

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS – UNISO

**TRABALHO COMPLETO CONTENDO ARTIGOS CIENTÍFICOS. AGUARDANDO A PUBLICAÇÃO DOS RESULTADOS*

Título: AVALIAÇÃO CLÍNICA, MACROSCÓPICA E MICROSCÓPICA DA LESÃO RENAL E HEPÁTICA INDUZIDA POR VENENOS OFÍDICOS EM RATOS TRATADOS COM HEMOPERFUSÃO

Autor: Murilo Melo Juste Dini

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Yoko Oshima Franco

RESUMO

Introdução: O acidente ofídico compõe a lista das doenças negligenciadas pela Organização Mundial de Saúde, que afeta inúmeras pessoas mundialmente, inclusive o Brasil, que registrou 27.261 acidentes com serpentes peçonhentas em 2015, de acordo com os dados do Ministério da Saúde. No Brasil, entre 2009 a 2013, 86,2% dos casos foram causados por serpentes do gênero *Bothrops* e 9% do gênero *Crotalus*. Os acidentes ofídicos apresentam maior letalidade (0,41%) que outros animais peçonhentos como escorpiões (0,13%) e aranhas (0,05%). A Lesão Renal Aguda (LRA) é a principal causa de morte entre os pacientes que sobrevivem aos primeiros efeitos do veneno ofídico, sendo a necrose tubular aguda a lesão histológica renal mais frequentemente encontrada. O tratamento oficial é a soroterapia. Entretanto, em casos graves a hemoperfusão pode representar uma opção auxiliar ao tratamento de acidentes ofídicos. Nesta técnica, o sangue é bombeado a partir de uma canulação venal central e passa por um cartucho de material adsorvente, como carvão ativado ou resina.

Objetivo: O objetivo geral deste estudo foi induzir lesão renal em ratos com venenos ofídicos de *Bothrops jararaca* (vBj) e *Crotalus durissus terrificus* (vCdt) e aplicar a técnica de hemoperfusão (HP) como proposta de tratamento, comparativamente à soroterapia. Os objetivos específicos foram avaliar: clinicamente; macroscopicamente as condições gerais post mortem; e, microscopicamente as lesões em órgãos e tecidos afetados - dos grupos de animais submetidos aos diferentes protocolos experimentais.

Métodos: Os animais foram divididos aleatoriamente em 9 grupos de 3 animais e receberam intraperitonealmente (i.p.): GI: vBj, 2 h após tampão salina (PBS); GII: vCdt, 2 h após PBS; GIII: controle HP; GIV: vBj, 2 h após antiveneno botrópico (AntivB); GV: vCdt, 2h após antiveneno crotálico (AntivC); GVI: vBj, 2 h após HP; GVII: vCdt, 2 h após HP; GVIII: PBS, 2 h após AntivB; GIX: PBS, 2 h após AntivC. A avaliação clínica foi realizada através de acompanhamento de cada grupo e documentada com fotografia e filmagem. A avaliação macroscópica das lesões foi realizada através de avaliação post mortem e documentada através de fotografias. A avaliação microscópica foi realizada através de microscopia de luz.

Resultados: Os animais dos grupos controle dos venenos botrópico (G-I) e crotálico (G-II) apresentaram agravamento dos sintomas clínicos levando os animais a óbito em poucas horas, e nos animais com veneno botrópico apresentaram hemorragia abdominal. O grupo controle do hemoperfusor apenas (G-III) não apresentou qualquer alteração, sobrevivendo as 24 h do experimento. Nos grupos venenos e antiveneno (G-IV e G-V) todos os animais sobreviveram as 24 h, porém os animais com veneno botrópico apresentaram moderada hemorragia abdominal. No grupo hemoperfusor e veneno botrópico (G-VI) um animal sobreviveu 8 h e dois animais vieram a óbito durante o procedimento, por hemorragia no local da canulação, já no grupo hemoperfusor e veneno crotálico (G-VII) dois animais vieram a óbito após 8 horas e um dos animais veio a óbito após 12 h após a administração do veneno. Os grupos controle dos antivenenos específicos apenas (G-VIII e G-IX) não apresentaram

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS – UNISO

**TRABALHO COMPLETO CONTENDO ARTIGOS CIENTÍFICOS. AGUARDANDO A PUBLICAÇÃO DOS RESULTADOS*

nenhuma alteração sobrevivendo as 24 h. Na avaliação histológica comprovou-se não apenas a lesão renal que fora intencionalmente induzida pelos venenos, como também a lesão hepática. Em ambos os tecidos foram visualizadas graves alterações morfológicas e celulares. Nos grupos tratados com hemoperfusor (G-VI e G-VII) foi possível notar uma diminuição nas lesões quando comparadas ao veneno isolado (G-I e G-II), cujas lesões também foram atenuadas com o uso de antivenenos específicos (G-IV e G-V) contra cada veneno.

Conclusão: Considerando todos os resultados em conjunto no modelo experimental adotado, conclui-se que em animais com lesão renal aguda causadas por venenos de *Bothrops jararaca* e *Crotalus durissus terrificus*, o uso de antivenenos específicos garantiu a sobrevivência dos animais, mas não o reparo tecidual, pelo período adotado experimentalmente de 24 h, enquanto o uso da técnica de hemoperfusão aumentou a longevidade dos animais em 33% e 48%, respectivamente para cada veneno. Sugerimos, em estudos futuros, que a técnica da hemoperfusão seja realizada concomitantemente à administração de soroterapia.

Palavras-chaves: Acidente ofídico, *Bothrops jararaca*, *Crotalus durissus terrificus*, Hemoperfusão, Histopatologia.

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS – UNISO

**TRABALHO COMPLETO CONTENDO ARTIGOS CIENTÍFICOS. AGUARDANDO A PUBLICAÇÃO DOS RESULTADOS*

ABSTRACT

Introduction: According to Ministry of Health data for the year 2015, there were 27,261 accidents with venomous snakes, an incidence of 13.4 accidents / 100,000 habitants, which resulted in 120 deaths. Analyzed data of ophidian accidents occurred in Brazil from 2009 to 2013 showed that 86.2% of the cases were caused by Bothrops snakes and 9% of the Crotalus genus. It was also analyzed that ophidian accidents present the highest lethality (0.41%) compared to other venomous animals, such as scorpions (0.13%) and spiders (0.05%). Acute Kidney Injury is the leading cause of death among patients who survived the first effects of ophidian venom, with acute tubular necrosis, the most frequent renal histological lesion found in Acute Kidney Injury induced by ophidian venom. Hemoperfusion may be an adjunct to the treatment of ophidian accidents. In this technique, the blood is pumped from a central venal cannula and passes through a cartridge of adsorbent material, such as activated charcoal or resin.

Objective: The general objective of this study was to induce renal injury in rats with Bothrops jararaca (vBj) and Crotalus durissus terrificus (vCdt) venoms and to apply hemoperfusion (HP) technique as a treatment proposal compared to serum therapy. The specific objectives were to evaluate: clinically; macroscopically the post mortem general conditions; and microscopically the lesions in affected organs and tissues - of the groups of animals submitted to the different experimental protocols.

Methods: Animals were randomly divided into 9 groups of 3 animals and received intraperitoneally (i.p.): GI: vBj, 2 h after saline buffer (PBS); GII: vCdt, 2 h after PBS; GIII: control HP; GIV: vBj, 2 h after botropic antivenom (AntivB); GV: vCdt, 2 h after crotalic antivenom (AntivC); GVI: vBj, 2 h after HP; GVII: vCdt, 2 h after HP; GVIII: PBS, 2 h after AntivB; GIX: PBS, 2 h after AntivC. The clinical evaluation was performed through each group and documented with photography and filming. The macroscopic evaluation of the lesions was performed through post mortem evaluation and documented through photographs. Microscopic evaluation was performed by light microscopy.

Results: The animals in the bothropic (G-I) and crotalic (G-II) venom control groups showed worsening of clinical symptoms, leading to death within a few hours, and abdominal bleeding in animals with bothropic venom. The hemoperfusion control group alone (G-III) did not show any change, surviving the 24 h of the experiment. In the venom and antivenom groups (G-IV and G-V) all animals survived at 24 h, but animals with bothropic venom presented moderate abdominal bleeding. In the hemoperfusion group and bothropic venom (G-VI), one animal survived 8 h and two animals died during the procedure, due to bleeding at the canulation site, in the hemoperfusion group and crotalic venom (G-VII) two animals died after 8 hours and one of the animals died after 12 h after administration of the venom. The control groups of the specific antivenoms only (G-VIII and G-IX) did not present any alterations surviving the 24 h. In the histological evaluation, not only the renal injury that was intentionally induced by the poisons, but also the liver injury was verified. Severe morphological and cellular changes were seen in both tissues. In the groups treated with hemoperfusion (G-VI and G-VII) it was possible to observe a decrease in the lesions when compared to the isolated venom (GI and G-II), which lesions were also attenuated with the use of specific antivenoms (G-IV and GV) against each venom.

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS – UNISO

**TRABALHO COMPLETO CONTENDO ARTIGOS CIENTÍFICOS. AGUARDANDO A PUBLICAÇÃO DOS RESULTADOS*

Conclusion: Considering all the results together in the experimental model adopted, it is concluded that in animals with acute renal injury caused by venom of *Bothrops jararaca* and *Crotalus durissus terrificus*, the use of specific antivenoms guaranteed the survival of the animals, but not the tissue repair, by the experimental period of 24 h, while the use of the hemoperfusion technique increased the longevity of the animals by 33% and 48%, respectively, for each venom. We suggest in future studies that the technique of hemoperfusion should be performed concomitantly with the administration of serum therapy.

Keywords: Ophidian accident, *Bothrops jararaca*, *Crotalus durissus terrificus*, Hemoperfusion, Histopathology.