

**LESÕES RENAIS EM RATOS WISTAR INTOXICADOS EXPERIMENTALMENTE  
COM VENENO DA *CAUDISONA DURISSA TERRIFICA* EM DIFERENTES  
DOSES**

**ANA MARIA SILVA CAMARGO**

**LESÕES RENAIS EM RATOS WISTAR INTOXICADOS EXPERIMENTALMENTE  
COM VENENO DA *CAUDISONA DURISSA TERRIFICA* EM DIFERENTES  
DOSES**

**ANA MARIA SILVA CAMARGO**

Dissertação apresentada a Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade do Oeste Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal. Área de Concentração: Fisiopatologia Animal.

Orientador: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Rosa Maria Barilli Nogueira

636.089661 Camargo, Ana Maria Silva.

C172l

Lesões renais em ratos Wistar intoxicados experimentalmente com veneno de *Caudisona durissa terrifica* em diferentes doses / Ana Maria Silva Camargo. – Presidente Prudente, 2013.

39 f. : il.

Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade do Oeste Paulista – Unoeste, Presidente Prudente, SP, 2013.

Bibliografia.

Orientador: Rosa Maria Barilli Nogueira.

1. *Caudissona durissa terrifica*. 2. Nefrotoxicidade. 3. Histopatologia. 4. Rato. I. Título.

**ANA MARIA SILVA CAMARGO**

**LESÕES RENAIIS EM RATOS WISTAR INTOXICADOS  
EXPERIMENTALMENTE COM VENENO DA *CAUDISONA DURISSA*  
*TERRIFICA* EM DIFERENTES DOSES**

Dissertação apresentada a Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade do Oeste Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal. Área de Concentração: Fisiopatologia Animal.

Presidente Prudente, ...de .....de 2013

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Rosa Maria Barilli Nogueira  
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste  
Presidente Prudente-SP

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Alessandra Melchert  
Universidade Estadual Paulista-UNESP  
Botucatu-SP

---

Prof. Dr. Yudney Pereira da Motta  
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste  
Presidente Prudente-SP

## DEDICATÓRIA

À Deus, pela força e existência, iluminando o meu caminho para que este sonho tornasse realidade.

À Lorena, minha filha princesinha, agradeço a Deus por você existir, você é a minha inspiração, a minha alegria de viver. Te amo muito.

Ao meu esposo, Murilo, meu amor e amigo, que lutou a meu lado, com paciência e apoio, auxiliando no decorrer do trabalho desenvolvido e pela cumplicidade em todos os momentos vividos.

Aos meus pais Luiza e José, por todo incentivo, orações e carinho, exemplo de avós, no grande cuidado despendido à minha filha. Às minhas irmãs Ana Lúcia e Ana Paula, e seus esposos, pelos conselhos e palavras amigas, mesmo estando distantes.

Aos meus sogros, Leonice e Mauro, pelo apoio e por entenderem os momentos de grande preocupação para conclusão do trabalho. Aos meus cunhados Márcio e esposa que proporcionaram momentos de alegria e incentivo.

À Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Rosa, exemplo de conhecimento, humildade, profissionalismo e dedicação à pesquisa, referência para a minha vida profissional. Muito obrigada.

## **AGRADECIMENTOS**

À Universidade do Oeste Paulista, Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-graduação pelo apoio financeiro na realização deste trabalho.

Ao corpo docente da pós-graduação em Ciência Animal pelos ensinamentos e incentivos á pesquisa, em especial Prof. Dr. Vamilton Álvares Santarém.

À Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Cecília Braga Laposy, que me acolheu e muito contribuiu com esta conquista, exemplo de amizade e dedicação.

À Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Gisele Alborghetti Nai, pela leitura das lâminas, transmitindo segurança e apoio.

À coordenadora do curso de enfermagem, Dr<sup>a</sup> Maria Nilda Barros Camargo e colegas de profissão que apoiaram para a realização desta conquista.

Aos colaboradores do Biotério Central pelo auxílio no manuseio com os animais, transmitindo apoio, atenção e garantindo a execução do experimento.

Às alunas do curso de graduação em enfermagem Fernanda, Ana Carolina e Alexandra, pela colaboração na execução do experimento.sem dúvida vocês foram muito importante.

“A mente que se abre a uma nova idéia, jamais voltará ao seu tamanho original” **(Albert Einstein)**

## RESUMO

### **Lesões renais em ratos Wistar intoxicados experimentalmente com veneno da *Caudisona durissa terrifica* em diferentes doses**

Acidentes ofídicos com a *Caudisona durissa terrifica* são de grande importância pelo alto índice de mortalidade em humanos e animais. Neurotoxicidade, miotoxicidade, alteração de coagulação, hepato e nefrotoxicidade são os sinais clínicos mais comumente observados. O presente estudo teve como objetivo avaliar por meio de exame histopatológico o rim de ratos Wistar experimentalmente intoxicados com veneno crotálico em diferentes doses. Noventa ratos foram distribuídos em três grupos sendo: Grupo controle (GC): receberam solução de cloreto de sódio 0,9% intramuscular (IM); Grupo 4 (G4) - receberam 4mg/Kg do veneno crotálico IM; Grupo 8 (G8)-receberam 8mg/Kg de veneno crotálico IM. A histopatologia do rim foi realizada nos momentos 6 horas (M6) e 24 horas (M24) após a inoculação do veneno (AV). Foi observada congestão renal moderada nos dois grupos, degeneração hidrópica e pouca necrose tubular aguda para o G4 no M6 e alta incidência de necrose tubular aguda no M24, no entanto, a necrose tubular aguda foi predominante no G8 nos dois momentos. Conclui-se que em ratos wistar utilizando-se as doses de 4 e 8mg/Kg em 24 horas após intoxicação, o veneno crotálico provoca alterações histológicas em rim caracterizadas por congestão, degeneração hidrópica e necrose tubular aguda, sendo a intensidade dos sinais dose dependente. Novos estudos são necessários para avaliação das causas que levam a instalação das alterações histológicas renais nesta espécie animal.

**Palavras chave:** *Caudissona durissa terrifica*; nefrotoxicidade; histopatologia; rato



## ABSTRACT

### **Renal lesions of Wistar rats intoxicated experimentally with venom *Caudisona durissa terrifica* at different doses**

Snakebites with *Caudisona durissa terrifica* are of great importance for the high mortality rate in humans and animals. Neurotoxicity, myotoxicity, abnormal coagulation, hepato and nephrotoxicity are the most commonly observed clinical signs. The present study aimed to evaluate by histopathology the kidney of Wistar rats experimentally intoxicated crotalic venom at different doses. Ninety rats were divided into three groups as follows: control group (CG) - received solution of sodium chloride 0.9% intramuscular (IM); Group 4 (G4) - received 4mg/kg of crotalic venom IM; Group 8 (G8) -received 8mg/kg of crotalic venom IM. Histopathological examination of the kidney was performed in 6 hours time (M6) and 24 hours (M24) after the inoculation of the venom (AV). Moderate renal congestion was observed in both groups, hydropic degeneration and acute tubular necrosis little to G4 in M6 and high incidence of acute tubular necrosis in M24, however, acute tubular necrosis was predominant in the G8 at both times. It is concluded that in Wistar rats using doses of 4 and 8mg/Kg after 24 hours intoxication, crotalic venom causes histological changes in the kidney characterized by congestion, hydropic degeneration and acute tubular necrosis, and the signal strength dose dependent. Further studies are needed to evaluate the causes that lead to the installation of histological renal changes in this species.

Keywords: *Caudissona durissa terrifica*; nephrotoxicity; histopathology; rat

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA.....	10
1.1 Características da serpente <i>Caudisona durissa terrifica</i> .....	11
1.2 O Acidente Crotálico e Seus Sinais Clínicos.....	13
1.3 Efeito Neurotóxico .....	13
1.4 Efeito Miotóxico .....	14
1.5 Efeito Coagulante .....	14
1.6 Efeito Nefrotóxico e Lesão Renal Aguda.....	15
1.7 Tratamento na Intoxicação Crotálica .....	16
REFERÊNCIAS .....	20
2 ARTIGO CIENTÍFICO.....	25

## 1 INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA

As serpentes são encontradas em quase todo o globo terrestre, sendo mais comum a sua presença em regiões tropicais e subtropicais por serem animais peçilotérmicos (JIM; SAKATE, 1994). Os acidentes provocados por serpentes peçonhentas são um problema de saúde pública no Brasil devido a alta incidência de morbi-mortalidade (PINHO; OLIVEIRA; FALEIROS, 2004).

Existem aproximadamente três mil espécies de serpentes no mundo, das quais de 10 a 12% são consideradas peçonhentas e a mortalidade varia nas diferentes regiões do mundo (PINHO; VIDAL; BURDMANN, 2000).

No Brasil, período de janeiro de 2005 a dezembro de 2009, foi registrado 141.882 acidentes ofídicos, o que representa uma média de 28.576 casos por ano (BRASIL. Ministério da Saúde, 2011).

A maioria dos acidentes ocorre no verão, entre janeiro e abril. Esse fato coincide com a época do ano destinada ao preparo, plantio e colheita da safra agrícola (BARRAVIEIRA; FERREIRA JUNIOR, 2007).

Na região de Presidente Prudente, de 2008 a 2012 foram notificados 216 acidentes por animais peçonhentos, sendo 40 pela *Caudisona durissa* (BRASIL. Ministério da Saúde. Sistema de Notificação de Informação de Agravos de Notificação, 2013). Dos 40 acidentes crotálicos a maioria dos pacientes eram do sexo masculino, sendo 2010, o ano de maior número de notificações. Em relação ao local da picada, as pernas foram os membros mais atingidos, sendo que 30 pacientes apresentaram sinais clínicos sistêmicos, o que corresponde a 75% dos casos, porém nenhum paciente apresentou complicações locais e nenhum evoluiu para óbito (BRASIL. Ministério da Saúde. Sistema de Notificação de Informação de Agravos de Notificação, 2013).

Mise, Lira-da-Silva e Carvalho (2006), confirmaram em seu estudo que os acidentes ocorrem mais no meio rural, atingindo geralmente os membros inferiores (72,4%) e menos comumente os membros superiores (14,9%).

As serpentes peçonhentas mais comuns encontradas no Brasil pertencem a quatro gêneros: *Bothropoides*, *Caudisona*, *Lachesis* e *Micrurus*. Os acidentes pelo gênero *Bothropoides* são as de maior ocorrência (90%),

porém as do gênero *Caudisona* (8%) são de maior letalidade (TOKARNIA; PEIXOTO, 2006).

Na medicina veterinária, há escassez de dados relacionados a acidentes ofídicos, uma vez que a notificação de um acidente não é obrigatória e muitas vezes o animal é encontrado morto (principalmente os que vivem a campo) não sendo possível determinar com exatidão a etiologia do quadro (TOKARNIA; PEIXOTO, 2006).

A *Caudisona durissa* é uma espécie com distribuição ampla, preferem regiões secas, cerrados e raramente a faixa litorânea ou florestas úmidas (CAMPBELL; LAMAR, 1989).

A espécie *Caudisona durissa* é considerado de maior importância clínica tanto em humanos quanto em animais pela gravidade do quadro clínico que provoca, sendo em muitos casos fatal, principalmente quando o tratamento com soro específico não é instituído precocemente (BRASIL. Ministério da Saúde, 2011).

As principais frações do veneno crotálico são: crotoxina, crotamina, giroxina, convulxina e crotalfina (MOURA-GONÇALVES; VIEIRA, 1950; BARRIO, 1961; PRADO-FRANCESCHI; BRAZIL, 1981; ROODT; DOLAB; SEGRE, 1996; SILVA, 2009).

O veneno, altamente tóxico dessa espécie provoca quadros clínicos com discreta reação local e intensa reação sistêmica como: neurotoxicidade, miotoxicidade, alteração de coagulação e “*hemólise in vitro*”, além de complicações comuns secundárias aos efeitos diretos e indiretos do veneno como insuficiência renal aguda (IRA) ou insuficiência respiratória (CAMILLO, 1998; PINHO; PEREIRA, 2001).

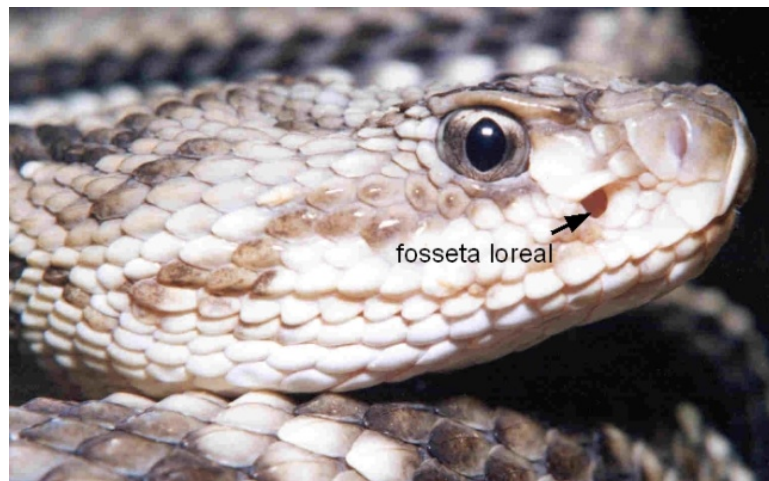
### **1.1 Características da Serpente *Caudisona Durissa Terrifica***

São encontradas seis subespécies da *Caudisona durissa* que habitam o território brasileiro, principalmente Sul e Sudeste, Centro-Oeste e Nordeste: *Caudisona durissa terrifica*, *Caudisona durissa collineatus*, *Caudisona durissa*

*cascavella*, *Caudisona durissa ruriuna*, *Caudisona durissa marajoensis* e *Caudisona durissa trigonicus* (PINHO; PEREIRA, 2001; SAKATE, 2002).

Pertence a família *Viperidae*, não apresentam membros, medem aproximadamente de 1 a 1,80m, tem cabeça triangular, língua bífida, olhos pequenos com pupilas em fendas e presença de fosseta loreal (órgão sensorial termoreceptor) (Figura 1) situada entre as narinas e os olhos, seus dentes inoculadores de veneno são bem desenvolvidos (solenóglifas) e possuem presença do guizo ou chocalho na porção terminal da cauda (Figura 2) (NOBLE; SCHMIDT, 1937; PUORTO, 1992; FONTEQUE et al., 2009).

Figura 1 – Órgão sensorial termoreceptor (fosseta loreal)



Fonte:(KOCH, 2012)

Figura 2- Dentes desenvolvidos (solenóglifas) e guizo



Fonte:(ARAGUAIA, 2012)

## **1.2 O Acidente Crotálico e seus Sinais Clínicos**

O veneno de serpentes apresenta diferentes atividades biológicas devido a sua complexa composição química representada principalmente por toxinas, enzimas, proteínas e peptídeos (NOGUEIRA; SAKATE, 2004; SILVA, 2009).

A intoxicação apresenta-se em momentos variados e com diversas manifestações clínicas, decorrentes das propriedades do veneno e da farmacocinética da sua toxicidade (CHIPPAUX; WILLIANS; WHITE, 1991).

O veneno crotálico provoca lesão local discreta (eritema, edema discreto e dor de média intensidade), porém os efeitos sistêmicos (neurotóxico, miotóxico, coagulante) geralmente são graves e muitas vezes fatais na ausência de tratamento, sendo a insuficiência renal aguda a complicação mais comum (SCHIMIDT; ABDELBAKI; TU, 1976; CUPO; AZEVEDO-MARQUES; HERING, 1990; PINHO; OLIVEIRA; FALEIROS, 2004; GUTIERREZ et al., 2008).

## **1.3 Efeito Neurotóxico**

A crotoxina é uma neurotoxina que consiste de uma fração tóxica, fosfolipase A2 e uma fração não tóxica, que é chamada de crotapotina. A crotoxina é responsável pelo efeito neurotóxico provocando bloqueio neuromuscular impedindo a liberação de acetilcolina na fibra pré-sináptica, caracterizando um sinal clínico inicial de incoordenação motora com evolução para tetraparesia flácida, fasciculações, flacidez da musculatura da face (face miastênica), ptose palpebral, alteração do diâmetro pupilar (midríase), oftalmoplegia, disfagia e dificuldade de fonação, sialorréia, vômitos, diarreia além da instalação da complicação caracterizada por insuficiência respiratória devido a paralisia dos músculos intercostais e diafragma (ARAÚJO; BELLUOMINI, 1960-62; AZEVEDO-MARQUES et al., 1987; BARRAVIERA, 1994; LAGO et al., 2000; FERNANDES; AGUIAR; DAHER, 2008).

#### 1.4 Efeito Miotóxico

A lesão muscular se dá pelo efeito da crotoxina e crotamina (um polipeptídeo básico e menos tóxica que a crotoxina), sendo que a ação fosfolipase A<sub>2</sub>, provoca hidrólise de fosfolípidos na membrana plasmática, que é potencializada pelo efeito da crotoxina. A crotoxina pode provocar alterações nos canais de sódio da membrana plasmática de células musculares provocando influxo do sódio para o meio intracelular, ocorrendo liberação de mioglobina (SLOTTA; FRAENKEL-CONRAT, 1938; MOURA-GONÇALVES; VIEIRA, 1950; CHANG; TSENG, 1978; CASTRO, 2006).

Outro dado importante da crotamina recai sobre a sua potente ação analgésica, muitas vezes comparada à morfina, observada primeiramente em ratos (HUDELSON; HUDELSON, 1995; MANCIN et al., 1998).

Pinho e Pereira (2001), acrescentaram que as fibras mais atingidas pelo veneno são as de tipo I ou IIA, e a fibra muscular lesada libera quantidades variáveis de mioglobina, acarretando em mioglobinúria e conferindo uma cor avermelhada ou enegrecida (cor de “coca-cola”) a urina.

A miotoxidade é evidenciada por intensa mialgia podendo estar associada a discreto edema muscular. Na avaliação laboratorial, estudos mostram que ocorre miólise, e como resultado observa-se valores elevados de creatinoquinase (CK), desidrogenase láctica (LDL) e aspartase alaminotransferase (ALT). O aumento do CK é precoce, com pico máximo de 24 horas após o acidente indicando miotoxidade (PINHO; PEREIRA, 2001).

#### 1.5 Efeito Coagulante

A convulxina induz a síntese de tromboxano A<sub>2</sub>, potente agregante plaquetário, e conseqüentemente causa agregação plaquetária ou aglutinação plaquetária *in vitro* (BARRAVIERA, 1994; FRANCISCHETTI et al., 1997). Outros sinais clínicos atribuídos à convulxina são o aparecimento de convulsões, perturbações circulatórias e respiratórias (AMARAL; MAGALHÃES, REZENDE, 1991). A giroxina é uma substância que produz sintomas labirínticos e não é considerada letal (BARRIO, 1961).

As alterações da coagulação sanguínea surgem por meio da fração “tipo trombina”, capaz de converter o fibrinogênio diretamente em fibrina, levando o doente a uma afibrinogenemia e incoagulabilidade sanguínea, além de aumentos no tempo de protrombina e tromboplastina parcial (AMARAL et al., 1988; NOGUEIRA, 2001).

### **1.6 Efeito Nefrotóxico e Lesão Renal Aguda**

A insuficiência renal aguda (IRA) é a principal complicação do paciente intoxicado pelo veneno crotálico. A prevalência de IRA é de 9 a 31% e os fatores de risco para desenvolvimento da IRA são: idade do paciente, intervalo do acidente e atendimento médico, nível de hidratação do paciente, uso concomitante de drogas nefrotóxicas, idade e tamanho da serpente, época do ano e local do acidente e quantidade de veneno injetada (PINHO; PEREIRA, 2001).

Outros fatores também corroboram com o surgimento da IRA, como rabdomiólise, grau de elevação de CK, fósforo, potássio e diminuição de albumina (FERNANDES, AGUIAR; DAHER, 2008).

A etiopatogenia da lesão renal aguda relaciona-se a vários fatores, como o processo de metabolização renal, na qual substâncias tóxicas desacoplam de seus carreadores protéicos, onde os mecanismos de transporte facilitam a entrada dessas substâncias do lúmen para o interior das células tubulares; pode ocorrer diminuição do fluxo, devido a efeito vasoconstritor (angiotensina II e endotelina) que aumenta o cálcio intracelular, elevando o tônus vascular, diminuindo o coeficiente de ultrafiltração. A diminuição do fluxo renal pode produzir radicas livres de oxigênio, causando danos estruturais intracelulares (BURDMMAN; VIEIRA JUNIOR; VIDAL, 2008).

Alguns autores relatam que na intoxicação crotálica a IRA decorre tanto de efeitos nefrotóxicos indiretos e diretos. A ação indireta do veneno sobre as células renais seria em decorrência da mioglobinúria secundária à rabdomiólise que levaria a obstrução tubular por cilindros de mioglobina (MAGALHÃES et al., 1986; SOERENSEN, 1990).

A mioglobina é filtrada através dos glomérulos e reabsorvida nos tubos proximais por endocitose, que em meio ácido, dissocia-se da cadeia de globina



da porção que contém o ferro, o ferro é convertido em ferritina, que potencializa o estresse oxidativo, que leva a lesão celular renal, concomitantemente na lise de células musculares ocorre a liberação de nucleotídeos (pentose, base nitrogenada e fosfato) que são metabolizados no fígado em purinas, tais como, xantina e hipoxantina, resultando em aumento da produção de ácido úrico, levando à formação de cristais de urato e consequente obstrução tubular (EFSTRATIADIS; VOULGARIDOU; NIKIFOROU, 2007).

Os estudos de Sanchez-Lozada et al. (2008), corroboram com o autor acima citado, enfatizando que a disfunção renal endotelial é uma característica durante a lesão renal induzida por hiperuricemia leve, a hipótese que justifica tal fato, está relacionada ao estresse oxidativo, na qual, o superóxido pode reagir com o óxido nítrico, gerando o peroxinitrito. O ácido úrico quando se liga ao peroxinitrito pode gerar radicais livres, que são nocivos às células renais, levando a citotoxicidade e morte celular.

Amora et al. (2006) e Yamasaki et al. (2008), avaliaram a função renal, após indução do envenenamento pelo veneno da *Caudisona durissa terrifica*, sendo que a hiperuricemia e a hiposmolaridade urinária foram os primeiros sinais de miotoxicidade indireta. Em relação à avaliação do tecido renal, houve destruição de membrana, com subsequente perda de proteínas e liberação de enzimas, tais resultados sugerem que o estresse oxidativo e atividades da aminopeptidase, provocam esses efeitos direto no tecido renal.

Alegre et al. (2010), também confirmaram os efeitos diretos no tecido renal, sendo que as enzimas da classe das aminopeptidases, estresse oxidativo e incidência de hiperuricemia e hipercreatinemia, foram relacionados ao dano celular.

### **1.7 Tratamento na Intoxicação Crotálica**

A soroterapia antiofídica é o único tratamento eficaz para neutralizar a ação da peçonha, e deve ser instituído o mais precocemente possível (THOMAZINI; BARRAVIERA, 1994).

Os soros heterólogos são compostos de imunoglobulinas extraídos da sensibilização de diversos animais, a maioria de equinos (BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde, 2001). A via de escolha da

administração do soro é a intravenosa (IV), por infusão lenta, e o número de ampolas depende da gravidade do caso. O soro deve ser mantido de 4 a 8° C e tem estabilidade por até três anos (BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde, 2001). Para uso na Medicina Veterinária, encontra-se com maior facilidade o soro antiofídico polivalente (botrópico, crotálico e laquétrico) e para uso em humanos pode ser usado o soro polivalente ou o específico (soro anticrotálico).

De acordo com a Fundação Nacional de Saúde (BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde, 2001), para seres humanos, a gravidade do acidente é que se determina a quantidade de soro a ser utilizada (Quadro 1).

Quadro 1 – Relação da quantidade de soro antiofídico a ser administrada de acordo com a gravidade do quadro clínico para seres humanos.

Gravidade do quadro	Número de ampolas	Tipo de soro
Leve presença de face miastênica, ausência de visão turva, mialgia, urina vermelha ou marrom, oligúria ou anúria e tempo de coagulação normal	05 ampolas	SABC ou SAC
Moderado Presença de face miastênicas, visão turva discreta ou evidente, mialgia discreta, urina vermelha ou marrom pouco evidente, oligúria ou anúria ausente e tempo de coagulação normal ou com sinais de alteração	10 ampolas	SABC ou SAC
Grave face miastênica, visão turva evidentes, mialgia intensa, urina vermelha ou marrom presente, oligúria ou anúria presente e alteração no tempo de coagulação	20 ampolas	SABC ou SAC

SABC=Soro antibotrópico-crotálico

SAC=Soro anticrotálico

Fonte: (BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde, 2001).

Na Medicina Veterinária, Araújo e Belluomini (1960-62) consideram que a quantidade de soro a ser aplicada em animais intoxicados, deve ser suficiente para neutralizar no mínimo 50mg de veneno crotálico.

O tratamento geral no acidente crotálico, além da soroterapia, inclui todo tratamento suporte necessário e procedimentos para preservação da função renal, evitando a instalação da IRA (BARRAVIEIRA, 1994).

Considerando os prejuízos provocados por este acidente, tanto em humanos como animais, em virtude da grande incidência de insuficiência renal

aguda como complicação do mesmo e escassez de estudos experimentais encontrados na literatura, sobre alterações histológicas renais em roedores, o presente estudo teve como objetivo, avaliar lesões renais por meio da histopatologia em ratos Wistar experimentalmente intoxicados com veneno da *Caudisona durissa terrificata* em diferentes doses.

## REFERÊNCIAS

- ALEGRE, V. S. et al. Lipoic acid effects on renal function, aminopeptidase activities and oxidative stress in *Crotalus durissus terrificus* envenomation in mice. **Toxicon**, v. 56, p. 402-410, 2010.
- AMARAL, C F. S; MAGALHÃES, R. A.; REZENDE, N. A. Comprometimento respiratório secundário a acidente ofídico crotálico. **Rev. Inst. Med. Trop.**, v. 33, p. 251-255, 1991.
- AMARAL, C. F. S. et al. Afibrinogenemia secundária a acidente ofídico crotálico (*Crotalus durissus terrificus*). **Rev. Inst. Med. Trop.**, v. 30, p. 288-292, 1988.
- AMORA, D. N. et al. Effects of *Crotalus durissus collilineatus* venom in the isolated rat kidney. **Toxicon**, v. 47, n. 3, p. 260-264, 2006.
- ARAGUAIA, M. **Serpentes peçonhentas brasileiras**. Mundo educação, 2012. Disponível em: <http://mundoeducacao.com.br/biologia/serpentes-peçonhentas-brasileiras.htm>. Acesso em: 20 fev. 2013.
- ARAÚJO, P.; BELLUOMINI, H. E. Toxidade de venenos ofídicos. I. Sensibilidade específica de animais domésticos e de laboratórios. **Mem. Inst. Butantan**, v.30, p.143-156, 1960-62.
- AZEVEDO-MARQUES, M. M. et al. Myonecrosis myoglobinuria and acute renal failure induced by South American rattlesnake (*Crotalus durissus terrificus*) envenomation in Brazil. **Toxicon**, v. 23, p. 631-636, 1987.
- BARRAVIERA, B. **Venenos Animais: uma visão integrada**. São Paulo: EPUB, 1994.
- BARRAVIEIRA, B.; FERREIRA JUNIOR, R. S. Patogenia dos acidentes ofídicos. In BARRAVIEIRA B.; FERREIRA JUNIOR, R. S. **Acidentes por animais peçonhentos**. Botucatu: CEVAP, 2007. p. 361-372.
- BARRIO, A. Gyroxin, a new neurotoxin of *Crotalus durissus terrificus* venom. **Acta Physiol. Latinoam.**, v. 11, p. 224, 1961.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. **Manual de diagnósticos e tratamentos de acidentes por animais peçonhentos**. 2.ed. Brasília, 2001. Disponível em: [ftp://ftp.cve.saude.sp.gov.br/doc\\_tec/zoo/manu\\_peco01.pdf](ftp://ftp.cve.saude.sp.gov.br/doc_tec/zoo/manu_peco01.pdf). Acesso em: 05 jul. 2012
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Situação epidemiológica: série histórica de casos de acidentes de animais peçonhentos 1999-2010**. Portal da Saúde SUS, 2011. Disponível em:

[http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/area.cfm?id\\_area=1539](http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/area.cfm?id_area=1539). Acesso em: 26 jun. 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Sistema de Notificação de Informação de Agravos de Notificação. **Acidentes por animais peçonhentos**: notificações da região de Pres. Prudente 2008-2012. Portal da Saúde SUS, 2013.

Disponível

em:<http://dtr2004.saude.gov.br/sinanweb/tabnet/dh?sinannet/animaisp/bases/animaisbrnet.def>. Acesso em: 15 abr. 2013.

BURDMANN, E. A.; VIEIRA JÚNIOR, J. M.; VIDAL, E. C. Nefropatia tóxica e Tubulointersticial. In RIELLA, M. C. **Princípios de nefrologia e distúrbios hidroeletrólíticos** 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. p. 450-489.

CAMILLO, M. A. P. **Contribuição ao estudo das Giroxinas (enzimas semelhantes á Trombina) dos venenos das serpentes brasileiras *Lachesis muta* e *Crotalus durissus terrificus***. 1998. Tese (Doutorado em Ciências). Universidade de São Paulo, São Paulo.

CAMPBELL, J. A.; LAMAR, W. W. **The venomous reptiles of Latin America**. [S.l.]: Comstock Publishing Associates, 1989.

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

CHANG, C .C.; TSENG, K. H. Effects of crotamine, a toxin of South American rattlesnake venom on the sodium channel of murine skeletal muscle. **Br. J. Pharmacol.**, v. 63, p. 551-559, 1978.

CHIPPAUX, J. P.; WILLIAMS, V.; WHITE, J. Snake venom variability: methods of study, results and interpretation. **Toxicon**, v. 29, n. 11, p. 1279-1303, 1991.

CUPO, P.; AZEVEDO-MARQUES, M. M.; HERING, S. E. Acute myocardial infarction-like enzymes profile in human victims of *Crotalus durissus terrificus* envenoming. **Trans. Roy. Soc. Med. Hyg.**, v. 84, p. 447-445, 1990.

EFSTRATIADIS, G.; VOULGARIDOU, A.; NIKIFOROU, D. Rhabdomyolysis update. **Hippokratia**, v. 11, n. 3, p. 129-137, 2007.

FRANCISCHETTI, I. M. B. et al. Convulxin, a potent platelet-aggregating protein from *Crotalus durissus terrificus* venom, specifically binds to platelets. **Toxicon**, v. 35, n. 8, p. 1217-1228, 1997.

FERNANDES, T. A.; AGUIAR, C. N.; DAHER, E. F. Envenenamento crotálico: epidemiologia, insuficiência renal aguda e outras manifestações. **Pesquisa Médica**, v. 2, n. 2, p. 1-10, 2008.

FONTEQUE, J. H. et al. Perfil eletroforético das proteínas séricas de serpentes *Crotalus durissus terrificus* (cascavel) criadas em cativeiro. **Pesq. Vet. Bras.**, v. 29, n. 6, p. 457-460, 2009.

GUTIERREZ, V. P. et al. Crotalphine induces potent antinociception in neuropathic pain by acting at peripheral opioid receptors. **Eur. J. Pharmacol.** v. 594, p. 84-92, 2008.

HUDELSON, S.; HUDELSON, P. Pathophysiology of snake anvenomization and avaluation of treatments: part II. **Comp. Cont. Educ.**, v. 17, p. 1035-1040, 1995.

JIM, J.; SAKATE, M. Biologia das serpentes. In: Barravieira, B (Coord.). **Venenos animais: uma visão integrada.** Rio de Janeiro: Publicações Científicas, 1994. p. 103-134.

KOCH, Z. **Crotalus durissus terrificus.** Natureza brasileira, 2012. Disponível em: <http://www.naturezabrasileira.com.br>. Acesso em: 10 jan. 2013.

LAGO, L .A. et al. Quadro clínico do envenenamento crotálico experimental em bovinos (*Crotalus durissus terrificus*-crotamina positivo). **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.**, v. 37, n. 4, p. 312-315, 2000.

MAGALHÃES, R. A. et al. Rabdomiólise secundária a acidente crotálico (*Crotalus durissus terrificus*). **Rev. Inst. Med. Trop.**; São Paulo, v. 28, p. 228-233, 1986.

MANCIN, A. C. et al. The analgesic activity of crotamine a neurotoxin from *Crotalus durissus terrificus* (South American rattlesnake) venom: a biochemical and farmacological study. **Toxicon**, v. 36, n. 12, p. 1927-1937, 1998.

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

MOURA-GONCALVES, J.; VIEIRA, A. Estudo sobre o veneno de serpentes brasileiras. I. Análise eletroforética. **An. Acad. Bras. Cienc.**, v. 22, p. 141-150, 1950.

NOBLE, G. K.; SCHMIDT, A. The structure function on the facial and labial pits of snakes. **Proc. Am. Philos. Soc.**, v. 77, p. 263-288, 1937.

NOGUEIRA, R. M. B. **Aspectos clínico, hematológico, bioquímico e urinálise de cães intoxicados com veneno de *Crotalus durissus terrificus* família Crotalidae e tratados com soro antiofídico.** 2001. 162 p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

NOGUEIRA, R .M. B; SAKATE, M. Acidentes crotálicos em animais domésticos. **Revista do Conselho Federal de Medicina Veterinária**, v. 31, p. 47-56, 2004.

PINHO, F. M. O.; PEREIRA, I. D. Snake bites. **Rev. Assoc. Med. Bras.**, v. 47, n. 1, p. 24-296, 2001.

PINHO, F. M. O.; OLIVEIRA, E. S.; FALEIROS, F. Acidente ofídico no estado de Goiás. **Rev. Assoc. Med. Bras.**, v. 50, n. 1, p. 93-6, 2004.

PINHO, F. M. O.; VIDAL, E. C.; BURDMANN, E. A. Atualização em Insuficiência renal aguda após acidente crotálico. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, v. 22, n. 162-168, 2000.

PRADO-FRANCESCHI, J.; BRAZIL, O. V. Convulxin, a new toxin from the venom of the South American rattlesnake *Crotalus durissus terrificus*. **Toxicon**, v. 19, p. 875-887, 1981.

PUORTO, G. Serpentes brasileiras de importância médica. In: SCHVARTSMAN, S. **Plantas venenosas e animais peçonhentos**. São Paulo: Sarvier, 1992. p. 143-149.

ROODT, A. R; DOLAB, J. A; SEGRE, L. Fisiopatologia y diagnóstico Del ataque por serpientes venenosas: una breve actualización. **Rev. Med. Vet.**, v. 77, p. 64-71, 1996.

SAKATE, M. Terapêutica das intoxicações. In: ANDRADE, S. F. **Manual de terapêutica veterinária**. São Paulo: Roca, 2002.

SANCHEZ-LOZADA, L.G. et al. Role of oxidative stress in the renal abnormalities induced by experimental hyperuricemia. **Am. J. Physiol. Renal Physiol.**, v. 295, p. 1134-1141, 2008.

SCHMIDT, M .E.; ABDELBAKI, Y. Z.; TU, A. T. Nephrotoxic action of rattlesnake and sea snake venoms: an electron-microscopic study. **J. Pathol.**, v. 118, n. 2, p. 75-81, 1976.

SILVA, J. G. **Estudo dos efeitos do veneno da *Crotalus durissus terrificus* sobre o metabolismo e estresse oxidativo em fígado de ratos**. 2009. Dissertação (Mestrado em Farmacologia). Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

SLOTTA, K. H.; FRAENKEL-CONRAT, H. Estudos químicos sobre os venenos ofídicos. 4. Purificação e cristalização do veneno da cobra cascavel. **Mem. Inst. Butantan**, v. 12, p. 505, 1938.

SOERENSEN, B. **Animais peçonhentos**. São Paulo: Atheneu, 1990.



THOMAZINI, I. A., BARRAVIEIRA, B. Alterações hematológicas nos acidentes por animais peçonhentos. In: BARRAVIEIRA, B. (Coord). **Venenos animais: uma visão integrada**. Rio de Janeiro: Publicações Científicas, 1994. p.81-96.

TOKARNIA, C. H.; PEIXOTO, P. V. A importância dos acidentes ofídicos como causa de mortes em bovinos no Brasil. **Pesq. Vet. Bras.**, v. 26, n. 2, p. 55-68, 2006.

YAMASAKI, S. C. et al. *Crotalus durissus terrificus* venom and simvastatin affect oxidative stress and plasma, urine and renal aminopeptidases in mice. **Toxicol**, v. 52, p. 445-454, 2008.

**Lesões renais em ratos Wistar intoxicados experimentalmente com veneno da *Caudisona durissa terrifica* em diferentes doses**  
**Renal lesions of Wistar rats intoxicated experimentally with venom *Caudisona durissa terrifica* at different doses**

CAMARGO, A.M.S<sup>1</sup>; \*NOGUEIRA, R.M.B<sup>2</sup>; LAPOSY, C.B<sup>2</sup>; BATISTA, F<sup>3</sup>;  
GARCIA, A.C.B<sup>3</sup>; SANCHES, A.C.A<sup>3</sup>; SILVA, M.C<sup>4</sup>; SILVA, D.A<sup>4</sup>; NAI, G.A<sup>2</sup>.

## Resumo

Acidentes ofídicos com a *Caudisona durissa terrifica* são de grande importância pelo alto índice de mortalidade em humanos e animais. Neurotoxicidade, miotoxicidade, alteração de coagulação, hepato e nefrotoxicidade são os sinais clínicos mais comumente observados. O presente estudo teve como objetivo avaliar por meio de exame histopatológico o rim de ratos Wistar experimentalmente intoxicados com veneno crotálico em diferentes doses. Noventa ratos foram distribuídos em três grupos sendo: Grupo controle (GC): receberam solução de cloreto de sódio 0,9% intramuscular (IM); Grupo 4 (G4) - receberam 4mg/Kg do veneno crotálico IM; Grupo 8 (G8)-receberam 8mg/Kg de veneno crotálico IM. A histopatologia do rim foi realizada nos momentos 6 horas (M6) e 24 horas (M24) após a inoculação do veneno (AV). Foi observada congestão renal moderada nos dois grupos, degeneração hidrópica e pouca necrose tubular aguda para o G4 no M6 e alta incidência de necrose tubular aguda no M24, no entanto, a necrose tubular aguda foi predominante no G8 nos dois momentos. Conclui-se que em ratos wistar utilizando-se as doses de 4 e 8mg/Kg em 24 horas após intoxicação, o veneno crotálico provoca alterações histológicas em rim caracterizadas por congestão, degeneração hidrópica e necrose tubular aguda, sendo a intensidade dos sinais dose dependente. Novos estudos são necessários para avaliação das causas que levam a instalação das alterações histológicas renais nesta espécie animal.

**Palavras chave:** *Caudissona durissa terrifica*; nefrotoxicidade; histopatologia; rato

## Abstract

Snakebites with *Caudisona durissa terrifica* are of great importance for the high mortality rate in humans and animals. Neurotoxicity, myotoxicity, abnormal coagulation, hepato and nephrotoxicity are the most commonly observed clinical signs. The present study aimed to evaluate by histopathology the kidney of Wistar rats experimentally intoxicated crotalic venom at different doses. Ninety rats were divided into three groups as follows: control group (CG) - received solution of sodium chloride 0.9% intramuscular (IM); Group 4 (G4) - received 4mg/kg of crotalic venom IM; Group 8 (G8) -received 8mg/kg of crotalic venom IM. Histopathological examination of the kidney was performed in 6 hours time (M6) and 24 hours (M24) after the inoculation of the venom (AV). Moderate renal congestion was observed in both groups, hydropic degeneration and acute tubular necrosis little to G4 in M6 and high incidence of acute tubular necrosis in M24, however, acute tubular necrosis was predominant in the G8 at both times. It is concluded that in Wistar rats using doses of 4 and 8mg/Kg after 24 hours intoxication, crotalic venom causes histological changes in the kidney characterized by congestion, hydropic

degeneration and acute tubular necrosis, and the signal strength dose dependent. Further studies are needed to evaluate the causes that lead to the installation of histological renal changes in this species.

**Keywords:** *Caudissona durissa terrifica*; nephrotoxicity; histopathology; rat

---

1-Discente do Programa de Mestrado em Ciência Animal-Unoeste-Presidente Prudente-SP.

2-Docente do Programa de Mestrado em Ciência Animal-Unoeste-Presidente Prudente-SP.

3-Discentes de Graduação em Enfermagem-Unoeste-Presidente Prudente-SP.

4-Discentes de Graduação em Medicina Veterinária-Unoeste-Presidente Prudente-SP.

\*-Endereço para correspondência:rosa@unoeste.br

## Introdução

No mundo existem aproximadamente três mil espécies de serpentes das quais 10 a 20% são consideradas peçonhentas (PINHO; VIDAL; BURDMANN, 2000; UETZ, 2012). As espécies do gênero *Caudisona durissa*, conhecidas popularmente por cascavel, são responsáveis por aproximadamente 8% do total de acidentes envolvendo seres humanos e animais e destes 72%, evoluem para óbito (BRASIL, 1998; OLIVEIRA, 2010).

No Brasil, de janeiro de 2005 a dezembro de 2009, foram registrados 141.882 acidentes ofídicos, o que representa uma média de 28.576 casos por ano, sendo o índice de letalidade de 0,39% (BRASIL, 2011).

Na região de Presidente Prudente, de 2008 a 2012 foram notificados 216 acidentes por animais peçonhentos em seres humanos, sendo 40 pela *Caudisona durissa terrifica* (Cdt). Deste último, a maioria dos pacientes era do sexo masculino, sendo 2010, o ano de maior número de notificações. Em relação ao local da picada, as pernas foram os membros mais atingidos, sendo que 30 pacientes apresentaram manifestações sistêmicas, o que corresponde à 75% dos casos, porém nenhum apresentou complicações locais ou evoluiu para óbito (BRASIL, 2013).

A *Caudisona durissa terrifica* é encontrada em campos abertos, áreas secas, arenosas e pedregosas sendo de distribuição por todo território nacional (FONTEQUE et al., 2009). Seu veneno altamente tóxico é constituído bioquimicamente por uma composição diversificada e complexa, formada por compostos inorgânicos, compostos orgânicos como enzimas hidrolíticas e não hidrolíticas, proteolíticas, além de toxinas como a crotoxina, crotamina, crotapotina, convulxina, giroxina e crotalfina (ROODT; DOLAB; SEGRE, 1996; SILVA, 2009; OLIVEIRA, 2010).

Os sinais clínicos, geralmente graves, são discretos localmente, mas intenso sistemicamente com predominante ação neurotóxica, miotóxica e coagulante, podendo levar o paciente a óbito por complicações secundárias como, a insuficiência renal aguda (IRA) ou insuficiência respiratória (VIDAL et al., 1997; CAMILLO, 1998; PINHO; PEREIRA, 2001).

Das complicações, a mais grave e comum neste acidente é o desenvolvimento de insuficiência renal aguda (SCHMIDT; ABDELBAKI; TU, 1976; CUPO; AZEVEDO-MARQUES; HERING, 1990; PINHO; OLIVEIRA;

FALEIROS, 2004) e a crotoxina é a principal responsável por este efeito nefrotóxico (MARTINS et al., 2002).

Burdmann, Júnior e Vidal (2008) enfatizaram que no monitoramento da função renal, a dosagem de creatinina sérica, é um marcador pouco sensível, pois se eleva significativamente apenas quando a filtração glomerular cai para 30 a 50%.

Alguns autores relatam que na intoxicação crotálica, a IRA decorre tanto de efeitos nefrotóxicos indiretos como diretos. A nefrotoxicidade indireta está relacionada à miotoxicidade secundária à rabdomiólise e mioglobinúria (MAGALHÃES et al., 1986; ALEGRE et al., 2010). Os efeitos diretos podem estar relacionados, às alterações de enzimas da classe das aminopeptidases, ao estresse oxidativo no tecido renal e à incidência de hiperuricemia e hipercreatinemia (AMORA et al., 2006; YAMASAKI et al., 2008; ALEGRE et al., 2010).

O efeito renal também está relacionado à ação da fosfolipase A2 (PLA2) presente no veneno, que leva a formação de prostaglandinas e leucotrienos, causando um aumento na permeabilidade celular, edema e queda na pressão sangüínea, por ação direta nos túbulos e glomérulos. A liberação de outros mediadores provenientes de macrófagos ativados pelo veneno crotálico também contribui para esse efeito (MARTINS et al., 1998; MONTEIRO et al., 2001; MARTINS et al., 2003; AMORA, 2008; SILVA, 2009).

Existem outros fatores que devem ser levados em consideração e podem ser considerados preditivos de lesão renal como, idade do paciente, intervalo do acidente e atendimento médico, nível de hidratação do paciente, uso concomitante de drogas nefrotóxicas, grau de elevação dos níveis séricos de creatinoquinase (CK), potássio, fósforo e diminuição da albumina, tamanho da serpente, época do ano e local do acidente além da quantidade de veneno injetada (VIDAL et al., 1997; PINHO; VIDAL; BURDMANN, 2000).

Araújo e Belluomini (1960-62) relataram que a dose de 1mg/kg de peso vivo do veneno crotálico, em animais domésticos e de laboratório, pode ser fatal, sendo os eqüinos, ovinos e bovinos os mais sensíveis, seguidos de forma decrescente pelos caprinos, caninos, coelhos, suínos, cobaios, camundongos, felinos e hamsters, além do rato que sobreviveu a dose utilizada.

Na busca por maiores esclarecimentos sobre os efeitos do veneno e seu efeito nefrotóxico, pela escassez de estudos experimentais encontrados na literatura, sobre alterações histológicas renais em roedores, o presente estudo teve como objetivo, avaliar lesões renais por meio da histopatologia em ratos Wistar experimentalmente intoxicados com veneno da *Caudisona durissa terrifica* em diferentes doses.

### **Material e Métodos**

O veneno da *Caudisona durissa terrifica* foi fornecido pelo Centro de Estudos de Veneno e Animais Peçonhentos (CEVAP) da Universidade Estadual Paulista – UNESP, Campus de Botucatu.

Noventa ratos Wistar, machos, com peso médio de 200g, e 60 dias de idade permaneceram alojados em ambiente controlado, temperatura de 22°C ± 2, fotoperíodo de 12h (horas) claro e 12h escuro e receberam ração e água *ad libitum*. Os animais foram distribuídos em três grupos (n=30 em cada grupo), sendo:

- Grupo controle (GC)-receberam solução de cloreto de sódio 0,9% via intramuscular (IM) no membro posterior direito;
- Grupo 4 (G4)-receberam a dose de 4mg/Kg do veneno crotálico por via IM no membro posterior direito;
- Grupo 8 (G8)-receberam a dose de 8mg/Kg do veneno crotálico por via IM no membro posterior direito;

De cada grupo, quinze animais foram avaliados com 6 horas (M6) e outros quinze com 24 horas (M24) após inoculação do veneno. As doses de veneno foram determinadas através de experimento piloto.

Os animais foram anestesiados com éter (FRANÇA et al., 2009) para a abertura da cavidade abdominal, retirada dos rins, colheita de um fragmento e em seguida foram sacrificados, por exsanguinação. As amostras foram processadas para inclusão em parafina e os cortes corados pela hematoxilina – eosina (HE) e pelo ácido periódico de Shiff (PAS) com diástase. Para avaliação histopatológica, foram observados os seguintes itens: congestão, infiltrado inflamatório, túbulo renal, glomérulo, vasos e cilindros.

O pressuposto da normalidade dos dados e homogeneidade foi validado respectivamente pelo teste de Shapirowilk e Levene. As variáveis não

paramétricas foram avaliadas pelo teste de Kruskal-Wallis e a comparação das variáveis entre os diferentes momentos foi realizada pelo teste de Mann-Whitney. O nível de significância adotado foi de 5% (MAROCO, 2007).

## Resultados

Houve presença de congestão renal de grau leve em quatro animais (13,3%) do GC, no momento 24h. Nos outros dois grupos (G4 e G8) 100% dos animais apresentou congestão renal de grau moderado diferindo de forma significativa ( $p < 0,05$ ) do GC no M6 e M24. Na comparação entre momentos dentro do mesmo grupo não houve diferença (Tabela 1).

Tabela 1 – Percentual (%) de animais com congestão renal na análise histopatológica nos diferentes grupos e momentos de avaliação.

Grupos	Momentos	
	M6	M24
GC	13,3% Aa (n=4)	0% Ba (n=0)
G4	100% Ab (n=15)	100% Ab (n=15)
G8	100% Ab (n=15)	100% Ab (n=15)

Letras maiúsculas comparam momentos dentro do mesmo grupo.  
Letras minúsculas comparam grupos dentro do mesmo momento

A tabela 2 mostra os resultados, da variável degeneração hidrópica (Figura 1) presente no G4 em 80% dos animais no M6, e em 100% deles no M24. Para o G8, nos dois momentos de avaliação, degeneração hidrópica foi presente em 100% dos animais. O G4 e G8 não diferiram entre si, mas diferiram ( $p < 0,05$ ) quando comparado ao GC.

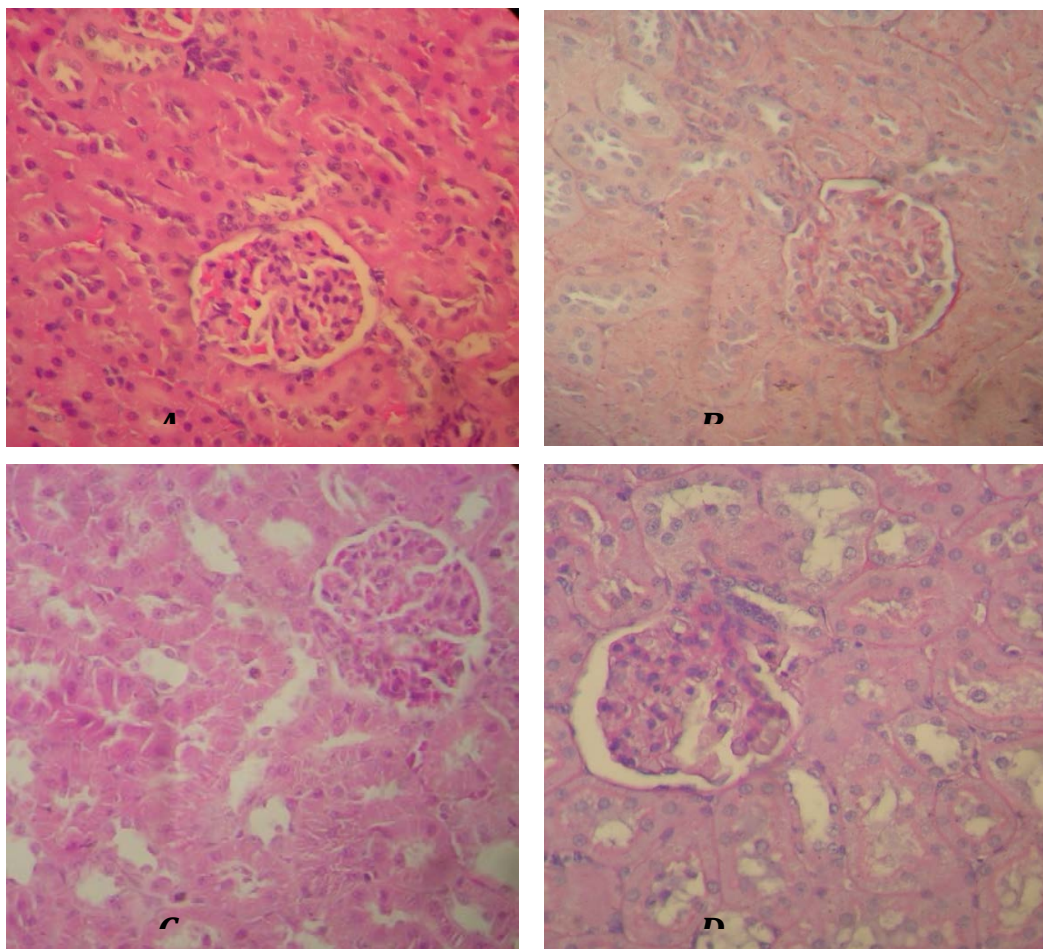
Tabela 2 – Percentual (%) de animais com degeneração hidrópica na análise histopatológica nos diferentes grupos e momentos de avaliação.

Grupos	Momentos	
	M6	M24
GC	0% Aa (n=0)	0% Aa (n=0)
G4	80% Ab (n=12)	100% Bb (n=15)
G8	100% Ab (n=15)	100% Ab (n=15)

Letras maiúsculas comparam momentos dentro do mesmo grupo.

Letras minúsculas comparam grupos dentro do mesmo momento

**Figura 1.** Corte histológico mostrando rim normal (A – Hematoxilina-eosina, aumento de 400x; B – PAS, aumento de 400x). Corte histológico mostrando rim com degeneração hidrópica tubular (C – Hematoxilina-eosina, aumento de 400x; D – PAS, aumento de 400x).



Necrose tubular aguda (NTA) (Figura 2), conforme tabela 3, foi positiva para o G4 somente no M24 em 13,3% dos animais, enquanto no G8 93,3% dos animais foram positivos no M6, e 100% deles positivos no M24. Na comparação entre grupos houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) do G4 e G8 nos dois momentos em relação ao GC. Na comparação entre G4 e G8, tanto no M6 como no M24 houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ). Na comparação entre momentos dentro do mesmo grupo foi observado diferença ( $p < 0,05$ ) somente no G4 com presença de necrose tubular no M24 comparado ao M6 onde houve ausência deste sinal.



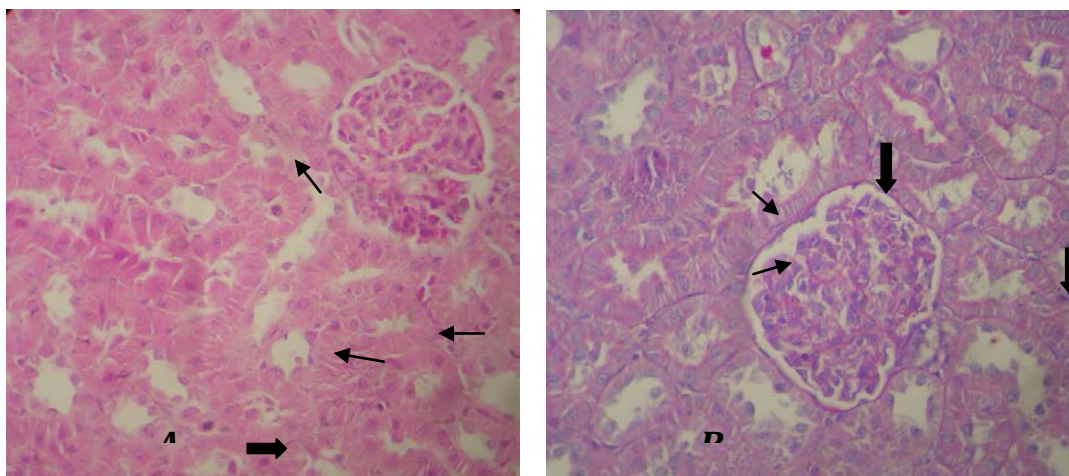
Tabela 3 – Percentual (%) de animais com necrose tubular aguda na análise histopatológica nos diferentes grupos e momentos de avaliação.

Grupos	Momentos	
	M6	M24
GC	0% Aa (n=0)	0% Aa (n=2)
G4	0% Ab (n=0)	13,3% Bb (n=3)
G8	93,3% Abc (n=14)	100% Abc (n=15)

Letras maiúsculas comparam momentos dentro do mesmo grupo.  
Letras minúsculas comparam grupos dentro do mesmo momento

Alterações glomerulares, neovascularizações, cilindros e infiltrado inflamatório foram ausentes em todos os grupos e momentos de avaliação.

**Figura 2.** Corte histológico mostrando rim com degeneração hidrópica tubular (seta fina) e necrose tubular aguda (seta grossa). (A – Hematoxilina-eosina, aumento de 400x; B – PAS, aumento de 400x).



## Discussão

Na análise histológica, a congestão e degeneração hidrópica observadas, são as primeiras manifestações de quase todas as formas de lesão às células. A congestão é resultante da redução do fluxo sanguíneo em um tecido podendo ser sistêmica ou local. Já a degeneração, se caracteriza pelo acúmulo de água no meio intracelular, consequência de desequilíbrios no controle do gradiente osmótico em nível de membrana citoplasmática e nos mecanismos de absorção, eliminação de água e eletrólitos intracelulares que levam ao

surgimento de pequenos vacúolos claros dentro do citoplasma, que representam segmentos distendidos ou seqüestrados do retículo endoplasmático (MIRANDA; SANTOS, 2008).

Monteiro et al. (2001), em estudo experimental com ratos, utilizando o veneno total ou sua fração crotoxina, relataram edema celular pelo aumento da permeabilidade do capilar e diminuição da pressão arterial. Tal fato foi associado ao efeito da fosfolipase A2, que está relacionada com a formação de prostaglandina e leucotrienos além da presença de grande quantidade de proteína nos glomérulos.

A instalação de insuficiência renal aguda geralmente é de rápida evolução e aparece em dias ou semanas. O diagnóstico geralmente é laboratorial, pela detecção da elevação da uréia e creatinina plasmáticas, na ausência de sintomas clínicos. Contudo, quando a disfunção é grave, os sinais e sintomas da síndrome urêmica já podem aparecer (AMARAL et al., 1986). Outros fatores que podem contribuir para a lesão renal são a instalação de desidratação, hipotensão arterial, acidose metabólica e choque (SOERENSEN, 1990).

Mesmo relatado na literatura, que a miotoxicidade sistêmica tem ação nefrotóxica indireta, alguns autores relataram sua ação direta sobre os túbulos renais em virtude da não elevação dos níveis de creatinoquinase (CK) no plasma em diferentes doses e vias de administração (MARTINS et al., 1998; AMORA et al., 2006; ALEGRE et al., 2010).

A CK é uma enzima específica do tecido muscular esquelético, e seus valores séricos tendem a aumentar na presença de miopatia e rabdomiólise, comum no acidente crotálico e uma das causas do aparecimento da necrose tubular aguda (LAGO et al, 2000; BUCARETCHI; HERRERA; HYSLOP, 2002; FLORIANO et al., 2009), presente neste estudo em grande parte dos animais que receberam a dose de 8mg/Kg do veneno crotálico.

A fisiopatologia da rabdomiólise, elevação da mioglobina e da mioglobinúria e acidose metabólica, que surge em consequência da liberação de ácidos orgânicos das células necrosadas e de ácido láctico, durante a hipóxia celular, vão determinar a precipitação dos cristais de ácido úrico e de mioglobina nos túbulos renais (MAGALHÃES et al., 1986).

Recentemente Yamasaki et al. (2008) e Alegre et al. (2010) relataram hiperuricemia em camundongos e ratos intoxicados experimentalmente com

veneno crotálico, o que pode ocorrer, tanto pelo o aumento na geração, como na diminuição da excreção (EJAZ et al., 2007), além de indução de estresse oxidativo no rim (SÁNCHEZ-LOZADA et al., 2008), no endotélio (YU et al., 2010) e em células musculares lisas vasculares (CORRY et al., 2008).

Embora 100% de hiperuricemia tenha sido relatada, contra 60% de hipercreatinemia em humanos picados pela Cdt (YAMASAKI et al., 2008; ALEGRE et al., 2010) e outras espécies de serpentes (KANJANABUCH; SITPRIJA, 2008), este parâmetro não tem recebido a devida atenção, como um fator relevante na etiologia da IRA, portanto, deve ser alvo de atenção e estudos futuros.

Em 2003, Morais et al. relataram em estudo com veneno crotálico em ratos Wistar utilizando a dose de 0,75mg (dose total) ausência de lesão tubular após 4 horas, e na dose de 1,5mg, 24 horas após o veneno, 10% de lesão tubular discreta, 50% de lesão moderada e 40% de lesão acentuada, caracterizando que quanto maior a dose do veneno, maior são as alterações histológicas. No estudo atual, as alterações também foram dose dependentes e com 24 horas utilizando uma dose duas vezes e meia superior, observou-se 100% de degeneração hidrópica, 13,3% de necrose tubular e com cinco vezes a dose, 100% de degeneração hidrópica associada à necrose tubular.

O atual estudo corrobora com Frezatti e Silveira (2011) que relataram em camundongos, utilizando a dose de 1mg/20g de peso vivo, a presença de edema e necrose tubular 24 horas após aplicação do veneno crotálico.

Outros estudos, em outras espécies animais como caninos e bovinos, também relataram alterações histológicas como congestão, degeneração tubular, necrose tubular aguda e glomerulonefrite focal, no entanto, o tempo de aparecimento dos sinais e intensidade são diferentes aos observados neste estudo com roedores, provavelmente devido às diferentes doses, vias de administração do veneno e da diferença de sensibilidade das espécies ao veneno (BELLUOMINI et al., 1982; BIRGEL; BELLUOMINI; LEINZ, 1983; SALIBA; BELLUOMINI; LEINZ, 1983; LAGO et al., 2000; NOGUEIRA et al., 2007; SANGIORGIO et al., 2008).

## Conclusões

Conclui-se que em ratos Wistar utilizando-se as doses de 4 e 8mg/Kg e avaliando-se até 24 horas após intoxicação, o veneno crotálico provoca alterações histológicas em rim caracterizadas por congestão, degeneração hidrópica e necrose tubular renal, sendo a intensidade dos sinais dose dependente. Novos estudos são necessários para avaliação das causas que levam a instalação das alterações histológicas renais nesta espécie animal.

## Comitê de ética

Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), sob o protocolo nº 991/12, realizado no Biotério Central da Universidade de origem e foi de acordo com as normas técnicas de biossegurança e ética.

## Referências

- ALEGRE, V. S.; BARONE, J. M.; YAMASAKI, S. C.; ZAMBOTTI-VILLELA, L.; SILVEIRA, P. F. Lipoic acid effects on renal function, aminopeptidase activities and oxidative stress in *Crotalus durissus terrificus* envenomation in mice. *Toxicon*, v.56, p.402-410, 2010.
- AMARAL, C. F.; REZENDE, N. A.; SILVA, A. O.; RIBEIRO, M. M.; MAGALHÃES, R. A.; DOS-REIS, R. J.; CARNEIRO, J. G.; CASTRO, J. R. S. Insuficiência renal aguda secundária a acidentes ofídicos botrópicos e crotálico. Análise de 63 casos. *Revista do Instituto de Medicina Tropical*, v. 28, p. 281-316, 1986.
- AMORA, D. N.; SOUZA, T. M.; MARTINS, A. M.; BARBOSA, P. S.; MAGALHÃES, M. R.; TOYAMA, M. H.; FONTELES, M. C.; DE MENEZES, D. B.; MONTEIRO, H. S. Effects of *Crotalus durissus collilineatus* venom in the isolated rat kidney. *Toxicon*, v.47, n.3, p.260-264, 2006.
- AMORA, D. N. Estudo da Toxicidade Induzida por Fosfolipase A2 Isolada do Veneno de *Crotalus Durissus Terrificus* em Rim Isolado de Rato e em Túbulos Proximais Isolados de Coelho. 2008. Tese (Área de fisiologia e farmacologia) Universidade Federal do Ceará. Fortaleza - CE.
- ARAÚJO, P.; BELLUOMINI, H.E. Toxicidade de venenos ofídicos. I. Sensibilidade específica de animais domésticos e de laboratório. *Memória Instituto Butantan*, v.30, p.143-156, 1960-62.
- BELLUOMINI, H. E.; ARAÚJO, P.; ROSENFELD, G.; LEINZ, F. F.; BIRGEL, E. H. Symptomatologie der experimentellen Crolustoxin-Vergiftung bei Rindern,

die einer spezifischen Serumtherapie unterworfen wurden. *Dtsch Tierarztl Wochenschr*, v.89, n.11, p.444-448, 1982.

BIRGEL, E. H.; BELLUOMINI, H. E.; LEINZ, F. F. Auswertung der Urinbefunde bei Rindern MIT experimenteller Crotalus-Vergiftung. *Zentralblat. Veterinamed.*, v.30, p.283-289,1983.

BRASIL. Ministério da Saúde. *Manual de diagnóstico e tratamento de acidentes ofídicos*. Brasília, 1998.

BRASIL. Portal da Saúde SUS, 2011. Sistema de Informação de Agravos de Notificação. *Situação Epidemiológica. Serie histórica da casos de acidentes de animais peçonhentos 1999-2010*. Fonte SINAN/SVS/MS, atualizada em 02/02/2011. Disponível <http://portal.saude.gov.br/portal/> Acesso em: 21/06/2012.

BRASIL. Portal da Saúde SUS, 2013. Sistema de Notificação de Informação de Agravos de Notificação. *Acidentes por animais peçonhentos. Notificações da região de Pres. Prudente 2008-2012*. Fonte SINAN. Disponível em: <http://portal.saude.gov/portal>. Acesso em: 15/04/2013.

BUCARETCHI, F.; HERRERA, S. R. F.; HYSLOP, S. Snakebites by *Crotalus durissus ssp* in Campinas. *Revista Instituto de Medicina Tropical*, v.44, p.133-138, 2002.

BURDMANN, E. A.; JÚNIOR, J. M. V.; VIDAL, E. C. Nefropatia tóxica e Tubulointerstitial. In RIELLA, M.C. *Princípios de Nefrologia e Distúrbios hidroeletrolíticos*, 2008. 4 ed. Editora: Guanabara Koogan, p. 450-489.

CAMILLO, M. A. P. *Contribuição ao estudo das Giroxinas (enzimas semelhantes á Trombina) dos venenos das serpentes brasileiras Lachesis Muta e Crotalus Durissus Terrificus*. 1998 - Tese (Doutorado em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear). Universidade de São Paulo-SP.

CORRY, D. B.; ESLAMI, P.; YAMAMOTO, K.; NYBY, M. D.; MAKINO, H.; TUCK, M. L. Uric acid stimulates vascular smooth muscle cell proliferation and oxidative stress via the vascular renin-angiotensin system. *Journal of Hypertension*, v.26, p.269-275, 2008.

CUPO, P.; AZEVEDO-MARQUES, M. M.; HERING, S. E. Acute myocardial infarction-like enzymes profile in human victims of *Crotalus durissus terrificus* envenoming. *Transactions of the Royal of Tropical Medicine and Hygiene*, v.84, p.447-455, 1990.

EJAZ, A. A.; UM, W.; KANG, D. H.; RONCAL, C.; SAUTIN, Y. Y.; HENDERSON, G.; TABAH-FISCH, I.; KELLER, B.; BEAVER, T. M.; NAKAGAWA, T.; JOHNSON, R. J. Could uric acid have a role in acute renal failure? *Clinical. Journal of the American Society Nephrology*, v.2, p.16-21, 2007.

FLORIANO, R. S.; NOGUEIRA, R. M. B.; SAKATE, M.; LAPOSY, C. B.; MOTTA, Y. P.; SANGIORGIO, F.; DAVID, H. C.; NABAS, J. M. Effect of *Mikania glomerata* (Asteraceae) leaf extract combined with anti-venom serum on experimental *Crotalus durissus Squamata:(Viperidae)* envenomation in rats. *Revista Biologia Tropical*, v.57, n.4, 2009.

FONTEQUE, J. H.; KOHAYAGAWA, A.; TAKAHIRA, R. K.; BIANCHI, E. H.; CHERUBINI, A. R.; PICCIN, A.; BRUDER, E. M.; RAMOS, P. R. R. Perfil eletroforético das proteínas séricas de serpentes *Crotalus durissus terrificus* (cascavel) criadas em cativeiro. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.29, n.6, p.457-460, 2009.

FRANÇA, R. F.; VIEIRA, R. P.; FERRARI, E. F.; SOUZA R. A.; OSÓRIO, R. A. L.; PRIANTI JÚNIOR, A. C. G.; HYSLOP, S.; ZAMUNER, S. R.; COGO, J. C.; RIBEIRO, W. Acute Hepatotoxicity of *Crotalus durissus terrificus* (South American Rattlesnake) venom in rats. *Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases (Online)*, v.5, p.61-78, 2009.

FREZZATTI, R.; SILVEIRA, P. F. Allopurinol Reduces the Lethality Associated with Acute Renal Failure Induced by *Crotalus durissus terrificus* Snake Venom: Comparison with Probenecid. *Plos Neglected Tropical Diseases*, v.5, n.9, p.1312, 2011.

KANJANABUCH, T.; SITPRIJA, V. Snakebite nephrotoxicity in Asia. *Seminars in Nephrology*, v.28, p.363-372, 2008.

LAGO, L. A.; FERREIRA, P. M.; FACURY FILHO, E. J.; MELO, M. M.; ALZAMORA FILHO, F. Quadro clínico do envenenamento crotálico experimental em bovinos (*Crotalus durissus terrificus*-crotamina positivo). *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v.37, n.4, p.312-315, 2000.

MAGALHÃES, R. A.; RIBEIRO, M. M. F.; REZENDE, N. A.; AMARAL, C. F. S. Rbdomiólise secundária a acidente crotálico (*Crotalus durissus terrificus*). *Revista Instituto de Medicina Tropical*, São Paulo, v.28, p.228-233, 1986.

MAROCO, J. *Análise Estatística - com utilização do SPSS*. 3. ed. Símbolo: Lisboa, 2007. 87p.

MARTINS, A. M.; MONTEIRO, H. S.; JÚNIOR, E. O.; MENEZES, D. B.; FONTELES, M. C. Effects of *Crotalus durissus cascavella* venom in the isolated rat kidney. *Toxicon*, v.36, n.10, p.1441-1450, 1998.

MARTINS, A. M.; TOYAMA, M. H.; HAVT, A.; NOVELLO, J. C.; MARANGONI, S.; FONTELES, M. C.; MONTEIRO, H. S. Determination of *Crotalus durissus cascavella* venom components that induced renal toxicity in isolated rat Kidneys. *Toxicon*, v.40, n.8, p.1165-1171, 2002.

- MARTINS, A. M.; LIMA, A. A.; TOYAMA, M. H.; MARANGONI, S.; FONTELES, M. C.; MONTEIRO, H. S. Renal effects of supernatant from macrophages activated by *Crotalus durissus cascavella* venom: the role of phospholipase A2 and cyclooxygenase. *Pharmacology & Toxicology*, v.92, n.1, p.14-20, 2003.
- MIRANDA, P. C.; SANTOS, P. C. G. Degeneração hidrópica. *Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária*, n.10, p.1-4, 2008.
- MONTEIRO, H. S. A.; SILVA, I. M. S. C.; MARTINS, A. M. C.; FONTELES, M. C. Ações de *Crotalus durissus terrificus* veneno e crotoxina sobre o rim isolado de rato. *Revista Brasileira de Pesquisa Médica e Biológica*, v.34, n.10, 2001.
- MORAIS, L. A.; COSTA, R. C.; GOMES, U. A.; ANDRADE, C. H. V.; PAIVA, S. P. Alterações renais no envenenamento crotálico experimental(*Crotalus durissus terrificus*):estudo funcional e anatomopatológico. *Revista Brasileira de Medicina*, v.60, p.18-22, 2003.
- NOGUEIRA, R. M. B.; SAKATE, M.; SANGIORGIO, F.; LAPOSY, C. B.; TOSTES, R. A. Experimental Evenomation with *Croctalus durissus terrificus* venom in dogs treated with antiophidic serum-PartII: laboratory aspects, electrocardiogram and histopathology. *Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases*, v.13, n.4, p.811-820, 2007.
- OLIVEIRA, K. C. *Aspectos estruturais de proteínas do veneno crotálico modificadas por radiação ionizantes* – Mestre (Ciências na área de tecnologia nuclear) Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.
- PINHO, F. O.; VIDAL, E. C.; BURDMANN, E. A. Atualização em Insuficiência Renal Aguda: Insuficiência Renal Aguda após acidente crotálico. *Jornal Brasileiro de Nefrologia.*, v.22, n.3, p.162-168, 2000.
- PINHO, I. D.; PEREIRA, F. M. O. Ofidismo. *Revista da Associação Médica Brasileira*, v.47, n.1, p.24-29, 2001.
- PINHO, F. M. O.; OLIVEIRA, E. S.; FALEIROS, F. Acidente ofídico no estado de Goiás. *Revista da Associação Médica Brasileira*, v.50, n.1, p. 93-96, 2004.
- ROODT, A. R.; DOLAB, J. A.; SEGRE, L. Fisiopatologia y diagnóstico del ataque por serpientes venenosas. Una breve actualización. *Revista de Medicina Veterinária*, v.77, p.64-71, 1996.
- SALIBA, A. M.; BELLUOMINI, H. E.; LEINZ, F. F. Pathology of experimental poisoning of cattle with *Crotalus* snake venom. *Faculdade Medicina Veterinária Universidade São Paulo*, v.3, p. 513-517, 1983.
- SANGIORGIO, F.; SAKATE, M.; NOGUEIRA, R. M. B.; TOSTES, R. A. Histopathological evaluation in experimental envenomation of dogs with *Crotalus durissus terrificus* venom. *Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases*, v.14, n.1, p.82-99, 2008.

SÁNCHEZ-LOZADA, L.; SOTO, V.; TAPIA, E.; AVILA-CASADO, C.; SAUTIN, Y. Y.; NAKAGAWA, T.; FRANCO, M.; RODRÍGUEZ-ITURBE, B.; JOHNSON, R. T. Role of Oxidative stress in the renal abnormalities induced by experimental hyperuricemia, *American Journal Physiology. Renal Physiology*, v.4, n.295, p.1134-1141, 2008.

SILVA, J. G. *Estudos dos Efeitos do Veneno Crotalus Durissus Terrificus Sobre o Metabolismo e Estresse Oxidativo em Fígado de Ratos*. 2009. Tese (Área Ciências Biológicas) Universidade Federal do Paraná. Curitiba – PR.

SCHMIDT, M. E.; ABDELBAKI, Y. Z.; TU, A.T. Nephrotoxic action of rattlesnake and sea snake venoms: an electron-microscopic study. *Journal Pathology*, v.118, n.2, p.75-81, 1976.

SOERENSEN, B. *Animais peçonhentos*. São Paulo: Atheneu, 1990, 138p.

UETZ, T. The EMBL reptile database (2012). Disponível em: <http://www.reptile-database.org/>. Acesso em: 10 fev. 2012.

VIDAL, E. C.; YU, L.; CASTRO, I.; ORI, M.; MALHEIROS, D. M.; BURDMANN, E. A. Snake venom induced nephrotoxicity – *in vivo* and *in vitro* studies. *Journal of the American Society Nephrology*, v.8, n.443, p.312, 1997.

YAMASAKI, S. C.; VILLARROEL; J. S.; BARONE; J. M.; ALEGRE, V. S.; ZAMBOTTI-VILLELA, L.; SILVEIRA, P. F. *Crotalus durissus terrificus* venom and simvastatin affect oxidative stress and plasma, urine and renal aminopeptidases in mice. *Toxicon*, v.52, p.445-454, 2008.

YU, M. A.; SANCHES-LOZADA, L.; JOHNSON, R. J.; KANG, D. H. Oxidative stress with an activation of the rennin-angiotensin system in human vascular endothelial cells as a novel mechanism of uric acid-induced endothelial dysfunction. *Journal of Hypertension*, v.28, p.1234-124