometimentos notificados a partir do ano de 2001, porém, mesmo com a existência de diversos sistemas de notificação, ainda há subnotificação, seja por falta de recursos, assistência ou distância dos respectivos centros de informação (Leite et al., 2017).

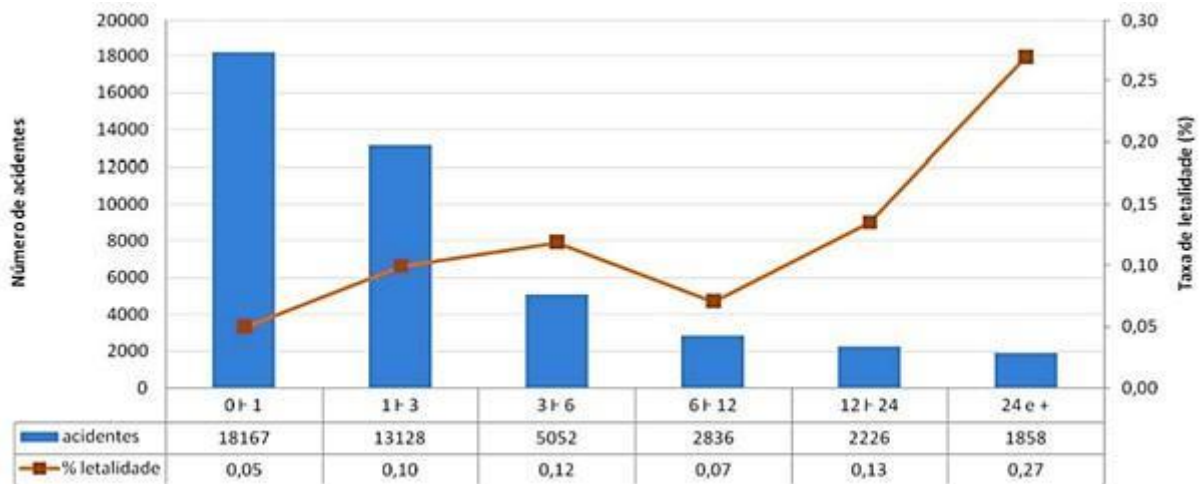
Mesmo diante deste cenário, em 2021, 257.073 acidentes por animais peçonhentos foram registrados no Brasil e, destes, 31.354 foram ocasionados por serpentes, representando 12,2% das notificações e sendo o segundo mais comum (SESA 2023). O Ceará no período de 2012 a 2022, registrou um total de 66.714 casos de acidentes por animais peçonhentos, dos quais 9.061 (13,58%) foram atribuídos a mordidas de serpentes.

De acordo com o SINAN, no ano de 2022, os envenenamentos ofídicos representaram aproximadamente 10,6% do total de acidentes no Ceará. Em relação a faixa etária, a maior incidência dos acidentes ocorreu com pessoas entre 15 e 59 anos de idade; enquanto 54,8% destes ocorreram em indivíduos do sexo masculino. Quanto à escolaridade, 54,8% das vítimas tinham ensino fundamental incompleto, ou ensino médio completo, o que pode caracterizar populações de baixa renda (Brasil, 2022).

Conforme dados do SINAN, sobre a distribuição dos acidentes e óbitos por ofidismo, no Brasil, a taxa de letalidade do ofidismo botrópico é de 0,33% no ano de 2022. Isso significa que, em média, 0,33% dos casos de picadas de serpentes botrópicas resultam em óbito

(Ministério da Saúde, 2023). Abaixo está apresentado o número de acidentes relacionados à taxa de letalidade e ao tempo decorrido entre a picada e o atendimento médico (figura 1).

Figura 1 – Número de acidentes relacionados à taxa de letalidade e o tempo entre a picada e o atendimento médico, Ceará, 2018-2022.



Fonte: COVEP/CEVEP/SINANNET (2022).

Em relação ao tempo entre a picada e o atendimento médico dos indivíduos, a maior parte dos atendimentos foi realizada em até 3 horas pós-acidente, o que reduz consideravelmente as chances de um prognóstico do paciente, bem como a letalidade. Nesse grupo de pacientes, a taxa de letalidade foi de 0,15%, enquanto em pacientes atendidos após 24 horas, a taxa foi de 0,27%.

As serpentes peçonhentas das famílias Viperidae e Elapidae são as de maior interesse médico, ocasionando os acidentes botrópico (serpentes dos gêneros *Bothrops* e *Bothrocophias* - jararaca), crotálico (serpentes do gênero *Crotalus* - cascavel), elapídico (serpentes dos gêneros *Micrurus* e *Leptomicrurus* – coral-verdadeira) e laquético (serpentes do gênero *Lachesis* - surucucu-pico-de-jaca) (Costa et al., 2021).

1.2 Gênero *Bothrops* sp.

No Brasil, o gênero *Bothrops* sp. é responsável por mais de 70% dos acidentes ofídicos e abrange espécies *Bothrops atrox*, *Bothrops brasili*, *Bothrops jararacussu*, *Bothrops jararaca*, *Bothrops leucurus*, *Bothrops marajoensis*, *Bothrops moojeni*, *Bothrops muriciensis*, *Bothrops erythromelas* e *Bothrops lutzi* (Costa e Bernils, 2018).

Desde 2017, o acidente ofídico, conhecido como ofidismo, foi incluído entre as 20 doenças tropicais negligenciadas (DTNs), e um plano estratégico foi formulado visando à redução de mortes em 50% até 2030, de acordo com a meta estabelecida pela Organização Mundial da Saúde (OMS). Essa lista também abrange outras enfermidades comuns no Brasil e em outros países de baixa renda ou em desenvolvimento, como a doença de Chagas, dengue e chikungunya, as quais, embora preveníveis, ainda provocam óbitos ou sequelas (Instituto Butantan, 2023).

Tabela 1 – Principais serpentes do gênero *Bothrops* sp., nomes populares e distribuição geográfica no Brasil

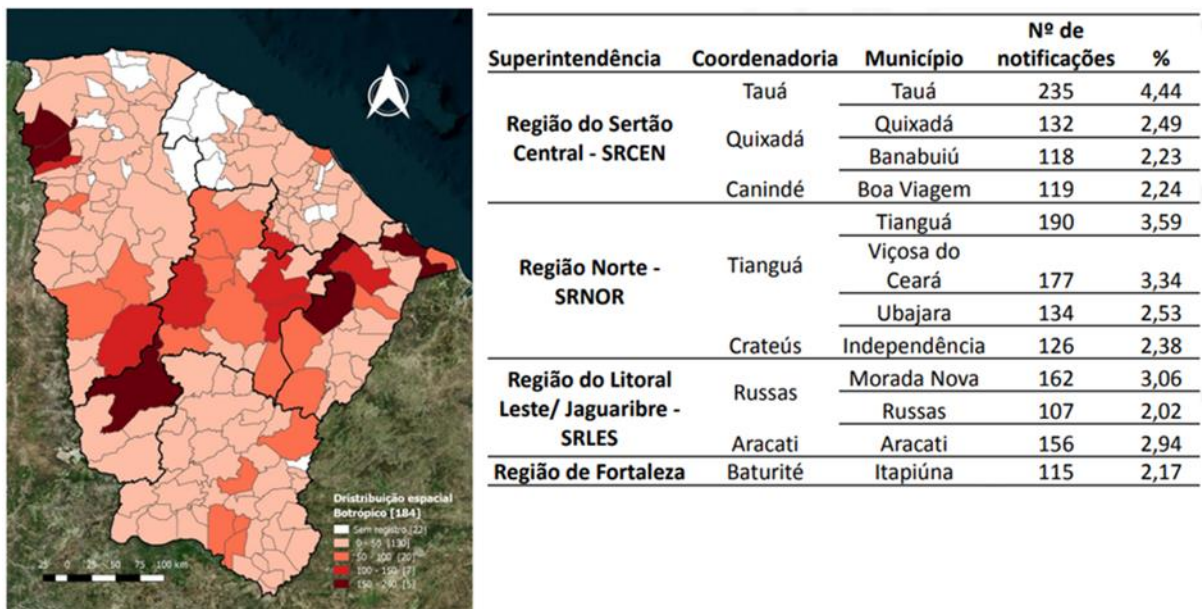
NOME CIENTÍFICO	NOME POPULAR	DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA
<i>B. alternatus</i>	Urutu, urutu-cruzeira ou cruzeira	Sul, Sudeste, Centro-Oeste
<i>B. atrox</i>	Surucucurana, jararaca-do-norte, combóia ou jararaca-do-rabo-branco	Norte, Nordeste, Centro-Oeste
<i>B. erythromelas</i>	Jararaca-da-seca	Nordeste e Sudeste
<i>B. jararaca</i>	Jararaca ou jararaca-do-rabo-branco	Sul, Sudeste, Nordeste
<i>B. jararacuçu</i>	Jararacuçu	Sul, Sudeste, Nordeste, Centro-Oeste
<i>B. leucurus</i>	Jararaca-Malha-de-sapo	Nordeste
<i>B. moojeni</i>	Jararacão, jararaca ou caíçara	Nordeste, Norte, Centro-Oeste, Sudeste, Sul
<i>B. neuwiedi</i>	Jararaca-pintada	Todo o país, exceto Amazônia

Fonte: Adaptado de Nota Técnica nº 14/2021, CIATOX-PR, 2022.

Bothrops erythromelas, conhecida popularmente como "jararaca-da-seca", foi identificada como a principal causadora de acidentes ofídicos no Nordeste do Brasil. Essa espécie é comumente encontrada na região da Caatinga, predominantemente nos estados de Alagoas, Bahia, Ceará, Maranhão, Minas Gerais, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Rio Grande do Norte e Sergipe (Albuquerque et al., 2020). No entanto, *B. erythromelas* também pode ser distribuída em ambientes áridos e semiáridos que circundam florestas tropicais secas e decíduas, além de áreas rochosas, vegetação rasteira de bromélias terrestres e margens de rios (Lira-da-Silva et al., 2009; Albuquerque et al., 2020).

A distribuição geográfica das espécies de serpentes é atribuída a fatores ecológicos, de evolução, climáticos e capacidade de distribuição em outras regiões do país (Giannini et al., 2012). No Ceará, dentre os 9.061 casos de acidentes ofídicos registrados 2012 a 2022, 5.291 (58,39%) foram atribuídos ao gênero *Bothrops* ssp. (Jararaca), distribuídos em 162 (88%) dos 184 municípios existentes. Os municípios com o maior número de notificações por *Bothrops* ssp. (Jararaca) foram Tauá, com 235 casos (4,44%), e Viçosa do Ceará, com 177 casos (3,34%). Esses municípios estão localizados nas superintendências do Sertão Central e Norte, respectivamente (Figura 2).

Figura 2 – Distribuição Espacial dos acidentes por *Bothrops* sp., (Jararaca) no estado do Ceará, 2012 a 2022*.



Fonte: SESA/CEVEP/COVAT/SINAN.

1.3 Veneno de serpentes do gênero *Bothrops* sp.

O veneno de serpente é uma complexa mistura de componentes, compreendendo uma variedade de moléculas biologicamente ativas, principalmente peptídeos e proteínas, que representam mais de 95% do peso seco do veneno de serpente. Os outros 5% consistem em lipídios, carboidratos e aminas biogênicas (Tasoulis e Isbister, 2017).

As proteínas desempenham diversas funções, auxiliando na captura e digestão das presas após o envenenamento. Essas proteínas também interagem de maneira específica e altamente receptiva com estruturas-alvo, como enzimas, receptores ou canais iônicos,

desencadeando respostas específicas (Casewell et al., 2013; Estevão-Costa et al., 2018; Oliveira et al, 2022).

A composição do veneno de serpente pode ser categorizada em dois grupos distintos, moléculas enzimáticas e não enzimáticas. Entre as moléculas enzimáticas mais comuns e abundantes encontradas no veneno de serpente estão as fosfolipases A2 (PLA₂), as metaloproteinases (SVMP), as serino proteases (SVSP) e as L-aminoácido oxidases (LAAO) (Bedraoui et al., 2024). O segundo grupo é composto pelas moléculas não enzimáticas, tais como as neurotoxinas, as cardiotoxinas, e as citotoxinas (Bocian e Hus, 2020).

Baudou e colaboradores (2021) estudaram o proteoma dos venenos de 3 espécies de *Bothrops* da América do Sul e identificaram uma grande quantidade de SVMP, 3-FTxs e fosfolipases A2 (PLA₂). Além desses, o veneno também pode conter nucleotidases (SVNP), fatores de crescimento do nervo (VNGF), peptídeos natriuréticos tipo C (CTNP), fatores de crescimento endotelial vascular (VEGF), proteínas secretoras ricas em cisteína (CRISP), crotaminas (CTM), fosfodiesterases (PDE), L-aminoácido oxidases (LAAO), lectinas tipo C (CTL), lectinas semelhantes ao tipo C (CTLL), inibidores de serina protease do tipo Kunitz (KUN), proteínas semelhantes à ohanina (OHA), lipases ácidas lisossomais A (LIP), hialuronidases (HYALU), ecto-5'-nucleotidases (ECTON) e glutaminil ciclases (GLUTCYC).

O veneno de *B. erythromelas* é predominantemente composto por SVMPs, PLA₂, SVSPs, CTL, peptídeos potencializadores de bradicinina (BPP) e desintegrinas (Jorge et al., 2015). Embora não demonstre atividade semelhante à trombina devido ao seu potencial fibrinogenolítico, contém toxinas com significativo potencial de ativação da protrombina. A toxina beritrativase, responsável por essa ativação, foi isolada e caracterizada. Adicionalmente, a PLA₂ Asp49 atua como inibidora da função plaquetária (Silva et al., 2003; Cavalcante et al., 2022).

1.4 Manifestações clínicas do envenenamento botrópico

O acidente botrópico caracteriza-se por manifestações clínicas locais e sistêmicas. As manifestações locais incluem edema, dor, podendo surgir bolhas com conteúdo hemorrágico, necrótico ou seroso. Em relação às manifestações sistêmicas podem ser vistas hematúrias, púrpuras e sangramento moderado, podendo evoluir para hemorragias intensas, choque e insuficiência renal nos casos graves (Oliveira, 2014).

A letalidade do acidente botropico pode está associada com os efeitos sinérgicos entre os fatores pró-hemorrágicos, anticoagulantes, e o efeito hipotensor, levando o paciente a um quadro intenso de hemorragia que pode levar a óbito (Mota et al., 2021).

Em relação à classificação da gravidade dos acidentes ofídicos, o critério de classificação utilizado é o do Ministério da Saúde do Brasil, que se baseia em manifestações clínicas e sistêmicas (tabela 2).

Tabela 2. Classificação de acidente botrópico, manifestação clínica e tratamento farmacológico.

Manifestação clínica e Tratamento farmacológico	Leve	Moderado	Grave
Edema, dor e equimose (Locais)*	Ausentes ou discretas 1 segmento	Evidentes 2 segmentos	Intensas 3 segmentos
Choque, hemorragias e anúria (Sistêmicas)	Ausente	Ausente	Presente
Tempo de coagulação	Normal ou alterado	Normal ou alterado	Normal ou alterado
Soroterapia Via Intravenosa	2-4 ampolas	4-8 ampolas	12 ampolas

Fonte: Brasil, Ministério da saúde.

Os efeitos locais geralmente incluem dor, inchaço, sangramento local e inflamação. Essa condição muitas vezes evolui para necrose tecidual. Já os efeitos sistêmicos podem resultar em coagulação, hipotensão arterial, alterações hemodinâmicas, hemólise intravascular, lesão aguda do miocárdio, edema pulmonar, insuficiência renal aguda, falência de múltiplos órgãos e várias formas de hemorragia (Jorge, 2015).

A severidade desses efeitos depende de diversos fatores que podem ter relação com a serpente, como espécie, idade, quantidade de veneno injetado, tipos e quantidades de toxinas presentes no veneno, procedência geográfica, dentre outros; assim como estar relacionado com

a vítima (idade, peso, região da mordedura, uso de torniquete, presença de comorbidades, entre outros). O tempo decorrido entre a mordedura e a soroterapia influencia bastante no aparecimento e na gravidade dos sintomas, pois quanto maior a demora na administração do soro antiveneno, mais severas as consequências ao indivíduo (Castro, 2016; Wen e Malaque, 2013).

Os exames laboratoriais evidenciaram leucocitose, plaquetopenia, alteração de coagulação e presença de hemácias, proteínas, leucócitos e hemoglobina na urina, indicando possíveis complicações decorrentes das picadas de cobra do gênero *Bothrops*. Esses resultados são de extrema importância para a identificação precoce de manifestações sistêmicas graves, permitindo uma intervenção médica adequada e oportuna para prevenir complicações mais sérias (Silva e Pardal, 2018).

Caso não sejam realizados o tratamento adequado e a soroterapia, o quadro pode evoluir para o aparecimento de abscesso, necrose e síndrome compartimental. Além disso, pode acontecer também infecção no local da mordedura por bactérias presentes na microbiota bucal da serpente, o que pode comprometer, irreversivelmente, estruturas como músculos e ossos, danos esses que podem ser agravados com o uso de torniquetes (Santos et al., 2016).

A hemorragia sistêmica pode acontecer mesmo quando o paciente apresenta níveis normais de plaquetas, sugerindo também um dano intravascular (Castro, 2022). Ademais, as toxinas das serpentes podem induzir a formação de microtrombos, devido a geração de trombina, em decorrência da formação de fibrina, e armazenamento dela no vaso. A formação de microtrombos, seguida de lesão endotelial e hemólise intravascular são alguns dos eventos mais importantes no envenenamento botrópico (Larréché et al., 2021; Alves et al, 2018; Chan et al., 2019).

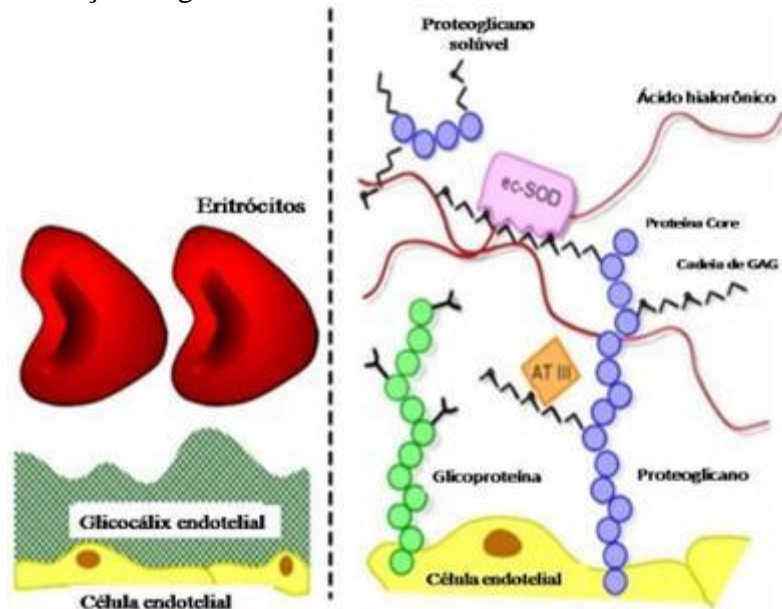
1.5 Biomoléculas endoteliais e de coagulação

1.5.1 Endotélio e glicocálix

O endotélio é importante na regulação da homeostasia vascular, funcionando como barreira e regulando o metabolismo da parede vascular. As células endoteliais participam, do controle do tônus vascular, coagulação, interações com leucócitos e plaquetas, principalmente através da liberação de mediadores vasoconstritores e vasodilatadores (Chang et al., 2013). No revestimento do endotélio, está presente o glicocálix, uma rede de glicoproteínas e glicolípídeos

que regula a homeostasia desse tecido, bem como a comunicação com outros elementos celulares (Figura 3) (Nieuwdorp et al., 2005; Reitsma et al., 2007).

Figura 3 – Representação do glicocálix



Fonte: Adaptada de REISTMA et al. (2007).

Dentre as funções do glicocálix, destacam-se a manutenção da barreira de permeabilidade vascular, produção de óxido nítrico, reserva de enzimas antioxidantes, como superóxido dismutase, e fatores anticoagulantes. Essa estrutura participa ainda da resposta inflamatória, prevenindo a adesão de leucócitos e produção de citocinas, estando a ruptura do glicocálix ligada com o aumento da permeabilidade capilar, inflamação e edema (Bruegger et al., 2015).

Os envenenamentos causados por serpentes viperídeas frequentemente apresentam uma coagulopatia por consumo de veneno, que resulta em mudanças significativas nos parâmetros laboratoriais de coagulação. Esse efeito é principalmente desencadeado por enzimas pró-coagulantes presentes nesses venenos, como as metaloproteinases (SVMPs) e serina proteinases, que ativam diversos fatores de coagulação ou geram coágulos de fibrina por meio de enzimas semelhantes à trombina, também conhecidas como enzimas pseudo-pró-coagulantes (Swenson et al., 2021).

Além disso, os venenos viperídeos induzem trombocitopenia e hipoagregação plaquetária. Tais alterações hemostáticas contribuem para a hemorragia local e sistêmica causada por esses venenos, ao potencializar a ação das SVMPs hemorrágicas, que comprometem a integridade dos microvasos ao clivar componentes críticos da membrana basal.

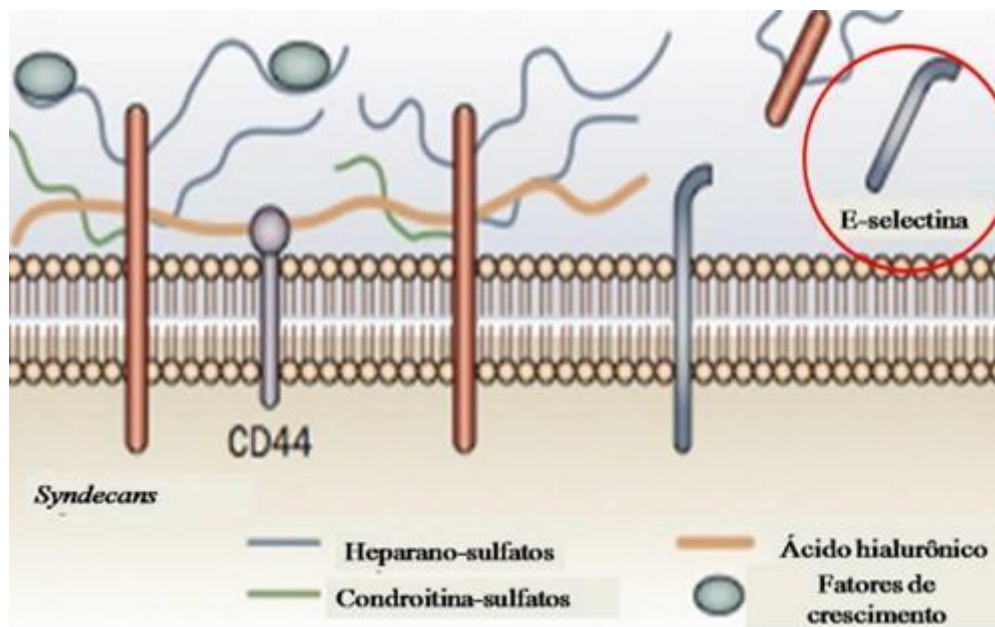
Portanto, as mudanças hemostáticas desempenham um papel crucial no quadro de envenenamento por picada de viperídeo (Escalante et al., 2011; Camacho et al., 2023).

A coagulopatia por consumo de veneno é o efeito sistêmico mais importante do envenenamento por serpentes. Os testes de coagulação são úteis para diagnosticar com precisão e rapidez a coagulopatia por consumo induzida por veneno e administrar antiveneno, que é o único tratamento específico disponível (Wedasingha et al., 2020).

1.5.1.1 Molécula de Adesão Celular (CAM)

As CAM são glicoproteínas expressas na superfície celular que medeiam a adesão intercelular, recrutamento e migração seletiva de células inflamatórias dos vasos até o local da lesão, funcionando ainda como moléculas sinalizadoras e reguladoras da inflamação e resposta imune. As CAM são divididas em quatro classes: integrinas, selectinas, imunoglobulinas e caderinas. Dentre as selectinas, estão a l-selectina, e-selectina e p-selectina, localizadas nos leucócitos, endotélio e plaquetas, respectivamente, conforme mostra a figura 4 (Francischetti et al., 2010).

Figura 4 – Integrinas



Fonte: Adaptado de RABELINK et al., 2010.

As moléculas de adesão celular, como as integrinas e selectinas, são moléculas expressas no endotélio vascular, importantes na adesão, como a *vascular adhesion molecule-1* (VCAM-1) e *intercelular adhesion molecule-1* (ICAM-1). O ICAM-1 é um biomarcador que

tem papel importante na injúria renal aguda (IRA) (Edelstein; Akcay; Nguyen, 2018). As imunoglobulinas são expressas como receptores para as integrinas leucocitárias, ocorrendo assim, a migração dos leucócitos para os sítios inflamatórios (Francischetti et al., 2010).

1.5.2 Angiopietina-1 (ANG-1) e Angiopietina-2 (ANG-2)

As angiopietinas são citocinas não miogênicas de células endoteliais que auxiliam na proliferação e remodelação do endotélio durante processos inflamatórios. A Ang-1 está associada a uma vasculatura estável e a Ang-2 com uma atividade angiogênica patológica, sendo as duas proteínas competidoras pelo receptor TIE-2 nos sítios de remodelamento vascular (Fagiani; Christofori, 2013; Tsigkos et al., 2003).

As angiopietinas (Angs) são constituídas de um sistema de quatro ligantes (Ang-1, Ang-2, Ang-3 e Ang-4), sendo a angiopietina 1 (Ang-1) e a angiopietina 2 (Ang-2) as que mais frequentemente se alteram em desordens sistêmicas. Além disso, possui dois receptores de tirosina quinase (TIE-1 e TIE-2). Ang-1 e Ang-2 são formados por três domínios, sendo uma região N-terminal, um segmento helicoidal e um domínio fibrinogênio C-terminal (Thurston, 2003; Thomas; Augustin, 2009).

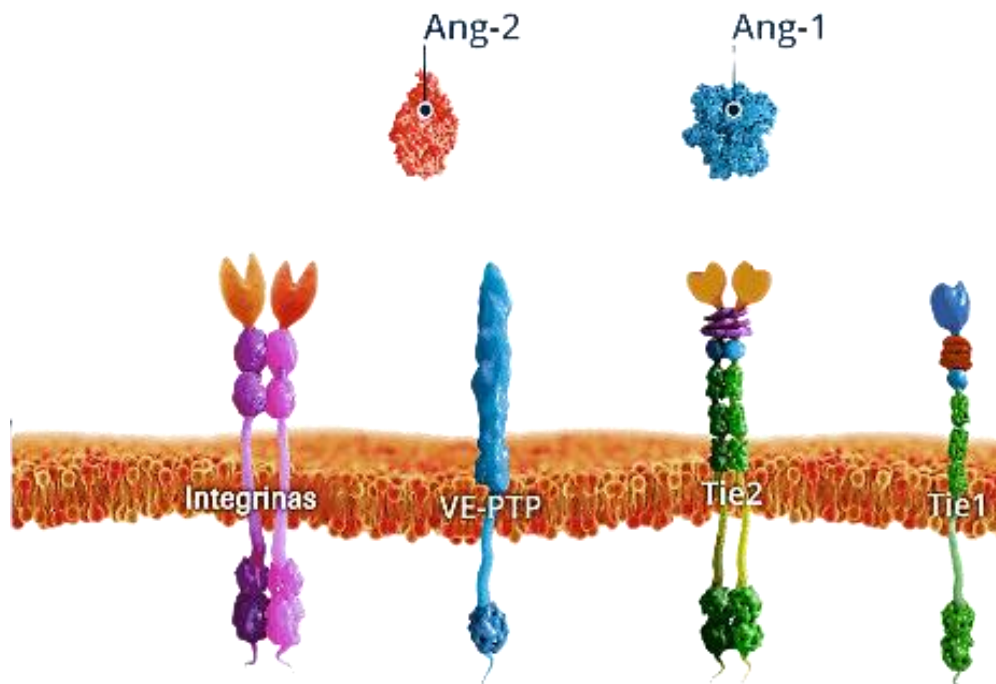
A Ang-1 tem função de promover a reorganização celular endotelial e manter a integridade estrutural dos vasos sanguíneos, principalmente por meio do alistamento e interação com células periendothelias (Augustin et al., 2009). Além disso, inibe a ativação da barreira endotelial vascular, reduzindo assim, o sangramento e migração de leucócitos induzidos por agentes inflamatórios (Kappou et al., 2015). Por conseguinte, a Ang-2 age como um antagonista das ações da Ang-1, rompendo as ligações entre o endotélio e as células perivasculares, promovendo a morte e regressão vascular. Além disso, a Ang-2 torna as células endoteliais mais acessíveis ao VEGF, o que promove uma maior neovascularização (Scharpfenecker et al., 2005). No entanto, é preciso destacar que caso haja insuficiência dos estímulos angiogênicos, a Ang-2 induz a morte das células endoteliais (Dunk et al., 2000).

A Ang-2 compete com a Ang-1 pelo receptor TIE-2, reduzindo assim, os efeitos anti-inflamatórios e diminuindo a estabilidade e maturação vascular. A angiogênese é frequentemente associada a um quadro de inflamação crônica, não se limitando apenas a inflamações prolongadas, mas também a processos inflamatórios agudos (Fiedler et al., 2004). A angiogênese patológica é descrita por um processo de inflamação intensa, hiperplasia e hipertrofia vascular, causando um extravasamento de arteríolas e vasos menores, o que pode ainda ser influenciado pelas espécies reativas de oxigênio (EROs), além do acentuado aumento

de liberação de citocinas pró-inflamatórias, o que estimula o aumento dos níveis de Ang-2 (Imhof; Aurrand-Lions, 2006).

O papel das angiopoietinas em doenças endoteliais renais ainda não é muito elucidado, porém, um estudo in vivo mostrou que ratos com doença renal glomerular apresentavam expressão de Ang-1 reduzida e Ang-2 aumentada, e isso, estava associado com um processo de apoptose celular. Por conseguinte, a mensuração dos níveis dessas proteínas pode ser uma ferramenta valiosa para auxiliar no diagnóstico e acompanhamento de pacientes renais (Campos et al., 2018). De forma didática, a estrutura tridimensional das angiopoietinas 1 e 2 pode ser representada abaixo.

Figura 5 – Representação esquemática da estrutura tridimensional das angiopoietinas.



Fonte: RCSB PDB (2024).

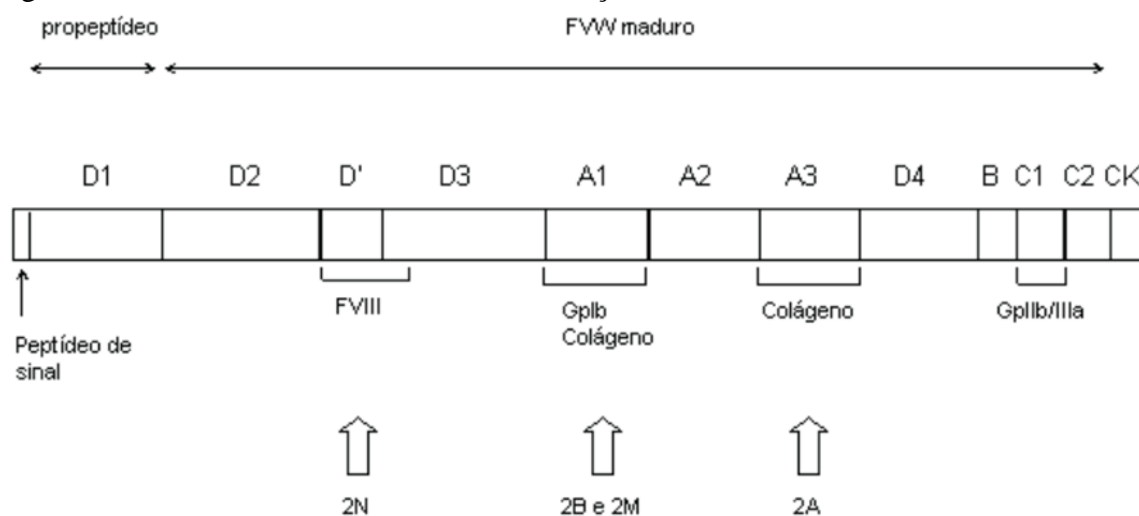
1.5.6 Fator de Von Willebrand (VWF-A2)

O fator de von Willebrand (VWF-A2) é uma glicoproteína produzida nas células endoteliais dos megacariócitos a partir de um precursor, sendo ele denominado de pro-VWF. A partir dele, são formados dois outros polipeptídeos, FVW maduro e FVW propeptídeo. O FVW maduro atua na adesão das plaquetas ao endotélio, estabilizando o fator VIII do processo de coagulação. Enquanto, o FVW propeptídeo age na polimerização e armazenamento do FVW maduro a nível de corpúsculo de Weibel-palade proveniente das células endoteliais (Lorenzi,

2013). O FVW é uma proteína de alto peso molecular, com subunidades de 270 kDa cada e, aproximadamente, 2.050 aminoácidos, e um tempo de meia-vida de 20 horas (Anstadt, 2002).

O FVW maduro e o FVW propeptídeo possuem ainda quatro tipos de domínios, onde cada um possui funções diferenciadas, como sítios de ligação a plaquetas, sítios de ligação ao colágeno, dentre outros (Mendolicchio; Ruggeri, 2005). A figura 5 abaixo mostra os domínios e as estruturas que interagem entre si e com o FVW.

Figura 6 – Domínios do VWF-A2 e suas interações.

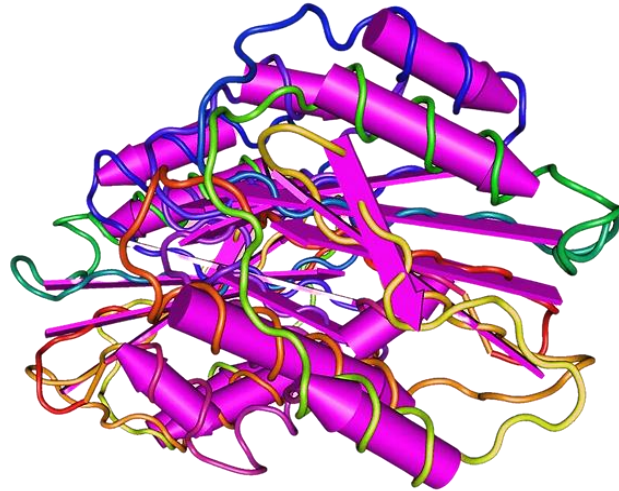


Fonte: Adaptado de Ministério da Saúde (2008); FVIII, fator VIII; Gp Ib, glicoproteína Ib; Gp IIb/IIIa, glicoproteína IIb/IIIa.

O fator de von Willebrand é composto por um peptídeo de sinal, um propeptídeo e sua porção madura. O colágeno se conecta a dois domínios: A1 e A3. A GpIb se liga ao domínio A1, a GpIIb/IIIa se liga ao domínio C1, enquanto o FVIII se liga aos domínios D' e D3 (Ministério da Saúde, 2008). Entre as principais funções do fator de von Willebrand (VWF-A2), destacam-se a ligação ao colágeno presente no subendotélio e nas plaquetas, formando o tampão plaquetário no local da lesão. Além disso, o FVW se liga e transporta o fator VIII (FVIII), prevenindo sua degradação no plasma por enzimas proteolíticas (Castman et al., 2003).

As alterações qualitativas e quantitativas no FVW podem levar a hemorragias em um quadro conhecido como doença de von Willebrand (Brasil, 2008). Ademais, agentes externos também podem afetar a coagulabilidade sanguínea, como é o caso do acidente botrópico, que pode estar associado a alterações nesse fator sanguíneo. De forma didática, a estrutura tridimensional do fator de von Willebrand pode ser representada abaixo.

Figura 7 – Representação esquemática da estrutura tridimensional do fator de von Willebrand.

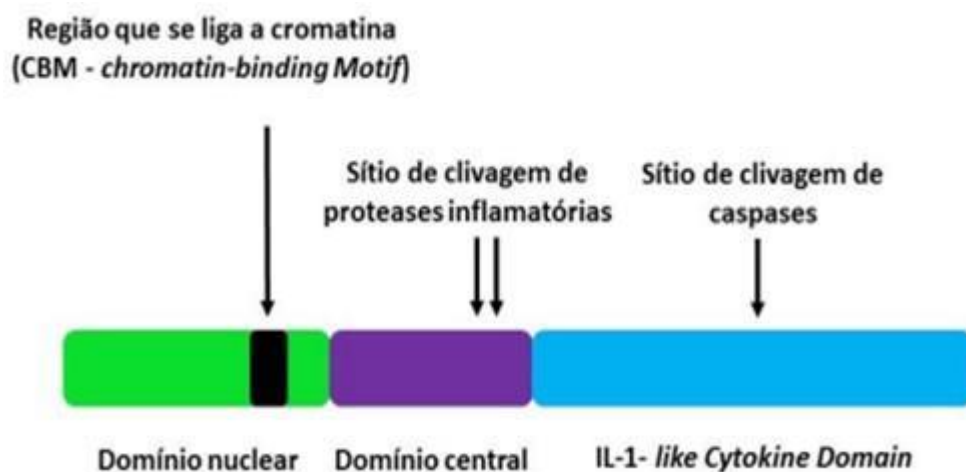


Fonte: RCSB PDB (2024).

1.5.7 Interleucina 33 (IL-33)

Inicialmente quando descoberta, a IL-33 era classificada como uma proteína que tem ação no núcleo, produzida por células endoteliais, porém, posteriormente, foi descrita como uma citocina membro da família das interleucinas 1, estando seus genes localizados no cromossomo 9. A IL-33 é uma proteína de 30 kDa com um domínio nuclear, um central e outro IL-1-like, conforme a figura 6. Esse último domínio protege a proteína da clivagem de caspases durante a morte celular (Cayrol e Girard., 2018).

Figura 8 – Representação esquemática dos domínios da IL-33.



Fonte: Adaptado de SILVA (2021).

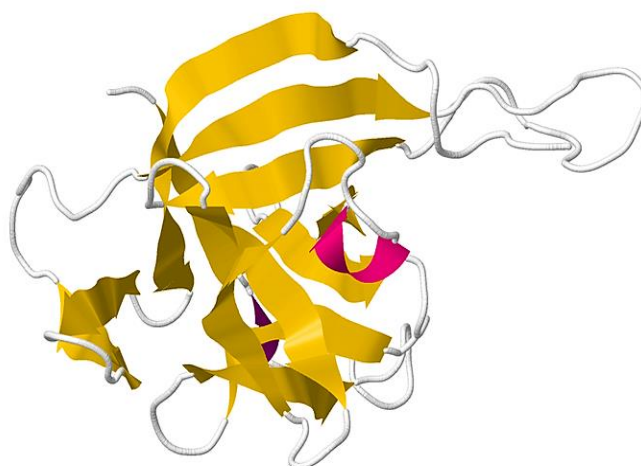
A IL-33 é produzida nas células endoteliais, epiteliais e através de fibroblastos durante os processos hemostáticos e inflamatórios, sendo expressa, em níveis fisiológicos em órgãos como coração, pulmões, pele, fígado, baço, linfonodos, dentre outros. Sua ação anti-inflamatória acontece via supressão de tumorigenicidade (ST2), um receptor pró-inflamatório, conhecido também como IL-1RL1. O ST2 é comum em células do sistema imune, como eosinófilo, basófilo, neutrófilo, linfócitos T (perfil Th1 ou Th2), por exemplo. Além disso, a IL-33 também interage com receptores de IL-1 α , IL-1 β e IL-36 (Gungor et al., 2017; Chen et al., 2017; Voloshyna et al., 2015; Yang et al., 2016).

Além das funções de modulação da resposta imunológica, a IL-33 também atua nas respostas aos linfócitos T helper dos tipos 1 e 17 (Th1 e Th17), induzindo a produção de citocinas anti-inflamatórias, por meio dos linfócitos T helper do tipo Th2, como a IL-5 e IL-13 (Kunisch et al., 2012).

De acordo com Chen e colaboradores (2017), a IL-33 é importante para a resposta imune mediada pelas células Th2, são produzidas por células endoteliais e epiteliais, estando o seu papel das injúrias teciduais ainda pouco elucidados (Chen et al., 2017; Gungor et al., 2017). Diante disso, durante o estresse inflamatório, a produção de IL-33 por essas células pode ser acentuada. Ademais, essa citocina pode influenciar no desenvolvimento de fibrose de células tubulares (Akçay et al., 2016). Os níveis séricos de IL-33 estão mais alterados em pacientes com diferentes injúrias teciduais, e podem ainda promover um intenso infiltrado de células inflamatórias, como eosinófilos, linfócitos e neutrófilos (Brito, 2019).

De forma didática, a estrutura tridimensional da interleucina-33 pode ser representada abaixo.

Figura 9 – Representação esquemática da estrutura tridimensional da IL-33.



1.5.8 Molécula de Adesão Vascular-1 (VCAM-1)

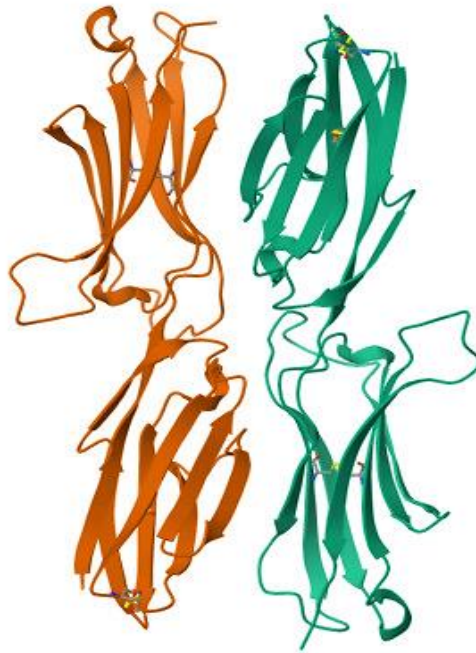
A molécula de adesão vascular-1 (VCAM-1), ou CD106, é uma glicoproteína com peso molecular de 90 kDa que atua participando da adesão de células de defesa do nosso organismo, principalmente leucócitos, no endotélio na presença de um processo inflamatório (Kong et al., 2018; Paulus et al., 2011). A VCAM-1 encontra-se na superfície de células endoteliais, bem como de macrófagos, células dendríticas, mioblastos, células de Sertoli, entre outras. Além disso, altas concentrações de VCAM-1 podem ser obtidas por estímulo das citocinas, como TNF-alfa e IL-1 (Reitsma et al., 2007).

A formação de microtrombos e a migração de leucócitos através das células endoteliais para o compartimento intersticial renal podem contribuir para a disfunção vascular. Essa disfunção é um fator precoce e proeminente na IRA, levando aos processos de isquemia/reperfusão (I/R) e comprometendo o fluxo sanguíneo e sua regulação. Isso ocorre devido ao intumescimento das células endoteliais, além da ruptura da monocamada endotelial e do glicocálix, juntamente com a regulação positiva de moléculas de adesão, como ICAMs (moléculas de adesão intercelular), VCAM-1 (moléculas de adesão celular vascular-1) e selectinas. Esses eventos resultam em um aumento das interações endotélio-leucócito e no desenvolvimento de edema no compartimento intersticial (Edelstein, 2018; Albuquerque et al., 2020).

Tal molécula desempenha um papel crucial no envenenamento por serpente do gênero *Bothrops erythromelas*, podendo causar uma série de reações, dentre elas: inflamação localizada e alterações na permeabilidade vascular. A VCAM-1 é expressa em células endoteliais revestindo os vasos sanguíneos, facilitando assim, a adesão de células imunológicas, como leucócitos, ao endotélio, promovendo o recrutamento dessas células para as áreas afetadas (Castellanos et al., 2020).

Diante disso, o aumento da expressão de VCAM-1 pode contribuir para uma resposta inflamatória aumentada, resultando em uma migração intensa dos leucócitos, potencialmente agravando o inchaço, a dor, e o dano tecidual. Além disso, pode estar associada ainda a angiogênese, podendo restaurar o suprimento de sangue nas áreas afetadas, prolongando o processo de cicatrização (Claure-Del; Macedo; Mehta, 2011). De forma didática, a estrutura tridimensional do VCAM-1 pode ser representada abaixo.

Figura 10 – Representação esquemática da estrutura tridimensional do VCAM-1.



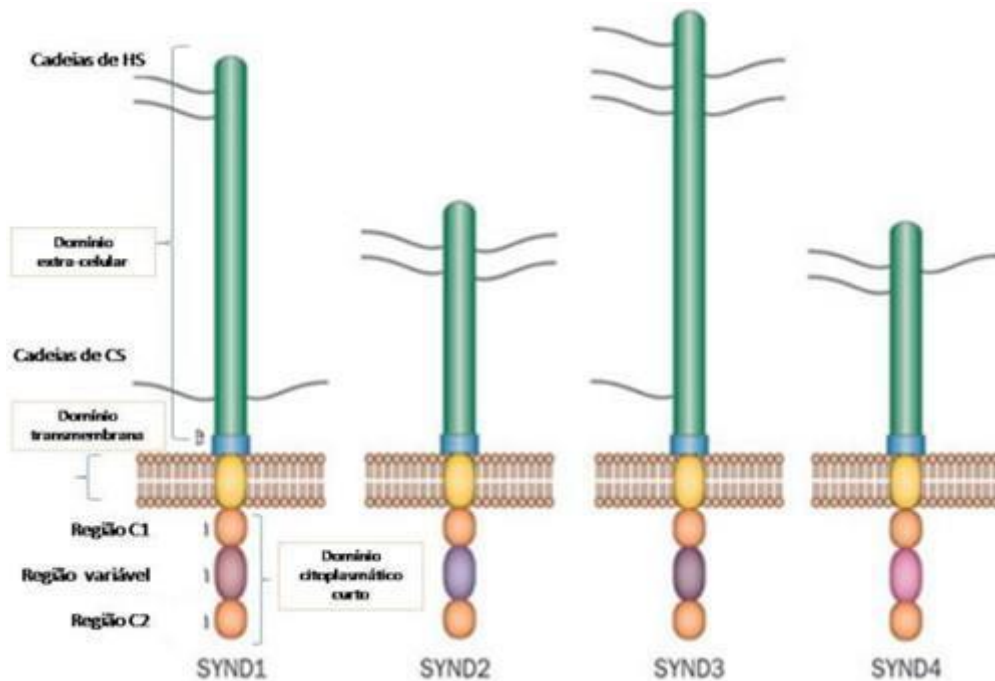
Fonte: RCSB PDB (2024).

1.5.9 Sindecano-1: Papel Crucial na Interação Molecular e Regulação Fisiológica

Sindecano-1 (Syndecanos ou syndecans) são proteoglicanos heparano-sulfatos (PHS) compostos de um esqueleto proteico modificado por cadeias de heparano-sulfato (HS) e condroitina-sulfato (CS). A presença dessas cadeias permite interação com diversas outras moléculas do nosso organismo (Tkachenko; Rhodes, Simons, 2005). Sindecano-1, quando detectado no plasma sanguíneo, serve como biomarcador de lesão do glicocálix endotelial (Nieuwdorp et al., 2005). Kim e colaboradores (2017) complementam que todos eles contêm uma proteína central transmembrana, à qual as cadeias laterais de glicosaminoglicanos estão ligadas covalentemente em domínios extracelulares. Sindecana-1 é um componente crucial do glicocálice endotelial, uma camada protetora que reveste o endotélio luminalmente.

Cada sindecano possui um domínio citoplasmático curto, uma transmembrana e um extracelular. O domínio extracelular varia de tamanho de 20 a 45 kDa e é muito diferente dos outros domínios. Nos vertebrados, estão inseridos quatro genes para syndecan (syndecan-1, syndecan-2, syndecan-3 e syndecan-4). Syndecan-1 é o principal deles e é liberado no endotélio e células plasmáticas. Algumas teorias apontam que a sua expressão é induzida por processos inflamatórios, e que pode auxiliar na regulação, tanto dessas respostas, como aquelas respostas reparadoras (Mulhaupt et al., 2009; Bielecka-Dabrowa et al., 2013; Frangogiannis, 2011).

Figura 11 – Estrutura espacial dos syndecanos



Fonte: Adaptado de PAP; Bertrand (2013).

As pessoas que estão em terapia dialítica contêm maior penetração de eritrócitos no glicocálix, o que sugere uma redução das suas propriedades. Tais indivíduos apresentam níveis séricos aumentados de alguns constituintes do glicocálix, como syndecan-1, que está envolvido em diversos processos, como adesão, diferenciação, fisiologia das lipoproteínas, inflamação, dentre outros (Savery et al., 2013; Vlahu et al., 2012; Cortes et al., 2007; Wang et al., 2010; Adepu et al., 2015).

O Síndecan-1 está associado à hemodiálise intermitente em pacientes gravemente enfermos. Sua presença pode ser útil na identificação de pacientes com maior risco para tais eventos, sugerindo que o comprometimento do glicocálix endotelial desempenha um papel na fisiopatologia da instabilidade hemodinâmica (Moura et al., 2023).

JUSTIFICATIVA

2 JUSTIFICATIVA

O acidente ofídico é uma preocupação de saúde pública subestimada em todo o mundo. Atinge aproximadamente 2,5 milhões de pessoas a cada ano, resultando em cerca de 125 mil mortes (Nery et al., 2020). As serpentes das famílias Viperidae e Elapidae são as de maior interesse médico no Brasil, ocasionando os acidentes botrópicos (Costa et al., 2021). No Ceará, a serpente *Bothrops erythromelas* é responsável pelo maior número de casos (SESA, 2023).

As manifestações sistêmicas dos acidentes botrópicos podem evoluir para hemorragias intensas, choque e insuficiência renal nos casos graves (Oliveira, 2014). O manejo clínico do envenenamento continua sendo uma preocupação, especialmente dada a apresentação variada de sintomas e o potencial para coagulopatia com risco de vida.

O estudo de biomoléculas endoteliais e de coagulação relacionadas ao envenenamento por *Bothrops erythromelas* é essencial para compreender os mecanismos fisiopatológicos, por exemplo, o fator de Von Willebrand, vWFA2, syndecan-1 e IL-33, dentre outros. Existem poucos estudos com pacientes disponíveis na literatura especializada, desta forma, é necessário realizar mais pesquisas para preencher essa lacuna de conhecimento. Esse trabalho irá investigar a associação entre distúrbios de coagulação e disfunção endotelial podendo auxiliar no desenvolvimento de estratégias mais eficazes de prevenção, diagnóstico e tratamento do envenenamento botrópico, reduzindo assim, a morbidade e mortalidade. Adicionalmente o estudo poderá possibilitar entender o nível de proteção do antiveneno nos cenários de distúrbios de coagulação e de disfunção endotelial.

A presente pesquisa traz contribuições importantes, pois se utiliza das novas biomoléculas para estudar a associação entre distúrbios de coagulação e disfunção endotelial em pacientes após envenenamento botrópico, podendo contribuir para diagnóstico precoce dos dois cenários que levam a hemorragia e aumentam o risco de morte.

OBJETIVOS

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Investigar a associação entre distúrbios de coagulação e disfunção endotelial em pacientes após envenenamento botrópico, bem como o efeito da administração do antiveneno.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Descrever as características demográficas e laboratoriais de pacientes com envenenamento botrópico, segundo sintoma de sangramentos;
- Investigar a associação entre biomarcadores endoteliais e de coagulação com o sintoma de sangramento;
- Investigar os efeitos do soro antiveneno no perfil de biomarcadores endoteliais e coagulação em pacientes com acidente botrópico.

METODOLOGIA

4 METODOLOGIA

4.1 Tipo de Estudo

Estudo observacional, de coorte, prospectivo e unicêntrico.

4.2 Local do Estudo

O estudo foi realizado no Centro de Informação e Assistência Toxicológica do Ceará do Instituto Doutor José Frota (CIATOX/IJF), hospital de referência em atendimentos de emergência e toxicológica da região Nordeste do Brasil.

4.3 População do Estudo

Pacientes vítimas de acidentes ofídicos pelo gênero *Bothrops sp.* que foram atendidos no CIATOX/IJF durante o período de agosto de 2021 a dezembro de 2022.

Todos os pacientes incluídos no estudo foram acompanhados em ambulatório especializado, no Instituto Dr. José Frota, onde posteriormente, as amostras foram encaminhadas ao laboratório parceiro de Bioprospecção Farmacêutica e Bioquímica Clínica da Universidade Federal do Ceará (UFC).

4.3.1 Critérios de inclusão

Foram selecionados os pacientes vítimas de acidente por serpente do gênero *Bothrops erythromelas* atendidos no CIATOX/IJF que obedeceram aos seguintes critérios: (1) Pacientes com idade acima de 18 anos de idade, (2) Ambos os sexos, (3) Assinatura do Termo de Consentimento Livre Esclarecido (TCLE), e (4) Pacientes com acidente confirmado causado por serpentes da espécie *Bothrops erythromelas*.

4.3.2 Critérios de exclusão

Foram excluídos os pacientes que tiveram os seguintes critérios: (1) Pacientes com diagnóstico de diabetes tipo 1 ou 2, (2) Pacientes portadores de hipertensão arterial sistêmica (pressão arterial sistólica ≥ 140 mmHg e/ou pressão arterial diastólica ≥ 90 mmHg) e/ou

insuficiência cardíaca (Fração de Ejeção <60% em ecocardiograma transtorácico) (3) Pacientes com história de doença renal prévia (aguda ou crônica), litíase renal e uso de medicamentos nefrotóxicos e anticoagulantes, (4) Paciente portador de qualquer outra doença que possa levar à disfunção renal e (5) Pacientes com sorologia positiva para hepatites B, C e HIV.

4.4 Coleta de informações epidemiológicas

Os dados sociodemográficos e clínicos foram avaliados no momento da admissão do paciente e durante a internação hospitalar por meio dos softwares DATATOX (Sistema Brasileiro de Dados de Intoxicações dos Centros Brasileiros de Informação e Assistência Toxicológica) (Fiocruz, 2009) e SINAN (Sistema de Informação de Agravos de Notificação) (Ministério da Saúde – SINAN, 2023).

4.5 Coleta dos parâmetros laboratoriais

Parâmetros hematológicos como hemoglobina (Hb), hematócrito (Ht), leucócitos, eritrócitos e plaquetas foram analisados utilizando o analisador hematológico ADVIA® 2120i (Siemens Healthineers). Os testes de coagulação do tempo de protrombina (TTP) e tempo de tromboplastina parcialmente ativada (TTPa) foram processados em analisador automático Sysmex® CA-1500. Os parâmetros bioquímicos como glicose foram analisados no equipamento CMD 800i (Wiener Lab) e os níveis plasmáticos de sódio (Na⁺), potássio (K⁺), cálcio (Ca²⁺) e cloreto (Cl⁻) no eletrodo de íons seletivos Electrolyte Analyzer 9180, (Roche®), com os resultados expresso em mEq/L. A coagulação do tempo de protrombina e o tempo de tromboplastina parcialmente ativada foram definidos de acordo com os seus valores de referência, mostrados na tabela 3.

Tabela 3 – Valores de referência de TAP e TTPa.

Parâmetro	Conceito	Tempo (s)
TAP	Normais	10-14
	Alargados ou anormais	15-120
	Incoaguláveis	> 120
TTPa	Normal	22-28
	Alargados ou anormais	29-180
	Incoaguláveis	> 180

Fonte: Próprio autor (2024).

O TAP é um teste para avaliar a via extrínseca, ou seja, os fatores VII, X, V, II e o fibrinogênio, enquanto o TTPa avalia os fatores da via intrínseca, sendo eles XII, XI, IX e VII, além de outros fatores da via comum, como X, V, II e fibrinogênio (Brasil, 2016).

A recuperação ou não após a administração da soroterapia antitoxotrópica desses parâmetros foram fundamentais para definir uma eficácia clínica do soro antiveneno.

4.6 Coleta e processamento das amostras biológicas

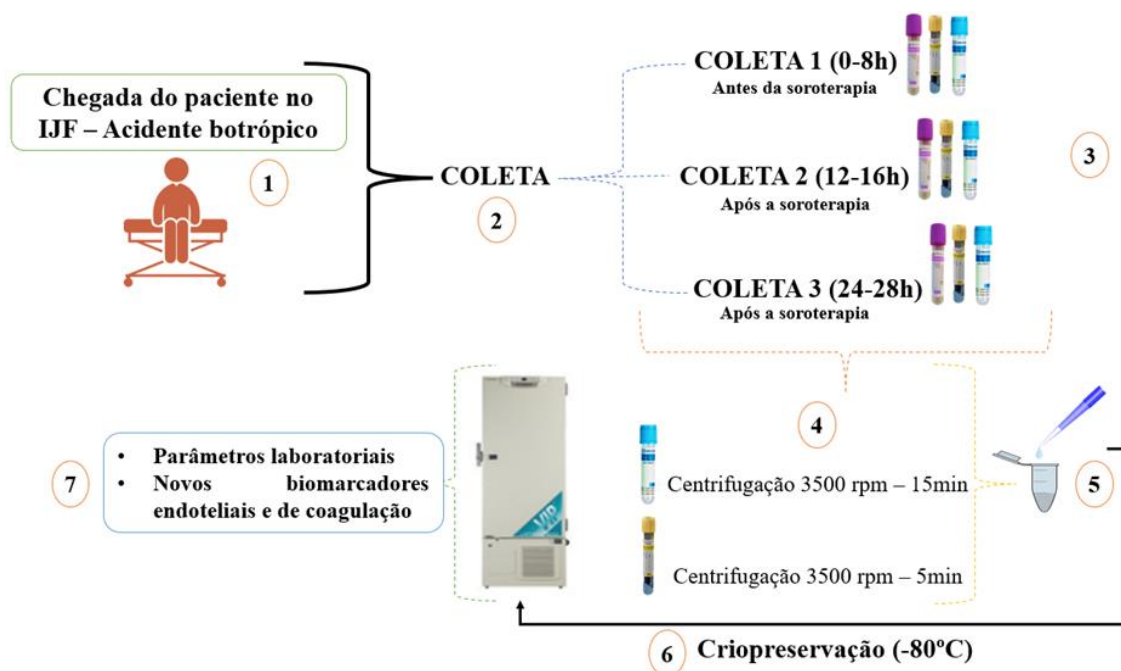
As amostras dos pacientes que sofreram mordedura de serpente *Bothrops erythromelas*, foram coletadas em três tempos diferentes (até 8 horas antes da administração do antiveneno, 12 a 16 horas após a administração do antiveneno e 24 a 28 horas após a administração do antiveneno), sendo a escolha desses tempos baseada no fluxograma segmentado de pacientes após soroterapia antitoxotrópica, que sugere coletas além da internação, nas primeiras 12 e 24 horas após administração da soroterapia antitoxotrópica, com o objetivo de realizar maior acompanhamento clínico e soroterápico dos pacientes.

Cada amostra coletada foi armazenada em recipientes adequados para obtenção do sangue total (tubos com EDTA), soro (tubos com ativador de coágulo e gel separador) e plasma (tubos com citrato de sódio tamponado 3,8%), dos quais foram retiradas alíquotas e congeladas em freezer – 20°C. Em seguida, as amostras foram encaminhadas para o Laboratório de Bioprospecção Farmacêutica e Bioquímica Clínica da Universidade Federal do Ceará (UFC) e armazenadas a -80 °C para posterior análise de biomarcadores endoteliais e de coagulação, conforme a figura 8.

Importante ressaltar que as amostras de sangue com EDTA foram utilizadas para realização dos exames de plaquetas, leucócitos, hemoglobina, hematócrito e eritrócito,

enquanto, as amostras de soro foram utilizadas para realizar os exames de glicose, sódio, potássio, cloreto e cálcio, já as amostras de plasma citrato foram realizados os exames de TAP, TTPA e os biomarcadores (ANG-1 e 2, IL-33, VCAM-1, Syndecan-1 e VWFA2).

Figura 12 - Coleta e processamento de amostras sangue para o estudo dos novos biomarcadores.



Fonte: Próprio autor (2024).

4.7 Biomoléculas analisadas

Angiopietina-1, Angiopietina-2, Sindecano-1 (Syndecan-1), Proteína de Adesão Celular Vascular 1 (VCAM-1), Interleucina 33 (IL-33) e Fator de Von Willebrand (VWF-A2).

4.8 Dosagem das biomoléculas através da técnica de ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)

Os biomarcadores foram quantificados em amostras de soro isoladas obtidas nos primeiros dias de internação. Os ensaios para medidas foram baseados em ensaio imunoenzimático (ELISA) utilizando kits específicos para cada biomarcador. Os procedimentos foram seguidos de acordo com as instruções do fabricante. Os biomarcadores realizados foram Angiopietinas 1 e 2, Syndecan-1, VCAM-1, IL-33 e VWF-A2. É importante destacar que o kit VWF-A2 possui especificidade para o domínio A2 (anti-A2).

Inicialmente, as placas foram sensibilizadas com anticorpos específicos (anticorpos de captura) para cada um dos biomarcadores analisados *overnight*. Após, as placas foram lavadas, sendo então, adicionada a solução de bloqueio (Albumina sérica bovina – BSA 1% em PBS). Após realizada a lavagem, as amostras dos pacientes, e as soluções padrão, foram adicionadas e incubadas novamente. Em seguida, foram adicionados os anticorpos de detecção biotinilados (conjugados à biotina).

Após a realização de mais uma lavagem, a estreptavidina (afinidade pela biotina) conjugada com a enzima peroxidase foi adicionada, e, após a incubação, uma nova lavagem foi feita para retirar anticorpos que não se ligaram aos analitos da amostra. Por fim, foi adicionado um substrato colorimétrico 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina (substrato TMB, ABCAM, Cat. No ab171523, Cambridge, MA). Posterior a isso, a reação foi parada com solução de ácido sulfúrico (H₂SO₄) e leitura espectrofotométrica realizada em 450 nm. As concentrações (ng/mL) dos analitos foram mensuradas por interpolação dos dados em curva-padrão para cada tipo de biomarcador analisado.

4.9 Análise Estatística

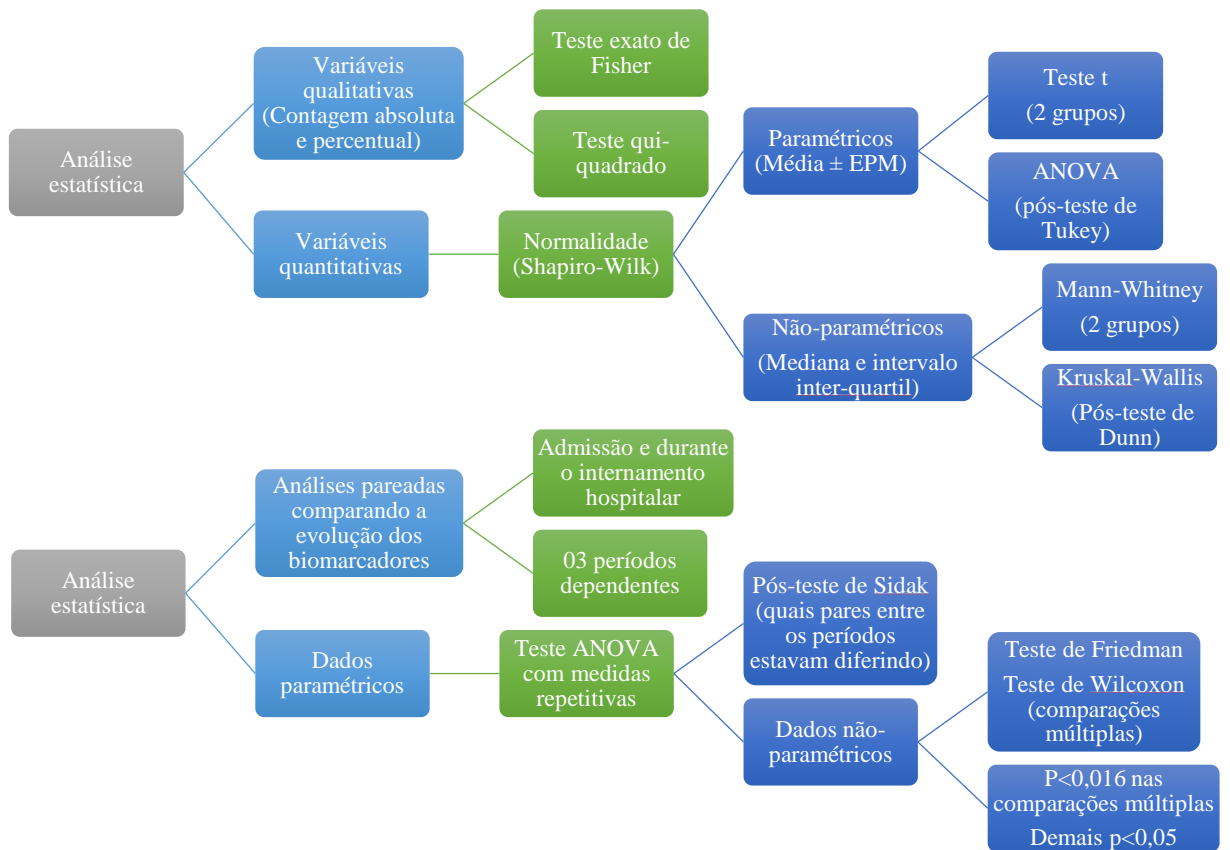
As variáveis qualitativas foram expressas como contagem absoluta e porcentagens, sendo comparadas através do teste do qui-quadrado ou exato de Fisher. Todas as variáveis quantitativas foram testadas para distribuição normal usando o teste de Shapiro-Wilk. Dados normais foram então expressos como média \pm desvio padrão, e dados não normais como mediana e amplitude interquartil. Para comparação entre dois grupos independentes foram utilizados os testes t de Student ou Mann-Whitney de acordo com a normalidade dos dados. O teste paramétrico análise de variância (ANOVA) com pós-teste de Tukey foi usado para comparações entre 3 grupos independentes para dados normais, e para dados não paramétricos, foi utilizado teste de Kruskal-Wallis com pós-teste de Dunn.

Além disso, foram feitas análises pareadas comparando a evolução dos biomarcadores e exames laboratoriais desde a admissão e durante o internamento hospitalar, totalizando 3 períodos dependentes. Para dados paramétricos foi utilizado o teste do ANOVA com medidas repetidas. Foi considerada a esfericidade dos dados usando o teste de Mauchly para avaliar diferenças entre as médias dos diferentes períodos, mas quando não houve esfericidade foi aplicado o teste de Greenhouse-Geisser. Por fim, foi aplicado o pós-teste de Sidak para definir quais pares entre os períodos estavam diferindo. Para dados não-paramétricos, foi usado o teste de Friedman, com comparações múltiplas usando o teste de Wilcoxon. O valor de significância

estatística ($p < 0,05$) foi ajustado para $p < 0,016$, nas comparações múltiplas. Para os demais testes foi considerado $p < 0,05$ como critério de significância. Os dados foram analisados no software SPSS para Macintosh, versão 23 (Armonk, NY: IBM Corp.).

O fluxograma abaixo mostrará de forma mais didática a sequência de testes realizado pela análise estatística.

Figura 13 – Fluxograma da sequência metodológica da análise estatística.



Fonte: Próprio autor (2024).

4.10 Aspectos Éticos

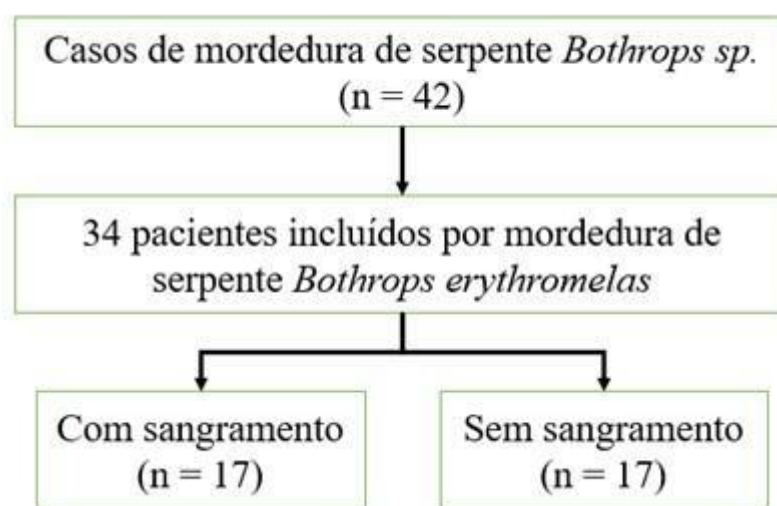
O protocolo do estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética (CAAE: 65315122.4.2002.5047). Os pacientes receberam informações sobre a importância da pesquisa, e conforme aceitação foi fornecido o termo de consentimento livre (TCLE) esclarecido por escrito para participação na pesquisa. Os resultados de todos os testes realizados foram fornecidos aos pacientes incluídos na pesquisa e à equipe médica responsável pela assistência aos pacientes. Após assinatura do TCLE, foi realizada a coleta de dados e exames complementares para a realização da pesquisa.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

No total, foram incluídos neste estudo 34 pacientes com mordedura botrópica (Figura 9), onde foram posteriormente divididos em grupos com e sem sangramento, conforme figura abaixo.

Figura 14 – Desenho da pesquisa de acordo com a classificação do paciente.



Fonte: Próprio autor (2024).

A análise das características gerais e dos parâmetros de coagulação em pacientes com envenenamento botrópico, comparando com os sintomas de sangramento apresentados, é importante para entender a gravidade do envenenamento e otimizar o tratamento. Essa abordagem permite identificar padrões específicos de resposta do organismo ao veneno, auxiliando na triagem e no manejo clínico individualizado dos pacientes, além de contribuir para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas mais eficazes. Desta forma, a tabela 05 mostra as variáveis sociodemográficas, laboratoriais e parâmetros da coagulação dos pacientes que sofreram acidentes por serpentes do gênero *Bothrops erythromelas*.

Tabela 4. Características demográficas e parâmetros laboratoriais de pacientes com envenenamento botrópico e comparações, segundo sintoma de sangramento.

	Grupo total (n=34)	Sangramento		p
		Não (n=17)	Sim (n=17)	
Idade	46.3 ± 14.5	44.1 ± 16.6	47.5 ± 12.3	0.502
Gênero				0.656
Masculino	29 (82.9)	15 (88.2)	13 (76.5)	
Feminino	6 (17.1)	2 (11.8)	4 (23.5)	
Horas posteriores a mordedura até atendimento de saúde	5.8 ± 1.7	5.6 ± 2.3	5.9 ± 0.9	0.675
Incoagulação				0.034
Coagulável	7 (20)	6 (35.3)	1 (5.9)	
Incoagulável	28 (80)	11 (64.7)	16 (94.1)	
TAP (s)	121 (20.7 - 121)	121 (22.1 - 121)	121 (0 - 121)	0.736
TAP ativ%	0 (0 - 0)	0 (0 - 34.8)	0 (0 - 0)	0.127
INR	0 (0 - 0)	0 (0 - 1.65)	0 (0 - 0)	0.339
TTPA (s)	181 (34.5 - 181)	181 (37.4 - 181)	180 (29.9 - 181)	0.322
Plaquetas (mm³)	181314.3 ± 95313.3	211117.6 ± 83499.2	151764.7 ± 102274.5	0.073
Leucócitos (mm³)	11561.7 ± 2946.4	11615.9 ± 2588.8	11624.7 ± 3389.7	0.993
Hemoglobina (g/dL)	14.1 ± 0.9	14.3 ± 0.9	14 ± 1	0.284
Hematócrito (%)	42.4 ± 3	43 ± 2.5	42 ± 3.4	0.328
Eritrócito (milhões/μL)	4.88 ± 0.42	4.97 ± 0.48	4.79 ± 0.34	0.214
Glicose (mg/dL)	106.8 ± 19.4	99.2 ± 15.5	109.8 ± 21.3	0.297
Na⁺ (mmol/L)	140.4 ± 2.5	139.6 ± 2.2	141.1 ± 2.7	0.085
K⁺ (mmol/L)	4.14 ± 0.44	4.05 ± 0.26	4.28 ± 0.58	0.147
Cl⁻ (mmol/L)	103.3 ± 2.9	102 ± 2.4	104.3 ± 3.1	0.082
Ca²⁺ (mmol/L)	9.5 ± 0.5	9.7 ± 0.6	9.4 ± 0.5	0.334

TAP (s): Tempo de Atividade de Protrombina; TAP ativ%: Percentagem de Atividade de Protrombina; INR: Razão Normalizada Internacional; TTPA (s): Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada; Plaquetas (mm³): Contagem de plaquetas por microlitro de sangue; Leucócitos (mm³): Contagem de leucócitos por microlitro de sangue; Hemoglobina (g/dL): Concentração de hemoglobina no sangue em gramas por decilitro; Hematócrito (%): Volume de células vermelhas do sangue em relação ao volume total do sangue; Eritrócito (milhões/ μ L): Contagem de eritrócitos por microlitro de sangue.; Glicose (mg/dL): Concentração de glicose no sangue em miligramas por decilitro; Na⁺ (mmol/L): Concentração de sódio; K⁺ (mmol/L): Concentração de potássio; Cl⁻ (mmol/L): Concentração de cloro; Ca²⁺ (mmol/L): Concentração de cálcio;

Dados contínuos expressos como média ± desvio padrão ou como mediana e intervalo interquartil entre parênteses. Dados categóricos expressos como contagem absoluta e percentuais entre parênteses.

* Testes qui-quadrado ou exato de Fisher foram utilizados para dados categóricos e teste t de Student ou teste de Mann-Whitney para dados contínuos, dependendo da normalidade dos dados.

De acordo com a Tabela 4, os pacientes foram divididos em grupos que tiveram sangramento (n = 17) e grupos que não tiveram sangramento (n = 17). Em relação aos pacientes que tiveram sangramento, é possível perceber que 13 pacientes (76,5%) eram do gênero masculino, enquanto 04 (23,5%) eram do gênero feminino. Em relação aos pacientes que não sangraram 15 (88,2%) eram do gênero masculino e, 2 (11,8%) eram do gênero feminino. Os pacientes vítimas de acidente botrópico tinham idade média de 46,3 ± 14,5 anos, sendo as idades médias para os grupos que não evoluíram, e os que evoluíram para sangramento de 44,1 ± 16,6 anos e 47,5 ± 12,3 anos, respectivamente, caracterizando uma população de adultos e idosos (20 a 60 anos ou mais).

Em relação aos dados demográficos dos pacientes, foi observada uma maior frequência de acidentes ofídicos em indivíduos do sexo masculino. Isso se deve ao fato de que, comumente,

homens da zona rural realizam atividades como agropecuária, de caça, pesca, entre outros, e tem um maior contato com serpentes e animais peçonhentos e venenosos, o que leva a maiores chances de ocorrência de acidentes com esses animais (Bertolozzi et al., 2015). Essa maior frequência de acidentes foi vista na população adulta (20 a 59 anos). Alguns trabalhos apontam isso ao fato de que a população nessa faixa etária se encontra mais ativa econômica e funcionalmente (Saraiva et al., 2012; Bochner et al., 2014).

De acordo com os dados levantados sobre a distribuição dos acidentes e óbitos por ofidismo, taxa de letalidade e Odds Ratio no Brasil em 2022, foi constatado que 67,02% dos casos ocorreram em indivíduos do sexo masculino, enquanto 32,98% foram registrados em indivíduos do sexo feminino. Além disso, é importante ressaltar que a maioria dos acidentes ocorreu em áreas rurais, representando 76,72% dos casos, em comparação com 17,02% em áreas urbanas. Esses números enfatizam a necessidade de medidas preventivas e de uma atenção especial voltada para as regiões rurais, visando mitigar os riscos associados aos acidentes por ofidismo (Ministério da saúde, 2023).

Um outro estudo realizado nas cidades de Crato, Juazeiro do Norte e Barbalha, buscou diagnosticar o perfil sociodemográfico de produtores rurais que sofreram acidentes ofídicos, indicando a predominância do sexo masculino (61,7%), em uma faixa etária de 46 a 65 anos de idade (48,3%) (Feitosa; Oliveira, 2020). Nesse, essa maior frequência de acidentes ofídicos, principalmente botrópico, pode ser favorecida pelo comportamento não cuidadoso de homens quanto ao uso de equipamentos de proteção individual (Silveira; Machado, 2017). Resultados similares foram encontrados por Silva e colaboradores (2019) e Feitosa e colaboradores (2015).

Quando observada a população em geral, essa demorou até 7,5 horas ($5,8 \pm 1,7$ (7,5) para chegar ao serviço médico após a mordedura, havendo diferença de tempo de deslocamento entre os pacientes que sangraram [$5,9 \pm 0,9$ (6,8) horas] e os que não sangraram [$5,6 \pm 2,3$ (7,9) horas]. Em relação aos sintomas apresentados, em todos os pacientes atendidos foram relatados dor, edema local, rubor no local da picada e anormalidades na coagulação sanguínea, principalmente nos exames de Tempo de Atividade da Protrombina (TAP/TP) e Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada (TTPa/KTTp).

Ainda na análise da condição dos pacientes, foram evidenciados longos períodos entre a mordedura da serpente e a prestação de socorro médico e administração de soro antiofídico, em torno de 6 horas, devido à distância entre os locais dos acidentes e o centro de referência mais próximo (Silva et al., 2017; Silva; Bernarde; Abreu, 2015; Saraiva et al., 2012). Conforme estudo de Baldassin et al. (2021), uma parcela expressiva dos pacientes acometidos com mordedura de serpentes é atendida em até 1 hora do ocorrido (47,5%), mas alguns são atendidos

em até 6 horas (37,2%). A partir disso, pode vir a acontecer sangramentos como um dos principais sinais e sintomas que aparecem, podendo provocar a lesão, estando esses eventos associados com a composição dos venenos das serpentes.

Os mecanismos pelos quais o envenenamento botrópico resulta em trombocitopenia não são claros. Esses distúrbios são atribuídos principalmente a proteínas do veneno, como metaloproteinases e serino proteinases de veneno de serpente (Rosa et al., 2019). O endotélio faz parte de um importante sistema do corpo humano, e sua disfunção desempenha um papel crítico no envenenamento ofídico. No que diz respeito ao envenenamento por *Bothrops*, componentes específicos do veneno foram identificados como principais contribuintes para a disfunção endotelial (Rosa et al., 2019; Mota et al., 2021). Metaloproteinases (SVMPs) e serino proteinases (SVSPs) do veneno de *Bothrops* interferem na integridade e função endotelial (Rosa et al., 2019). Esses componentes do veneno podem levar à ruptura do glicocálix endotelial, uma camada protetora essencial que reveste os vasos sanguíneos, bem como induzir a apoptose das células endoteliais e romper as junções célula-célula. Conseqüentemente, a função endotelial prejudicada pode contribuir para o aumento da permeabilidade vascular, inflamação e dano tecidual, exacerbando a progressão dos distúrbios de coagulação (Asega et al., 2020).

Compreender a intrincada interação entre os componentes do veneno e a disfunção endotelial é crucial para elucidar os mecanismos que contribuem para os distúrbios da coagulação no envenenamento botrópico, e pode abrir caminho para potenciais intervenções terapêuticas. Além disso, em casos de coagulopatia por consumo induzida pelo veneno, a eficácia do antiveneno varia, enquanto a heparina se mostra ineficaz e os efeitos hematológicos podem persistir por dias a semanas, o que pode exigir doses adicionais de antiveneno (Seifert et al., 2020).

Um resultado encontrado é sobre o grau de coagulação dos pacientes, sendo que a grande maioria, cerca de 80% (n = 28) dos indivíduos, apresentaram incoagulabilidade sanguínea, enquanto apenas 7 pacientes apresentaram sangue coagulável. Demais características gerais, parâmetros laboratoriais e de coagulação foram comparados entre o grupo com sangramento, e o grupo sem sangramento. Não foi observada significância estatística com todos os parâmetros avaliados, incluindo plaquetas.

É relatado na literatura que o envenenamento botrópico comumente causa sangramento, incoagulabilidade sanguínea, trombocitopenia e disfunção plaquetária. A trombocitopenia isolada ou em combinação com outras coagulopatias devido ao envenenamento botrópico grave está associada ao aumento da mortalidade (Magalhães et al., 2022).

O envenenamento por mordedura de serpente é um problema significativo de saúde pública em muitas regiões, afetando frequentemente indivíduos em áreas rurais, onde pode ser difícil ter acesso a cuidados médicos imediatos. A gravidade da mordedura é influenciada por fatores como o tempo decorrido desde a mordedura da serpente até a internação hospitalar, e o atraso na internação pode piorar os distúrbios de coagulação. No presente estudo, verificou-se que existem grandes implicações clínicas potenciais de sintomas hemorrágicos e distúrbios de coagulação, principalmente porque o veneno botrópico é composto por uma série de toxinas que agem em conjunto, deslocando o estado de equilíbrio de vários sistemas fisiológicos, incluindo a hemostasia. Os pacientes frequentemente apresentam distúrbios hemorrágicos, como sangramento gengival, petéquias, hematúria, entre outros (Chippaux, 2017; Santoro et al., 2008; Ribeiro e Jorge, 1997). No laboratório, os níveis de fatores de coagulação, fatores inflamatórios, hematócrito, hemoglobina, eritrócitos e principalmente plaquetas estão alterados (Wellmann et al., 2020; Malaque et al., 2016).

Em relação aos parâmetros laboratoriais avaliados neste estudo, é possível perceber que todos os parâmetros, sendo eles plaquetas, leucócitos, hemoglobina, hematócrito, eritrócito, glicose, sódio, potássio, cálcio e cloreto não apresentam diferenças entre os indivíduos com e sem sangramento.

A perda de sangue pode diminuir a concentração de hemácias e, conseqüentemente, a concentração de hemoglobina, porém, ainda não podemos dizer que esses indivíduos estejam com anemia. O efeito no hematócrito pode estar associado, tanto com a hemorragia, quanto com a perda de líquido para o espaço extravascular. O processo inflamatório intenso ativa as células do sistema imune, mesmo não alterando significativamente as concentrações de leucócitos no estudo, podendo ainda diminuir o tempo de meia-vida das hemácias (Burdmann et al., 1993).

Biomarcadores endoteliais (Angiopietinas, Syndecan-1 e VCAM-1), níveis de VWF-A2 e IL-33 foram comparados entre os grupos de sangramento em cada período de internação de acordo com o uso de antiveneno (antes do uso do antiveneno, até 8h); 12 a 16 horas após o uso do antiveneno; 24 a 28 horas após o uso do antiveneno). Antes do uso do antiveneno e 24 a 28 horas após o uso, não foi observada significância estatística com nenhum biomarcador entre os grupos com, e sem sangramento. Somente no segundo momento, a IL-33 apresenta níveis reduzidos no grupo sanguíneo (64,99 [IIQ: 61,21 - 72,96] vs 76,49 [IIQ: 71,35 - 79,49], $p=0,016$) (Tabela 5).

Tabela 5 – Níveis de biomarcadores endoteliais de pacientes com envenenamento botrópico e comparações de acordo com sintoma de sangramento.

	Grupo total (n=34)	Sangramento		p*
		Não (n=17)	Sim (n=17)	
Coleta 1 (até 8 horas após a picada, sem antiveneno)				
Angiopoetin 1	7.66 (1.27 - 21.8)	11.33 (2.64 - 20.34)	7.66 (1.17 - 24.2)	0.563
Angiopoetin 2	1.5 (0.73 - 3.95)	1.1 (0.79 - 2.73)	2.73 (0.73 - 4.32)	0.394
Ang-2/Ang-1	0.19 (0.08 - 0.54)	0.14 (0.07 - 0.47)	0.27 (0.11 - 0.51)	0.231
Syndecan - 1	63.8 (50.5 - 100.7)	53.2 (46.3 - 92.6)	79.3 (53.4 - 135.4)	0.17
VCAM - 1	1105.8 (837.4 - 3096.1)	1126.8 (838.3 - 2087.2)	1775.5 (818.3 - 3612.9)	0.287
IL-33 (ng/mL)	71.2 (53.6 - 76.16)	59.48 (54.99 - 75.07)	72.71 (51.44 - 76.44)	0.697
VWF-A2	21827.2 (23.2 - 46787.3)	36.1 (16.5 - 39869.7)	25751.3 (7830.1 - 41164.2)	0.433
Coleta 2 (entre 12 e 16 horas após a picada, com antiveneno)				
Angiopoetin 1	21.52 (1.06 - 32.57)	13.13 (1.47 - 21.85)	28.75 (3.31 - 51.95)	0.231
Angiopoetin 2	1.79 (0.77 - 5.25)	1.3 (0.66 - 3.22)	3.87 (1.13 - 6.35)	0.132
Ang-2/Ang-1	0.13 (0.07 - 0.81)	0.14 (0.07 - 1.17)	0.12 (0.07 - 0.24)	0.655
Syndecan - 1	71.9 (47.3 - 95.3)	54.4 (42.6 - 79.8)	82.1 (57.1 - 110.7)	0.029
VCAM - 1	1187.1 (810 - 2004.1)	1105.8 (783.6 - 1596)	1735.8 (976.2 - 2435.5)	0.179
IL-33 (ng/mL)	72.96 (63.69 - 77.71)	76.49 (71.35 - 79.49)	64.99 (61.21 - 72.96)	0.016
VWF-A2	22474.5 (22.4 - 45068)	31091.2 (22.5 - 47353.7)	9084.2 (22.3 - 24780.4)	0.138
Coleta 3 (entre 24 e 28 horas após a picada, com antiveneno)				
Angiopoetin 1	19.47 (0.96 - 27.27)	9.54 (1.29 - 22.57)	23.6 (0.3 - 43.78)	0.427
Angiopoetin 2	1.53 (0.33 - 2.85)	1.12 (0.21 - 2.05)	2.62 (0.83 - 3.35)	0.202
Ang-2/Ang-1	0.1 (0.05 - 1.01)	0.12 (0.06 - 1.44)	0.08 (0.04 - 0.14)	0.720
Syndecan - 1	55.4 (46.1 - 76.1)	52.3 (44.6 - 70.9)	69.6 (52 - 90)	0.265
VCAM - 1	1580.5 (844.7 - 1943)	1050.1 (790 - 1754)	1676.1 (1565.9 - 2559.8)	0.104
IL-33 (ng/mL)	74.87 (67.3 - 78.31)	77.46 (62.6 - 79.21)	72.1 (68.55 - 77.02)	0.408
VWF-A2	11956.4 (9.6 - 28623.5)	12441.9 (7.9 - 42499.2)	11693.5 (2714.6 - 22919.5)	0.820

Dados contínuos expressos em mediana e intervalo interquartil entre parênteses.

* Foi utilizado o teste de Mann-Whitney.

Com base nos dados apresentados na Tabela 5, pode-se observar uma diferença nos níveis de Syndecan-1 entre os grupos analisados na coleta 2. No grupo controle, os níveis médios de Syndecan-1 foram de 71.9 (47.3 - 95.3), enquanto no grupo sem sangramento, os níveis foram ligeiramente mais baixos, com uma média de 54.4 (42.6 - 79.8). Já no grupo com sangramento, os valores de Syndecan-1 foram significativamente mais altos, atingindo uma média de 82.1 (57.1 - 110.7) com um valor de p de 0.029. Esses resultados sugerem que o Syndecan-1 pode desempenhar um papel importante na resposta ao envenenamento botrópico, especialmente em relação ao desenvolvimento de sangramento.

Na comparação pareada entre os períodos de acordo com o uso do antiveneno botrópico dos níveis dos biomarcadores endoteliais VWF-A2 e IL-33 em pacientes com ou sem sintomas hemorrágicos, observou-se que no grupo hemorrágico a angiopoietina-1 aumentou

significativamente entre 12-28h em relação ao período anterior ao uso do soro antiofídico ($p=0,008$) (Figura 10). A angiopoietina-2 também aumentou, mas apenas no período entre 12-16h em relação ao período anterior ao uso do soro antiveneno ($p<0,001$) e permaneceu em níveis elevados até o último período (Figura 11). Além disso, o VWF-A2 diminuiu no período entre 12-16h em relação ao período anterior ao uso do soro antiveneno e voltou a aumentar no último período ($p=0,008$) (Tabela 6) (Figura 12). Em relação ao grupo sem sangramento, não foram observadas diferenças estatísticas entre os períodos avaliados para todos os níveis de biomarcadores (Figura 10, 11, 12).

Tabela 6 – Comparação pareada entre os períodos de acordo com o uso do antiveneno dos níveis de biomarcadores endoteliais em pacientes com ou sem sintoma hemorrágico.

	Coleta 1 (até 8 horas após a picada, sem antiveneno)	Coleta 2 (entre 12 e 16 horas após a picada, com antiveneno)	Coleta 3 (entre 24 e 28 horas após a picada, com antiveneno)	p*
Sem sangramento				
Angiopoetin 1	11.33 (2.64 - 20.34)	13.13 (1.47 - 21.85)	9.54 (1.29 - 22.57)	1.000
Angiopoetin 2	1.1 (0.79 - 2.73)	1.3 (0.66 - 3.22)	1.12 (0.21 - 2.05)	0.223
ANG2_ANG1_ratio	0.14 (0.07 - 0.47)	0.14 (0.07 - 1.17)	0.12 (0.06 - 1.44)	0.607
Syndecan - 1	53.2 (46.3 - 92.6)	54.4 (42.6 - 79.8)	52.3 (44.6 - 70.9)	0.257
VCAM - 1	1126.8 (838.3 - 2087.2)	1105.8 (783.6 - 1596)	1050.1 (790 - 1754)	0.526
IL33_ngmL	59.48 (54.99 - 75.07)	76.49 (71.35 - 79.49)	77.46 (62.6 - 79.21)	0.368
VWF-A2	36.1 (16.5 - 39869.7)	31091.2 (22.5 - 47353.7)	12441.9 (7.9 - 42499.2)	0.070
Com sangramento				
Angiopoetin 1	7.66 (1.17 - 24.2)	28.75 (3.31 - 51.95)	23.6 (0.3 - 43.78)	0.008
Angiopoetin 2	2.73 (0.73 - 4.32)	3.87 (1.13 - 6.35)	2.62 (0.83 - 3.35)	<0.001
ANG2_ANG1_ratio	0.27 (0.11 - 0.51)	0.12 (0.07 - 0.24)	0.08 (0.04 - 0.14)	0.232
Syndecan - 1	79.3 (53.4 - 135.4)	82.1 (57.1 - 110.7)	69.6 (52 - 90)	0.168
VCAM - 1	1775.5 (818.3 - 3612.9)	1735.8 (976.2 - 2435.5)	1676.1 (1565.9 - 2559.8)	0.368
IL33_ngmL	72.71 (51.44 - 76.44)	64.99 (61.21 - 72.96)	72.1 (68.55 - 77.02)	0.049
VWF-A2	25751.3 (7830.1 - 41164.2)	9084.2 (22.3 - 24780.4)	11693.5 (2714.6 - 22919.5)	0.008

Dados contínuos expressos em mediana e intervalo interquartil entre parênteses.

* Foi utilizado o teste de Friedman e $p<0,016$ foi considerado significativo para evitar erro tipo I.

$p<0,016$ entre coleta 2 vs coleta 1.

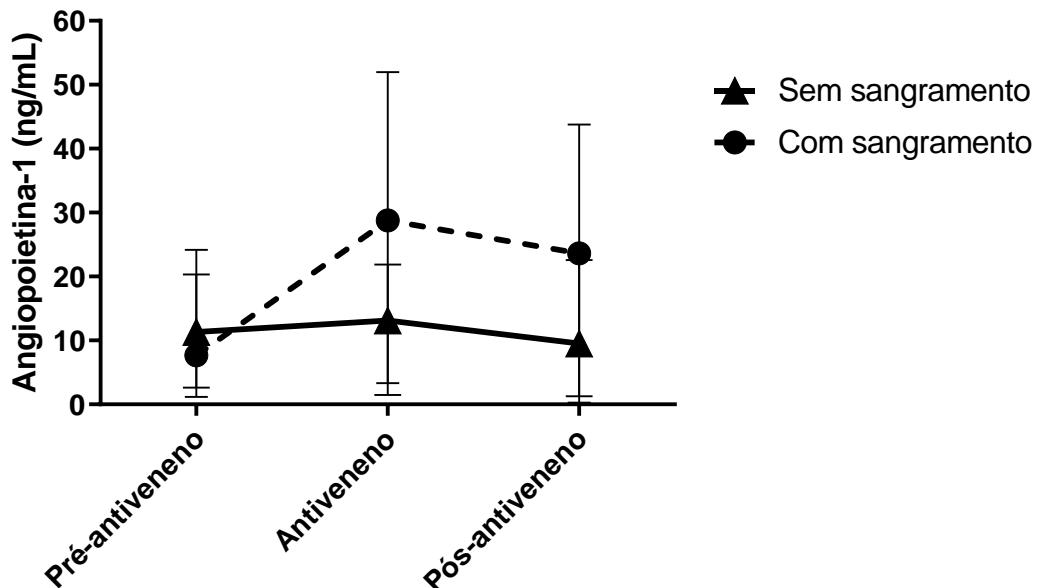
A IL-33 reduziu no período entre 12-16h no grupo com sangramento. A IL-33 é produzida em células endoteliais e epiteliais, e através de fibroblastos durante processos hemostáticos e inflamatórios, e é expressa em níveis fisiológicos em órgãos como coração, pulmões, pele, fígado, baço, gânglios linfáticos, entre outros. Além de suas funções de modulação da resposta imune, a IL-33 também atua nas respostas aos linfócitos T auxiliares dos tipos 1 e 17 (Th1 e Th17), induzindo a produção de citocinas anti-inflamatórias (Kunisch

et al., 2012). As células endoteliais contribuem para a circulação do VWF e para a modulação das respostas hemostáticas (Randi; Laffan, 2017).

Desta forma, o manejo clínico do envenenamento resultante de mordeduras da serpente *Bothrops* continua sendo uma preocupação, especialmente dada a apresentação variada de sintomas e o potencial para coagulopatia com risco de vida. Pela primeira vez, o presente estudo mostra o envolvimento do VWF-A2 e de biomarcadores endoteliais em pacientes com envenenamento botrópico que apresentaram sintomas de sangramento espontâneo e o papel do tratamento antiveneno, principalmente o equilíbrio do VWF-A2 e das angiopoietinas que foi influenciado pelo tratamento antiveneno apontando possíveis vias de ação das toxinas botrópicas para causar distúrbios de coagulação. O acompanhamento dos biomarcadores endoteliais e do VWF-A2 durante todo esse processo pode fornecer informações que poderiam contribuir para estratégias terapêuticas mais eficazes para o envenenamento por picada de serpente.

A figura 15 mostra os níveis de angiopoietina-1 antes e após a administração do antiveneno comparado com os grupos de pacientes que apresentaram e não apresentaram sangramento.

Figura 15. Níveis de angiopoietina-1 entre 12-28h antes e após a administração do antiveneno.

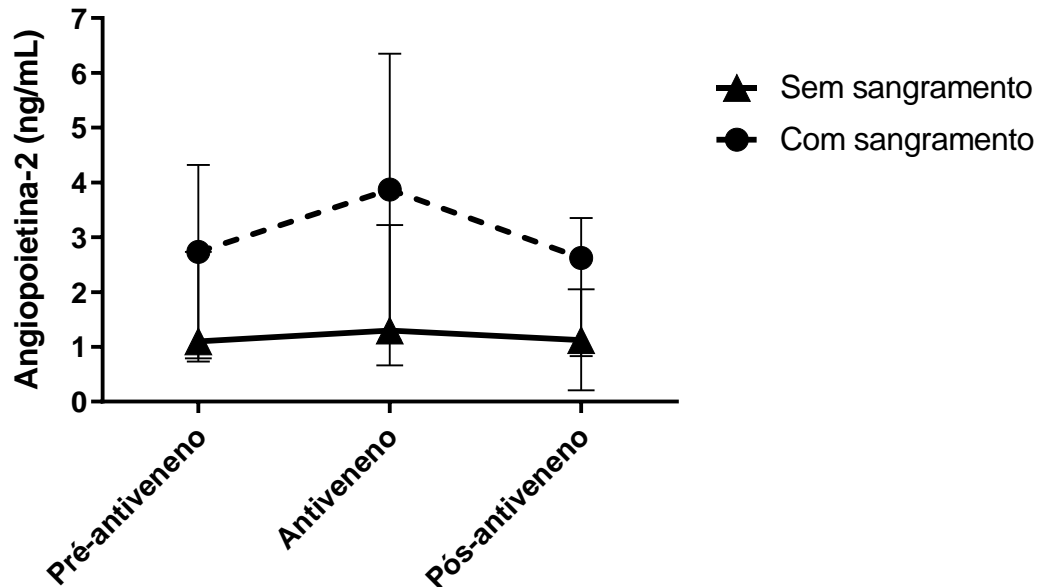


Fonte: Próprio autor (2024).

Conforme mostra a figura 15, a angiopoietina-1 está elevada entre 12-28h em relação ao período anterior ao uso do antiveneno. A Ang-1 funciona para promover a reorganização das células endoteliais e manter a integridade estrutural dos vasos sanguíneos, principalmente

através do recrutamento e interação com células periendothelias (Augustin et al., 2009). Além disso, inibe a ativação da barreira endotelial vascular, reduzindo assim, o sangramento e a migração de leucócitos induzida por agentes inflamatórios (Kappou et al., 2015).

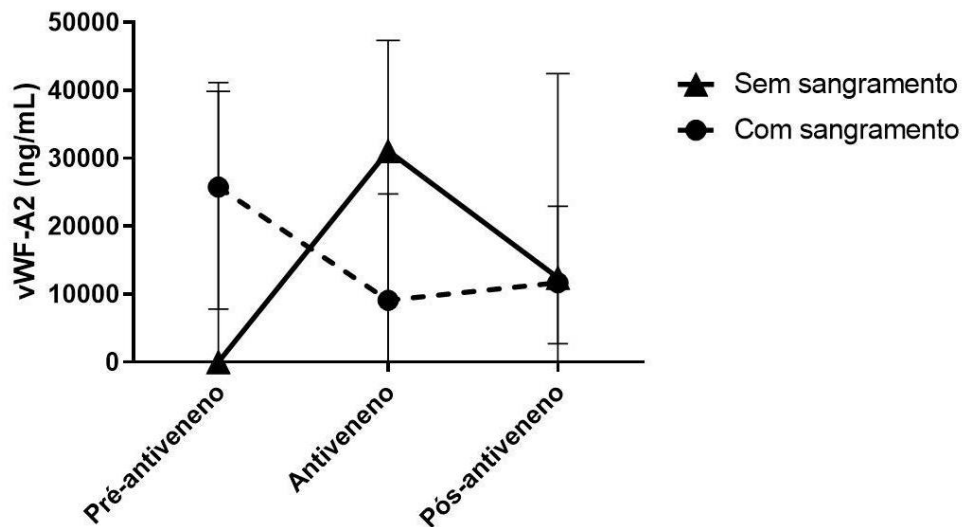
Figura 16. Níveis de angipoiatina-2 entre 12-16h antes e após a administração do antiveneno.



Fonte: Próprio autor (2024).

Conforme mostra a figura 16, a angipoiatina-2 também está alterada, mas apenas no período entre 12-16 horas anteriores ao uso do soro antiofídico, permanecendo aumentada até o último período. A Ang-2 atua como antagonista das ações da Ang-1, rompendo as conexões entre o endotélio e as células perivasculares, promovendo morte e regressão vascular. Além disso, a Ang-2 torna as células endoteliais mais acessíveis ao VEGF, o que promove maior neovascularização (Scharpfenecker et al., 2005). Porém, é importante destacar que se houver estímulos angiogênicos insuficientes, a Ang-2 induz a morte das células endoteliais (Dunk et al., 2000).

Figura 17. Níveis de fator de von Willebrand (VWF-A2) entre 12-16h antes e após a administração do antiveneno.



Fonte: Próprio autor (2024).

Conforme mostra a figura 17, o VWF-A2 diminui dentro de 12 a 16 horas após a administração do antiveneno. Assim, a formação do tampão plaquetário depende da função do fator de von Willebrand, pois é essencial na hemostasia primária, agindo unindo as ligações das plaquetas ao endotélio, promovendo a agregação plaquetária (Chen, 2017). Um fator importante é que após a administração do soro antibotrópico, os níveis devem ser regulados após 6 horas (Santoro et al., 2008; Santoro; Sano-Martins; Chamone, 2008). Portanto, quanto maior o tempo após uma mordedura de serpente que o paciente leva para chegar ao hospital, maior será a gravidade, pois pode contribuir para um maior sangramento e, conseqüentemente, também para a coagulopatia causada pela serpente.

Os venenos das serpentes do gênero *Bothrops* sp. são compostos, principalmente, por fosfolipases, principalmente PLA2, metaloproteases, serinoproteases e L-aminoácido proteases (Santos et al., 2016; Azevedo et al., 2019). Esses componentes afetam processos fisiológicos, homeostáticos, provocando, por exemplo, a destruição do endotélio e das membranas dos capilares dos vasos sanguíneos, provocando extravasamento de líquido para o espaço extracelular, afetando a circulação corporal e diminuindo a perfusão para órgãos como os rins (Aye et al., 2018).

O VWF-A2 possui especificidade para o domínio A2 (anti-A2), domínio que é clivado por metaloproteases produzidas pelo veneno botrópico. Tais marcadores foram utilizados por serem os principais marcadores das doenças endoteliais, e de coagulação causadas principalmente por *Bothrops erythromelas* (Starke et al., 2011).

Portanto, o aumento nos níveis de VWF-A2 pode ter implicações críticas no contexto do envenenamento. A angiogênese desempenha um papel crucial na recuperação dos tecidos após o envenenamento, ajudando a restaurar o suporte sanguíneo nas áreas afetadas. Porém, quando os níveis de VWF-A2 estão elevados, essa proteína pode levar a uma maior tendência à formação de coágulos, que podem obstruir vasos e prejudicar o processo de angiogênese. Em pacientes vítimas de intoxicação, essa dificuldade pode resultar em complicações adicionais, como necrose localizada e disfunção do órgão afetado, intensificando a gravidade do sangramento (Kuniyoshi, 2017; Starke et al., 2011).

A atuação contínua das toxinas do veneno promove o consumo exacerbado de fibrinogênio, além de outros fatores plasmáticos como o II, V e VIII. No entanto, níveis acentuados de antitrombina, anticoagulante natural da trombina, são encontrados no sangue desses indivíduos (Seidel et al., 2017). A normalização dos níveis séricos dos fatores de coagulação tende a se regularizar após o tratamento soroterápico específico, nesse caso, antibotrópico, porém para alguns fatores como V, VIII e II, o retorno desses níveis ocorre somente após 24 horas da neutralização do veneno, podendo chegar ainda a 36 horas para recuperação completa desses indivíduos (Pasotti et al., 2013; Favalaro; Oliver, 2017; Seidel et al., 2017; Yamashita et al., 2014).

O VWF-A2 tem uma importante participação na hemostasia primária na ligação de plaquetas, principalmente no auxílio da formação do tampão plaquetário. Ele atua no processo hemostático, proporcionando adesão plaquetária por ligação ao colágeno exposto do tecido subendotelial após injúria vascular, contribuindo também para a agregação plaquetária (Lopes; Soares; Maeda, 2002; Ott et al., 2010; Laffan; Manning, 2011).

Um estudo recente demonstrou a menor eficácia do soro antibotrópico fabricado no Brasil em neutralizar algumas toxinas, principalmente as do tipo serinoproteases. O veneno da serpente *B. erythromelas* é capaz de hidrolisar a maioria dos peptídeos ativos, com exceção para as encefalinas, sendo mais susceptíveis a hidrólise por serinopeptidases ao invés de metalopeptidases, que são os constituintes de maior abundância neste veneno (Nicolau et al., 2017; Kuniyoshi, 2017). Além disso, é importante destacar que a efetividade do soro vai depender de outros fatores que controlam a composição do veneno, como a alimentação, a idade e o habitat no qual a serpente se encontra (Seabra Filho et al., 2022; Resende et al., 2021; Santos et al., 2016; Cunha, 2017).

O estudo analisou alterações longitudinais nos níveis de angiopoietina-1, angiopoietina-2 e VWF-A2 em dois grupos distintos: aqueles que sofreram sangramento e aqueles que não tiveram sangramento após envenenamento. Os resultados sugerem que variações nos níveis

destes biomarcadores podem desempenhar um papel crucial na patogênese do sangramento induzido por *Bothrops erythromelas*. Alterações significativas nos níveis de angiopoietina-1 e angiopoietina-2 podem indicar desequilíbrios na regulação da permeabilidade vascular e também no processo inflamatório. Portanto, a análise do VWF-A2, que é uma proteína essencial para a coagulação do sangue, pode fornecer informações cruciais sobre a capacidade do corpo de conter esse sangramento induzido por serpentes.

Portanto, compreender e analisar os níveis de biomarcadores pode ajudar a identificar quais biomarcadores terão bons prognósticos, podendo ser usados para prever a gravidade da intoxicação e também orientar a tomada de decisão clínica, permitindo tratamentos mais eficazes e personalizados. Além disso, esta análise longitudinal pode permitir o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas que visem modular os níveis de biomarcadores, melhorando potencialmente o manejo clínico e os resultados dos pacientes afetados por esta intoxicação.

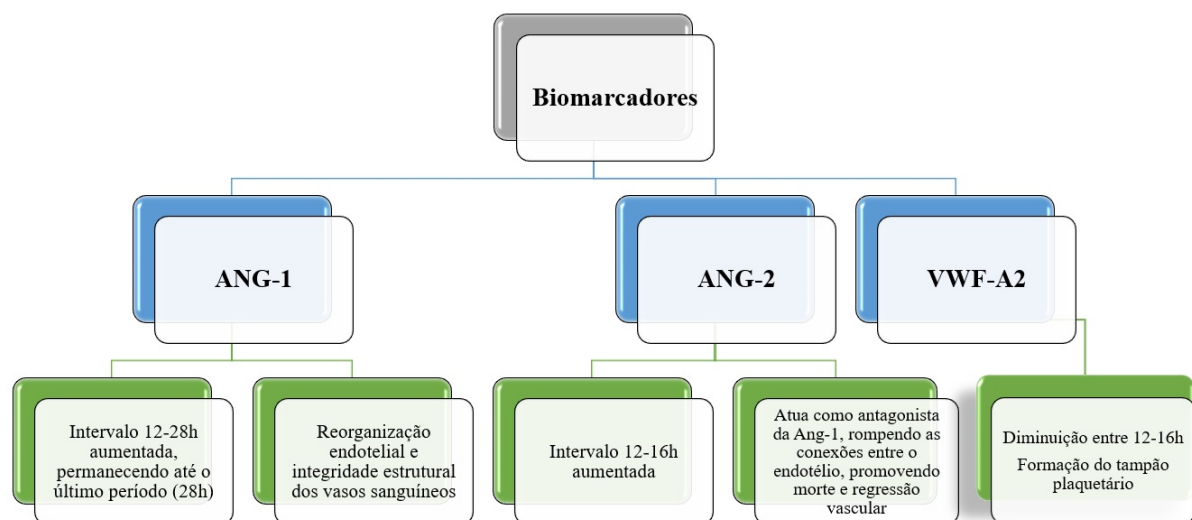
Finalmente, biomarcadores como angiopoietina-1, angiopoietina-2 e VWF-A2 apresentam notável potencial para revolucionar as intervenções terapêuticas e clínicas relacionadas ao envenenamento por serpentes do gênero *Bothrops erythromelas*. Eles desempenham um papel importante na regulação do sistema vascular e na coagulação sanguínea. Além disso, a detecção e quantificação podem fornecer informações valiosas sobre o estado de saúde do paciente, ou seja, quando monitorados, os profissionais de saúde podem adaptar as melhores estratégias terapêuticas de forma personalizada, otimizando o tratamento e melhorando significativamente os resultados clínicos dos pacientes.

Os biomarcadores angiopoietina-1, angiopoietina-2 e VWF-A2 têm potencial para aprimorar as intervenções terapêuticas em casos de envenenamento por serpentes *Bothrops erythromelas*. Entre os grupos estudados, aqueles sem sangramento mostraram níveis menores de syndecan-1 na segunda coleta, enquanto o grupo com sangramento teve níveis menores de IL-33 na terceira coleta. Comparando as coletas, os biomarcadores angiopoietina-2, syndecan-1 e VWF-A2 apresentaram diferenças estatisticamente significativas, possivelmente devido à falta de neutralização do veneno após a administração de soro antiofídico, sugerindo áreas de estudo futuro. O grupo com sangramento teve níveis significativamente elevados de biomarcadores como angiopoietina-1, angiopoietina-2, IL-33 e vWFA2, correlacionados com exames de hemoglobina, hematócrito e eritrócitos, indicando uma relação com a coagulopatia induzida pelo veneno da *Bothrops*, caracterizada por anormalidades em testes de coagulação em grande parte dos indivíduos estudados.

Em resumo, o trabalho poderá possibilitar a incorporação futura destes biomarcadores na prática clínica, melhorando a eficácia dos tratamentos após acidentes por serpentes do gênero *Bothrops*, evitando a evolução do quadro para sangramento e morte. Além disso, o presente estudo faz uma avaliação no pré e pós-administração do antiveneno, podendo ainda auxiliar no ajuste da dose administrada.

Os principais achados relacionados aos biomarcadores são representados de forma esquemática de acordo com a figura abaixo.

Figura 18 – Resumo geral dos achados dos biomarcadores no estudo.



Fonte: Próprio autor (2024).

LIMITAÇÕES DO ESTUDO

6 LIMITAÇÕES DO ESTUDO

- Número limitado de pacientes, devido estudo ser unicêntrico;
- Avaliação do desfecho dos pacientes após alta hospitalar (estudo follow-up);
- Necessários estudos multicêntricos a longo prazo com a finalidade de comparar com outras serpentes do mesmo gênero e de outros gêneros.

CONCLUSÃO

7 CONCLUSÃO

- Os resultados sugerem que o veneno botrópico pode desencadear uma resposta sistêmica que afeta tanto a coagulação sanguínea quanto o funcionamento endotelial.
- O grupo com sangramento, e sem sangramento apresentaram características sociodemográficas semelhantes entre si. O grupo com sangramento apresentou um nível menor de hemoglobina e eritrócito, mas ainda não se caracterizando como anemia grave.
- Novas biomoléculas são uma importante ferramenta diagnóstica no envenenamento por serpentes do gênero *Bothrops erythromelas*.
- Os biomarcadores angiopoietina-1, angiopoietina-2 e VWF-A2 apresentam notável potencial para melhorar as intervenções terapêuticas e clínicas relacionadas ao envenenamento por serpentes *Bothrops erythromelas*.
- Quando comparados ambos os grupos, o grupo sem sangramento apresentou índices menores de syndecan-1 na coleta 2, enquanto o grupo com sangramento apresentou níveis menores de IL-33 na coleta 3.
- Quando comparadas as coletas, os biomarcadores angiopoietina-2, syndecan-1 e VWF-A2 apresentaram níveis estatísticos de significância, ocasionados pela não neutralização do veneno da serpente após administração de soro antibotrópico, sendo um importante alvo de estudos posteriores.
- O grupo com sangramento apresentou níveis estatísticos de significância para os biomarcadores angiopoietina-1, angiopoietina-2, IL-33 e vWFA2, os quais aumentaram em comparação com o grupo que não apresentou sangramento. Esses níveis foram correlacionados com os exames de hemoglobina, hematócrito e eritrócito.
- A coagulopatia induzida pelo veneno da *Bothrops*, caracterizada por TAP e TTPa anormais e/ou incoaguláveis em grande parte dos indivíduos foi elevada.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os distúrbios endoteliais e de coagulação são manifestações clínicas observadas após envenenamento por serpentes do gênero *Bothrops*, e o uso do soro antiofídico é uma medida essencial no tratamento. No entanto, mesmo com o tratamento adequado, podem surgir complicações, incluindo alterações no sistema de coagulação e reações adversas ao antiveneno, aumentando a gravidade do quadro clínico.

Os biomarcadores angiopoietina-1, angiopoietina-2 e VWF-A2 poderão auxiliar nas intervenções terapêuticas relacionadas ao envenenamento por serpentes do gênero *Bothrops*, otimizando o tratamento, e evitando evolução para quadro de sangramento grave.

Além disso, o estudo avaliou o envenenamento por serpentes do gênero *Bothrops* no pré e pós-administração do antiveneno. A monitorização contínua e cuidados intensivos durante o tratamento desses pacientes é importante, devido à possibilidade de distúrbios endoteliais e coagulopatias. A compreensão dos mecanismos fisiopatológicos envolvidos nessas complicações é essencial para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas mais eficazes.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

- AKCAY, A.; NGUYEN, Q.; HE, Z.; TURKMEN, K.; LEE, D. W.; HERNANDO, A. A.; ALTMANN, C.; TOKER, A.; PACIC, A.; LJUBANOVIC, D. G.; JANI, A.; FAUBEL, S.; EDELSTEIN, C. L. IL-33 Exacerbates acute Kidney injury. *Journal of the American Society of Nephrology*, v. 22, p. 2057-2067, 2016.
- ALBUQUERQUE, P. L. M. M.; PAIVA, J. H. H. G. L.; MARTINS, A. M. C.; MENESES, G. C.; SILVA, G. B. D.; BUCKLEY, N.; DAHER, E. D. F. Clinical assessment and pathophysiology of Bothrops venom-related acute kidney injury: a scoping review. **Journal Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases**, [s.l.], v. 26, p. 1-17, 2020.
- ALBUQUERQUE, P. L. M. M.; PAIVA, J. H. H. G. L.; MARTINS, A. M. C.; MENESES, G. C.; SILVA, G. B. D.; BUCKLEY, N.; DAHER, E. D. F. Clinical assessment and pathophysiology of Bothrops venom-related acute kidney injury: a scoping review. **Journal Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases**, [s.l.], v. 26, p. 1-17, 2020.
- ALVES EC, et al. Predicting acute renal failure in Bothrops snakebite patients in a tertiary reference center, Western Brazilian Amazon. *PLoS One*, 2018; 13(8): e0202361.
- ALVES, E. C.; SACHETT, J. A. G.; SAMPAIO, V. S.; SOUSA, J. D. B.; OLIVEIRA, S. S.; NASCIMENTO, E. F. D.; SANTOS, A. D. S.; DA SILVA, I. M.; DA SILVA, A. M. M.; WEN, F. H.; COLOMBINI, M.; DE LACERDA, M. V. G.; MONTEIRO, W. M.; FERREIRA, L. C. L. Predicting acute renal failure in Bothrops snakebite patients in a tertiary reference center, Western Brazilian Amazon. **PLoS One**, [s.l.], v. 13, n. 8, p. 1-16, 2018.
- AMORIM FG, et al. New findings from the first transcriptome of the Bothrops moojeni snake venom gland. *Toxicon*, 2017; 140: 105-117.
- ANSTADT, Mark P. et al. Relapse of thrombotic thrombocytopenic purpura associated with decreased VWF cleaving activity. *The American journal of the medical sciences*, v. 323, n. 5, p. 281-284, 2002.
- ASEGA, A.F.; MENEZES, M.C.; TREVISAN-SILVA, D.; CAJADO-CARVALHO, D.; BERTHOLIM, L.; OLIVEIRA, A.K.; ZELANIS, A.; SERRANO, S.M.T. Cleavage of proteoglycans, plasma proteins and the platelet-derived growth factor receptor in the hemorrhagic process induced by snake venom metalloproteinases. **Sci Rep** [s.l.], v. 10, n. 1, p. 12912, 2020.
- AUGUSTIN, H. G. et al. Control of vascular morphogenesis and homeostasis through the angiopoietin-Tie system. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, v. 10, n. 3, p. 165-177, March 2009. ISSN DOI: 10.1038/nrm2639.
- AYE, K.P.; THANACHARTWET, V.; SOE, C.; DESAKORN, V.; CHAMNANCHANUNT, S.; SAHASSANANDA, D.; SUPAPORN, T.; SITPRIJA, V. Predictive Factors for Death After Snake Envenomation in Myanmar. **Wilderness & Environmental Medicine**, [S.L.], v. 29, n. 2, p. 166-175, jun. 2018.

AZEVEDO, F. V. P. V et al. Antitumor and antimetastatic effects of PLA 2-BthTX-II from Bothrops jararacussu venom on human breast cancer cells. *Int J Biol Macromol*, v. 135, p. 261-273, 2019a. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31128190/> Acesso em: 16 jun. 2022.

BALDASSIN, Jhéssica Cristina Scarduelli; FRANCISCO, Sabrina Rakli; SILVA, Ralf Willian da; MOURA, Roudom Ferreira; POMBO, Ana Paula Miranda Mundim. PERFIL EPIDEMIOLÓGICO E DINÂMICA DA DISTRIBUIÇÃO DOS ACIDENTES OFÍDICOS EM HUMANOS NO ESTADO DE SÃO PAULO. **Revista Brasileira de Geografia Médica e da Saúde**, São Paulo, v. 17, n. 2, p. 216-226, abr. 2021.

BAUDOU, F. G.; RODRIGUEZ, J. P.; FUSCO, L.; DE ROODT, A. R.; DE MARZI, M. C.; LEIVA, L. South American snake venoms with abundant neurotoxic components. Composition and toxicological properties. A literature review. **Acta Tropica**, [s.l.], v. 224, p. 1-19, 2021.

BEDRAOUI, A.; SUNTRAVAT, M.; MEJJAD, S.; ENEZARI, S.; OUKKACHE, N.; SANCHEZ, E. E.; GALAN, J. A.; FATIMY, R.; DAOUDA, T. Therapeutic potential of snake venom: Toxin distribution and opportunities in deep learning for novel drug Discovery. **Medicine in Drug Discovery**, [s.l.], v. 21, p.1-11, 2024.

BERTOLOZZI M.R., SCATENA C.M. & FRANCA F.O. (2015) Vulnerabilities in snakebites in São Paulo, Brazil. *Revista Saúde Pública*, 49: 82.

BOCHNER R., FISZON J.T. & MACHADO C. (2015) A Profile of snakebites in Brazil, 2001 to 2012. *Journal of Clinical Toxicology*, 4: 194.

BOCIAN, A.; HUS, K. K. Antibacterial properties of snake venom components. **Chemical Papers**, [s.l.], v. 74, p. 407–419, 2020.

BRASIL, 2022. Epidemio- Ministério Da Saúde, SVS – Sistema De Informação De Agravos De Notificação – SINAN Net. Acesso em 22 nov. 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Especializada e Temática. Manual de diagnóstico laboratorial das Coagulopatias Hereditárias e Plaquetopatias [recurso eletrônico] / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Especializada e Temática. – Brasília: Ministério da Saúde, 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Especializada. Perfil das coagulopatias hereditárias no Brasil: 2007 / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Especializada. – Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2008.

BRITO, G. M. C. Relação Neutrófilos/Linfócitos e Relação Plaquetas/Linfócitos como marcadores de inflamação em pacientes renais crônicos não dialíticos. Dissertação (Mestrado em Saúde do Adulto) – Universidade Federal do Maranhão. 2019.

BURDMANN, E.A.; WORONIK, V.; PRADO, E.B.A.; ABDULKADER, R.C.; SALDANHA, L.B.; BARRETO, O.C.O.; MARCONDES, M. Snake-bite induced acute renal failure: an experimental model. *Am. Soc. Trop. Med. Hyg.*, v.48, n.1, p.82-88, 1993.

CAMACHO, E.; RAMÍREZ-VARGAS, G.; VARGAS, K.; RUCAVADO, A.; ESCALANTE, T.; VARGAS, M.; SEGURA, Á.; ARGÜELLO, I.; CAMPOS, M.; GUERRERO, G.; MÉNDEZ, M. L.; GUTIÉRREZ, J. M. Neutralization, by a polyspecific antivenom, of the coagulopathy induced by the venom of *Bothrops asper*: Assessment by standard coagulation tests and rotational thromboelastometry in a murine model. **Toxicon**, [s.l.], v. 234, p. 1-9, 2023.

CAMPOS, N. G. et al. Effects of respiratory muscle training on endothelium and oxidative stress biomarkers in hemodialysis patients: A randomized clinical trial. *Respiratory Medicine*, v. 134, n. October 2017, p. 103–109, 2018.

CASEWELL, N. R. WÜSTER, W.; VONK, F. J.; HARRISON, R. A. FRY, B. G. Complex cocktails: the evolutionary novelty of venoms. **Trends in Ecology and Evolution**, [s.l.], v. 28, n. 4, p. 219-29, 2013.

CASEWELL, N. R. WÜSTER, W.; VONK, F. J.; HARRISON, R. A. FRY, B. G. Complex cocktails: the evolutionary novelty of venoms. **Trends in Ecology and Evolution**, [s.l.], v. 28, n. 4, p. 219-29, 2013.

CASTMAN, G., A. B. Federici, et al. (2003). "Von Willebrand's disease in the year 2003: towards the complete identification of gene defects for correct diagnosis and treatment." *Haematologica* 88(1): 94-108.

CASTRO, I. Estudo da toxicidade das peçonhas crotálicas e botrópicas, no acidente ofídico, com ênfase a toxicidade renal. *O Mundo da Saúde*, v. 30, n.4, p. 644-653, 2006.

CASTRO, Manuel Carlos Martins. Hemodiafiltração on-line pós-dilucional de alto volume: qual sua real importância na doença renal crônica? **Braz. J. Nephrol. (J. Bras. Nefrol.)**, São Paulo, v. 2, n. 44, p. 238-243, fev. 2022.

CAVALCANTE, J. S.; BORGES, DA SILVA, W. R. G.; DE OLIVEIRA, L. A.; BRITO, I. M. C.; MULLER, K. S. J.; VIDAL, I. S.; DOS SANTOS, L. D.; JORGE, R. J. B.; ALMEIDA, C.; DE LIMA, M. BICHO, C. Blood plasma proteome alteration after local tissue damage induced by *Bothrops erythromelas* snake venom in mice. **Journal of Proteomics**, [s.l.], v. 269, p. 1-16, 2022.

CAYROL, C.; GIRARD, J. P. Interleukin 33 (IL-33): A nuclear cytokine from the IL-1 family. *Wiley Immunological Reviews*, v. 281, p. 154-168, 2018.

CEARÁ, S. DA S. DO. Acidentes por animais peçonhentos. **Boletim epidemiológico**, v. Junho, p. 1–8, 2016.

CHAN BCL, LAM CWK, TAM LS, WONG CK. IL33: Roles in Allergic Inflammation and Therapeutic Perspectives. *Front Immunol.* 2019 Mar 4; 10:364.

CHANG, J. F. et al. High soluble vascular cell adhesion molecule-1 concentrations predict long-term mortality in hemodialysis patients. *International Urology and Nephrology*, v. 45, n. 6, p. 1693–1701, dez. 2013.

CHEN, W. Y.; LI, L. C.; YANG, J. L. Emerging roles of IL-33/ST2 axis in renal diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 18, n. 783, p. 1-15, 2017.

CHIPPAUX, J.P. Incidence and mortality due to snakebite in the Americas. **PLoS Negl Trop Dis.** [s.l.], v. 11, n. 6, e0005662, p. 1-39, 2017.

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

COSTA H.C., GUEDES T.B. & BERNILS R.S. (2021) Lista de répteis do Brasil: padrões e tendências. *Herpetologia Brasileira*, 10(3): 111–279.

CUNHA LER. Soros antiofídicos: história, evolução e future. *Journal Health NPEPS*. 2017; 2(Supl.1):1-4.

EDELSTEIN, C. L. **Acute Kidney Injury**: Pathogenesis, Diagnosis and Management. In: Schrier RW. *Renal and Electrolyte Disorders*. 8 ed. China: Wolters Kluwer, 2018. p. 325-400. ESCALANTE, T.; RUCAVADO, A.; FOX, J. W.; GUTIÉRREZ, J. M. Key events in microvascular damage induced by snake venom hemorrhagic metalloproteinases. **Journal of Proteomics**. [s.l.], v. 74, n. 9, p. 1781-94, 2011.

ESTEVIÃO-COSTA, M. I.; SANZ-SOLER, R.; JOHANNINGMEIER, B.; EBLE, J. A. Snake venom components in medicine: From the symbolic rod of Asclepius to tangible medical research and application. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, [s.l.], v. 104, p. 94-113, 2018.

FAGIANI, E.; CHRISTOFORI, G. Angiopoietins in angiogenesis. *Cancer Letters*, v. 328, n. 1, p. 18–26, 2013.

FAVALORO, E. J.; OLIVER, S. Evaluation of a new comercial von Willebrand fator multimer assay. *Haemophilia*. 2017; 23:e373-e7.

FEITOSA A.K. & OLIVEIRA C.W. (2020) Perfil agrossocioeconômico de produtores rurais na região metropolitana do Cariri cearense. *Revista Geonorte*, 11(38): 186–199.

FEITOSA E.S., SAMPAIO V., SACHETT J., CASTRO D.B., NORONHA M., LOZANO J.L., MUNIZ E., FERREIRA L.C., LACERDA M.V. & MONTEIRO W.M. (2015) Snakebites as a largely neglected problem in the Brazilian Amazon: highlights of the epidemiological trends in the State of Amazonas. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 48(1): 34–41.

FIEDLER, U. et al. The Tie-2 ligand Angiopoietin-2 is stored in and rapidly released upon stimulation from endothelial cell Weibel-Palade bodies. *The American Society of Hematology*, v. 103, n. 11, p. 4150–4157, 2004.

Fundação Oswaldo Cruz/Centro de Informação Científica e Tecnológica/Sistema Nacional de Informações Tóxico-Farmacológicas. *Manual de Preenchimento da Ficha de Notificação e de Atendimento. Centros de Assistência Toxicológica* Rio de Janeiro: FIOCRUZ/CICT/SINITOX; 2009.

GEUS, H. R. et al. The cardiac surgery-associated neutrophil gelatinase-associated lipocalin (CSA-NGAL) score: A potential tool to monitor acute tubular damage. *J Thorac Cardiovasc Surg*, v. 151, n. 6, p. 1476-81, Jun 2016.

GIANNINI, T. C. et al. Desafios atuais da modelagem preditiva de distribuição de espécies. *Rodriguésia*, v. 63, n. 3, p. 733-749, 2012.

GILL, N.; NALLY, J. V.; FATICA, R. A. Renal Failure Secondary to Acute Tubular Necros: Epidemiology, Diagnosis and Management. *Chest* 2005, 128:2847-63.

GUNGOR, O.; UNAL, H. U.; GUCLU, A.; GEZER, M.; EYLLETEN, T.; GUZEL, F. B.; ALTUNOREN, O.; ERKEN, E.; OGUZ, Y.; KOCYLGIT, I.; YILMAZ, M. L. IL-33 and ST2 levels in chronic kidney disease: Associations with inflammation, vascular abnormalities, cardiovascular events, and survival. *Journal Plos One*, v. 12, n. 6, p. 1-14, 2017.

GUTIÉRREZ, J. M.; CALVETE, J. J.; HABIB, A. G.; HARRISON, R. A.; WILLIAMS, D. J.; WARRELL, D. A. Snakebite envenoming. **Nat Rev Dis Primers**. [s.l.], v. 14, n. 3, p. 17063, 2017.

IMHOF, B. A.; AURRAND-LIONS, M. Angiogenesis and inflammation face off. *Nature Medicine*, v. 12, p. 171, 1 fev. 2006.

INSTITUTO BUTANTAN. Animais venenosos: serpentes, anfíbios, aranhas, escorpiões, insetos e lacraias/ Organizado por Luciana M. Monaco; Fabíola Crocco Meireles; Maria Teresa G. V. Abdullatif. - 2. ed. rev. ampl. - São Paulo: Publicações Educativas, 2017. 40 p.

Instituto Butantan. Entenda por que a OMS quer reduzir pela metade os casos de envenenamento por picada de cobra até 2030. 2023. Disponível em: <https://butantan.gov.br/noticias/entenda-por-que-a-oms-quer-reduzir-pela-metade-os-casos-de-envenenamento-por-picada-de-cobra-ate-2030>. Acesso em 11/08/2024.

JORGE, R. J. B. **Venômica e antivenômica de *B. erytromela***: estudo da variação intraespecífica. 131 p. (Tese: Doutorado em Farmacologia) Universidade federal do ceará. Faculdade de medicina. Fortaleza, 2015.

JORGE, R. J.; MONTEIRO, H. S.; GONÇALVES-MACHADO, L.; GUARNIERI, M. C.; XIMENES, R. M.; BORGES-NOJOSA, D. M.; LUNA, K. P.; ZINGALI, R. B.; CORRÊA-NETTO, C.; GUTIÉRREZ, J. M.; SANZ, L.; CALVETE, J. J.; PLA, D. Venomics and antivenomics of *Bothrops erythromelas* from five geographic populations within the Caatinga ecoregion of northeastern Brazil. **Journal of Proteomics**, [s.l.], v. 114, p. 93-114, 2015.

KAPPOU, D. et al. Role of the angiopoietin/Tie system in pregnancy (Review). *Experimental and Therapeutic Medicine*, v. 9, n. 4, p. 1091–1096, April 2015.

KONG, D. H. et al. Emerging Roles of Vascular Cell Adhesion Molecule-1 (VCAM-1) in Immunological Disorders and Cancer. *Int J Mol Sci.*, v. 19, n. 4, p. 1057, 2018.

KUNISCH, E.; CHAKILAM, S.; GANDESIRI, M.; KINNE, R.W. IL-33 regulates TNF- α dependent effects in synovial fibroblasts. **Int J Mol Med**. [s.l.], v. 29, n. 4, p. 530-540, 2012.

KUNIYOSHI, Alexandre Kazuo. **Eficácia do soro antibotrópico produzido no Instituto Butantan: obtenção, caracterização e neutralização de serinopeptidases de interesse do veneno de Bothrops jararaca**. 2017. 82 f. Tese (Doutorado) – Curso de Programa de Pós-Graduação Interunidades em Biotecnologia, Usp, São Paulo, 2017.

KIM, M. J.; TAM, F. W. Urinary monocyte chemoattractant protein-1 in renal disease. **Clin Chim Acta**, v. 412, n. 23-24, p. 2022-30, Nov, 2017.

LARRÉCHÉ, S. et al. Bleeding and Thrombosis: Insights into Pathophysiology of Bothrops Venom-Related Hemostasis Disorders. **Int J Mol Sci.**, v. 22, n.17, p.9643, set. 2021.

LAFFAN, M.; MANNING, R. Investigation of haemostasis. In: Bain, B. J.; BATES, I.; LAFFAN, M. A.; LEWIS, S. M., editors. *Dacie and Lewis Practical Haematology*. Vol. 11, ed: Edlsevier; 2011, p. 393-445.

LEITE, João Evano de Farias; FERNANDES, Leiliane Teixeira Bento; FREITAS JUNIOR, Aníbal dos Santos; CAVALCANTI, Bruno Coêlho; NOBRE JÚNIOR, Hélio Vitoriano; MAGALHÃES, Hemerson Iury Ferreira. EPIDEMIOLOGIA DOS ACIDENTES OFÍDICOS NOTIFICADOS EM UM CENTRO DE ASSISTÊNCIA TOXICOLÓGICA DE 2011 A 2015. **Revista Baiana de Saúde Pública**, [S.L.], v. 40, n. 4, p. 862-875, 2 dez. 2017.

LIRA-DA-SILVA, R. M.; MISE, Y. F.; CASAIS-E-SILVA, L. L.; ULLOA, J.; HAMDAN, B.; BRAZIL, T. K. Serpentes de importância médica do nordeste do Brasil. **Gazeta Médica da Bahia**. [s.l.], v. 79, n. 1, p. 7-20, (2009).

LOPES, A. A.; SOARES, R. P.; MAEDA, N. Y. A mathematical framework for group analysis of von Willebrand factor multimeric composition following luminography. *Braz J Med Biol Res*. 2002; 35:1259-63.

LORENZI, Therezinha F. *Manual de hematologia: propedêutica e clínica / Therezinha F. Lorenzi*. - 4.ed. - [Reimpr.] - Rio de Janeiro: Guanabara Koogran, 2013.

MAGALHÃES, S.F.V.; PEIXOTO, H.M.; FREITAS, L.R.S.; MONTEIRO, W.M.; OLIVEIRA, M.R.F. Snakebites caused by the genera Bothrops and Lachesis in the Brazilian Amazon: a study of factors associated with severe cases and death. **Rev Soc Bras Med Trop** [s.l.], v. 55, e0558-2021, p. 1-12, 2022.

MALAQUE, C.M.S.; FAN, H.W.; MEDEIROS, C.R.; RISK, J.Y.; NOVAES, C.T.G.; SANTORO, M.L. **Laboratory tests as clues to understand the etiopathogenesis of hemostatic disturbances, acute kidney injury and mild intravascular hemolysis in Bothrops envenomation**. 62nd Annual Meeting of the Scientific and Standardization Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis; Montpellier, France 2016.

MEHTA RL et al. Acute Kidney Injury Network (AKIN): relatório de uma iniciativa para melhorar os resultados na lesão renal aguda. *Crit Care* 2011;R31-38.

MENDOLICCHIO, G. L. and Z. M. RUGGERI (2005). "New perspectives on von Willebrand factor functions in hemostasis and thrombosis." *Semin Hematol* 42(1): 5-14.

MENDONÇA-DA-SILVA, Iran et al. Safety and efficacy of a freeze-dried trivalent antivenom for snakebites in the Brazilian Amazon: An open randomized controlled phase IIb clinical trial. *PLoS neglected tropical diseases*, v. 11, n. 11, p. e0006068, 2017.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de vigilância em saúde e ambiente - SESA. **Aspectos epidemiológicos do ofidismo no Brasil em 2022**. Volume 54 | 19 dez. 2023.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de vigilância em saúde e ambiente. **Aspectos epidemiológicos do ofidismo no Brasil em 2022**. Volume 54 | 19 dez. 2023.

MINISTÉRIO DA SAÚDE (BRASIL). SISTEMA DE INFORMAÇÃO DE AGRAVOS DE NOTIFICAÇÃO - SINAN. Dengue - Notificações Registradas: banco de dados, 2023.

MISE, Y. F.; LIRA-DA-SILVA R. M.; CARVALHO F. M. Envenenamento por serpentes do gênero *Bothrops* no Estado da Bahia: aspectos epidemiológicos e clínicos. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop. Uberaba*, v. 40, n. 5, p. 569-573, 2007.

MOTA, Sandra Mara Brasileiro; ALBUQUERQUE, Polianna Lemos Moura Moreira; MENESES, Gdayllon Cavalcante; SILVA JUNIOR, Geraldo Bezerra da; MARTINS, Alice Maria Costa; DAHER, Elizabeth de Francesco. Role of endothelial biomarkers in predicting acute kidney injury in *Bothrops* envenoming. *Toxicology Letters*, [S.L.], v. 345, p. 61-66, jul. 2021.

MOURA, A. C. N.; MOTA, S. M. B.; HOLANDA, F. M. T.; MENESES, G. C.; BEZERRA, G. F.; MARTINS, A. M. C.; LIBÓRIO, A. B. Syndecan-1 predicts hemodynamic instability in critically ill patients under intermittent hemodialysis. *Clinical Kidney Journal*, [s.l.], v. 16, n. 7, p. 1132-1138, 2023.

NERY, N. M.; SETÚBAL, S. S.; BOENO, C. N.; LOPES, J. A.; PALOSCHI, M. V.; PONTES, A. S.; LUNA, K. P.; ZULIANI, J. P. *Bothrops* erythromelas venom and its action on isolated murine macrophages. *Toxicon*, [s.l.], v. 185, p. 156-163, 2020.

NIEUWDORP, M.; MEUWESE, M. C.; VINK, H.; HOEKSTRA, J. B.; KASTELEIN, J. J.; STROES, E. S. The endothelial glycocalyx: a potential barrier between health and vascular disease. *Current Opinion in Lipidology*, [s.l.], v. 5, p. 507-11, 2005.

OLIVEIRA, A. L.; VIEGAS, M. F.; DA SILVA, S. L.; SOARES, A. M.; RAMOS, M. J.; FERNANDES, P. A. The chemistry of snake venom and its medicinal potential. *Nature Reviews Chemistry*, [s.l.], v. 6, n. 7, p. 451-469, 2022.

OLIVEIRA, S. S. **Atividades biológicas do veneno de serpentes *Bothrops atrox* capturadas na Floresta Nacional do Tapajós, Oeste do Pará**. 2014. 83 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Programa de Pós-Graduação em Toxinologia, Instituto Butantan, São Paulo, 2014.

OTT, H. W.; GRIESMACHER, A.; SCHNAPKA-KOEPEL, M.; GOLDBERGER, G.; SIEBERER, A.; SPANNAGL, M.; SCHEIBE, B.; PERKHOFER, S.; WILL, K.; BUDDE, U. Analysis of von Willebrand factor multimers by simultaneous high- and low-resolution vertical SDS-agarose gel electrophoresis and Cy5-labeled antibody high-sensitivity fluorescence detection. *Am J Clin Pathol*, 2010;133:322-30.

PASOTTI, F.; MARTINI, G.; CAIMI, L.; RICOTTA, D. Von Willebrand Factor multimers profiling with a semi-automated system. *Electrophoresis*, 2013;34:818-24.

PAULUS, P.; JENNEWEIN, C.; ZACHAROWSKI, K. Biomarkers of endothelial dysfunction: can they help us deciphering systemic inflammation and sepsis? *Biomarkers*, v. 1, p. S11-21, 2011.

RANDI, A.M.; LAFFAN, M.A. Von Willebrand factor and angiogenesis: basic and applied issues. *J Thromb Haemost* [s.l.], v. 15, n. 1, p. 13–20, 2017.

REITSMA, Sietze et al. The endothelial glycocalyx: composition, functions, and visualization. *Pflügers Archiv-European Journal of Physiology*, v. 454, n. 3, p. 345-359, 2007.

RESENDE LM, LINHARES TST, RAMALHO IGS, MATAVEL ACS, DONATO MF. Toxinas de serpentes: protótipos de fármacos & patentes? *Brazilian Journal of Health Review*. 2021; 4(6):23675-91.

RIBEIRO, L.A.; JORGE, M.T. Acidente por serpentes do gênero Bothrops: serie de 3.139 casos. *Rev Soc Bras Med Trop*. [s.l.], v. 30, p. 475–80. 1997;

ROSA, J.G.; DE ALBUQUERQUE, C.Z.; MATTARAIA, V.G.M.; SANTORO, M.L. Comparative study of platelet aggregation and secretion induced by Bothrops jararaca snake venom and thrombin. *Toxicon* [s.l.], v. 159, p. 50–60, 2019.

SANTORO, M.L.; SANO-MARTINS, I.S.; FAN, H.W.; CARDOSO, J.L.; THEAKSTON, R.D.; WARRELL, D.A. et al. Haematological evaluation of patients bitten by the jararaca, Bothrops jararaca, in Brazil. *Toxicon*. [s.l.], v. 51, p. 1440–8. 2008.

SANTORO ML, SANO-MARTINS IS, FAN HW, CARDOSO JL, THEAKSTON RD, WARRELL DA, et al. Haematological evaluation of patients bitten by the jararaca, Bothrops jararaca, in Brazil. *Toxicon*. 2008; 51: 1440–8.

SANTOS, K. C et al. Revisão sistemática: as principais complicações do acidente botrópico. *Estudos, Vida e Saúde*, [s.l.], v. 43, p. 71-78, 2016.

SARAIVA M.G., OLIVEIRA D.S., FERNANDES G.M.C.F. & COUTINHO L.G.J.V. (2012) Perfil epidemiológico dos acidentes ofídicos no estado da Paraíba, Brasil, 2005 a 2010. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, 21(3): 449–56.

SCHARPFENECKER, M. et al. The Tie-2 ligand angiopoietin-2 destabilizes quiescent endothelium through an internal autocrine loop mechanism. *Journal of Cell Science*, v. 118, n. 4, p. 771-780, February 2005. ISSN Doi: 10.1242/jcs.01653.

SEABRA FILHO, F. T.; MOURA, A. D. A.; ALVES JÚNIOR, N. C.; CARNEIRO, A. K. B; JEREISSATI, N. C. C.; NUNES, I. H.; CÂNCIO, K. S.; SILVA, M. G. C. Análise dos gastos com soro antibotrópico após modificação do fluxo de distribuição no estado do Ceará, 2014 - 2019 / Analysis of expenses with antitropic serum after modifying the distribution flow in the state of Ceará, 2014 - 2019. *Brazilian Journal Of Health Review*, [S.L.], v. 5, n. 1, p. 441-453, 11 jan. 2022.

- SEIDEL, H.; WESTHOFEN, P.; BAUTISTA, H.; BEAULIEU, G.; NOAUADJE, G.; KRUPPENBACHER, J. P.; Clinical evaluation of the Sebia Hydragel von Willebrand fator assay in comparison to electrophoresis and blotting based multimer analysis. *Research and Practice in Thrombosis and Haemostasis*, 2017;1.
- SEIFERT, S.A.; MASCARENAS, D.N.; FULLERTON, L.; WARRICK, B.J.; SMOLINSKE, S.C. Unpredicted late-, new-onset thrombocytopenia and hypofibrinogenemia in Fab antivenom-treated rattlesnake envenomation. *Toxicon* [s.l.], v. 184, p. 55–6, 2020.
- SILVA A. M.; BERNARDE P. S.; ABREU L C. Acidentes com animais peçonhentos no Brasil por sexo e idade. *Rev. bras. crescimento desenvolv. hum. São Paulo*. v. 25, n. 1, p. 54-62, 2015.
- SILVA, A. M. D.; COLOMBINI, M.; SILVA, A. M. M.; SOUZA, R. M. D.; MONTEIRO, W. M.; BERNARDE, P. S. Epidemiological and clinical aspects of snakebites in the upper Juruá River region, western Brazilian Amazônia. *Acta Amazônica*, v.50, n.1, 2019.
- SILVA, J. H. et. al. Perfil epidemiológico dos acidentes com animais peçonhentos em Tangará da Serra - MT, Brasil (2007-2016). *Journal Health Npeps. Mato Grosso*, p. 5-15, 2017.
- Silva, M.B.; et al. A prothrombin activator from *Bothrops erythromelas* (jararaca-da-seca) snake venom: characterization and molecular cloning. *Biochem J.* [s.l.], v. 1, n. 369(Pt 1), p. 129-39, 2003.
- SILVA, P. L. N. et al. Perfil epidemiológico dos acidentes por animais peçonhentos notificados no Estado de Minas Gerais durante o período de 2010-2015. *Revista Sustinere*. v. 5, n. 2, p. 199-217, 2017.
- SILVA, E. O.; PARDAL, P. P. O. Envenenamento por serpente *Bothrops* no município de Afuá, Ilha de Marajó, estado do Pará, Brasil. *Rev Pan-Amaz Saude* 9(3):57-62, 2018.
- SILVEIRA J.L. & MACHADO C. (2017) Epidemiologia dos acidentes por animais peçonhentos nos municípios do sul de Minas Gerais. *Journal Health NPEPS*, 2(1): 88–101. SINAN/SVS/MS. Sistema de Informação de Agravos de Notificação – Sinan, Ministério da Saúde, 2014.
- SWENSON, S. D.; STACK, S.; MARKLAND, F. S. **Handbook of Venoms and Toxins of Reptiles**. S.P. Mackessy (Ed.), In: *Handbook of Venoms and Toxins of Reptiles*, CRC Press., Boca Raton, FL, USA. pp. 351-362, 2021.
- TASOULIS, T.; ISBISTER, G. K. A Review and Database of Snake Venom Proteomes. *Toxins*, [s.l.], v. 9, n. 9, p. 1-23, 2017.
- TEIXEIRA, C. et al. Inflammation induced by *Bothrops asper* venom. *Toxicon*, v. 54, n. 1, p. 988-997, 2019.
- THOMAS, M.; AUGUSTIN, H. G. The role of the Angiopoietins in vascular morphogenesis. *Angiogenesis*, v. 12, n. 2, p. 125-137, June 2009.

THURSTON, G. Role of Angiopoietins and Tie receptor tyrosine kinases in angiogenesis and lymphangiogenesis. *Cell and Tissue Research*, v. 314, n. 1, p. 61-68, 2003.

TSIGKOS, S., KOUTSILIERIS, M. & PAPAPETROPOULOS, A. Angiopoietins in angiogenesis and beyond. *Expert Opin Investig Drugs*, v. 12, p. 933–941, 2003.

VLAHU, Carmen A. et al. Damage of the endothelial glycocalyx in dialysis patients. **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 23, n. 11, p. 1900-1908, 2012.

VOLOSHYNA, I.; MUCCI, T.; SHER, J.; FONACIER, L. S.; LITTLEFIELD, M. J.; CARSONS, S.; REISS, A B. Plasma IL-33 in atopic patients correlates with proinflammatory cytokines and changes cholesterol transport protein expression: a surprising neutral overall impact on atherogenicity. *Clinical and Experimental Allergy*, v. 45, p. 1554-1565, 2015.

WEDASINGHA, S.; ISBISTER, G.; SILVA, A. Bedside Coagulation Tests in Diagnosing Venom-Induced Consumption Coagulopathy in Snakebite. **Toxins (Basel)**, v. 12, n. 9, p. 1-15, 2020.

WELLMANN, I.A.M.; IBIAPINA, H.N.S.; SACHETT, J.A.G.; SARTIM, M.A.; SILVA, I.M.; OLIVEIRA, S.S. et al. Correlating fibrinogen consumption and profiles of inflammatory molecules in human envenomation's by *Bothrops atrox* in the Brazilian Amazon. **Front Immunol.** [*s.l.*], v. 11, 1874, p. 1-12 2020.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Snakebite envenoming. **2023**. Disponível em: <https://www.who.int/newsroom/fact-sheets/detail/snakebite-envenoming>. Acesso em 07/02/2024.

WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO. Snakebite envenoming: a strategy for prevention and control [Internet]. WHO, Abela-Ridder B, organizadores. Geneva: World Health Organization; **2019**. 70 p. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241515641>. Acesso em 07/02/2024.

YAMASHITA, K. M.; ALVES, A. F.; BARBARO, K. C.; SANTORO, M. L. Bothrops jararaca venom metalloproteinases are essential for coagulopathy and increase plasma tissue factor levels during envenomation. *PLoS Negl Trop Dis*, 2014;8:e2814.

WEN, F. H.; MALAQUE, C. M. S. Acidentes por animais peçonhentos no Brasil. 1a Edição. São Paulo: Instituto Butantan, 2013.

YANG, F.; ZHU, P.; DUAN, L.; YANG, L.; WANG, J. IL-33 and Kidney disease. *Molecular Medicine Reports*, v. 13, p. 3-8, 2016.