



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

NICOLE COELHO LOPES

**BIOMARCADORES NOS DISTÚRBIOS DE COAGULAÇÃO E DE INJÚRIA RENAL
EM PACIENTES ACIDENTADOS POR SERPENTES DO GÊNERO *Bothrops* spp.**

FORTALEZA

2024

NICOLE COELHO LOPES

BIOMARCADORES NOS DISTÚRBIOS DE COAGULAÇÃO E DE INJÚRIA RENAL EM
PACIENTES ACIDENTADOS POR SERPENTES DO GÊNERO *Bothrops* spp.

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Farmacologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Farmacologia.

Orientador(a): Profa. Dra. Alice Maria Costa Martins

Coorientador(a): Profa. Dra. Polianna Lemos Moura Moreira Albuquerque

FORTALEZA

2024

NICOLE COELHO LOPES

BIOMARCADORES NOS DISTÚRBIOS DE COAGULAÇÃO E DE INJÚRIA RENAL EM
PACIENTES ACIDENTADOS POR SERPENTES DO GÊNERO *Bothrops* spp.

Dissertação apresentada ao Mestrado em
Farmacologia da Universidade Federal do
Ceará, como requisito parcial à obtenção do
título de Mestre em Farmacologia.

Aprovada em 19/07/2024

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Alice Maria Costa Martins (Orientadora)

Universidade Federal do Ceará

Profa. Dra. Roberta Jeane Bezerra Jorge

Universidade Federal do Ceará

Profa. Dra. Aline Diogo Marinho

Centro Universitário Inta-Uninta

À minha prima e farmacêutica favorita, Aline
Coelho (*in memoriam*).

AGRADECIMENTOS

À Deus por todas as oportunidades, bençãos e suporte.

À minha mãe, Marli Coelho, por toda ajuda, suporte e companheirismo.

À minha família por todo apoio.

Aos meus amigos por tornar os dias mais leves.

À Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (Funcap) por financiar a minha bolsa de mestrado.

À profa. dra. Alice Martins, por todo o suporte, contribuição e atenção dada desde o período da graduação.

Ao prof. dr. Gdayllon Meneses por toda orientação, ajuda, disponibilidade e paciência.

À profa. dra. Polianna Albuquerque por suas orientações, suporte e contribuição com o estudo.

Aos professores e pesquisadores que avaliaram este trabalho e fizeram importantes contribuições ao estudo.

Aos membros do Time Elisa por toda ajuda, empenho e amizade. Em especial, agradeço à Letícia Machado, Bruna Viana, Ranieri Sales, Igor Moreira, Katarina Araújo, Valéria Holanda e Rayane de Souza.

Aos membros do Laboratório de Bioprospecção Farmacêutica e Bioquímica Clínica por todas as risadas, amizade e ajuda durante todos esses anos.

À equipe do Centro de Informação e Assistência Toxicológica (CIATOX) por toda a contribuição com o estudo e pela receptividade durante as nossas reuniões. Em especial, agradeço novamente à dra. Polianna Albuquerque e também à dra. Sandra Mota.

Ao Laboratório de Análises Clínicas e Toxicológicas (LACT-UFC) por permitir a realização de alguns testes bioquímicos.

Aos pacientes que aceitaram participar desta pesquisa.

“Quem caminha sozinho pode até chegar mais rápido, mas aquele que vai acompanhado, com certeza vai mais longe” (Clarisse Lispector).

RESUMO

No Brasil, o gênero *Bothrops* spp. é responsável por 90% dos acidentes ofídicos e a injúria renal aguda (IRA) é uma manifestação clínica frequente, grave, de início precoce e potencialmente letal. O dano endotelial está associado a patogênese da IRA, sendo um mecanismo importante para a avaliação clínica no paciente. Assim, este estudo objetiva investigar anormalidades da coagulação após o envenenamento botrópico e suas contribuições para a lesão renal antes e após a administração do antiveneno. O presente estudo foi realizado entre agosto de 2022 a dezembro de 2023, é do tipo observacional, longitudinal e prospectivo realizado com pacientes admitidos em um hospital de referência em urgência e emergência de Fortaleza (Ceará, Brasil). As amostras foram coletadas em três tempos: antes da administração do antiveneno (coleta 1), 10 horas (coleta 2) e 20 horas (coleta 3) após a soroterapia. Os pacientes foram divididos em grupo com ou sem sangramento na admissão e foram avaliados quanto a presença de IRA de acordo com os critérios do *Kidney Disease Improving Global Outcomes* (KDIGO). Avaliou-se os biomarcadores Lipocalina Associada à Gelatinase de Neutrófilos (NGAL), Molécula de Lesão Renal-1 (KIM-1), Proteína Quimioatraente de Monócitos-1 (MCP-1), Syndecan-1, Molécula de Adesão Celular Vacular-1 (VCAM-1), Fator de Von Willebrand A2 (vWFA A2), Angiopietinas 1 e 2. Ao todo, foram incluídos 34 pacientes com intervalo <8 horas entre a mordedura e a infusão do antiveneno. Desses indivíduos, 17 apresentaram sangramento ativo na admissão e os outros 17 não manifestaram esse sinal clínico. O grupo com sangramento obteve resultados maiores da razão entre a proteinúria e a creatinina, além de registrar uma maior porcentagem de casos com incoagulabilidade sanguínea. Na avaliação renal, o grupo com sangramento expressou níveis significativamente mais altos de KIM-1 nas coletas 1 e 2, bem como maiores concentrações de NGAL urinário nas coletas 1 e 3. Além disso, a análise endotelial e de coagulação indicou que esses indivíduos também apresentaram maiores níveis de syndecan-1, angiopietinas 1 e 2 e vWFA A2. Em conclusão, pacientes admitidos com sangramento ativo após o acidente por *Bothrops* spp. foram os que apresentaram níveis significativamente maiores de biomarcadores renais, endoteliais e de coagulação não convencionais, bem como evidenciaram a não recuperação renal desse grupo, mesmo após a administração do soro antitotrópico, dentro do intervalo de tempo estudado.

Palavras-chave: acidente ofídico; antiveneno; injúria renal aguda; diagnóstico precoce.

ABSTRACT

BIOMARKERS IN COAGULATION AND KIDNEY INJURY DISORDERS IN PATIENTS ENVENOMATION BY SNAKES OF THE GENUS *Bothrops* spp.

In Brazil, the *Bothrops* spp. genus is responsible for 90% of snakebites, and acute kidney injury (AKI) is a frequent, severe, early-onset, and lethal clinical manifestation. Endothelial damage is associated with the pathogenesis of AKI, and is therefore an important mechanism for the clinical evaluation of the patient. In this context, the objective of this study is to investigate coagulation abnormalities after *Bothrops* envenomation and their contributions to kidney injury before and after antivenom administration. The present study was carried out between August 2022 and December 2023, and is an observational, longitudinal, and prospective study carried out with patients admitted to a referral hospital for emergency care in Fortaleza (Ceará, Brazil). Samples were recorded at three times: before antivenom administration (collection 1), 10 hours (collection 2) and 8 hours (collection 3) after serum therapy. Patients were divided into groups with or without bleeding on admission and were evaluated for the presence of AKI according to the Kidney Disease Improving Global Outcomes (KDIGO) criteria. The biomarkers Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin (NGAL), Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1), Monocyte Chemoattractant Protein-1 (MCP-1), Syndecan-1, Vascular Cell Adhesion Molecule-1 (VCAM-1), Von Willebrand Factor A2 (vWFA A2), Angiopoietins 1 and 2 were intuitively analyzed. In total, 34 patients with an interval <8 hours between the bite and the antivenom injection were included. Of these individuals, 17 had active bleeding on admission and the other 17 did not manifest this clinical sign. The bleeding group obtained higher results for the ratio between proteinuria and creatinine, in addition to recording the highest percentage of cases with blood incoagulability. In the renal evaluation, the bleeding group expressed significantly higher levels of KIM-1 in collections 1 and 2, as well as higher concentrations of urinary NGAL in collections 1 and 3. In addition, endothelial and coagulation analysis indicated that these individuals also had higher levels of syndecan-1, angiopoietins 1 and 2, and vWFA A2. In conclusion, patients admitted with active bleeding after the *Bothrops* spp. accidents were those who presented significantly higher levels of non-host renal, endothelial, and coagulation biomarkers, as well as evidenced the non-renal recovery of this group, even after the administration of antithrombotic serum, within the time interval studied.

Keywords: snake bites; antivenins; acute kidney injury; early diagnosis.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Fluxograma do tratamento com soro antibiótico	24
Figura 2	Estrutura proteica do KIM-1	27
Figura 3	Processo de liberação e interação da Angiopietina-2 com o receptor de tirosina quinase 2	30
Figura 4	Método ELISA sanduíche	44
Figura 5	Fluxograma da inclusão dos pacientes estudados	48
Figura 6	Gráficos de linha mostrando a evolução dos biomarcadores uKIM-1, uNGAL e sKIM-1 em cada grupo durante os três tempos de coleta avaliados	55

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Classificação clínica da injúria renal aguda conforme os critérios da KDIGO (2012)	42
Tabela 2	Comparação de parâmetros sociodemográficos e laboratoriais de função renal entre os grupos com sangramento e sem sangramento na admissão hospitalar	49
Tabela 3	Comparação de parâmetros de íons, hematológicos e de coagulação entre os grupos com sangramento e sem sangramento na admissão hospitalar	50
Tabela 4	Comparação dos biomarcadores em diferentes momentos entre os grupos com e sem sangramento	52
Tabela 5	Análise pareada de biomarcadores dentro de cada grupo	54

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Ang	Angiopietina
Ang-1	Angiopietina-1
Ang-2	Angiopietina-2
BSA	Albumina de Soro Bovino
Ca²⁺	Íon cálcio
CCL2	Ligante de quimiocina 2
CIATox	Centro de Informação e Assistência Toxicológica
CKD-EPI	<i>Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration</i>
CRISP	Proteínas Secretoras Ricas em Cisteína
CTL	Lectina do Tipo C
CWP	Corpos de Weibel-Palade
DATATOX	Sistema Brasileiro de Registro de intoxicações dos Centros de informação e Assistência Toxicológica
DTN	Doenças Tropicais Negligenciadas
ELISA	Ensaio de imunoabsorção enzimática
EPI	Equipamento de Proteção Individual
FVW A2	Fator de Von Willebrand A2
H₂O₂	Peróxido de Hidrogênio
Hb	Hemoglobina
Ht	Hematócrito
IRA	Injúria Renal Aguda
IRC	Injúria Renal Crônica
K⁺	Íon potássio
KDIGO	<i>Kidney Disease Improving Global Outcomes</i>
KIM-1	Molécula de Lesão Renal-1
LAAOs	L-aminoácido Oxidase
LBFC	Laboratório de Bioprospecção Farmacêutica e Bioquímica Clínica
MCP-1	Proteína Quimioatraente de Monócitos 1
MMP-9	Metaloproteinase de Matriz

MS	Ministério da Saúde
Na⁺	Íon sódio
NGAL	Lipocalina Associada à Gelatinase de Neutrófilos
NK	Células assassinas naturais
OMS	Organização Mundial da Saúde
PBS	Salina Tamponada com Fosfato
PLA₂	Fosfolipase A ₂
SAB	Soro antibotrópico
SINAN	Sistema de Informação de Agravos de Notificação
sCr	Creatinina sérica
sNGAL	Lipocalina Associada à Gelatinase de Neutrófilos sérica
sUr	Ureia sérica
SVMP	Metaloproteinase de Veneno de Serpente
SVSP	Serinoproteinase de Veneno de Serpente
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TGF	Taxa de filtração glomerular
Tie-1	Receptor de tirosina quinase 1
Tie-2	Receptor de tirosina quinase 2
TIM-1	Domínio de Mucina de Imunoglobulinas de Células T-1
TP ou TAP	Tempo de Protrombina
TTPa	Tempo de Tromboplastina Parcial Ativado
UFC	Universidade Federal do Ceará
uKIM-1	Molécula de Lesão Renal-1 urinário
uNGAL	Lipocalina Associada à Gelatinase de Neutrófilos urinária
VCAM-1	Molécula de Adesão Celular Vascular 1
VEGF	Fator de Crescimento Endotelial Vascular

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	REFERENCIAL TEÓRICO	18
2.1	O gênero <i>Bothrops</i> spp. e a serpente <i>Bothrops erythromelas</i>	18
2.2	Epidemiologia	18
2.3	Envenenamento por <i>Bothrops</i> spp.	19
2.3.1	Veneno	19
2.3.2	<i>Fisiopatologia e Manifestações Clínicas</i>	20
2.3.3	<i>Manejo Clínico</i>	22
2.4	Soro antiofídico	23
2.5	Biomarcadores não convencionais	24
2.5.1	<i>Biomarcadores renais</i>	25
2.5.1.1	<i>Lipocalina Associada à Gelatinase de Neutrófilos (Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin - NGAL)</i>	25
2.5.1.2	<i>Molécula de Lesão Renal -1 (Kidney Injury Molecule-1 - KIM-1)</i>	26
2.5.1.3	<i>Proteína Quimioatraente de Monócitos - 1 (Monocyte chemoattractant protein 1 - MCP-1)</i>	28
2.5.2	<i>Biomarcadores endoteliais</i>	29
2.5.2.1	<i>Angiopietina-1 (Ang-1) e Angiopietina-2 (Ang-2)</i>	29
2.5.2.2	<i>Sindecano-1 (Syndecan-1)</i>	31
2.5.2.3	<i>Molécula de Adesão Celular Vascular 1 (Vascular cell adhesion molecule 1 - VCAM-1)</i>	31
2.5.3	<i>Biomarcador de coagulação</i>	32
2.5.3.1	<i>Fator de Von Willebrand A2 (vWF A2)</i>	32
3	JUSTIFICATIVA	35
4	OBJETIVOS	37
4.1	Objetivo geral	37
4.2	Objetivos específicos	37
5	MATERIAL E MÉTODOS	39
5.1	Tipo de estudo	39
5.2	Local e período da pesquisa	39

5.3	População do estudo	39
5.3.1	<i>Critérios de não inclusão</i>	39
5.4	Coleta de dados	40
5.5	Coleta e processamento de amostras biológicas	40
5.6	Análises dos parâmetros laboratoriais	41
5.7	Avaliação da função renal e classificação da injúria renal aguda	42
5.8	Análises dos biomarcadores não convencionais	43
5.9	Tratamento dos pacientes	44
5.10	Análise estatística	44
5.11	Aspectos éticos-legais	45
6	RESULTADOS	47
6.1	Avaliação dos fatores sociodemográficos e dos parâmetros laboratoriais da admissão hospitalar	47
6.2	Comparação dos biomarcadores renais e endoteliais não convencionais entre os grupos do estudo	51
6.3	Análise pareada dos biomarcadores não convencionais em cada grupo estudado	53
7	DISCUSSÃO	57
9	CONCLUSÃO	65
	REFERÊNCIAS	67
	ANEXO A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	73

Introdução

1 INTRODUÇÃO

Os acidentes por serpentes peçonhentas são considerados importantes problemas de saúde pública que ocorrem, principalmente, nos países tropicais e subtropicais dos continentes americano, africano e asiático (Seifert; Armitage; Sanchez, 2022; WHO, 2018). Esses acidentes são classificados como Doenças Tropicais Negligenciadas (DTN) pela Organização Mundial da Saúde (OMS) e fazem parte da lista das Doenças de Notificação Compulsória do sistema de notificação de doenças e agravos do Brasil (Brasil, 2021). Assim, diante da importância epidemiológica de controle desses casos, a OMS e um grande número de países atingidos, incluindo o Brasil, buscam cumprir o compromisso de reduzir a letalidade e a incapacidade, decorrentes dos acidentes ofídicos, em 50% até o ano de 2030 (WHO, 2023).

As principais serpentes peçonhentas de interesse médico, no âmbito nacional, são as pertencentes às famílias Viperidae e Elapidae (Ceará, 2021). Os gêneros mais envolvidos nos acidentes são *Bothrops* (jararaca, jararacuçu, urutu, caíçaca, comboia), *Crotalus* (cascavel) e *Lachesis* (surucucu-pico-de-jaca) pertencentes da família Viperidae, bem como os gêneros *Micrurus* e *Leptomicrurus* (corais-verdadeiras) da família Elapidae (Ceará, 2021; Brasil, 2021). Dentre os gêneros, *Bothrops* spp. é a principal causadora dos acidentes ofídicos, seguido por *Crotalus* (Brasil, 2023a).

As serpentes peçonhentas podem ser encontradas na Amazônia, no Cerrado, na Mata Atlântica, na Caatinga, no Pampa e no Pantanal, tanto em áreas rurais, como em áreas urbanas, principalmente em locais onde há ambientes quentes e úmidos (Brasil, 2021). O maior número de acidentes ocorre em meses quentes e chuvosos, principalmente em locais que apresentam desequilíbrios ecológicos, como desmatamentos e enchentes (Brasil, 2021; Brasil, 2023a). No geral, os acidentes ocorrem de forma não intencional e as mordeduras ocorrem nas extremidades do corpo (Seifert; Armitage; Sanchez, 2022).

O principal perfil epidemiológico envolvido nos acidentes são homens, jovens adultos, trabalhadores agrícolas e moradores da zona rural, principalmente àqueles que residem em regiões distantes dos centros de educação e saúde, sendo, por isso, considerados acidentes de natureza ocupacional, social e econômica (Da Silva *et al.*, 2023; Magalhães *et al.*, 2022). O prognóstico desse público pode ser prejudicado por suas condições de vida, visto que residir em áreas remotas dificulta o acesso aos antivenenos e à adequada assistência de saúde (Brasil 2022; Seifert; Armitage; Sanchez, 2022).

No envenenamento, as manifestações clínicas podem ser locais ou sistêmicas, podendo ser leves ou até evoluir para distúrbios hemorrágicos, destruição tecidual, insuficiência renal irreversível, sequelas permanentes, amputação de membro e óbito (Gutiérrez *et al.*, 2017; WHO, 2023). Além dessas manifestações, destaca-se a injúria renal aguda (IRA) que ainda não possui um fisiopatologia completamente esclarecida, mas possui as características de ser oligúrica, precoce, grave e potencialmente fatal (Albuquerque *et al.*, 2019; Mota *et al.*, 2021).

Apesar disso, as consequências dos acidentes ofídicos podem ser prevenidas ou atenuadas com a administração dos antivenenos que estão entre os medicamentos considerados essenciais, pela OMS, no cuidado primário de países que apresentam esses casos (WHO, 2023). Além disso, deve-se ressaltar a importância da realização de medidas de prevenção contra esses acidentes, como a utilização de equipamentos de proteção individual (EPI), a limpeza de quintais e a realização de atividades educativas (Brasil, 2021).

Dessa forma, os acidentes por serpentes peçonhentas, são envenenamentos importantes para os cenários mundial e brasileiro, devido a possibilidade de desencadear complicações que podem ser graves e podem gerar altos custos ao paciente, à sociedade e ao sistema de saúde (Magalhães *et al.*, 2022).

Referencial teórico

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 O gênero *Bothrops* spp. e a serpente *Bothrops erythromelas*

As serpentes do gênero *Bothrops* spp pertencem à ordem Squamata e à família Viperidae, possuindo mais de 30 espécies e uma grande importância médica no Brasil, pois são responsáveis por 90% dos acidentes ofídicos registrados no país (Ceará, 2022; Sgrignolli *et al.*, 2011). Tais serpentes, também popularmente conhecidas como jararacas, possuem fosseta loreal, cauda lisa com afunilamento brusco no final e denteção do tipo solenóglifa, necessária para a inoculação do veneno (Ceará, 2021, 2022; Brasil, 2022).

O gênero *Bothrops* spp. pode ser encontrado em todo o Brasil, principalmente em ambientes da zona rural e da periferia das grandes cidades (Ceará, 2022; Brasil, 2022). Na região Nordeste, a principal serpente encontrada é a *Bothrops erythromelas* e os maiores números de notificações ocorrem entre os meses de janeiro a maio, atingindo principalmente os trabalhadores agrícolas devido aos fatores climático e ambiental (Nery *et al.*, 2016; Sgrignolli *et al.*, 2011).

Os acidentes geralmente ocorrem de forma não intencional, como nos casos em que o indivíduo pisoteia a serpente de forma não intencional, quando manuseia o animal sem ter recebido um treinamento prévio ou tenta usá-la em cerimônias religiosas (Seifert; Armitage; Sanchez, 2022). Dentre as ações do veneno botrópico, tem-se as atividades de inflamação aguda, hemorrágica, coagulante, hipotensora e indutora de injúria renal que podem desencadear graves consequências aos pacientes atingidos, como sepse, necrose, hemorragia grave e óbito (Ceará, 2021; De Sousa *et al.*, 2016).

2.2 Epidemiologia

Os acidentes ofídicos possuem importância mundial devido a sua alta frequência e gravidade, apesar de dados reais não representarem a verdadeira incidência diante da reconhecida subnotificação dos casos (Da Silva *et al.*, 2023; Brasil, 2021). A Organização Mundial da Saúde indica que, anualmente, são registrados 5,4 milhões de acidentes por serpentes, gerando 1,8 a 2,7 milhões de envenenamentos e 81.420 a 137.880 óbitos no mundo, acompanhados por crescentes registros de amputações e outras consequências permanentes advindas desses acidentes (WHO, 2023).

No Brasil, entre os anos de 2011 e 2020, ocorreram cerca de 1,9 milhões de acidentes ofídicos, sendo as serpentes peçonhentas responsáveis por 235.872 casos, apesar de que esse número pode ser ainda maior, visto que 1,7 milhões dos casos não identificaram a serpente envolvida (Da Silva *et al.*, 2023). Como complemento, dados da Secretaria de Saúde do Estado do Ceará (2022) indicam que o Brasil notifica uma média de 28.800 casos e 119 óbitos por ano, decorrentes do ofidismo que, em sua maioria, são causadas pela serpente do gênero *Bothrops* spp. (Brasil, 2023a).

Os registros do Sistema de Informação de Agravos de Notificação (Sinan) demonstraram que aproximadamente dois terços dos acidentes ofídicos ocorreram nas regiões Norte e Nordeste do país no ano de 2021, ocasionados principalmente por *Bothrops* spp. (Brasil, 2022). Enquanto no Estado do Ceará, os sistemas de notificação registram 9.061 acidentes ofídicos entre os anos de 2012 e 2022, sendo 5.291 casos de origem botrópica (Ceará, 2022). Dessa forma, os dados epidemiológicos demonstram que os acidentes por serpentes peçonhentas são um importante problema de saúde pública no Brasil, principalmente por serem capazes de desencadear sequelas importantes e óbito nos pacientes (Ceará, 2022; Brasil, 2022).

2.3 Envenenamento por *Bothrops* spp.

2.3.1 Veneno

A composição do veneno botrópico varia entre as espécies, o ambiente, a alimentação e a idade (Sgrignolli *et al.*, 2011). Apesar disso, no geral, o peso líquido do veneno é constituído por 90-95% de proteínas, como enzimas, toxinas não enzimáticas e proteínas não tóxicas, sendo o restante do peso composto por moléculas não proteicas, como carboidratos, lipídios, metais, aminas biogênicas e nucleotídeos (Sgrignolli *et al.*, 2011).

Diante dessa diversidade, destacam-se 4 famílias de toxinas enzimáticas no veneno botrópico, sendo elas a metaloproteinase de veneno de serpente (SVMP), a serinoproteinase de veneno de serpente (SVSP), a fosfolipase A₂ (PLA₂) e a L-aminoácido oxidase (LAAOs) (Albuquerque *et al.*, 2020). Além disso, encontra-se no veneno algumas proteínas não enzimáticas, como a lectina do tipo C (CTL), desintegrinas, hialuronidasas e proteínas secretoras ricas em cisteína (CRISP) (Larréché *et al.*, 2021; Mota, 2022). Assim, pode-se dizer que o veneno de *Bothrops* spp. possui grande ação hemotóxica e proteolítica (Albuquerque *et al.*, 2020).

As metaloproteínases são importantes no processo hemorrágico do paciente acidentado por *Bothrops* spp., visto que essas enzimas são capazes de inibir a agregação plaquetária, ativar fatores de coagulação, degradar proteínas da matriz extracelular, quebrar receptores da superfície celular e ativar citocinas, bem como interferir negativamente na adesão celular e induzir a apoptose das células envolvidas nesse processo (Gutiérrez *et al.*, 2016; Kang *et al.*, 2011).

Enquanto isso, as serinoproteínases são responsáveis por beneficiar a ocorrência de distúrbios de coagulação (ação fibrinolítica), vasodilatação, hipotensão, hiperalgesia, edema e aumento da reabsorção tubular de íons sódio no ducto coletor (Albuquerque *et al.*, 2020; Phan *et al.*, 2023).

Em paralelo a isso, as fosfolípases A₂ se destacam por favorecerem o processo inflamatório devido a sua capacidade de contribuir com a formação do ácido araquidônico que é um precursor das prostaglandinas e dos leucotrienos, bem como dos tromboxanos (Kang *et al.*, 2011). Além disso, as PLA₂ são enzimas que podem favorecer a ocorrência de miotoxicidade, edema, hipotensão e distúrbios de coagulação (Mota, 2022).

A flavoenzima L-aminoácido oxidase oxida L-aminoácidos, formando o alfa-cetoácido correspondente e peróxido de hidrogênio (H₂O₂), o que justifica a sua atividade apoptótica nefrotoxicidade e lesão endotelial, além da sua ação de estimular a agregação plaquetária (Albuquerque *et al.*, 2020; Kang *et al.*, 2011).

Em relação às proteínas não enzimáticas, as CTLs podem inibir ou ativar a coagulação, as desintegrinas podem inibir a agregação plaquetária, as CRISPs podem aumentar a permeabilidade vascular por bloquear canais iônicos e as hialuronidases facilita a difusão do veneno pelo corpo por degradar o ácido hialurônico tecidual (Mota, 2022).

2.3.2 Fisiopatologia e Manifestações Clínicas

Durante o acidente ofídico, as serpentes do gênero *Bothrops* spp. injetam o veneno por via subcutânea ou intramuscular com o auxílio do conjunto especializado de presas, podendo gerar danos locais e sistêmicos com intensidade que pode ser leve ou até desencadear o óbito (Gutiérrez *et al.*, 2017; Seifert; Armitage; Sanchez, 2022). Entretanto, é importante mencionar que nem sempre o acidente ofídico vai ser seguido de envenenamento, visto que existem as picadas “secas” (Seifert; Armitage; Sanchez, 2022).

Em complicações locais, é comum observar lesões e inflamações teciduais causadas por hialuronidase, colagenases, proteinases e fosfolipases (Seifert; Armitage; Sanchez, 2022). Comumente se observa um sangramento discreto na região da inoculação do veneno e a dor pode ser um sintoma manifestado logo no início devido a presença de bradicinina e de histamina no veneno botrópico (Albuquerque *et al.*, 2020; Sgrignolli *et al.*, 2011). O edema é frequentemente observado e pode evoluir para a formação de bolhas e de dermonecrose, sendo a extensão do edema local um dos fatores que orientam o tratamento antibotrópico (Albuquerque *et al.*, 2020; Seifert; Armitage; Sanchez, 2022; Sgrignolli *et al.*, 2011). A equimose pode ser observada em decorrência da ação proteolítica do veneno nos vasos sanguíneos, podendo evoluir para uma lesão vascular mais grave, principalmente quando o paciente usa torniquete e demora a ter acesso ao antiveneno (Seifert; Armitage; Sanchez, 2022; Sgrignolli *et al.*, 2011). A inflamação local pode contribuir com a amputação de regiões do corpo do paciente, bem como pode favorecer a ocorrência de outros danos teciduais e gerar a infiltração de leucócitos (Albuquerque *et al.*, 2020; Seifert; Armitage; Sanchez, 2022). Além disso, parestesia, cianose e alterações de temperatura também podem ser notificadas (Sgrignolli *et al.*, 2011).

As manifestações sistêmicas ocorrem devido a distribuição das toxinas pelo sistema linfático e pelos vasos sanguíneos (Gutiérrez *et al.*, 2017). Os sinais hemorrágicos estão entre os mais notificados no envenenamento botrópico, visto que componentes do veneno são capazes de ativar fatores da cascata de coagulação e produzir fibrina frágil a partir da ativação do fator X, ativação da protrombina e lise do fibrinogênio (Albuquerque *et al.*, 2020; Sgrignolli *et al.*, 2011). A ação pró-coagulante, de algumas toxinas do veneno favorece a não coagulação e os sangramentos ativos, como a gengivorragia, e epistaxe, a hematúria, a hemoptise, a hematêmese e outros que beneficiam o mau prognóstico do paciente (Ceará, 2021; Seifert; Armitage; Sanchez, 2022; Sgrignolli *et al.*, 2011). Devido a coagulopatia de consumo e outros eventos do sistema circulatório, pode ainda ocorrer coagulação intravascular disseminada, microangiopatia trombótica, trombocitopenia, acidente vascular cerebral, infarto do miocárdio e ruptura do endotélio vascular causada principalmente por ação de enzimas como as SVMPS (Albuquerque *et al.*, 2020; Gutiérrez *et al.*, 2017; Seifert; Armitage; Sanchez, 2022; Sgrignolli *et al.*, 2011).

Outras manifestações relevantes são a glomerulonefrite aguda, a necrose tubular aguda e a injúria renal aguda, sendo esta uma complicação frequente com incidência que pode variar de 10,8 a 35% no envenenamento por *Bothrops erythromelas*, sendo a principal causa de morte

aos que resistem aos efeitos iniciais das toxinas (Albuquerque *et al.*, 2020; Cavalcante *et al.*, 2023; Sgrignolli *et al.*, 2011). A injúria pode ser grave de forma a fazer com que o paciente precise de hemodiálise, evolua para injúria renal crônica (IRC), apresente insuficiência renal ou até seja letal ao organismo (Brasil, 2022; Seifert; Armitage; Sanchez, 2022; Sgrignolli *et al.*, 2011). A IRA em acidente botrópico possui as características de um quadro clínico precoce de oligúria e de aumento da creatinina sérica, bem como frequentemente se observa a necrose tubular aguda nas análises histológicas renais (Sgrignolli *et al.*, 2011). As complicações clínicas no sistema renal ainda não estão totalmente elucidadas, mas a ação direta do veneno pode causar degeneração e atrofia do glomérulo, assim como deposição de proteínas na cápsula de Bowman (Cavalcante *et al.*, 2023; Seifert; Armitage; Sanchez, 2022; Sgrignolli *et al.*, 2011). Outros fatores também podem influenciar no desenvolvimento da IRA, sendo as características do paciente, presença comorbidades, estado de desidratação, tempo entre o acidente e o tratamento, quantidade de veneno injetada, idade da serpente e outros (Sgrignolli *et al.*, 2011).

Os efeitos hemotóxicos do veneno de *Bothrops* spp. também são capazes de favorecer o desenvolvimento da patogênese da injúria renal, visto que achados histológicos demonstraram a deposição de microtrombos de fibrina nos glomérulos renais (Sgrignolli *et al.*, 2011). Outros fatores que beneficiam esse cenário são a ação tóxica da mioglobina nos túbulos renais e isquemia causada pela diminuição do fluxo sanguíneo no sistema renal (Cavalcante *et al.*, 2023; Gutiérrez *et al.*, 2017).

Além das complicações mencionadas, também pode-se observar infecções na região da inoculação do veneno, síndrome compartimental, choque, hipotensão e outros que podem ocorrer com maior ou menor frequência (Ceará, 2021).

2.3.3 Manejo Clínico

O manejo clínico dos pacientes que sofreram acidente por *Bothrops* spp. pode ser iniciado com o cuidado pré-hospitalar, sendo indicado se afastar da serpente e identificá-la, caso seja seguro e as condições do ambiente permitam isso (Seifert; Armitage; Sanchez, 2022). Em seguida, indica-se lavar o local do acidente com água e sabão, evitar que o indivíduo se movimente, minimizar a distribuição do veneno a partir da imobilização frouxa da região onde ocorreu a picada, remover objetos e roupas próximas à mordida e encaminhar o paciente para uma unidade de saúde mais próxima (Gutiérrez *et al.*, 2017; Seifert; Armitage; Sanchez, 2022; BUTANTAN, 202-?). Manejos como torniquetes, sucção, eletricidade, aplicação de

substâncias naturais e o uso de temperaturas não devem ser recomendados, visto que podem prejudicar a condição de saúde do paciente (Gutiérrez *et al.*, 2017; Seifert; Armitage; Sanchez, 2022).

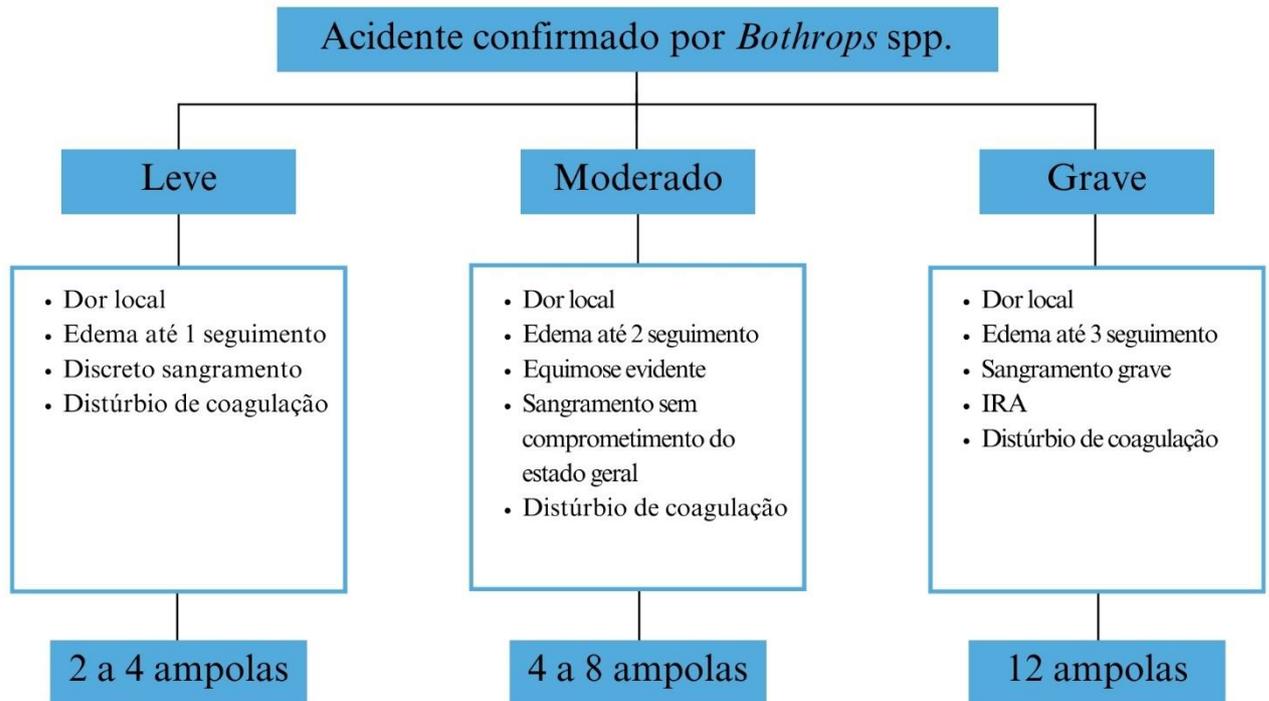
De forma geral, o cuidado hospitalar envolve o monitoramento dos sinais vitais, a limpeza da região da picada, a avaliação do histórico de vacinação contra o tétano, a manutenção da hidratação e, principalmente, a avaliação clínica do paciente para que seja possível definir o número de ampolas de antiveneno que serão administradas no paciente (Seifert; Armitage; Sanchez, 2022; Sgrignolli *et al.*, 2011).

2.4 Soro antiofídico

O soro antiofídico é composto por anticorpos mono ou poliespecíficos, derivados de plasma animal que agem neutralizando componentes do veneno de serpentes peçonhentas que ainda se não fixaram nas células dos tecidos alvos (Fan; Monteiro, 2018; Seifert; ARMITAGE; Sanchez, 2022; Soro Antibotrópico, 2022). Devido a sua ação e especificidade, esse medicamento é primordial no tratamento dos pacientes envolvidos neste evento, sendo recomendado administrá-lo de forma precoce devido a sua grande importância no prognóstico do indivíduo, como prevenir ou limitar o desenvolvimento da IRA (Fan; Monteiro, 2018; Sgrignolli *et al.*, 2011; Soro Antibotrópico, 2022).

No Brasil, os acidentes por *Bothrops* spp. podem ser classificados como leve, moderado ou grave. No caso dos acidentes leves, os pacientes que podem apresentar dor local, edema de até 1 segmento, discreto sangramento em pele ou mucosas e distúrbio na coagulação. Já a classificação moderada é caracterizada por dor local, edema de até 2 segmentos, equimoses evidentes, sangramento sem comprometimento do estado geral e distúrbios de coagulação. Enquanto que o estado clínico grave pode apresentar dor local, edema de até 3 segmentos, sangramento grave, hipotensão/choque hipovolêmico, injúria renal aguda e distúrbios na coagulação (Brasil, 2023b; Ceará, 2021). A partir desta categorização, é possível determinar o número de ampolas a serem administradas do soro antibotrópico. Em acidentes leves, moderados e graves, o Ministério da Saúde (MS) recomenda a administração de 2 a 4, 4 a 8 e 12 ampolas de antiveneno, respectivamente (Figura 1) (Brasil, 2023b).

Figura 1 – Fluxograma do tratamento com soro antibotrópico.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2024).

Apesar da sua relevância, estima-se que apenas uma parte da população, aproximadamente 2,7 milhões de pessoas por ano no mundo, conseguem ter acesso ao antiveneno, sendo um cenário afetado por problemas como o preço elevado do produto, a escassez na fabricação, a falta de estrutura para o transporte e o armazenamento, a não especificidade para algumas espécies de serpentes e outros problemas (Potet *et al.*, 2021). No caso dos soros antibotrópicos, por exemplo, a sua produção é feita a partir da mistura de cinco espécies de *Bothrops* (*B. jararaca*, *B. alternatus*, *B. jararacussu*, *B. moojeni* e *B. neuwiedi*), não incluindo a *B. erythromelas* que é a principal espécie encontrada na região nordeste (Soro Antibotrópico, 2022). Além disso, o paciente também está suscetível a ter reações adversas, como as reações de hipersensibilidade e pirogênica (Alangode; Rajan; Nair, 2020; Seifert; Armitage; Sanchez, 2022).

2.5 Biomarcadores não convencionais

Os biomarcadores são indicadores moleculares, bioquímicos ou estruturais que podem ser dosados com o intuito de avaliar o funcionamento de células, tecidos ou órgãos, sendo úteis para os estudos científicos e as avaliações clínicas (Karmakova *et al.*, 2021). Atualmente, a

creatinina e a ureia séricas são biomarcadores convencionais comumente dosados para a avaliação da IRA, apesar de serem consideradas moléculas que sinalizam a injúria renal de forma tardia e de terem variabilidade nos processos de produção e excreção (Ronco *et al.*, 2010).

Dados da literatura mostram que, mesmo a creatinina sendo considerada padrão-ouro no diagnóstico da insuficiência renal, ela é uma molécula que atrasa o diagnóstico em até 72 horas, favorecendo o cenário de pior prognóstico dos indivíduos (Senthilkumaran; Thirumalaikolundusubramanian; Elangovan, 2019). Apesar de ser uma molécula útil na avaliação da necessidade de diálise, a creatinina sérica não é tão útil para indicar o início da injúria renal diante da sua sinalização clínica tardia (Rodrigues; Endre, 2023).

Devido a isso, tem-se a necessidade de explorar biomarcadores não convencionais mais eficientes, precoces, sensíveis e específicos de avaliação da IRA (Karmakova *et al.*, 2021; Robinson-Cohen *et al.*, 2016). Assim, aborda-se abaixo alguns exemplos dessas biomoléculas.

2.5.1 Biomarcadores renais

2.5.1.1 Lipocalina Associada à Gelatinase de Neutrófilos (*Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin - NGAL*)

A Lipocalina Associada à Gelatinase de Neutrófilos (NGAL) é um polipeptídeo de 25 kDa, liberada pelos túbulos renais, ligada covalentemente à gelatinase de neutrófilo, pertencente à família das lipocalinas e com estrutura semelhante à de um barril tridimensional (Romejko; Markowska; Niemczyk, 2023; Senthilkumaran; Thirumalaikolundusubramanian; Elangovan, 2019). Além do monômero de 25 kDa, também há um homodímero de 45 kDa secretada no processo inflamatório e um complexo de 135 kDa composto pela NGAL com metaloproteinase de matriz (MMP-9) (Romejko; Markowska; Niemczyk, 2023). Além de suspender ou inibir a proliferação bacteriana e de possuir efeitos anti-apoptóticos, a NGAL induz o aumento da proliferação e da regeneração das células epiteliais dos túbulos renais, justificando a sua importante ação de proteção e de reparo na IRA (Senthilkumaran; Thirumalaikolundusubramanian; Elangovan, 2019).

Em amostras biológicas, esse biomarcador pode ser encontrado tanto no sangue quanto na urina após a injúria renal causada por isquemia, toxicidade e sepse, principalmente quando envolve as células tubulares renais ou corticais (Romejko; Markowska; Niemczyk, 2023; Senthilkumaran; Thirumalaikolundusubramanian; Elangovan, 2019). A NGAL sérica (sNGAL)

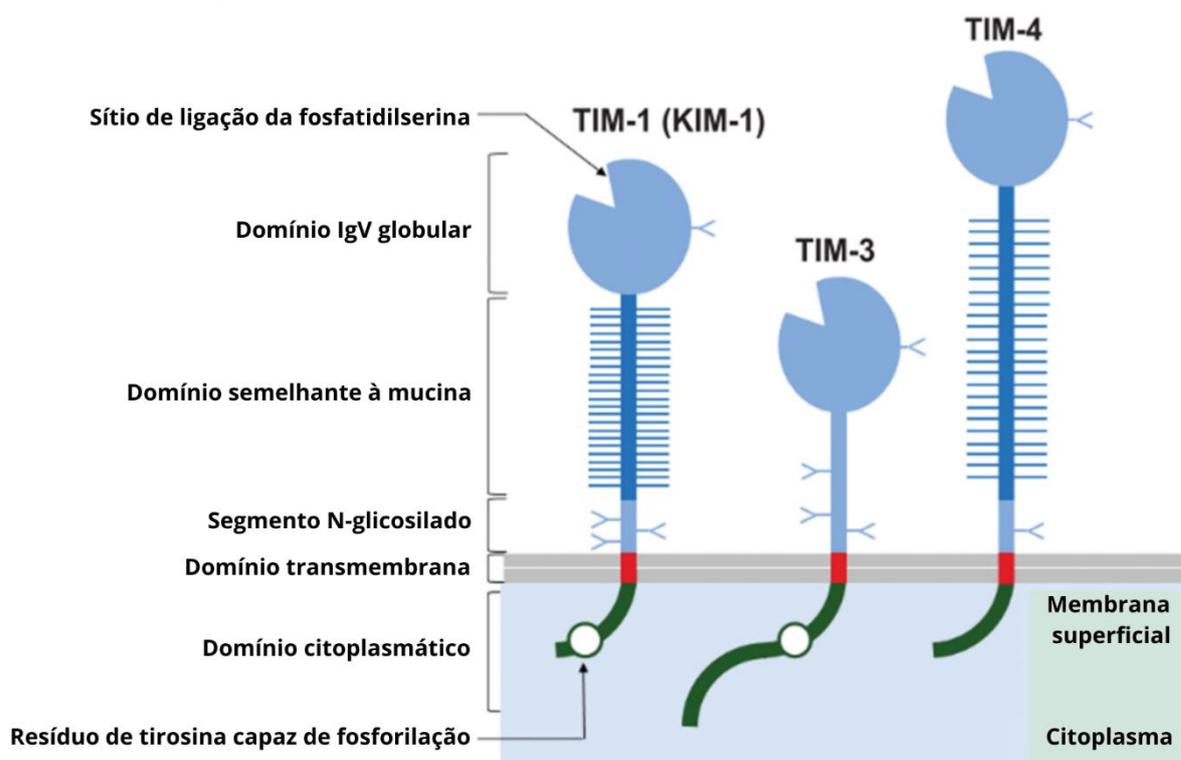
pode ter os seus níveis aumentados quando ocorre a diminuição da filtração glomerular, sendo detectada 2 horas após a IRA e apresentando um pico de concentração após 6 horas de início da lesão (Romejko; Markowska; Niemczyk, 2023; Wen; Parikh, 2021). Enquanto isso, a NGAL urinária (uNGAL) pode ter a sua concentração aumentada diante da redução da reabsorção do túbulo proximal, assim como devido a regulação positiva para a síntese de NGAL da alça de Henle e do túbulo distal (Wen; Parikh, 2021).

No contexto dos acidentes por serpentes peçonhentas, a NGAL apresentou níveis plasmáticos elevados depois de 6 a 8 horas após a mordedura, estando aumentada 24 horas antes da creatinina sérica, que, atualmente, é considerada como o biomarcador padrão-ouro no contexto da avaliação renal (Romejko; Markowska; Niemczyk, 2023; Senthilkumaran; Thirumalaikolundusubramanian; Elangovan, 2019). Diante disso, como a IRA é um importante fator de óbito no contexto dos acidentes por serpentes, tem-se considerado a NGAL como um biomarcador promissor a ser incluído na lista de exames disponíveis às equipes de urgência e emergência, podendo ser usado tanto a sNGAL como a uNGAL, visto que ainda não há evidências de superioridade entre as duas formas de dosagem (Romejko; Markowska; Niemczyk, 2023).

2.5.1.2 Molécula de Lesão Renal -1 (*Kidney Injury Molecule-1 - KIM-1*)

A Molécula de Lesão Renal-1 (KIM-1), também chamada de Domínio de Mucina de Imunoglobulinas de Células T-1 (TIM-1), é uma glicoproteína transmembrana, de até 104 kDa, expressa na face apical de células epiteliais do túbulo proximal dos rins (Figura 2) (Karmakova *et al.*, 2021; Yin; Wang, 2016). Outros tecidos também podem expressar essa biomolécula, mas em níveis mais baixos do que nos rins que possuem concentração 10 vezes maior (Karmakova *et al.*, 2021).

Figura 2 - Estrutura proteica do KIM-1.



Fonte: Adaptado de Karmakova, T. A. *et al.* (2020, p. 65).

A sua estrutura possui domínios citoplasmático e extracelular, sendo o primeiro mais curto que possui as variantes KIM-1a e KIM-1b, expressadas principalmente no fígado e nos rins, respectivamente (Yin; Wang, 2016). Em paralelo a isso, o domínio extracelular contém uma porção semelhante à imunoglobulina de 6 cisteínas ligadas em sítio de N-glicosilação e uma estrutura semelhante à mucina de proteínas ligadas em sítio de O-glicosilação (Karmakova *et al.*, 2021; Yin; Wang, 2016). Este domínio mucina é importante para a função da KIM-1 como mediadora da fagocitose de material apoptótico e necrótico de células tubulares que auxilia na preservação e restauração da integridade dos túbulos proximais renais (Yin; Wang, 2016).

A clivagem proteolítica da KIM-1 tem relação com a metaloproteinase e é um processo que resulta na eliminação de uma parte do domínio extracelular que pode ser dosado tanto no plasma quanto na urina (Karmakova *et al.*, 2021; Yin; Wang, 2016). No cenário de avaliação da IRA, a KIM-1 tem sido vista como um biomarcador promissor devido a sua sensibilidade e especificidade para a sinalização de danos nos túbulos proximais, além de poder ser utilizado como preditor de prognóstico, principalmente nos cenários de injúria aguda (Yin; Wang, 2016). Dessa forma, a expressão precoce de KIM-1, em comparação com a creatinina, pode ser

importante para o manejo clínico de pacientes que possuem riscos de desenvolver IRA (Yin; Wang, 2016; Yoon *et al.*, 2022).

2.5.1.3 Proteína Quimioatraente de Monócitos - 1 (*Monocyte chemoattractant protein 1 - MCP-1*)

A Proteína Quimioatraente de Monócito-1 (MCP-1) pertence a subfamília CC da classe das quimiocinas e, por isso, também chamada de Ligante de Quimiocina 2 (CCL2) (Liu *et al.*, 2024). Com peso molecular de 13 kDa e uma estrutura composta por 76 resíduos de aminoácidos, a MCP-1 é molécula filtrada na urina e produzida principalmente por monócitos e macrófagos, podendo também ser expressa por células endoteliais, epiteliais, musculares e outras (Albuquerque *et al.*, 2019; Liu *et al.*, 2024; Singh; Anshita; Ravichandiran, 2021). No organismo, a MCP-1 está muito relacionada com o processo inflamatório, visto que possui papel quimiotático que induz a migração de células imunes a partir de um estímulo químico (Singh; Anshita; Ravichandiran, 2021).

O MCP-1 pode se ligar a diversos receptores, mas o CCR2 é um receptor acoplado à proteína G que a quimiocina mais interage (Liu *et al.*, 2024; Singh; Anshita; Ravichandiran, 2021). A ampla expressão desse receptor em células imunológicas, como células dendríticas, basófilos, células T e células assassinas naturais (natural killers – NK), justifica a ação da MCP-1 como indutora de migração, infiltração e diferenciação de células do sistema imune, mas também atua como estimuladora do processo de formação de novos vasos sanguíneos após a lesão endotelial (Liu *et al.*, 2024; Singh; Anshita; Ravichandiran, 2021).

No contexto renal, estudos demonstram que a MCP-1 é uma das moléculas associadas ao risco de desenvolvimento de IRA e está relacionada ao processo de fibrose renal, visto que o dano neste órgão resulta em aumento da expressão da MCP-1, ativação de monócitos e secreção de citocinas fibrinogênica (Liu *et al.*, 2024). No acidente por *Bothrops erythromelas*, achados demonstram que a alta expressão de MCP-1 urinário em células tubulares evidencia a inflamação renal e o comprometimento tubular desencadeado por este envenenamento (Albuquerque *et al.*, 2019). Já em um experimento que usou veneno de *Bothrops jararaca* em modelo *ex vivo* de sangue total humano, demonstrou que o veneno induziu a produção de MCP-1 após 30 minutos de início do experimento, não reduzindo consideravelmente em até 120 minutos, o que demonstra ainda mais a importância desse biomarcador na injúria renal relacionada ao envenenamento botrópico (Leonel *et al.*, 2022).

2.5.2 Biomarcadores endoteliais

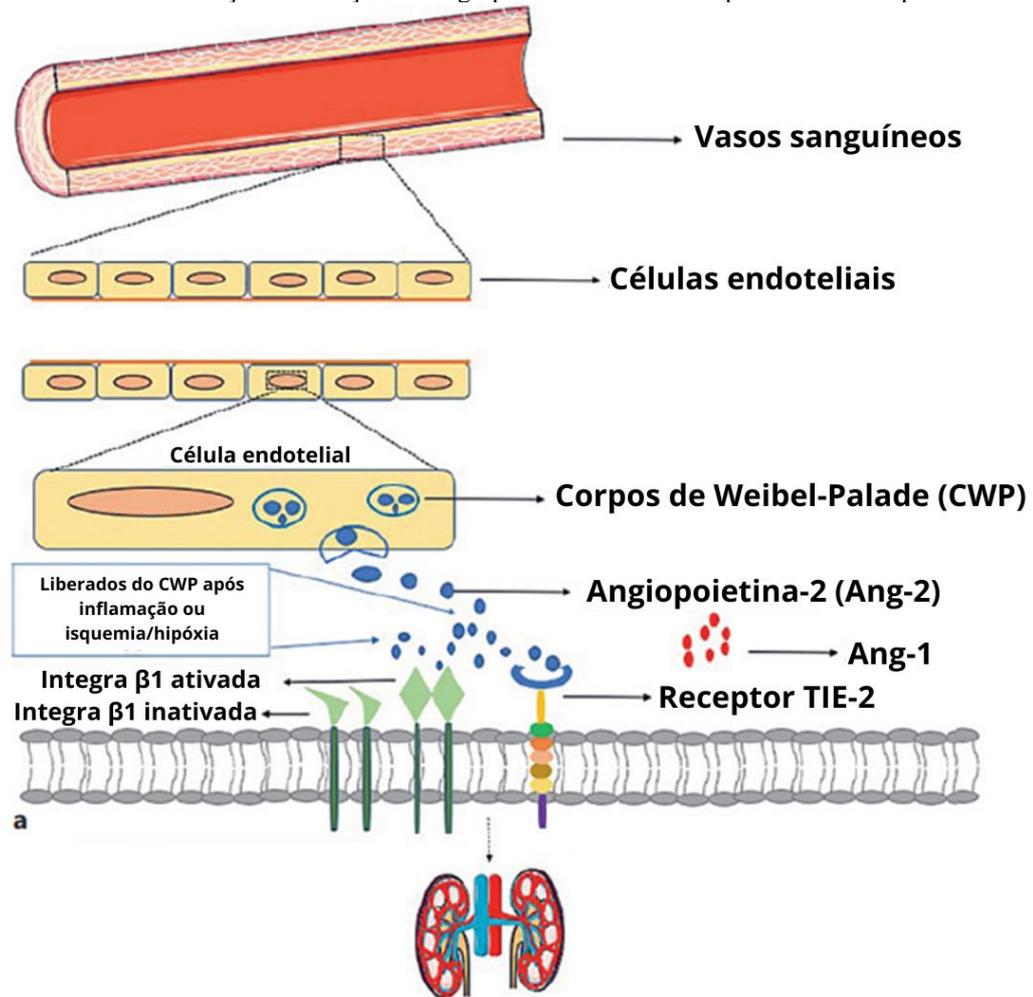
2.5.2.1 Angiopietina-1 (Ang-1) e Angiopietina-2 (Ang-2)

As Angiopietinas (Angs) são fatores angiogênicos importantes para os processos de remodelação, maturação e estabilização dos vasos sanguíneos, bem como participam da regulação da síntese de óxido nítrico (NO) (He *et al.*, 2019). Dentre as isoformas dessa família, destacam-se a Angiopietina-1 (Ang-1) e a Angiopietina-2 (Ang-2) que interagem com o domínio extracelular dos receptores de tirosina quinase (Tie1 e Tie2) presentes principalmente no endotélio (Figura 3) (Li *et al.*, 2023; Robinson-Cohen *et al.*, 2016). Nos rins, tais receptores são expressos nos capilares glomerulares e peritubulares (He *et al.*, 2019).

A Ang-1 é uma glicoproteína produzida por células de manutenção vascular, como os podócitos glomerulares, que beneficia a proteção vascular por contribuir com a remodelação e a formação de novos vasos sanguíneos, auxiliando a estabilização das células endoteliais diante de efeitos deletérios causados por diferentes patologias (He *et al.*, 2019; Jeansson *et al.*, 2011; Mota *et al.*, 2021). Em um estudo realizado com camundongos nocaute para Ang-1, foi demonstrado que esta biomolécula pode controlar a angiogênese a partir da indução da formação vasos sanguíneos em número e tamanhos adequados, além de a Ang-1 ter ação de restringir a fibrose (Jeansson *et al.*, 2011).

Em contrapartida, a Ang-2 é produzida pelas células endoteliais, armazenada em Corpos de Weibel-Palade (CWP) e liberada após estímulos deletérios, como a inflamação e a isquemia (Li *et al.*, 2023). Possui ação antagônica à da Ang-1, visto que a sua atividade inibidora dos receptores Tie2 promove a ativação endotelial, a desestabilização vascular, permeabilidade tecidual e a atividade inflamatória (Jeansson *et al.*, 2011; Li *et al.*, 2023). Além disso, a Ang-2, na presença do Fator de Crescimento Endotelial Vascular (VEGF), promove a proliferação e a migração endotelial (Li *et al.*, 2023).

Figura 3 - Processo de liberação e interação da Angiopietina-2 com o receptor de tirosina quinase 2.



Fonte: Adaptado de Li, M. *et al.* (2023, p. 2).

Assim, diante de estudos que sugerem o envolvimento da lesão vascular como contribuinte na patogênese da IRA e que demonstram a ocorrência do dano endotelial, induzido pela isquemia, em acidentes por *Bothrops* spp., pode-se inferir que as angiopietinas podem ser úteis como biomarcadores de avaliação renal (Mota *et al.*, 2021; Robinson-Cohen *et al.*, 2016). Um exemplo disso, é o estudo clínico realizado com pacientes acidentados por *Bothrops* spp. que demonstrou que a Ang-1 pode ser utilizada como uma possível preditora de IRA leve para esse contexto (Mota *et al.*, 2021).

2.5.2.2 *Syndecano-1 (Syndecan-1)*

A família dos proteoglicanos de sulfato de heparano de superfície celular possui quatro membros e o syndecan-1 é um constituinte desse grupo (Teng; Aquino; Park, 2012). Esta molécula é expressa principalmente em células epiteliais, pois auxilia na estabilização do tecido ao manter a conexão entre as células e a matriz extracelular (Reszegi *et al.*, 2022; Teng; Aquino; Park, 2012). O syndecan-1 possui cadeias de sulfato de heparano no domínio extracelular que podem ser clivadas por metaloproteinases, diminuindo a expressão do biomarcador na superfície celular e gerando moléculas solúveis que podem atuar de forma autócrina ou parácrina (Reszegi *et al.*, 2022; Teng; Aquino; Park, 2012).

As altas concentrações séricas dessa molécula indicam que houve injúria do glicocálix endotelial, visto que o syndecan-1 é um dos constituintes dessa estrutura que é importante para a integridade estrutural e a permeabilidade do sistema vascular (Mota, 2022; De Moura *et al.*, 2023). Assim, o dano no glicocálix pode desencadear instabilidade hemodinâmica que pode contribuir com o desenvolvimento da IRA após a ocorrência do acidente por *Bothrops* spp. (Albuquerque *et al.*, 2013; De Moura *et al.*, 2023). Em um estudo feito com pacientes graves com IRA, por exemplo, o syndecan-1 foi um biomarcador que apresentou um bom desempenho para prever a instabilidade hemodinâmica em indivíduos que fazem hemodiálise intermitente, demonstrando a possível associação dessa molécula com fisiologia renal (Moura *et al.*, 2023). Como as alterações endoteliais podem ser um importante via de desenvolvimento de IRA no envenenamento botrópico, o syndecan-1 pode ser um biomarcador útil na avaliação e acompanhamento clínico desses pacientes.

2.5.2.3 *Molécula de Adesão Celular Vascular 1 (Vascular cell adhesion molecule 1 - VCAM-1)*

A molécula de adesão celular vascular 1 (VCAM-1), também conhecida como CD106, é uma glicoproteína principalmente encontrada em células endoteliais que possui um peso molecular de 90 kDa (Kong *et al.*, 2018). No organismo, citocinas pró-inflamatórias e espécies reativas de oxigênio induzem o aumento da expressão desse biomarcador que participa dos processos de adesão de leucócitos e da migração endotelial (Cook-Mills; Marchese; Abdala-Valencia, 2011; Kong *et al.*, 2018). Assim como o syndecan-1, o VCAM-1 também pode ser clivado por metaloproteinases, sendo liberado no plasma (Cook-Mills; Marchese; Abdala-Valencia, 2011).

No âmbito da IRA, um estudo *in vivo* demonstrou aumento significativo de VCAM-1 no tecido renal após indução de lesão pulmonar (Hepokoski *et al.*, 2016). Enquanto isso, camundongos expostos repetidamente a lipopolissacarídeos apresentaram altos níveis de VCAM-1 em células glomerulares, indicando a participação desse biomarcador no processo de recrutamento de células do sistema imune para os rins (Baran *et al.*, 2000). Em se tratando dos acidentes por *Bothrops* spp., ainda há poucas pesquisas que demonstraram o uso do VCAM-1 na patogênese da IRA desencadeada pelo envenenamento, mas, devido a suas características e envolvimento do dano endotelial, essa molécula pode ser promissora no contexto dos acidentes ofídicos.

2.5.3 Biomarcador de coagulação

2.5.3.1 Fator de Von Willebrand A2 (vWF A2)

O Fator de Von Willebrand (vWF A2) é uma glicoproteína multimérica formada por subunidades ligadas por ligações dissulfeto que, juntas, podem atingir um peso molecular de 500 a 20.000 kDa (Nguyen; Cruz; Carcillo, 2015; Thomazini *et al.*, 2021). A síntese do vWF ocorre em células endoteliais e megacariócitos, sendo armazenado em grânulos especializados de plaquetas, de células endoteliais, nos corpos de Weibel-Palade vascular e no subendotélio (Denis; Lenting, 2012; Nguyen; Cruz; Carcillo, 2015).

No organismo, o vWF desempenha um papel fundamental na hemostasia primária, visto que possui a função de mediar a formação do tampão plaquetário a partir da junção das plaquetas com o endotélio e outras plaquetas, bem como é uma biomolécula que pode se ligar a fatores importantes no processo de coagulação, como o colágeno, os receptores da membrana plaquetária (GPIb α e GPIIb/IIIa) e o fator VIII (Thomazini *et al.*, 2021). Além dessa função, o vWF também participa do processo de angiogênese e um exemplo de mecanismo é a sua ação de impulsionar a formação de CWP, organela que armazena a Ang-2 e outras diferentes proteínas (Randi; Smith; Castaman, 2018).

Em condições normais, o vWF está presente na corrente sanguínea, mas a sua concentração aumenta quando as células endoteliais e as plaquetas são estimuladas por efeitos deletérios ou citocinas inflamatórias (Thomazini *et al.*, 2021). Na circulação, a atividade biológica do vWF está relacionada com o tamanho da glicoproteína, tornando importante o papel da metaloproteinase ADAMTS13 que cliva o vWF especificamente no domínio A2, entre os resíduos de tirosina 1605 e metionina 1606, que auxilia no controle fisiológico desse fator,

já que as moléculas maiores induzem mais a ativação e a agregação plaquetária em comparação com os multímeros pequenos, e gera o vWF A2 (Denis; LEnting, 2012; Thomazini *et al.*, 2021).

Justificativa

3 JUSTIFICATIVA

No Brasil, os acidentes por *Bothrops* spp. continuam sendo um desafio aos sistemas de saúde e a IRA possui um papel importante na morbimortalidade desses pacientes (Da Silva *et al.*, 2023; Mota *et al.*, 2021). Inicialmente, nosso grupo de estudos descreveu que o acidente por *Bothrops* spp. prejudica a concentração urinária dos pacientes e que os biomarcadores MCP-1 e NGAL apresentaram um bom desempenho como preditores de IRA (Albuquerque *et al.*, 2019). Posteriormente, descreveu-se a importância dos distúrbios de coagulação, do processo inflamatório, das alterações hemodinâmicas e do dano direto do veneno ao rim como possíveis mecanismos que induzem a IRA nesta doença (Albuquerque *et al.*, 2020). Como complemento, Mota *et al.* (2021) demonstrou que o dano endotelial estava associado ao maior risco de desenvolvimento de IRA, sugerindo a importância da avaliação dos biomarcadores endoteliais não convencionais na avaliação renal em pacientes que sofreram acidente botrópico, como a análise da angiopoietina-1 e do VCAM-1 na predição de IRA leve. Além disso, nosso grupo apontou que biomoléculas de coagulação também podem ser ferramentas eficazes no manejo clínico dos indivíduos acidentados, visto que a composição do veneno botrópico também afeta esse mecanismo (Santos, 2024).

Diante disso, o presente estudo se justifica pela necessidade da busca por biomarcadores não convencionais de detecção de IRA a partir de biomoléculas renais, endoteliais e de coagulação como mecanismos que ajudem a esclarecer mais a patogênese da IRA secundária ao envenenamento botrópico, a prever prognósticos, a permitir o diagnóstico precoce e a contribuir com a orientação para um manejo clínico mais adequado para cada indivíduo.

Objetivos

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

Investigar anormalidades da coagulação após o envenenamento botrópico e suas contribuições para a lesão renal antes e após a administração do antiveneno.

4.2 Objetivos específicos

- Caracterizar o perfil sociodemográfico e parâmetros laboratoriais dos pacientes do estudo;
- Comparar a ocorrência da injúria renal aguda entre os pacientes que apresentaram ou não sangramento ativo na admissão hospitalar;
- Analisar o uso de biomarcadores renais, endoteliais e de coagulação não convencionais como indicadores de injúria renal;
- Investigar a relação entre o distúrbio de coagulação e a injúria renal após o uso do antiveneno;
- Analisar se ocorre recuperação renal após a administração do soro antiofídico.

Material e métodos

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Tipo de estudo

O presente estudo é do tipo observacional, longitudinal e prospectivo realizado com 34 pacientes admitidos em um hospital de urgência e emergência, vítimas de acidentes por serpentes do gênero *Bothrops* spp.

5.2 Local e período da pesquisa

O estudo foi realizado com pacientes admitidos e acompanhados pela equipe do Centro de Informação e Assistência Toxicológica (CIATOX) localizado em um hospital de nível terciário considerado o maior centro médico de urgência e emergência de Fortaleza (Ceará, Brasil), sendo também uma referência no atendimento às vítimas de traumas de alta complexidade e de intoxicações. O hospital oferece atendimento 24h para a população e para outros profissionais de saúde.

O período de coleta das amostras de sangue e urina ocorreu previamente, enquanto que o estudo foi realizado entre agosto de 2022 a dezembro de 2023.

5.3 População do estudo

Pacientes, de ambos os sexos, com idade acima de 18 anos que tiveram o diagnóstico confirmado de acidente por *Bothrops* spp. e que assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Nas situações em que o paciente apresentou impossibilidade física ou mental, o termo foi assinado por um representante legal ou por um acompanhante.

A confirmação do acidente pela serpente do gênero *Bothrops* spp. foi feita a partir da apresentação da serpente durante o procedimento de admissão do paciente no hospital; por fotos do animal enviadas ao CIATOX pela unidade de saúde de origem, pelo paciente ou pelo acompanhante deste; ou por análise das informações epidemiológicas, clínicas e laboratoriais.

5.3.1 Critérios de não inclusão

- Pacientes admitidos no hospital com tempo maior que 8 horas após o acidente;
- Pacientes que receberam soro antiofídico antes da primeira coleta de suas amostras biológicas para o estudo;

- Pacientes com diagnóstico de diabetes mellitus tipo 1 ou 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);
- Pacientes com história de doença renal prévia (aguda ou crônica), litíase renal e uso de fármacos nefrotóxicos;
- Paciente portador de qualquer outra doença que possa levar à disfunção renal;
- Pacientes com sorologia positiva para hepatites B, C e HIV;
- Gestantes.

5.4 Coleta de dados

Os dados clínicos e sociodemográficos dos pacientes foram coletados na admissão e durante o período de internação a partir do preenchimento das fichas do Sistema Brasileiro de Registro de intoxicações dos Centros de Informação e Assistência Toxicológica (DATATOX) e do Sistema de Informação de Agravos de Notificação (Sinan).

No momento da admissão, a equipe do CIATOX realizou o exame físico dos pacientes acidentados para registrar se eles estavam com sangramentos ativos, como gengivorragia, sangramento nasal, hematêmese e outros. A partir dessa avaliação, foi possível dividir a amostra em um grupo dos pacientes que apresentaram sangramento na admissão e os que não apresentaram. Esse critério foi utilizado, porque a injúria endotelial, o sangramento e a incoagulabilidade sanguínea são manifestações observadas no acidente botrópico e estão relacionadas com dano tecidual, complicações clínicas e óbito (Cavalcante *et al.*, 2023).

5.5 Coleta e processamento de amostras biológicas

As amostras biológicas dos pacientes incluídos no estudo seriam inicialmente coletadas de acordo com o fluxograma do guia de seguimento do paciente após a infusão do soro antibotrópico (SAB) que sugere um sistema de acompanhamento clínico das vítimas que sofreram acidente botrópico. Dessa forma, as coletas de sangue total, plasma, soro e urina seriam realizadas nos tempos de 0 a 8 horas após o acidente (na admissão e antes da administração do soro antiofídico), bem como 12 a 16 horas e 24 a 28 horas após a

administração do SAB. Entretanto, devido ao fluxo do hospital, as duas coletas feitas após o antiveneno tiveram uma média de tempo de 10 horas e 20 horas, respectivamente.

Utilizou-se os tubos de EDTA para a coleta do sangue total, os tubos com ativador de coágulo e gel separador para a obtenção do soro, os com citrato de sódio tamponado 3,8% para a retirada do plasma e os coletores estéreis para o armazenamento da urina. Após a realização de parâmetros bioquímicos, as amostras coletadas foram aliqüotadas em eppendorfs identificados com códigos de congelamento, armazenadas em refrigeradores a -20°C e transferidas para o Laboratório de Bioprospecção Farmacêutica e Bioquímica Clínica (LBFBC) da Universidade Federal do Ceará (UFC), onde foram armazenadas em uma temperatura de -80°C até o momento da dosagem dos biomarcadores não convencionais (NGAL, KIM-1, MCP-1, vWF A2, angiopoietinas 1 e 2, syndecan-1 e VCAM).

5.6 Análises dos parâmetros laboratoriais

Os parâmetros hematológicos, como hemoglobina (Hb), hematócrito (Ht) e plaquetas, foram analisados e quantificados pelo Sistema ADVIA® 2120i (Siemens Healthineers), um analisador automático de alto volume. Os testes de coagulação, como Tempo de Protrombina (TP ou TAP) e Tempo de Tromboplastina Parcial Ativado (TTPa) foram analisados pelo Sysmex® CA-1500 (Sysmex Corporation, Chou-Ku, Kobe, Japão), analisador automático de coagulação sanguínea que utilizou os métodos coagulométricos ou imunoturbidimétricos padronizados de acordo com os protocolos do fabricante. Já os parâmetros bioquímicos, como dosagem sérica de ureia (sUr) e de creatinina (sCr), foram dosados no equipamento CMD 800i (Wiener Lab), enquanto que os níveis séricos de íons sódio (Na^+) e potássio (K^+) foram no 9180 Electrolyte Analyzer (Roche®), um analisador de eletrólitos seletivo de íons. A proteinúria foi avaliada na análise do sedimento urinário resultante da centrifugação das amostras 1500 rpm por 5 minutos e posterior descarte do sobrenadante.

A partir dos resultados de TAP e TTPa, os pacientes foram classificados como “coagulável” ou “incoagulável”. Nos casos em que esses dois exames não deram leitura, o indivíduo recebeu a classificação como “incoagulável” e isso ocorre quando o valor de TAP $>$ 120 segundos e o de TTPa $>$ 180 segundos.

5.7 Avaliação da função renal e classificação da injúria renal aguda

Realizou-se o ensaio colorimétrico cinético, baseado no método de Jaffe, para dosar a creatinina sérica dos pacientes durante os respectivos períodos de internação. A partir desses resultados, foi possível calcular a taxa de filtração glomerular (TGF) com o auxílio da equação da *Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration* (CKD-EPI) adequada para a população em estudo.

Além disso, os resultados da sCr também foram utilizados para classificar clinicamente a IRA dos pacientes em 3 estágios, de acordo com os critérios da *Kidney Disease Improving Global Outcomes* (KDIGO). O estágio 1 é caracterizado pelo aumento de 1,5 a 1,9 vezes da sCr basal ou aumento maior ou igual a 0,3 mg/dL ($\geq 26,5 \mu\text{mol/L}$) em até 48 horas (Tabela 1). Enquanto que no estágio 2, encontram-se os pacientes que tiveram um aumento de 2,0 a 2,9 vezes o valor da creatinina basal. Já no estágio 3, tem-se os indivíduos que tiveram uma elevação de 3 vezes o valor da creatinina basal ou apresentaram um valor de creatinina $\geq 4,0$ mg/dL ($\geq 353,6 \mu\text{mol/L}$) (Chen, 2012).

Por fim, é importante dizer que, neste estudo, admitiu-se como creatinina basal o menor valor de creatinina obtido durante a internação, visto que não se tinham informações prévias sobre a bioquímica dos pacientes.

Tabela 1 - Classificação clínica da injúria renal aguda conforme os critérios da KDIGO (2012).

Estágio	Creatinina sérica	Débito urinário
1	Aumento de 1,5–1,9 vezes da creatinina basal OU $\geq 0,3$ mg/dL ($\geq 26,5 \mu\text{mol/L}$) em até 48 horas	$<0,5$ mL/kg/h por 6–12 horas
2	Aumento de 2,0–2,9 vezes da creatinina basal	$< 0,5$ mL/kg/h por ≥ 12 horas
3	Aumento de 3,0 vezes da creatinina basal OU $\geq 4,0$ mg/dL ($\geq 353,6 \mu\text{mol/L}$) OU Início da terapia de substituição renal OU, em pacientes < 18 anos, diminuição da taxa de filtração glomerular para < 35 mL/min/1,73 m ²	$<0,3$ mL/kg/h por ≥ 24 horas OU Anúria por ≥ 12 horas

Fonte: Adaptado de KDIGO (2012).

5.8 Análises dos biomarcadores não convencionais

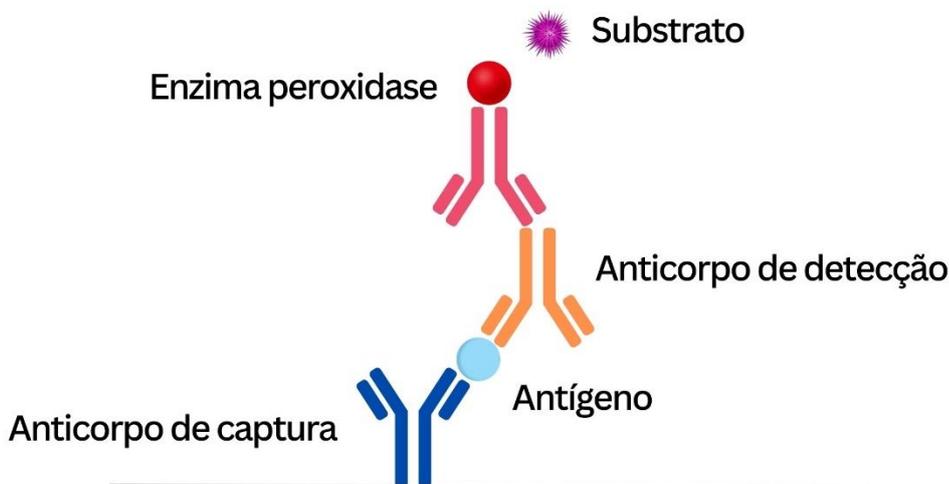
As dosagens dos marcadores não convencionais foram feitas a partir da técnica do Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* - ELISA) do tipo sanduíche que possui alta especificidade e sensibilidade para a detecção e quantificação de moléculas renais, como o NGAL urinário e sérico (DY1757, R&D Systems®), o KIM-1 urinário (DY1750B, R&D Systems®) e o MCP-1 urinário (DY279, R&D Systems®), de moléculas endoteliais, como a angiopoietina 1 sérica (DY923, R&D Systems®), a angiopoietina 2 sérica (DY623, R&D Systems®), o syndecan-1 sérico (ab47352, Abcam®) e o VCAM-1 sérico (ab47355, Abcam®), e de molécula de coagulação, como o vWF A2 sérico (DY2764-05, R&D Systems®) (Figura 4).

Neste estudo, utilizou-se kits comerciais (R&D Systems® e Abcam®) específicos para cada um dos biomarcadores, realizando-se testes *in house* de acordo com a seguinte metodologia: 1) Adição de 100 µL da solução de anticorpos de captura, preparados de acordo com as orientações do kit, em placa de 96 poços específica para o ensaio, deixando-a em agitação overnight; 2) Lavagem da placa com solução lavagem, constituída de salina tamponada com fosfato (PBS) e Tween 20, para a retirada dos anticorpos que não se ligaram na placa; 3) Bloqueio dos poços com 300 µL de albumina de soro bovino (BSA) a 1% por 1 hora em agitação; 4) Lavagem da placa para retirar o excesso de BSA 1%; 5) Preparo do anticorpo padrão de acordo com as orientações do kits e construção da curva padrão a partir de uma diluição seriada; 6) Adição de 100 µL de cada concentração da curva padrão e das amostras na placa de ELISA, deixando-as em agitação por 1 hora; 7) Lavagem da placa para retirar os antígenos que não se ligaram no anticorpo de captura; 8) Adição de 100 µL da solução de anticorpos de detecção, preparados de acordo com as orientações do kit, deixando-o em agitação por 1 hora; 9) Lavagem da placa para retirar os anticorpos de detecção que não se ligaram nos antígenos; 10) Adição de 100 µL da enzima peroxidase em cada poço em ambiente com pouca luminosidade, devido a sua fotossensibilidade, por um tempo de 20 minutos; 11) Lavagem da placa para retirar as enzimas que não se ligaram no anticorpo de detecção; 12) Adição 100 µL do substrato por tempo necessário a cada kit; 13) Adição de 100 µL solução de ácido sulfúrico em cada poço da placa para interromper a reação; 14) Leitura da placa em uma leitora de microplacas em comprimento de onda de 450 nm. Quanto maior a absorbância obtida, maior a concentração do biomarcador analisado.

No caso dos kits comerciais da Abcam®, o bloqueio das placadas ocorre com a adição de 250 µL de BSA 5% por 2 horas, bem como a adição 100 µL de cada ponto da curva padrão,

100 μL de cada amostra a ser analisada e de 50 μL anticorpo de detecção ocorrem na mesma etapa, deixando-os em agitação por 1 hora. Além disso, a enzima peroxidase é preparada de acordo com as orientações do kit e o tempo de agitação é de 30 minutos.

Figura 4 - Método ELISA sanduíche.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2024).

Os resultados das análises dos biomarcadores urinários foram corrigidos com a dosagem de creatinina na urina para controlar as diferenças na concentração urinária.

5.9 Tratamento dos pacientes

No processo de admissão dos pacientes, a equipe de saúde classifica o acidente em leve, moderado e grave de acordo com as características clínicas apresentadas pelo indivíduo e com as orientações do Ministério da Saúde (Brasil, 2023b; Ceará, 2021). Após a classificação da condição clínica e a coleta das amostras do primeiro tempo, os pacientes receberam a infusão de SAB, sendo 2 a 4 ampolas para os pacientes com quadro leve, 4 a 8 ampolas para o grupo com quadro moderado e 12 ampolas para os indivíduos com quadro grave (Brasil, 2023b).

5.10 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, e dados não normais como mediana e amplitude interquartil. Para comparação entre dois grupos independentes foi usado os testes t de Student ou Mann-Whitney de acordo com a normalidade dos dados. O teste paramétrico ANOVA com pós-teste de Tukey foi usado para comparações entre 3 grupos independentes para dados normais, e para dados não normais foi usado o 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 normais foi usado 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-normais, foi usado o teste não-paramétrico 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 estatisticamente significativos. Os dados foram analisados nos softwares SPSS (versão 23, IBM Corp.) e R-Studio (R Core Team, 2023), sendo utilizado neste os pacotes pacman, ggplot, dplyr, tidyr e readxl.

5.11 Aspectos éticos-legais

O estudo obteve a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (CAAE: 41664214.5.0000.5052) e foi conduzido de acordo com o que é preconizado pela Resolução nº 466/2012.

Os participantes assinaram o TCLE (Anexo A), após esclarecimentos das informações referentes à pesquisa, para que as coletas e as análises pudessem ser realizadas. Durante o estudo, preservou-se o anonimato, a privacidade e a proteção das informações obtidas, usando-as apenas para este projeto.

Resultados

6 RESULTADOS

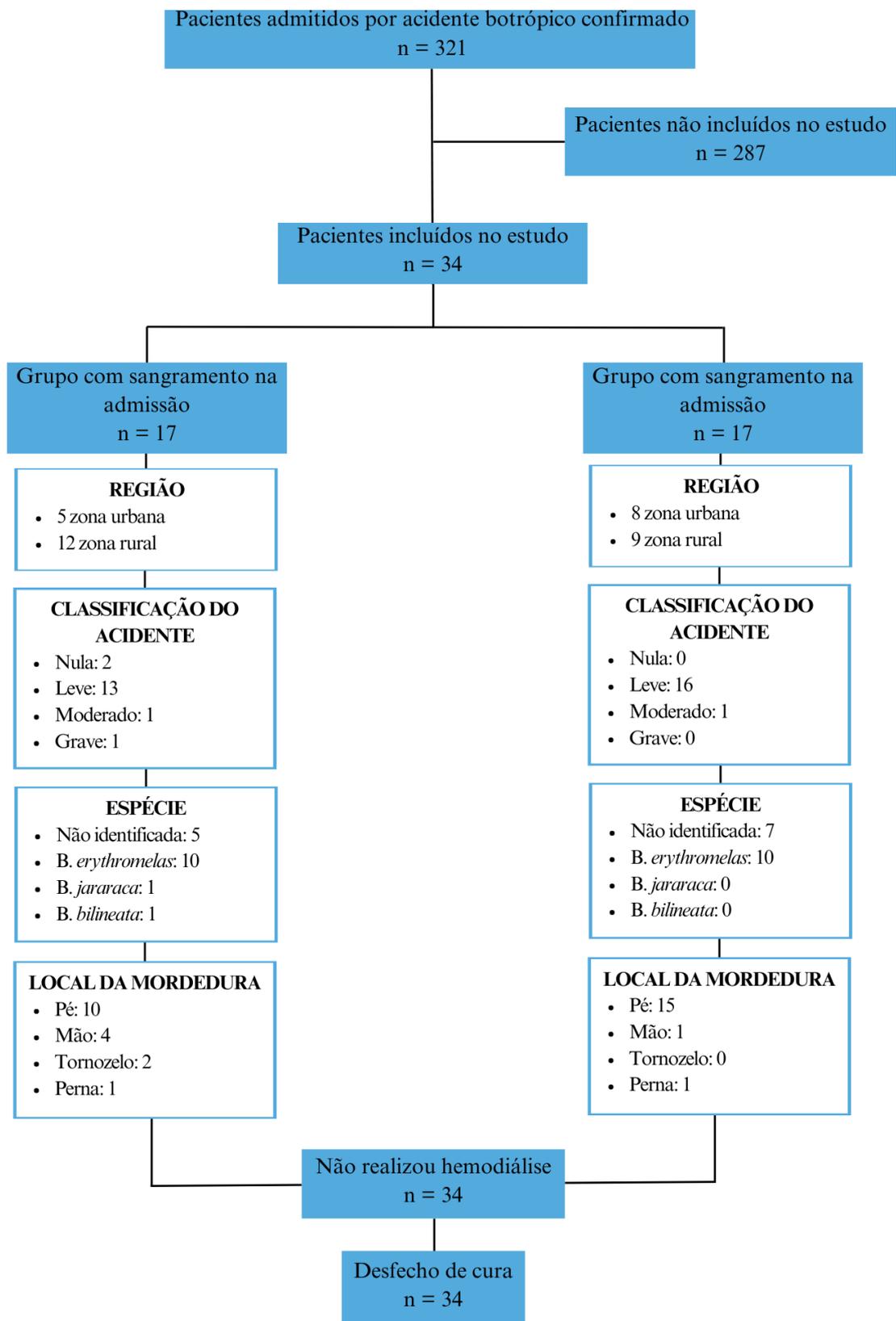
6.1 Avaliação dos fatores sociodemográficos e dos parâmetros laboratoriais da admissão hospitalar

Durante o período de coleta das amostras, cerca de 321 pacientes receberam diagnóstico confirmado para acidente por serpente do gênero *Bothrops* spp. Desta população, 287 indivíduos não foram incluídos no estudo por possuir idade menor que 18 anos, por terem recebido SAB antes da admissão hospitalar, por chegarem à unidade de saúde com mais de 8 horas de ocorrência do acidente ou por apresentarem um dos demais critérios de não inclusão estabelecidos na metodologia do estudo.

Assim, foram avaliados 34 pacientes acidentados, sendo 13 advindos da zona urbana e 21 da zona rural. Do total da amostra, 20 casos envolveram a serpente *B. erythromelas*, 1 a *B. bilineata*, 1 a *B. jararaca* e 12 espécies não foram identificadas durante a avaliação feita pela equipe do hospital. Em relação ao local da mordedura, 25 ocorreram no pé, 5 na mão, 2 no tornozelo e 2 na perna. Dos 34 casos, 29 receberam uma classificação final do acidente como leve, 2 como moderado, 1 como grave e 2 como nulo. Esta última classificação ocorre em casos em que o paciente não recebeu a avaliação final da equipe do CIATox por, por exemplo, não ter mais sido encontrado na unidade de saúde. Além disso, nenhum indivíduo necessitou de hemodiálise e todos receberam alta por cura.

Os 34 pacientes foram divididos em dois grupos seguindo o critério de apresentar ou não sangramento ativo na admissão hospitalar, obtendo-se 17 pacientes em cada grupo. A figura 5 descreve em detalhes a redistribuição das classificações descritas acima, porém detalhado para cada um dos grupos estudados.

Figura 5 - Fluxograma da inclusão dos pacientes estudados.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2024).

Os parâmetros sociodemográficos e laboratoriais de função renal foram avaliados na admissão hospitalar (tabela 2). Como resultado, obteve-se uma amostra composta por 82% (28) dos pacientes pertencentes ao gênero masculino e com idade média de 46,3 anos. Em relação ao tempo entre a ocorrência do acidente e a admissão hospitalar, os pacientes demoraram, em média, 5,8 horas para serem atendidos na unidade de urgência e emergência participante deste estudo. Apesar desses resultados, não foram observadas diferenças estatísticas significativas até então.

Em relação aos parâmetros laboratoriais renais, foi possível dosar parâmetros de avaliação renal, como creatinina sérica, ureia sérica, proteinúria e albuminúria, bem como calcular a taxa de filtração glomerular estimada para que fosse possível classificar se cada paciente apresentava ou não IRA de acordo com os critérios estabelecidos pelo KDIGO, resultando em uma incidência de injúria renal semelhante entre os dois grupos (tabela 2). Embora a maioria dos resultados não terem sido significativos, foi possível detectar uma significância notável entre a razão dos níveis da proteinúria pela creatinina que foi maior no grupo dos indivíduos que apresentaram sangramento na admissão (tabela 2).

Tabela 2 - Comparação de parâmetros sociodemográficos e laboratoriais de função renal entre os grupos com sangramento e sem sangramento na admissão hospitalar (continua).

	Pacientes (n=34)	Sangramento		p
		Não (n=17)	Sim (n=17)	
Idade (anos)	46,3 ± 14,5	44,1 ± 16,6	47,5 ± 12,3	0,502
Sexo				0,656
Masculino	28 (82,0)	15 (88,2)	13 (76,5)	
Feminino	6 (18,0)	2 (11,8)	4 (23,5)	
Zona				0,290
Rural	21 (61,8)	9 (52,9)	12 (70,6)	
Urbana	13 (38,2)	8 (47,1)	5 (29,4)	
Tempo pós mordedura até a admissão hospitalar (horas)	5,8 ± 1,7	5,6 ± 2,3	5,9 ± 0,9	0,675
Classificação final do acidente				0,346
Nulo	2 (5,9)	0 (0,0)	2 (11,8)	
Leve	29 (85,3)	16 (94,1)	13 (76,5)	
Moderado	2 (5,9)	1 (5,9)	1 (5,9)	
Grave	1 (2,9)	0 (0,0)	1 (5,9)	

Dados categóricos expressos como contagens absolutas e porcentagens entre parênteses. Dados quantitativos expressos como média ± desvio padrão ou como mediana e intervalo interquartil entre parênteses. * p < 0,05. Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Tabela 2 - Comparação de parâmetros sociodemográficos e laboratoriais de função renal entre os grupos com sangramento e sem sangramento na admissão hospitalar (conclusão).

	Pacientes (n=34)	Sangramento		p
		Não (n=17)	Sim (n=17)	
Avaliação renal				
IRA (KDIGO)				0,730
Sim	19 (56,0)	9 (52,9)	10 (58,8)	
Não	15 (44,0)	8 (47,1)	7 (41,2)	
Creatinina sérica (mg/dL)	1,1 ± 0,3	1,2 ± 0,3	1,1 ± 0,3	0,535
Taxa de filtração glomerular estimada (mL/min/1.73m²)	88,07 ± 27,8	90,36 ± 27,8	87,28 ± 28,7	0,752
Ureia sérica (mg/dL)	38,2 ± 10,3	38,1 ± 10,8	37 ± 8,4	0,752
Razão proteinúria/creatinina	0,75 (0,37 – 1,32)	0,47 (0,27 - 0,75)	1,09 (0,79 - 2,05)	0,034*
Albuminúria (mg/g-Cr)	0,50 (0,30 – 0,70)	0,5 (0,3 - 0,7)	0,5 (0,3 - 0,7)	0,736

Dados categóricos expressos como contagens absolutas e porcentagens entre parênteses. Dados quantitativos expressos como média ± desvio padrão ou como mediana e intervalo interquartil entre parênteses. * p < 0,05. Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Além disso, outros exames laboratoriais também foram avaliados, como a dosagem de glicose, eletrólitos (sódio, cloreto e cálcio), hemoglobina, hematócrito, hemácias, leucócitos e plaqueta, assim como foram realizados exames de coagulação, como TAP e TTPa (tabela 3). A partir desses resultados, obteve-se apenas a classificação da coagulação como significativa, visto que 94,1% (16) dos pacientes que apresentaram sangramento na admissão foram os que receberam a classificação de incoagulável (tabela 3).

Tabela 3 - Comparação de parâmetros de íons, hematológicos e de coagulação entre os grupos com sangramento e sem sangramento na admissão hospitalar (continua).

	Pacientes (n=34)	Sangramento		p
		Não (n=17)	Sim (n=17)	
Outros parâmetros				
Glicose sérica (mg/dL)	106,8 ± 19,4	99,2 ± 15,5	109,8 ± 21,3	0,297
Íon Na⁺ sérico (mmol/L)	140,4 ± 2,5	139,6 ± 2,2	141,1 ± 2,7	0,085
Íon Cl⁻ sérico (mEq/L)	103,3 ± 2,9	102 ± 2,4	104,3 ± 3,1	0,082
Íon Ca²⁺ sérico (mg/dL)	9,5 ± 0,5	9,7 ± 0,6	9,4 ± 0,5	0,334
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/ mm³)	4,88 ± 0,4	4,97 ± 0,5	4,79 ± 0,3	0,214

Dados categóricos expressos como contagens absolutas e porcentagens entre parênteses. Dados quantitativos expressos como média ± desvio padrão ou como mediana e intervalo interquartil entre parênteses. TAP = Tempo de Protrombina. TTPa = Tempo de Tromboplastina Parcial Ativado. * p < 0,05. ** Pacientes com TAP > 120 segundos e TTPa > 180 segundos. Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Tabela 3 - Comparação de parâmetros de íons, hematológicos e de coagulação entre os grupos com sangramento e sem sangramento na admissão hospitalar (conclusão).

	Pacientes (n=34)	Sangramento		p
		Não (n=17)	Sim (n=17)	
Leucócitos (mm³)	11561,7 ± 2946,4	11615,9 ± 2588,8	11624,7 ± 3389,7	0,993
Plaquetas (mm³)	181314 ± 95313	211117 ± 83499	151764 ± 102274	0,073
Coagulação				0,034*
Coagulável	7 (21,0)	6 (35,3)	1 (5,9)	
Incoagulável**	27 (79,0)	11 (64,7)	16 (94,1)	
TAP (s)	121 (20,7 - 121)	121 (22,1 - 121)	121 (0 - 121)	0,736
TTPa (s)	181 (34,5 - 181)	181 (37,4 - 181)	180 (29,9 - 181)	0,322

Dados categóricos expressos como contagens absolutas e porcentagens entre parênteses. Dados quantitativos expressos como média ± desvio padrão ou como mediana e intervalo interquartil entre parênteses. TAP = Tempo de Protrombina. TTPa = Tempo de Tromboplastina Parcial Ativado. * p <0,05. ** Pacientes com TAP > 120 segundos e TTPa > 180 segundos. Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

6.2 Comparação dos biomarcadores renais e endoteliais não convencionais entre os grupos do estudo

Durante o período de internação dos pacientes, foram realizadas três coletas das amostras de sangue e de urina em momentos diferentes, sendo a primeira coleta antes da administração do SAB, a segunda coleta 10 horas após a infusão deste e a terceira coleta 20 horas após o antiveneno. A partir disso, foi possível dosar os biomarcadores renais (MCP-1, KIM-1 e NGAL) e os endoteliais (Ang-1, Ang-2, syndecan-1, VCAM-1 e vWFA2).

Em relação aos resultados obtidos com a primeira coleta, é possível observar que o KIM-1 urinário (uKIM-1) apresentou diferenças significativas entre os grupos, visto que o conjunto de indivíduos que apresentaram sangramento ativo na admissão tiveram maiores concentrações de uKIM-1 em relação aos que não apresentaram sangramento. Além disso, também se obteve resultados significativos em relação ao uNGAL que apresentou níveis maiores nos pacientes que chegaram ao hospital com sangramento (tabela 4). Os demais biomarcadores não apresentaram diferenças estatísticas significativas na avaliação realizada com as amostras coletadas antes da administração do SAB.

Em paralelo a isso, os resultados obtidos, com as coletas feitas 10 horas após a soroterapia, demonstraram que os níveis de uKIM-1 continuaram significativamente mais elevados no grupo de pacientes que apresentaram sangramento na admissão, sendo a diferença numérica mais expressiva do que a comparação anterior. Ademais, nota-se que a concentração de syndecan-1 também foi significativamente maior nos pacientes que chegaram ao hospital com sangramento (tabela 4).

Na tabela 4 é possível observar que após 20 horas após a infusão do SAB, os pacientes, que manifestaram sangramento na admissão, apresentaram níveis significativamente elevados de uNGAL em comparação ao grupo que chegou ao hospital sem sangramento. Apesar disso, não foram observadas outras diferenças significativas em relação aos outros biomarcadores endoteliais e renais não convencionais avaliados neste estudo.

Por fim, é possível notar, nas tabelas 2 e 4, que 41,2% (7) dos pacientes do grupo com sangramento não apresentaram IRA de acordo com o critério do KDIGO, mas tiveram resultados significativamente mais elevados dos biomarcadores renais não convencionais. A partir disso e da proposta de nova definição de IRA de Ostermann *et al.* (2020), tais pacientes podem ser classificados com IRA subclínica, também chamada de IRA 1S.

Tabela 4 - Comparação dos biomarcadores em diferentes momentos entre os grupos com e sem sangramento (continua).

	Pacientes (n=35)	Sangramento		p
		Não (n=17)	Sim (n=17)	
Coleta 1				
Biomarcadores endoteliais				
Angiopietina 1 (ng/mL)	7,66 (1,27 - 21,8)	11,33 (2,64 - 20,34)	7,66 (1,17 - 24,2)	0,563
Angiopietina 2 (ng/mL)	1,5 (0,73 - 3,95)	1,1 (0,79 - 2,73)	2,73 (0,73 - 4,32)	0,394
Taxa 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 (ng/mL)	63,8 (50,5 - 100,7)	53,2 (46,3 - 92,6)	79,3 (53,4 - 135,4)	0,170
VCAM - 1 (ng/mL)	1105,8 (837,4 - 3096,1)	1126,8 (838,3 - 2087,2)	1775,5 (818,3 - 3612,9)	0,287
vWFA2 (ng/mL)	21827,2 (23,2 - 46787,3)	36,1 (16,5 - 39869,7)	25751,3 (7830,1 - 41164,2)	0,433
Biomarcadores renais				
MCP-1 urinário (ng/mg-Cr)	432,5 (112,2 ; 607,4)	262,4 (70,9 ; 558,1)	550,1 (112,2 ; 786,6)	0,202
KIM-1 urinário (ng/mg-Cr)	492,3 (225,24 ; 885,44)	299,73 (163,06 ; 568,66)	670,04 (468,04 ; 1094,13)	0,028 *
NGAL sérico (ng/mL)	207,4 (159,8 - 320,5)	231,3 (179,1 - 281,4)	189,5 (155,2 - 456,4)	0,634
NGAL urinário (ng/mg-Cr)	23,4 (22,5 ; 25,7)	13,6 (8,6 ; 28,9)	42 (19,9 ; 160,1)	0,014 *
Coleta 2				
Biomarcadores endoteliais				
Angiopietina 1 (ng/mL)	21,52 (1,06 - 32,57)	13,13 (1,47 - 21,85)	28,75 (3,31 - 51,95)	0,231
Angiopietina 2 (ng/mL)	1,79 (0,77 - 5,25)	1,3 (0,66 - 3,22)	3,87 (1,13 - 6,35)	0,132
Taxa 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 (ng/mL)	71,9 (47,3 - 95,3)	54,4 (42,6 - 79,8)	82,1 (57,1 - 110,7)	0,029 *

Dados quantitativos expressos como média \pm desvio padrão ou como mediana e intervalo interquartil entre parênteses. * p <0,05. VCAM = Molécula de adesão celular vascular 1. vWFA2 = Fator de Von Willebrand. MCP-1 = Proteína Quimioatraente de Monócito-1. KIM-1 = Molécula de Lesão Renal-1. NGAL = Lipocalina Associada à Gelatinase de Neutrófilos. Coleta 1 = Antes do antiveneno. Coleta 2 = 10 horas depois do antiveneno. Coleta 3 = 20 horas depois do antiveneno. Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Tabela 4 - Comparação dos biomarcadores em diferentes momentos entre os grupos com e sem sangramento (conclusão).

	Pacientes (n=35)	Sangramento		p
		Não (n=17)	Sim (n=17)	
VCAM - 1 (ng/mL)	1187,1 (810 - 2004,1)	1105,8 (783,6 - 1596)	1735,8 (976,2 - 2435,5)	0,179
vWFA2 (ng/mL)	22474,5 (22,4 - 45068)	31091,2 (22,5 - 47353,7)	9084,2 (22,3 - 24780,4)	0,138
Biomarcadores renais				
MCP-1 urinário (ng/mg-Cr)	343,9 (153,1 ; 600,7)	269,3 (68,5 ; 526,2)	484,9 (204,4 ; 1050,8)	0,146
KIM-1 urinário (ng/mg-Cr)	353,88 (195,19 ; 925,22)	256,95 (184,19 ; 364,14)	907,96 (362,27 ; 1199,15)	0,020 *
NGAL sérico (ng/mL)	195,7 (153,2 - 303,6)	195,7 (171,7 - 258,7)	303,6 (120,5 - 600,6)	0,331
NGAL urinário (ng/mg-Cr)	21 (11,6 ; 23,4)	10 (3,4 ; 18,5)	19,2 (8,3 ; 54,9)	0,186
Coleta 3				
Biomarcadores endoteliais				
Angiopietina 1 (ng/mL)	19,47 (0,96 - 27,27)	9,54 (1,29 - 22,57)	23,6 (0,3 - 43,78)	0,427
Angiopietina 2 (ng/mL)	1,53 (0,33 - 2,85)	1,12 (0,21 - 2,05)	2,62 (0,83 - 3,35)	0,202
Taxa 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 (ng/mL)	55,4 (46,1 - 76,1)	52,3 (44,6 - 70,9)	69,6 (52 - 90)	0,265
VCAM - 1 (ng/mL)	1580,5 (844,7 - 1943)	1050,1 (790 - 1754)	1676,1 (1565,9 - 2559,8)	0,104
vWFA2 (ng/mL)	11956,4 (9,6 - 28623,5)	12441,9 (7,9 - 42499,2)	11693,5 (2714,6 - 22919,5)	0,820
Biomarcadores renais				
MCP-1 urinário (ng/mg-Cr)	313,7 (201 ; 1369,7)	274,3 (150,1 ; 366,6)	950,6 (253,8 ; 2254,4)	0,078
KIM-1 urinário (ng/mg-Cr)	611,72 (268,87 ; 1407,61)	437,24 (178,33 ; 835,17)	1176,03 (553,7 ; 2451,72)	0,056
NGAL sérico (ng/mL)	190,1 (141,9 - 278,3)	195,9 (172,2 - 253)	216,1 (97,4 - 472,9)	0,899
NGAL urinário (ng/mg-Cr)	20,8 (5,3 ; 28,6)	9,6 (5,6 ; 14,8)	53,9 (19,5 ; 92,4)	0,001 *

Dados quantitativos expressos como média \pm desvio padrão ou como mediana e intervalo interquartil entre parênteses. * p <0,05. VCAM = Molécula de adesão celular vascular 1. vWFA2 = Fator de Von Willebrand. MCP-1 = Proteína Quimioatraente de Monócito-1. KIM-1 = Molécula de Lesão Renal-1. NGAL = Lipocalina Associada à Gelatinase de Neutrófilos. Coleta 1 = Antes do antiveneno. Coleta 2 = 10 horas depois do antiveneno. Coleta 3 = 20 horas depois do antiveneno. Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

6.3 Análise pareada dos biomarcadores não convencionais em cada grupo estudado

Realizou-se a análise pareada dos resultados para comparar a evolução dos biomarcadores não convencionais dosados nas três coletas obtidas durante o período de internação dos pacientes. Entre os indivíduos que entraram na unidade de saúde sem sangramento ativo, é possível observar que não houve resultados significativos para os biomarcadores endoteliais e renais não convencionais, mesmo após ter recebido o tratamento com o soro antiofídico (tabela 5).

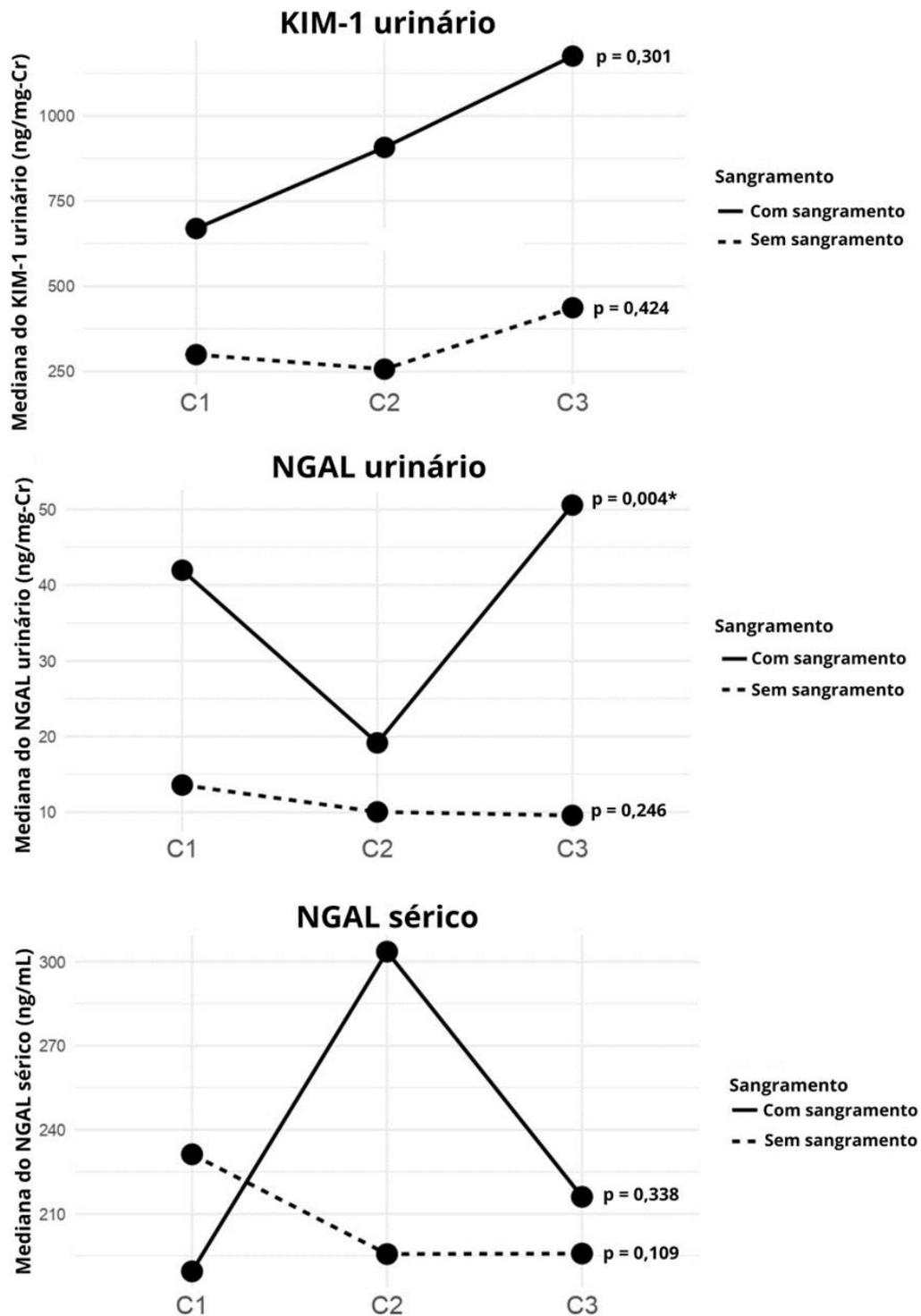
Em contrapartida, o grupo que foi admitido com sangramento apresentou resultados significativos na análise pareada do uNGAL, podendo ser observado que os níveis de NGAL urinário chegam aumentados, depois diminuem após a administração do SAB e voltam a aumentar após 24 a 28 horas após a infusão do soro ter ocorrido (tabela 5). Além disso, nota-se que os níveis de angiopoietinas, especialmente a Ang-1, aumentam após o uso do antiveneno, mas reduzem até o intervalo de tempo para a terceira coleta, bem como é possível destacar as alterações significativas das concentrações do vWFA2 que inicia alta e depois reduz com a infusão do SAB (tabela 5 e figura 6).

Tabela 5 - Análise pareada de biomarcadores dentro de cada grupo.

	Internação hospitalar			p
	Coleta 1	Coleta 2	Coleta 3	
Pacientes sem sangramento				
Angiopoietina-1 (ng/mL)	11,33 (2,64 - 20,34)	13,13 (1,47 - 21,85)	9,54 (1,29 - 22,57)	1,000
Angiopoietina-2 (ng/mL)	1,1 (0,79 - 2,73)	1,3 (0,66 - 3,22)	1,12 (0,21 - 2,05)	0,223
Taxa Ang-2/Ang-1	0,14 (0,07 - 0,47)	0,14 (0,07 - 1,17)	0,12 (0,06 - 1,44)	0,607
Syndecan - 1 (ng/mL)	53,2 (46,30 - 92,6)	54,4 (42,6 - 79,8)	52,3 (44,6 - 70,9)	0,257
VCAM - 1 (ng/mL)	1126,8 (838,3 - 2087,2)	1105,8 (783,6 - 1596)	1050,1 (790 - 1754)	0,526
vWFA2 (ng/mL)	36,1 (16,5 - 39869,7)	31091,2 (22,5 - 47353,7)	12441,9 (7,9 - 42499,2)	0,070
MCP-1 urinário (ng/mg-Cr)	262,4 (70,9 ; 558,1)	269,3 (68,5 ; 526,2)	274,3 (150,1 ; 366,6)	0,905
KIM-1 urinário (ng/mg-Cr)	299,73 (163,06 ; 568,66)	256,95 (184,19 ; 364,14)	437,24 (178,33 ; 835,17)	0,424
NGAL sérico (ng/mL)	231,3 (179,1 - 281,4)	195,7 (171,7 - 258,7)	195,9 (172,2 - 253)	0,109
NGAL urinário (ng/mg-Cr)	13,6 (8,6 ; 28,9)	10 (3,4 ; 18,5)	9,6 (5,6 ; 14,8)	0,246
Pacientes com sangramento				
Angiopoietina 1 (ng/mL)	7,66 (1,17 - 24,2)	28,75 (3,31 - 51,95)	23,6 (0,3 - 43,78)	0,008*
Angiopoietina 2 (ng/mL)	2,73 (0,73 - 4,32)	3,87 (1,13 - 6,35)	2,62 (0,83 - 3,35)	<0,001*
Taxa Ang-2/Ang-1	0,27 (0,11 - 0,51)	0,12 (0,07 - 0,24)	0,08 (0,04 - 0,14)	0,232
Syndecan - 1 (ng/mL)	79,3 (53,4 - 135,4)	82,1 (57,1 - 110,7)	69,6 (52 - 90)	0,168
VCAM - 1 (ng/mL)	1775,5 (818,3 - 3612,9)	1735,8 (976,2 - 2435,5)	1676,1 (1565,9 - 2559,8)	0,368
vWFA2 (ng/mL)	25751,3 (7830,1 - 41164,2)	9084,2 (22,3 - 24780,4)	11693,5 (2714,6 - 22919,5)	0,008*
MCP-1 urinário (ng/mg-Cr)	550,1 (112,2 ; 786,6)	484,9 (204,4 ; 1050,8)	950,6 (253,8 ; 2254,4)	0,307
KIM-1 urinário (ng/mg-Cr)	670,04 (468,04 ; 1094,13)	907,96 (362,27 ; 1199,15)	1176,03 (553,7 ; 2451,72)	0,301
NGAL sérico (ng/mL)	189,5 (155,2 - 456,4)	303,6 (120,5 - 600,6)	216,1 (97,4 - 472,9)	0,338
NGAL urinário (ng/mg-Cr)	42 (19,9 ; 160,1)	19,2 (8,3 ; 54,9)	53,9 (19,5 ; 92,4)	0,004*

Dados categóricos expressos como contagem absoluta e porcentagens entre parêntesis. Dados quantitativos expressos como média \pm desvio padrão ou como mediana e amplitude interquartil entre parêntesis. * $p < 0,016$ entre coleta 2 vs outros períodos. VCAM = Molécula de adesão celular vascular 1. vWFA2 = Fator de Von Willebrand. MCP-1 = Proteína Químioatratante de Monócito-1. KIM-1 = Molécula de Lesão Renal-1. NGAL = Lipocalina Associada à Gelatinase de Neutrófilos. Coleta 1 = Antes do antiveneno. Coleta 2 = 10 horas depois do antiveneno. Coleta 3 = 20 horas depois do antiveneno. Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Figura 6 – Gráficos de linha mostrando a evolução dos biomarcadores uKIM-1, uNGAL e sKIM-1, respectivamente, em cada grupo durante os três tempos de coleta avaliados.



* $p < 0.016$ entre coleta 2 vs outros períodos. Coleta 1 = Antes do antiveneno. Coleta 2 = 10 horas depois do antiveneno. Coleta 3 = 20 horas depois do antiveneno. KIM-1 = Molécula de Lesão Renal-1. NGAL = Lipocalina Associada à Gelatinase de Neutrófilos. Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Discussão

7 DISCUSSÃO

A composição e a atividade do veneno botrópico pode ser bastante variável, mas as metaloproteinases, as serinoproteinases e as fosfolipases A₂ estão em sua composição principal, desencadeando diferentes manifestações clínicas (Cavalcante *et al.*, 2023). Dentre estas, tem-se o sangramento que pode ocorrer no local da mordedura, gengivas, nariz e outros órgãos vitais, tanto que é um sinal clínico importante que deve ser avaliado no paciente acidentado por *Bothrops* spp. para classificar o evento como leve, moderado ou grave (Ceará, 2021). Em nossos achados, 50% dos indivíduos apresentaram sangramento ativo na admissão, concordando com os registros da literatura que apontam esse evento como um sinal comumente encontrado em acidentes causados pelas diferentes espécies de *Bothrops* spp.

Os parâmetros sociodemográficos deste estudo são caracterizados por uma amostra composta por 82% (28) de indivíduos do gênero masculino, com uma idade média de 46,3 anos e a maioria (61,8%) advinda da zona rural. Tais resultados estão de acordo com dados epidemiológicos que descrevem a população masculina, em idade ativa economicamente, como a mais afetada pelo acidente botrópico, tanto que entre os anos de 2012 a 2021, os homens constituíram 79% da população envenenada por serpentes (Da Silva *et al.*, 2023). Esse cenário histórico caracteriza cada vez mais o acidente ofídico como uma doença ocupacional associada aos fatores socioeconômicos, pois frequentemente afeta os homens que trabalham com agricultura, sendo um risco importante para esses indivíduos, pois o acidente pode exigir tempo de recuperação e gerar sequelas permanentes (Da Silva *et al.*, 2023).

No total, 85,3% (29) dos indivíduos tiveram o acidente classificado como leve. Sugere-se que esse resultado possa ter sido influenciado pelo fato de só ter sido incluído pacientes com intervalo máximo de 8 horas entre a ocorrência do acidente e administração hospitalar. Isso porque quanto mais cedo o paciente receber as doses recomendadas do antiveneno, maior a chance de neutralização do veneno e maior será o potencial terapêutico deste (Soro Antibotrópico, 2022)

Embora os 34 pacientes tenham sido divididos entre os que apresentaram ou não sangramento na admissão para poder avaliar a ocorrência da injúria renal, não foi observado relação significativa entre esses parâmetros, tanto que, seguindo os critérios do KDIGO, o número de pacientes que foram classificados ou não com IRA é semelhante entre os dois grupos. Como relatado anteriormente, o KDIGO utiliza a creatinina sérica para indicar a ocorrência da IRA, que é um biomarcador tardio e, por isso, pode ter prejudicado a correta classificação dos pacientes, ressaltando a importância da busca por novas moléculas de

avaliação renal (Chen, 2012; Senthilkumaran; Thirumalaikolundusubramanian; Elangovan, 2019). Nenhum dos participantes do estudo realizou hemodiálise, porém a literatura aponta que 33 a 75% dos pacientes com injúria renal após o acidente botrópico podem necessitar deste procedimento (Pinho; Yu; Burdmann, 2008).

Em paralelo a isso, a razão entre a proteinúria e a creatinina foi maior no grupo de indivíduos que apresentaram sangramento ativo na admissão e esse resultado, junto com a hematúria, são comumente observadas nos pacientes que sofreram acidente ofídico (Albuquerque *et al.*, 2019). Durante a patogênese da doença, a ativação do sistema imunológico pode também causar injúria nas células renais normais, resultando na eliminação de proteína na urina (Liu *et al.*, 2024). Este sinal clínico indica que o grupo com sangramento apresentou alterações glomerulares, bem como sinaliza a ocorrência da lesão tubular aguda induzida pelo veneno botrópico, visto que estudos de Albuquerque *et al.* (2019) demonstraram correlações positivas entre a proteinúria e os níveis de NGAL e de MCP-1 urinários. Ademais, por o veneno botrópico ser considerado hemolítico, a presença de hemoglobina na urina pode ser um fator que tenha contribuído com a alta razão entre a proteinúria e a creatinina (Pinho; Yu; Burdmann, 2008).

No cenário do acidente por *Bothrops* spp., a hemorragia é uma das manifestações clínicas mais notificadas e influencia muito no prognóstico do paciente e na letalidade desta doença (Gutiérrez *et al.*, 2016; Larréché *et al.*, 2021). As SVMPs, por exemplo, são enzimas proteolíticas presentes no veneno botrópico que contribuem com esse evento, visto que as metaloproteinases hidrolisam proteínas da membrana basal vascular, provocando alterações de permeabilidade e integridade que resultam no rompimento de microvasos, além de serem enzimas que inibem a agregação plaquetária (Albuquerque *et al.*, 2020; Asega *et al.*, 2020; Cavalcante *et al.*, 2023). A incoagulabilidade sanguínea é um efeito sistêmico que pode potencializar a hemorragia, já que os distúrbios de coagulação, observados no acidente por *Bothrops* spp., podem induzir a coagulopatia de consumo (Cavalcante *et al.*, 2023; Larréché *et al.*, 2021).

Neste estudo, não foram observados resultados significativos dos parâmetros laboratoriais da dosagem de hematócrito, hemoglobina, hemácias, plaquetas, TAP e TTPA avaliados na admissão hospitalar. Contudo, a maioria dos pacientes que apresentaram sangramento ativo no início do atendimento clínico foram os que mais registraram incoagulabilidade sanguínea, evidenciando o impacto desse evento no controle dos eventos hemorrágicos e na sobrevivência dos indivíduos.

Como visto na literatura, a injúria renal aguda é uma importante causa de óbito nos pacientes que sofreram acidente por serpente do gênero *Bothrops* spp. e os eventos de coagulação são apontados com a via mais importante na patogênese do dano renal (Albuquerque *et al.*, 2020). Dessa forma, a busca por biomarcadores renais, endoteliais e de coagulação não convencionais podem ser úteis para o esclarecimento da fisiopatologia da doença, a orientação do manejo clínico individualizado, a detecção precoce e a predição da evolução do paciente. Em razão disto, o presente estudo também fez a avaliação das biomoléculas NGAL, KIM-1, MCP-1, vWFA2, angiopoietinas, syndecan-1 e VCAM para investigar danos renais e endoteliais na amostra estudada.

Analisando a dosagem de biomarcadores feitos antes da administração do soro antiofídico, nossos achados demonstraram que os níveis de uKIM-1 estavam significativamente maior no grupo que apresentou sangramento na admissão, obtendo-se um valor médio mais de duas vezes maior do que o registrado no outro grupo. Após a infusão do antiveneno, os níveis médios de uKIM-1 do grupo com sangramento aumentaram e a diferença significativa de concentração foi ainda mais expressiva quando comparado ao grupo que não apresentou sangramento na admissão. Inicialmente, o aumento dos níveis de uKIM-1 indica dano no túbulo proximal dos pacientes que sofreram acidente por *Bothrops* spp., visto que esse biomarcador é rapidamente expresso no organismo após a injúria renal com o intuito de induzir a restauração estrutural e funcional das células do túbulo proximal (Karmakova *et al.*, 2021; Yin; Wang, 2016).

Os estudos feitos por Albuquerque *et al.* (2019) condizem com os nossos achados, visto que também demonstraram que o envenenamento botrópico foi capaz de causar disfunção dos túbulos renais. Nesta pesquisa, o MCP-1 foi um dos parâmetros que indicaram o comprometimento tubular dos pacientes, sendo este um biomarcador analisado no presente estudo, mas que não gerou resultados significativos em nenhum dos três tempos de coleta. Talvez essa divergência tenha ocorrido, porque os estudos de Albuquerque *et al.* (2019) realizaram uma comparação entre grupos com ou sem IRA, além de ter sido incluído pacientes com intervalo maior que 8 horas entre o tempo do acidente e a infusão do SAB, chegando em até 157 horas, o que pode ter favorecido o processo de injúria renal e aumento dos níveis de MCP-1.

Ainda em consonância com os achados de disfunção tubular, é importante ressaltar que, mesmo após a administração do antiveneno, a expressão de uKIM-1 continuou aumentada, principalmente no grupo de pacientes que apresentaram sinais de sangramento na admissão,

demonstrando a continuidade do dano tubular e necessidade de ativação de mecanismos de reparação dessas células.

Em relação a NGAL urinário, pode-se observar uma concentração significativamente maior no grupo de pacientes que chegaram ao hospital com sangramento ativo. O resultado disso apoia os resultados obtidos com o uKIM-1 que aponta o dano tubular causado pelo envenenamento por *Bothrops* spp., visto que a expressão de NGAL é aumentada em resposta à injúria tubular para promover a proteção, a regeneração e o reparo dessas células, inclusive as do túbulo proximal (Romejko; Markowska; Niemczyk, 2023; Senthilkumaran; Thirumalaikolundusubramanian; Elangovan, 2019). Na prática clínica, o NGAL já é apontado como um biomarcador de IRA após a isquemia e a nefrotoxicidade, sendo então uma promissora molécula para os acidentes botrópicos (Romejko; Markowska; Niemczyk, 2023; Yoon *et al.*, 2022).

Em um estudo clínico, que comparou pacientes envenenados por serpentes peçonhentas com os acidentados por serpentes não peçonhentas, mostrou que o primeiro grupo apresentou níveis significativamente maiores de sNGAL, sendo expresso muito antes da creatinina, ressaltando a vantagem da utilização deste biomarcador na avaliação precoce de IRA nesse perfil de pacientes (Senthilkumaran; Thirumalaikolundusubramanian; Elangovan, 2019). Assim como em nossos achados, Albuquerque *et al.* (2019) também não obteve diferença estatística na dosagem de sNGAL em pacientes que se acidentaram por *Bothrops* spp., mas obteve níveis significativamente maiores de uNGAL no grupo com IRA do que no grupo sem IRA, demonstrando que o este biomarcador não convencional, junto com outros achados, é uma importante molécula de sinalização de injúria tubular aguda.

Outro importante achado do presente estudo é que os níveis de uNGAL continuaram significativamente maiores no grupo admitido com sangramento após 20 horas da infusão do SAB, bem como apresentou concentração média maior na coleta 3 do que na coleta 1. A partir disso, é possível observar que não houve recuperação renal no grupo com sangramento dentro do intervalo de tempo estudado, mesmo após os pacientes terem recebido a terapia indicada para os acidentes por *Bothrops* spp.

Por a IRA ser uma síndrome complexa e o critério do KDIGO ser baseado na creatinina sérica, que é um biomarcador tardio, observa-se estudos que estão sugerindo uma nova reclassificação dessa injúria (Rodrigues; Endre, 2023). Em uma delas, considera-se que o paciente apresenta IRA subclínica (IRA 1S) quando o paciente não possui a injúria pelo KDIGO, mas apresenta biomarcadores não convencionais positivos para o dano (Ostermann *et*

al., 2020). Tal cenário ocorreu com 41,2% (7) dos pacientes do grupo com sangramento, refletindo a importância crescente dos biomarcadores não convencionais como promissoras ferramentas clínicas no diagnóstico precoce e mais preciso da IRA (Ostermann *et al.*, 2020).

O syndecan-1 também foi um biomarcador que apresentou níveis significativamente altos nos pacientes com sangramento. Isso pode ser explicado pela composição do veneno botrópico que possui metaloproteinases que são enzimas capazes de clivar o syndecan-1, aumentando a sua concentração sérica (Cavalcante *et al.*, 2023; Reszegi *et al.*, 2022). Assim, esse biomarcador evidencia o dano endotelial manifestado por esses pacientes, algo que pode influenciar na patogênese da IRA.

A análise pareada foi realizada com o intuito de avaliar a evolução dos biomarcadores não convencionais dentro de cada grupo desta pesquisa. Nesse cenário, quando se observa a concentração de uNGAL, nos indivíduos com sinais iniciais de sangramento, é possível notar que o acidente ofídico desencadeou um aumento dessa molécula na urina e que, após 10 horas de infusão do soro antibotrópico, houve uma redução desses níveis. Contudo, apesar desse declínio, a concentração média de uNGAL aumentou significativamente, de forma ainda maior quando se compara com a coleta 1, ressaltando que o grupo admitido com sangramento não apresentou de fato uma recuperação renal até 20 horas após a infusão do SAB. Tal achado pode ajudar a reforçar a influência que a disfunção endotelial e os distúrbios de coagulação podem ter na patogênese da IRA induzida por acidente botrópico.

Em se tratando das angiopoietinas, a análise pareada demonstrou que os níveis de Ang-1 aumentaram significativamente após a infusão do SAB e continuou aumentada na terceira coleta dos pacientes que foram admitidos com sangramento, evidenciando a atividade protetora e estabilizadora desta biomolécula diante da injúria ao endotélio vascular. Estudos já indicaram que a expressão de Ang-1 aumenta quando ocorre injúria renal por isquemia, que é um dos possíveis mecanismos de IRA após o envenenamento por *Bothrops* spp., e quando há aumento das concentrações de Ang-2, que é algo que ocorreu no grupo que apresentou sangramento ativo na admissão hospitalar (Woolf; Gnudi; Long, 2009).

Já a Ang-2, este mesmo grupo apresentou um aumento significativo dos níveis médios após o uso do antiveneno, mas que depois reduziu na terceira coleta. Tal molécula é liberada em resposta ao dano endotelial, reforçando injúria tecidual desencadeada pelo veneno de *Bothrops* spp. e favorecendo a atividade inflamatória (Li *et al.*, 2023). Um estudo clínico, feito com pacientes submetidos à cirurgia cardíaca, indicou que os níveis de Ang-2 estavam mais aumentados em indivíduos que desenvolveram IRA após esse procedimento e esse achado pode

ser correlacionado ao nosso estudo pelo fato dos níveis de Ang-2 estarem significativamente maior no grupo de pacientes que apresentou maiores sinais de injúria tubular a partir dos biomarcadores uKIM-1 e uNGAL (Jongman *et al.*, 2015).

Como complemento, tem-se o Fator de von Willebrand que está envolvido no processo de coagulação e suscetível a clivagem por metaloproteinase que é uma proteína presente no veneno botrópico, resultando na liberação do domínio A2 (Thomazini *et al.*, 2021). Em nosso estudo, a dosagem desse fator foi específica para o domínio A2 (anti-A2) que apresentou uma redução significativa dos seus níveis após a administração do antiveneno, indicando, assim, que ocorreu uma diminuição da clivagem do biomarcador e possível controle da ação tóxica das metaloproteinases.

O soro antiofídico possui a função de neutralizar as moléculas do veneno que ainda não se fixaram nos tecidos dos pacientes e que o antiveneno age principalmente na minimização da ação proteolítica, coagulante e hemorrágica desencadeada pelo acidente por *Bothrops* spp. (Soro Antibotrópico, 2022). Como a IRA é uma manifestação clínica secundária a este evento e os níveis de uKIM-1 permaneceram significativamente aumentados no grupo com sangramento antes e após o soro antibotrópico, ressalta-se a importância da administração precoce do antiveneno para reverter a disfunção vascular e os distúrbios de coagulação, que são vias apontadas como influentes na fisiopatologia do desenvolvimento de injúria renal (Albuquerque *et al.*, 2020).

No Brasil, a produção do soro antibotrópico é realizada a partir dos venenos de cinco espécies de *Bothrops* (*B. jararaca*, *B. alternatus*, *B. jararacussu*, *B. moojeni* e *B. neuwiedi*) (Soro Antibotrópico, 2022). A não inclusão das serpentes *B. erythromelas*, nessa composição pode influenciar no desempenho protetor dessa imunização e, conseqüentemente, na não recuperação renal observada até 20 horas após a administração do antiveneno. Um exemplo disso, são os estudos realizados por Boechat *et al.* (2001) que demonstraram uma proteção do antiveneno de 58% contra a ação letal da *B. erythromelas*.

Em adição, pode-se sugerir a inclusão de outras medidas protetoras do endotélio para prevenir o desenvolvimento e reduzir a incidência da IRA. Em um estudo *in vitro*, por exemplo, o sildenafil e a eritropoietina foram fármacos capazes de protegerem as células endoteliais da injúria após a hipóxia (Gammella *et al.*, 2013). A disfunção vascular no envenenamento botrópico pode desencadear a lesão por isquemia/reperfusão e, conseqüentemente, a um quadro de hipóxia, tornando interessante a realização de estudos como esse no cenário dos acidentes por *Bothrops* spp. (Albuquerque *et al.*, 2020).

Por fim, destaca-se aqui algumas limitações deste estudo, como a limitação dos tempos de coleta das amostras biológicas que poderia ser estendido para continuar a avaliação dos parâmetros estudados e o número mais limitado de pacientes devido a rotina do hospital e aos critérios de não inclusão estabelecidos.

Conclusão

9 CONCLUSÃO

Em nossos achados, a maioria da população era do sexo masculino, proveniente da zona rural e com idade média de 46,3 anos. Foi possível observar que os pacientes que foram admitidos, na unidade de urgência e emergência, com sinais de sangramento apresentaram níveis maiores de biomarcadores não convencionais de lesão renal (uNGAL e uKIM-1), indicando a ação deletéria do veneno sob os túbulos renais desse perfil de pacientes. A dosagem de uNGAL demonstrou que os pacientes que manifestaram sinais de sangramento na admissão hospitalar não tiveram uma recuperação renal, mesmo depois 20 horas da administração do soro antibotrópico. Foi possível demonstrar a importância dos biomarcadores não convencionais para um diagnóstico precoce e mais preciso da IRA. Além disso, sugere-se a possibilidade de fazer o acompanhamento da função renal, pós-internação, dos pacientes que são admitidos com sangramento espontâneo e de complementar a terapia do antiveneno com outras medidas de proteção do endotélio para prevenir o desenvolvimento da IRA.

Referências

REFERÊNCIAS

- ALANGODE, A.; RAJAN, K.; NAIR, B. G. Snake antivenom: challenges and alternate approaches. **Biochemical Pharmacology**, v. 181, p. 1–32, 2020.
- ALBUQUERQUE, P. L. M. M. *et al.* Acute kidney injury induced by *Bothrops* venom: insights into the pathogenic mechanisms. **Toxins**, v. 11, n. 3, p. 1-14, 2019.
- ALBUQUERQUE, P. L. M. M. *et al.* Lesão renal aguda causada pelo veneno das cobras *Crotalus* e *Bothrops*: Revisão da epidemiologia, das manifestações clínicas e do tratamento. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 55, n. 5, p. 295–301, 2013.
- ALBUQUERQUE, P. L. M. M. *et al.* Clinical assessment and pathophysiology of *Bothrops* venom-related acute kidney injury: a scoping review. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, v. 26, p. 1–17, 2020.
- ASEGA, A. F. *et al.* Cleavage of proteoglycans, plasma proteins and the platelet-derived growth factor receptor in the hemorrhagic process induced by snake venom metalloproteinases. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 1–17, 2020.
- BARAN, D. *et al.* Cell adhesion molecule expression in murine lupus-like nephritis induced by lipopolysaccharide. **Nephron**, v. 84, n. 2, p. 167–176, 2000.
- BOECHAT, A. L. R. *et al.* Heparin-antivenom association: differential neutralization effectiveness in *Bothrops atrox* and *Bothrops erythromelas* envenoming. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 43, n. 1, p. 7-14, 2001.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Situação epidemiológica**. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2023a. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/a/animais-peconhentos/acidentes-ofidicos/situacao-epidemiologica>. Acesso em: 6 março 2024.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Tratamento**. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2023b. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/a/animais-peconhentos/acidentes-ofidicos/tratamento>. Acesso em: 8 março 2024.
- BRASIL. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Boletim epidemiológico: Doenças tropicais negligenciadas**. Brasília: SVS, 2021. 76 p.
- BRASIL. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Boletim Epidemiológico nº 36**. Brasília: SVS, 2022. 19 p.
- BUTANTAN. Primeiros socorros. São Paulo: **BUTANTAN**, 202-?. Disponível em: <https://butantan.gov.br/atendimento-medico/primeiro-socorros>. Acesso em: 8 março 2024.
- CAVALCANTE, J. S. *et al.* Crosstalk of inflammation and coagulation in *Bothrops* snakebite envenoming: endogenous signaling pathways and pathophysiology. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 14, p. 11508, 2023.
- CEARÁ, Secretaria de Saúde. **Guia de suporte para diagnóstico e tratamento de vítimas**

de acidentes por animais peçonhentos. Fortaleza: SESA, 2021. 82 p.

CEARÁ, Secretaria de Saúde. **Boletim de Serpente - Ceará.** Fortaleza: SESA, 2022. 18 p.

CHEN, X. Work group membership. **Kidney International Supplements**, v. 2, n. 1, p. 2, 2012.

COOK-MILLS, J. M.; MARCHESE, M. E.; ABDALA-VALENCIA, H. Vascular cell adhesion molecule-1 expression and signaling during disease: regulation by reactive oxygen species and antioxidants. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 15, n. 6, p. 1607–1638, 2011.

DA SILVA, W. R. G. B. *et al.* Who are the most affected by *Bothrops* snakebite envenoming in Brazil? A clinical-epidemiological profile study among the regions of the country. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 17, n. 10, p. 1–24, 2023.

DE MOURA, A. C. *et al.* Syndecan-1 predicts hemodynamic instability in critically ill patients under intermittent hemodialysis. **Clinical Kidney Journal**, v. 16, n. 7, p. 1132–1138, 2023.

DE SOUSA, F. C. M. *et al.* *Bothrops erythromelas* (Amaral, 1923) venom induces apoptosis on renal tubular epithelial cells. **Toxicon**, v. 118, p. 82–85, 2016.

DENIS, C.; LENTING, P. J. Von willebrand factor: at the crossroads of bleeding and thrombosis. **International Journal of Hematology**, v. 95, n. 4, p. 353–361, 2012.

FAN, H. W.; MONTEIRO, W. M. History and perspectives on how to ensure antivenom accessibility in the most remote areas in Brazil. **Toxicon**, v. 151, p. 15–23, 2018.

GAMMELLA, E. *et al.* Evidence of synergistic / additive effects of sildenafil and erythropoietin in enhancing survival and migration of hypoxic endothelial cells. **American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology**, v. 304, n. 4, p. 230–239, 2013.

GUTIÉRREZ, J. M. *et al.* Hemorrhage caused by snake venom metalloproteinases: A journey of discovery and understanding. **Toxins**, v. 8, n. 4, 2016.

GUTIÉRREZ, J. M. *et al.* Snakebite envenoming. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 3, n. 1, p. 1–21, 2017.

HE, F. *et al.* Angiotensin-Tie signaling in kidney diseases: an updated review. **FEBS Letters**, v. 593, n. 19, p. 2706–2715, 2019.

HEPOKOSKI, M. *et al.* Ventilator-induced lung injury increases expression of endothelial inflammatory mediators in the kidney. **American Journal of Physiology-Renal Physiology**, v. 312, n. 4, p. F654–F660, 2016.

JEANSSON, M. *et al.* Angiotensin-1 is essential in mouse vasculature during development and in response to injury. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 121, n. 6, p. 2278–2289, 2011.

- JONGMAN, R. M. *et al.* Angiopoietin/Tie2 dysbalance is associated with acute kidney injury after cardiac surgery assisted by cardiopulmonary bypass. **Plos One**, v. 10, n. 8, p. 1–12, 2015.
- KANG, T. S. *et al.* Enzymatic toxins from snake venom: structural characterization and mechanism of catalysis. **The FEBS Journal**, v. 278, n. 23, p. 4544–4576, 2011.
- KARMAKOVA, T. A. *et al.* Kidney Injury Molecule 1 (KIM-1): a Multifunctional Glycoprotein and Biological Marker (Review). **Sovremennye Tehnologii V Medicine**, v. 13, n. 3, p. 64–78, 2021.
- KIDNEY DISEASE IMPROVING GLOBAL OUTCOMES (KDIGO). KDIGO clinical practice guideline for acute kidney injury. **Nephron Clinical Practice**, v. 2, p. c179-184, 2012
- KONG, D.-H. *et al.* Emerging Roles of Vascular Cell Adhesion Molecule-1 (VCAM-1) in Immunological Disorders and Cancer. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 4, p. 1–16, 2018.
- LARRÉCHÉ, S. *et al.* Bleeding and Thrombosis: Insights into Pathophysiology of *Bothrops* Venom-Related Hemostasis Disorders. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 17, p. 1–26, 2021.
- LEONEL, T. B. *et al.* *Bothrops jararaca* Snake Venom Inflammation Induced in Human Whole Blood: Role of the Complement System. **Frontiers in Immunology**, v. 13, p. 1–16, 2022.
- LI, M. *et al.* Impact of angiopoietin-2 on kidney diseases. **Kidney Diseases**, v. 9, n. 3, p. 143–156, 2023.
- LIU, Y. *et al.* Role of MCP-1 as an inflammatory biomarker in nephropathy. **Frontiers in Immunology**, v. 14, p. 1–13, 2024.
- MAGALHÃES, S. F. V. *et al.* Snakebites caused by the genera *Bothrops* and *Lachesis* in the Brazilian Amazon: a study of factors associated with severe cases and death. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 55, p. 1–12, 2022.
- MOTA, S. M. B. *et al.* Role of endothelial biomarkers in predicting acute kidney injury in *Bothrops* envenoming. **Toxicology Letters**, v. 345, p. 61–66, 2021.
- MOTA, S. M. B. **Biomarcadores endoteliais e renais e o diagnóstico precoce da injúria renal aguda no envenenamento humano por serpentes *Bothrops erythromelas***. 2022. Tese (Doutorado em Ciências Médicas) – Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2022.
- NERY, N. M. *et al.* An overview of *Bothrops erythromelas* venom. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 49, n. 6, p. 680–686, 2016.

- NGUYEN, T. C.; CRUZ, M. A.; CARCILLO, J. A. Thrombocytopenia-associated multiple organ failure and acute kidney injury. **Critical Care Clinics**, v. 31, n. 4, p. 661–674, 2015.
- OSTERMANN, M. *et al.* Recommendations on acute kidney injury biomarkers from the acute disease quality initiative consensus conference a consensus statement. **Jama network open**, v. 3, n. 10, p. 1–17, 2020.
- PHAN, P. *et al.* A review of rattlesnake venoms. **Toxins**, v. 16, n. 1, p. 1–41, 2023.
- PINHO, F. M. O.; YU, L.; BURDMANN, E. A. Kidney injury in Latin America. **Seminars in Nephrology**, v. 28, n. 4, p. 354–362, 2008.
- POTET, J. *et al.* Access to antivenoms in the developing world: A multidisciplinary analysis. **Toxicon**, v. 12, p. 1–13, 2021.
- RANDI, A. M.; SMITH, K. E.; CASTAMAN, G. Von willebrand factor regulation of blood vessel formation. **Blood**, v. 132, n. 2, p. 1–22, 2018.
- RESZEGI, A. *et al.* Syndecan-1 in liver pathophysiology. **American Journal of Physiology-Cell Physiology**, v. 323, n. 2, p. C289–C294, 2022.
- ROBINSON-COHEN, C. *et al.* Association of markers of endothelial dysregulation Ang1 and Ang2 with acute kidney injury in critically ill patients. **Critical Care**, v. 20, n. 1, p. 1–8, 2016.
- RODRIGUES, C. E.; ENDRE, Z. H. Definitions , phenotypes , and subphenotypes in acute kidney injury — moving towards precision medicine. **Nephrology**, v. 28, p. 83–96, 2023.
- ROMEJKO, K.; MARKOWSKA, M.; NIEMCZYK, S. The review of current knowledge on neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL). **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 13, p. 10470, 2023.
- RONCO, C. *et al.* Oliguria, creatinine and other biomarkers of acute kidney injury. **Contributions to Nephrology**, v. 164, p. 118–127, 2010.
- SANTOS, R. S. S. **Biomarcadores endoteliais e de coagulação em envenenamento botrópico**. 2024. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) – Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2024.
- SEIFERT, S. A.; ARMITAGE, J. O.; SANCHEZ, E. E. Snake Envenomation. **New England Journal of Medicine**, v. 386, n. 1, p. 68–78, 2022.
- SENTHILKUMARAN, S.; THIRUMALAIKOLUNDUSUBRAMANIAN, P.; ELANGO VAN, N. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin as an early diagnostic biomarker of acute kidney injury in snake bite. **Journal of Emergencies, Trauma, and Shock**, v. 12, n. 4, p. 260–262, 2019.
- SGRIGNOLLI, L. R. *et al.* Acute kidney injury caused by *Bothrops* snake venom. **Nephron Clinical Practice**, v. 119, n. 2, p. c131–c137, 2011.

SINGH, S.; ANSHITA, D.; RAVICHANDIRAN, V. MCP-1: Function, regulation, and involvement in disease. **International Immunopharmacology**, v. 101, p. 1–10, 2021.

SORO ANTIBOTRÓPICO (pentavalente). Responsável técnico Patricia Meneguello S. Carvalho. São Paulo: **Instituto Butantan**, 2022. Bula para profissional da saúde. Disponível em: <https://butantan.gov.br/soros-e-vacinas/soros>. Acesso em: 29 mai. 2024.

TENG, Y. H. F.; AQUINO, R. S.; PARK, P. W. Molecular functions of syndecan-1 in disease. **Matrix Biology**, v. 31, n. 1, p. 3–16, 2012.

THOMAZINI, C. M. *et al.* Involvement of von willebrand factor and botrocetin in the thrombocytopenia induced by *Bothrops jararaca* snake venom. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 15, n. 9, p. 21, 2021.

WEN, Y.; PARIKH, C. R. Current concepts and advances in biomarkers of acute kidney injury. **Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences**, v. 58, n. 5, p. 354–368, 2021.

WOOLF, A. S.; GNUDI, L.; LONG, D. A. Roles of angiopoietins in kidney development and disease. **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 20, n. 2, p. 239–244, 2009.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **75th World Health Assembly - Resolution WHA71.5**: Addressing the burden of snakebite envenoming. v. 1, p. 24–26, 2018.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Snakebite envenoming**. 2023. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/snakebite-envenoming>. Acesso em: 6 março 2024.

YIN, C.; WANG, N. Kidney injury molecule-1 in kidney disease. **Renal Failure**, v. 38, n. 10, p. 1567–1573, 2016.

YOON, S. Y. *et al.* Acute kidney injury: biomarker-guided diagnosis and management. **Medicina**, v. 58, n. 3, p. 340, 2022.

Anexo

ANEXO A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

FUNDAÇÃO EDSON QUEIROZ
UNIVERSIDADE DE FORTALEZA
VICE-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA EM SERES HUMANOS

TÍTULO DA PESQUISA: “ESTUDO DOS MECANISMOS FISIOPATOLÓGICOS NA EVOLUÇÃO DA LESÃO RENAL AGUDA ASSOCIADOS À ENVENAMENTO POR ANIMAIS PEÇONHENTOS ATRAVÉS DE BIOMARCADORES”.

PESQUISADOR(A) RESPONSÁVEL: Sandra Mara Brasileiro Mota

Prezado(a) Colaborador(a),

Você está sendo convidado(a) a participar desta pesquisa que irá investigar a ocorrência de problemas nos rins de pessoas que sofreram intoxicação por cobra ou aranha peçonhenta.

1. Participação na Pesquisa: Ao participar desta pesquisa você irá realizar alguns exames laboratoriais, por meio da coleta de sangue e urina, para a pesquisa de alterações no funcionamento de seus rins. A coleta de sangue e urina será realizada pelos funcionários do laboratório do hospital no qual você é atendido, da mesma maneira em que são realizados seus exames de rotina.

Lembramos que a sua participação é voluntária, você tem a liberdade de não querer participar, e pode desistir, em qualquer momento, mesmo após ter iniciado o(a) os(as) (ENTREVISTA, AVALIAÇÕES, EXAMES ETC.) sem nenhum prejuízo para você.

2. Riscos e Desconfortos: Os procedimentos utilizados (coleta de sangue e urina) para exame trarão um mínimo de desconforto, como num exame de sangue qualquer.

3. Benefícios: Os benefícios esperados com o estudo são no sentido de detectar alguma doença nos rins, o que proporcionará um tratamento adequado para este problema. Se você for diagnosticado com algum problema nos rins será encaminhado para acompanhamento e tratamento especializado (com médico Nefrologista) .

4. Formas de Assistência: Se você precisar de algum tratamento, orientação ou encaminhamento por se sentir prejudicado por causa da pesquisa, ou se o pesquisador descobrir que você tem alguma coisa que precise de tratamento, você será encaminhado(a) pela médica nefrologista assistente desta pesquisa para o ambulatório de Nefrologia deste hospital para acompanhamento.

5. Confidencialidade: Todas as informações que o(a) Sr.(a) nos fornecer ou que sejam conseguidas por exames serão utilizadas somente para esta pesquisa

6. Esclarecimentos: Se tiver alguma dúvida a respeito da pesquisa e/ou dos métodos utilizados na mesma, pode procurar a qualquer momento o pesquisador responsável.

Nome do pesquisador responsável: Sandra Mara Brasileiro Mota
Endereço: Rua Barão do Rio Branco, 1816 Instituto Dr José Frota (IJF). Fortaleza, Ceará. Telefone para contato: (85) 98811 3115
Horário de atendimento: horário comercial.

Se desejar obter informações sobre os seus direitos e os aspectos éticos envolvidos na pesquisa poderá consultar o Comitê de Ética da Universidade de Fortaleza, Ce.

Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos – COÉTICA
Universidade de Fortaleza.
Av. Washington Soares, 1321, Bloco da Reitoria, Sala da Vice-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, 1º andar.
Bairro Edson Queiroz, CEP 60811-341.
Telefone (85) 3477-3122, Fortaleza, Ceará.

7. Ressarcimento das Despesas: Caso o(a) Sr.(a) aceite participar da pesquisa, não receberá nenhuma compensação financeira.

8. Concordância na Participação: Se o(a) Sr.(a) estiver de acordo em participar deverá preencher e assinar o Termo de Consentimento Pós-esclarecido que se segue, e receberá uma cópia deste Termo.

O **sujeito de pesquisa** ou seu representante legal, quando for o caso, deverá rubricar todas as folhas do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE – apondo sua assinatura na última página do referido Termo.

O **pesquisador responsável** deverá, da mesma forma, rubricar todas as folhas do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE – apondo sua assinatura na última página do referido Termo.

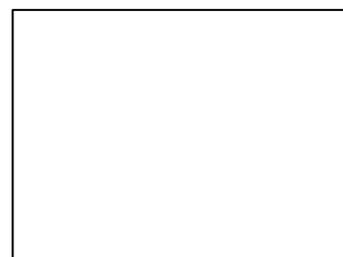
CONSENTIMENTO PÓS INFORMADO

Pelo presente instrumento que atende às exigências legais, o Sr.(a) _____, portador(a) da cédula de identidade _____, declara que, após leitura minuciosa do TCLE, teve oportunidade de fazer perguntas, esclarecer dúvidas que foram devidamente explicadas pelos pesquisadores, ciente dos serviços e procedimentos aos quais será submetido e, não restando quaisquer dúvidas a respeito do lido e explicado, firma seu **CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO** em participar voluntariamente desta pesquisa.

E, por estar de acordo, assina o presente termo.

Fortaleza-Ce., _____ de _____ de _____.

Assinatura do Participante ou Representante Legal



Impressão dactiloscópica

Assinatura do Pesquisador