

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

**Título: AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DO USO DO CARTUCHO HEMOPERFUSOR DE CARVÃO ATIVADO E ÁCIDO TÂNICO NO TRATAMENTO DE LESÃO RENAL AGUDA EM RATOS, INDUZIDA POR ENVENENAMENTO POR PEÇONHAS DE BOTHROPS E CROTALUS”**

**Autor:** Edson Hideaki Yoshida

**Orientadora:** Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Yoko Oshima Franco

**RESUMO**

Os acidentes ofídicos estão listados entre as doenças negligenciadas e constituem um sério problema de saúde pública. Envenenamentos severos causados por serpentes peçonhentas (gêneros *Bothrops* e *Crotalus*) podem causar injúrias renais e comprometer a função deste órgão, aqui mencionado como Lesão Renal Aguda (LRA). A prevenção da LRA se dá pela administração precoce do antiveneno específico, tratamento da hipotensão arterial, do choque e manutenção de um estado de hidratação adequada; porém, nem sempre possível de ser realizada. O ácido tânico (AT) tem sido apontado como um agente capaz de precipitar as proteínas constituintes de venenos ofídicos e a sua administração endovenosa torna-se contraindicada pelo risco de precipitar as proteínas sanguíneas. Uma alternativa a esta limitação foi pensada através da técnica de hemoperfusão visando à circulação extracorpórea do sangue por um cartucho contendo carvão ativado (CA) e AT. Os objetivos globais deste projeto foram (i) desenvolver um cartucho com CA e AT, tendo em vista a capacidade de adsorção do CA e de precipitação de proteínas do AT e (ii) avaliar a eficácia do cartucho, através da técnica de hemoperfusão, em ratos com lesão renal induzida por venenos ofídicos, comparativamente à soroterapia. Diferentes proporções de grânulos de CA (4-8 e 8-20 mesh) e concentrações de AT (0,01 e 0,02 g) aprisionados em filtros poliméricos foram testadas e as melhores condições para desenvolver o cartucho foram selecionadas através de planejamento fatorial multivariado, em condições *in vitro* (hemoperfusão simulada). Nas condições *in vivo* (hemoperfusão em ratos Wistar), a concentração de AT foi testada para remover os venenos de *Bothrops jararaca* e *Crotalus durissus terrificus*. A partir de então, 9 grupos experimentais (n=5) com diferentes protocolos foram realizados incluindo controle hemoperfusão, através de circulação extracorpórea via canulação da artéria carótida e veia jugular e por administração intraperitoneal (i.p.) de cada veneno, cada antiveneno, cada veneno + antiveneno, e cada veneno + hemoperfusão. Após os procedimentos experimentais, os animais foram colocados em gaiolas metabólicas para coleta de urina (24 h após a injeção do veneno). Imediatamente após a coleta da urina, foram anestesiados para coleta de sangue e tecidos renais (medula e córtex). Para os ensaios de avaliação da eficácia foram avaliados perfis hematológico, eletroforético e bioquímico, estresse oxidativo e letalidade, em animais (n=5) dos 9 grupos. Na hemoperfusão simulada (*in vitro*) a melhor composição do cartucho foi com CA de 8-20 mesh de granulação e 0,02g de AT. Na condição *in vivo* o AT foi aumentado para 0,05 g. Os parâmetros para a avaliação da eficácia desse cartucho estão apresentados nesta tese e ressaltando o parâmetro da letalidade, os ratos com LRA induzida pelo veneno de *Bothrops jararaca* não sobreviveram por mais de 5h36' sem tratamento, sobreviveram 4h54' com hemoperfusão e 24 h com antiveneno

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

antibotrópico; enquanto que ratos com LRA induzida pelo veneno de *Crotalus durissus terrificus* não sobrevivem por mais de 8h12' sem tratamento, sobrevivem 8h54' com hemoperfusão e 24 h com antiveneno anticrotálico. A soroterapia mostrou-se eficaz contra a letalidade, mesmo em casos graves de envenenamento e aplicados após 2h ao envenenamento. Em nossas condições experimentais a hemoperfusão não se mostrou indicada para os envenenamentos botrópicos graves, pela associação de fator inerente à técnica (redução de plaquetas) e do quadro clínico causado pelo veneno (redução de plaquetas e processos hemorrágicos, de difícil manejo clínico). Contudo, a hemoperfusão quando realizada precocemente mostrou-se eficaz no envenenamento crotálico prevenindo a evolução do quadro clínico para a LRA.

**Palavras-chave:** Acidente ofídico. Ácido tânico. *Bothrops jararaca*. *Crotalus durissus terrificus*. Hemoperfusão

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

### ABSTRACT

Snakebite accidents are listed among neglected diseases and constitute a serious public health problem. Severe poisoning caused by venomous snakes (*Bothrops* and *Crotalus* genera) can cause kidney injury and compromise the function of this organ, here referred to as Acute Kidney Injury (AKI). Prevention of AKI is by early administration of specific antivenom, treatment of hypotension, shock, and maintenance of adequate hydration status; but not always possible to be performed. Tannic acid has been reported as an agent capable of precipitating the ophidian poisons' proteins and its intravenous administration, as in serum therapy, is contraindicated by the risk of precipitating blood' proteins. An alternative to this limitation was thought through the hemoperfusion technique for the extracorporeal circulation of the blood by a cartridge containing activated charcoal and tannic acid. The overall objectives of this the project were (i) to develop a cartridge with activated carbon and tannic acid, in view of the adsorption capacity of activated carbon and the precipitation of tannic acid proteins, and (ii) to evaluate the efficiency of the cartridge through of the hemoperfusion technique, in rats with renal damage induced by snakes venom, compared to serum therapy. Different proportions of activated carbon granules (4-8 and 8-20 mesh) and tannic acid concentrations (0.01 and 0.02 g) entrapped in polymer filters were tested and the best conditions to develop the cartridge were selected through multivariate factorial planning, under *in vitro* conditions (simulated hemoperfusion). Under *in vivo* conditions (hemoperfusion in Wistar rats), the tannic acid concentration was again tested to remove poisons from *Bothrops jararaca* and *Crotalus durissus terrificus*. Thereafter, nine experimental groups (n=5) with different protocols were performed including hemoperfusion control, venoms, antivenoms, each poison + antivenom, and each venom + hemoperfusion. After the experimental procedures, the animals were placed in metabolic cages for collection of urine (24 h after injection of the venom). Immediately after urine collection, they were anesthetized to collect blood and renal tissues (medulla and cortex). For the efficacy evaluation, hematological profile, electrophoretic profile, biochemical profile, oxidative stress, and lethality were evaluated in animals (n = 5) of the nine groups. In simulated hemoperfusion (*in vitro*) the best cartridge composition was with activated carbon of 8-20 mesh granulation and 0.02 g of tannic acid. In the *in vivo* condition tannic acid was increased to 0.05 g. The parameters for evaluation of the efficacy of this the cartridge is presented in the body of the thesis and highlight the parameter of the lethality, the rats with acute renal injury induced by the venom of *Bothrops jararaca* did not survive for more than 5h 36' without treatment, survived 4h54' with hemoperfusion and 24 h with antithrotopropic antivenom; while mice with acute renal injury induced by *Crotalus durissus terrificus* venom do not survive for more than 8h12' without treatment, survive 8h54' with hemoperfusion and 24 h with anticrotalic antivenom. Serum therapy was effective against lethality even in severe cases of poisoning and applied after 2 h to poisoning. In our experimental conditions, hemoperfusion was not indicated for severe bothropic poisonings, due to the association of factors inherent to the technique (reduction of platelets) and of the clinical condition caused by the venom (reduction of platelets and hemorrhagic processes, difficult to handle clinically). However, early hemoperfusion has been shown to be effective in crotalic poisoning by preventing the progression of the clinical picture to AKI.

**Keywords:** Snake accident. Tannic acid. *Bothrops jararaca*. *Crotalus durissus terrificus*. Hemoperfusion.