

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO – CENTRO
MULTIDISCIPLINAR UFRJ - MACAÉ**

HELEN MARA CAETANO PINTO

**AVALIAÇÃO DO TRATAMENTO COM WEDELOLACTONA EM MODELO DE
LESÃO RENAL AGUDA POR INTOXICAÇÃO EXPERIMENTAL COM
VENENO DE *Bothrops jararacussu*.**

**MACAÉ
2022**

HELEN MARA CAETANO PINTO

AVALIAÇÃO DO TRATAMENTO COM WEDELOLACTONA EM MODELO DE
LESÃO RENAL AGUDA POR INTOXICAÇÃO EXPERIMENTAL COM
VENENO DE *Bothrops jararacussu*.

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC)
apresentado ao curso de Graduação em
Farmácia da Universidade Federal do Rio
de Janeiro - Campus Macaé, como parte
dos requisitos necessários à obtenção do
título de Farmacêutica.

Orientadora: Sabrina Ribeiro Gonzalez

Coorientadora: Mayara Amorim
Romanelli Ferreira dos Santos

MACAÉ
2022

CIP - Catalogação na Publicação

P659

Pinto, Helen Mara Caetano

Avaliação do tratamento com Wedelolactona (WED) em modelo de Lesão Renal Aguda (LRA) por intoxicação experimental com veneno de *Bothrops jararacussu* (Bj) / Helen Mara Caetano Pinto - Macaé, 2022.

61 f.

Orientador(a): Sabrina Ribeiro Gonzalez.

Coorientador(a): Mayara Amorim Romanelli Ferreira dos Santos.

Trabalho de conclusão de curso (graduação) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Ciências Farmacêuticas, Bacharel em Farmácia, 2022.

1. Acidente ofídico. 2. Lesão renal aguda. 3. Peçonhas – envenenamento.
4. Wedelolactona. I. Gonzalez, Sabrina Ribeiro, orient. II. Santos, Mayara Amorim Romanelli Ferreira dos, coorient. III. Título.

CDD 615

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)
Biblioteca Central do Centro Multidisciplinar UFRJ-Macaé
Bibliotecário: Anderson dos Santos Guarino CRB7 – 5280

HELEN MARA CAETANO PINTO

AVALIAÇÃO DO TRATAMENTO COM WEDELOLACTONA EM MODELO DE
LESÃO RENAL AGUDA POR INTOXICAÇÃO EXPERIMENTAL COM
VENENO DE *Bothrops jararacussu*.

Trabalho de conclusão de curso (TCC) defendido e aprovado como requisito para
obtenção do título de farmacêutico.

Macaé, 27 de julho de 2022.

Comissão avaliadora:

Prof^a. MSc. Mayara Amorim Romanelli Ferreira dos Santos (Presidente da Banca)

UFRJ

<http://lattes.cnpq.br/6527277122117518>

Prof^a. DSc. Juliana Montani Raimundo

UFRJ - Campus Macaé

<http://lattes.cnpq.br/5226925321575185>

Prof. DSc. Leandro Louback da Silva

UFRJ - Campus Macaé

<http://lattes.cnpq.br/3640859565231717>

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer a Deus primeiramente, por estar comigo durante toda essa caminhada, me dando suporte, força e muita fé de que chegaria até aqui.

Aos meus pais Odilamar Caetano e Renato Pinto por todo amor e dedicação a mim e com os meus estudos, e por sempre estarem comigo, me apoiando em todas as minhas decisões e me dando os melhores conselhos.

A minha avó Rita Caetano e meu avô Odilon dos Santos por sempre terem acreditado no meu potencial e por terem me dado confiança e muito amor para chegar até aqui.

Ao meu namorado Washington Júnior por nunca ter deixado de acreditar em mim e estar me incentivando sempre, além de ter me dado muito apoio, coragem e força, e por ter me ajudado sempre que estava ao seu alcance, com muita boa vontade e amor.

As minhas amigas de turma Joana Nogueira, Giulia Cidade, Bruna Sardinha, Gabrielle Marques e Júlia Tavares por todo incentivo, e por caminharem junto comigo até aqui, sempre me dando suporte e apoio durante todo o nosso percurso. Além de terem sido extremamente importantes para minha formação, sempre estiveram juntas e apoiando umas as outras.

As minhas maravilhosas orientadoras Sabrina Gonzalez e Mayara Romanelli, por terem compartilhado comigo todo seu conhecimento, além de serem responsáveis pelas maravilhosas oportunidades de estudo que surgiram em meu caminho. Por toda paciência, dedicação e ajuda para chegar até o final desta etapa da minha graduação, sou imensamente grata por todo apoio e amor recebido.

Ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pelo auxílio financeiro e pela Bolsa PIBIC que possibilitou a realização deste projeto de pesquisa.

RESUMO

A Organização Mundial de Saúde (OMS) estima 2,7 milhões de acidentes ofídicos anualmente no mundo. O Brasil aparece em terceiro lugar com aproximadamente 31.395 acidentes ofídicos no ano de 2020. O envenenamento pelo gênero *Bothrops* apresenta maior prevalência (90%) nacional com taxa de mortalidade de 19%. A lesão renal aguda (LRA) com prevalência de 38% é uma das principais complicações decorrentes do envenenamento botrópico. A wedelolactona (WED) é o principal metabólito da planta *Eclipta prostrata*, possuindo efeitos hepatoprotetor, antioxidante, anti-hipertensivo, antifosfolipásico, antitumoral, imunomoduladora, antifibrótico e anti-inflamatório. O objetivo deste trabalho foi avaliar se o tratamento com a WED reverte a LRA induzida por intoxicação experimental com veneno de *Bothrops jararacussu* (Bj). Ratos Wistar machos (100-120g) foram divididos em 8 grupos experimentais: Controle (recebeu salina 0,9% I.M.); Cont + WED (recebeu salina 0,9% I.M. e WED nas doses 2, 5 ou 10 mg/Kg I.M.); Bj (recebeu veneno de Bj na dose 3,5 mg/Kg I.M.); Bj + WED (2 horas após envenenamento recebeu WED nas doses 2, 5 ou 10 mg/Kg I.M.). Os ratos foram mantidos em gaiolas metabólicas por 24 horas para coleta de urina, medida de ingestão de água (IA) e volume urinário (VU). Após a eutanásia, sangue, rins e pata direita foram coletados para avaliação da função renal, análise histológica e medida de dano muscular, respectivamente. O tratamento com WED não recuperou o dano muscular na pata e nem a redução da creatinina urinária causado por Bj. Todas as doses de WED reverteram o aumento da taxa de filtração gomerular (TFG) após envenenamento. Entretanto, o aumento da creatinina plasmática causado por Bj foi revertido somente pelas doses de WED 5 mg/Kg e 10 mg/Kg e o aumento de proteinúria pela doses de WED 2 mg/Kg, 5 mg/Kg e 10 mg/Kg. A dose de 5 mg/Kg foi exclusiva na reversão do acúmulo do nitrogênio ureico plasmático, além da aparente atenuação da lesão tecidual tubular e glomerular causado por Bj. Pelo exposto, essa dose foi considerada a menor dose reversora da disfunção renal decorrente do envenenamento por Bj.

Palavras-chave: disfunção renal, envenenamento, acidente ofídico.

ABSTRACT

The World Health Organization (WHO) estimates that 2.7 million people suffer from snakebites annually worldwide. Brazil is in third place with approximately 31.395 snakebites in 2020. Envenomation by the *Bothrops* genus has the highest prevalence (90%) nationally, with a mortality rate of 19%. Acute Kidney Injury (with prevalence of 38%) is one of the main complications caused by bothropic envenomation. Wedelolactone is the plant *Eclipta prostrata* main metabolite, presenting hepatoprotective, antioxidant, antitumor, immunomodulatory, antifibrotic and anti-inflammatory effects. The main objective of this work is to evaluate whether treatment with WED reverses AKI induced by experimental intoxication with *Bothrops jararacussu* venom. Male Wistar rats (100-120g) were divided into 8 experimental groups: Control (received saline solution 0.9%, I.M.); Cont + Wed (received saline solution 0.9%, I.M. and WED at 2, 5 or 10 mg/Kg I.M.); Bj (received *Bothrops jararacussu* venom at 3.5 mg/Kg, I.M.); Bj + WED of venom (2 hours after envenomation received WED at 2, 5 or 10 mg/Kg I.M). The rats were kept in metabolic cages for 24 hours to collect urine and to measure water intake and urinary volum. After euthanasia, blood, kidneys and the right paw were collected for evaluation of renal function, histological analysis and measurement of muscle damage, respectively. The WED treatment did not recover the muscle damage or the urinary creatinine reduction caused by Bj. All doses of WED reversed the glomerular filtration rate after envenomation. However, the plasmatic creatinine caused by Bj was reversed only by doses of WED 5 mg/Kg and 10 mg/Kg and the increase in proteinuria was reversed at WED doses of 2 mg/Kg, 5mg/Kg and 10 mg/Kg. The 5 mg/Kg dose was exclusive in reversing the accumulation of blood ureic nitrogen, in addition to the apparent attenuation of tubular and glomerular tissue damage caused by Bj. Based on the above, this dose was considered the lowest dose to reverse renal dysfunction resulting from Bj poisoning.

Keywords: renal dysfunction; envenomation; snakebite.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Serpente da espécie <i>Bothrops jararacussu</i>	14
FIGURA 2 - Anatomia do rim.....	17
FIGURA 3 - Anatomia do néfron	18
FIGURA 4 - Estrutura molecular da Wedelolactona	25
FIGURA 5 - Planta <i>Eclipta prostrata</i>	26
FIGURA 6 - Dano muscular.....	36
FIGURA 7 - Ingestão de água.....	37
FIGURA 8 - Volume urinário.....	38
FIGURA 9 - Proteinúria	39
FIGURA 10 - Nitrogênio ureico plasmático.....	40
FIGURA 11 - Creatinina Plasmática.....	42
FIGURA 12 - Creatinina urinária	42
FIGURA 13 - Taxa de filtração glomerular.....	43
FIGURA 14 - Tecido renal no aumento de 20x.....	46
FIGURA 15 - Tecido renal no aumento de 40x.....	47

LISTA DE FÓRMULAS

FÓRMULA 1 - Determinação da taxa de filtração glomerular	32
---	----

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Estadiamento e classificação da lesão renal crônica.....	24
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS

AMPK	Proteína Quinase Ativada por Monofosfato de Adenosina
Bj	Bothrops jararacussu
BK	Bradicinina
BthA-I	Bothrops toxina ácida
BthTX-I	Bothrops toxina I
BthTX-II	Bothrops toxina II
CAT	Catalase
CCS	Centro de Ciências da Saúde
CEUA	Comissão de Ética em Uso de Animais
CK	Creatinina Quinase Sérica
CONT	Grupo controle
DRC	Doença Renal Crônica
DOX	Doxorrubicina
GSH-Px	Glutathione Peroxidase
HE	Hematoxilina eosina
HK-2	Célula de rim humano 2
IA	Ingestão de água
IkB	Proteína inibitória
IκK	Complexo IκB quinase
IL-6	Interleucina 6
IM	Intramuscular
LPS	Lipopolissacarídeos
LRA	Lesão Renal Aguda
MCP-1	Proteína Quimioatraente de Monócitos 1
MDA	Malondialdeído
NF-κB	Fator Nuclear Kappa B
OMS	Organização Mundial De Saúde
PAF	Fator de Ativação Plaquetária

PLA2	Fosfolipases A2
PPAR-α	Receptor Alfa Ativado por Proliferador de Peroxissoma
PTPN2	Proteína Tirosina Fosfatase Não Receptor Tipo 2
SOD	Superóxido Dismutase
SUS	Sistema Único de Saúde
TFG	Taxa de Filtração Glomerular
TGF-β1	Fator de Crescimento Transformador Beta 1
TNF-α	Fator de Necrose Tumoral Alfa
UFRJ	Universidade Federal do Rio de Janeiro
VU	Volume urinário
W2	Grupo Wedelolactona dose de 2 mg/Kg
W5	Grupo Wedelolactona dose de 5 mg/Kg
W10	Grupo Wedelolactona dose de 10 mg/Kg
WED	Wedelolactona

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	13
1.1 ACIDENTES OFÍDICOS	13
1.2 GÊNERO BOTHROPS E BOTHROPS JARARACUSSU	14
1.2.1 VENENO BOTRÓPICO.....	15
1.2.2 SORO ANTIOFÍDICO.....	16
1.3 RIM E FUNÇÃO RENAL	17
1.3.1 ANATOMIA RENAL	17
1.3.2 FUNÇÃO RENAL.....	18
1.3.2.1 FORMAÇÃO DA URINA.....	20
1.3.2.2 PARÂMETROS PARA AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO RENAL.....	21
1.4 LESÃO RENAL AGUDA	22
1.4.1 LESÃO RENAL AGUDA E ENVENENAMENTO BOTRÓPICO.....	24
1.5 WEDELOLACTONA E SUAS PROPRIEDADES	25
1.6 JUSTIFICATIVA	27
2 OBJETIVO.....	29
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	29
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	30
3.1 ANIMAIS.....	30
3.2 GRUPOS EXPERIMENTAIS	30
3.3 OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS BIOLÓGICAS.....	31
3.4 DETERMINAÇÃO DO DANO MUSCULAR.....	32
3.5 ANÁLISE DOS PARÂMETROS FISIOLÓGICOS RENAI.....	32
3.5.1 CREATININA URINÁRIA E PLASMÁTICA.....	32

3.5.2 TAXA DE FILTRAÇÃO GLOMERULAR.....	32
3.5.3 NITROGÊNIO UREICO PLASMÁTICO	33
3.5.4 PROTEINÚRIA	33
3.6 ANÁLISE HISTOLÓGICA	33
3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	34
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	35
4.1 DANO MUSCULAR.....	35
4.2 INGESTÃO DE ÁGUA E VOLUME URINÁRIO	36
4.3 PROTEINÚRIA	39
4.4 NITROGÊNIO UREICO PLASMÁTICO	40
4.5 CREATININA PLASMÁTICA/URINÁRIA E TAXA DE FILTRAÇÃO GLOMERULAR	41
4.6 HEMATOXILINA - EOSINA.....	44
5 CONCLUSÃO.....	51
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	52

1 INTRODUÇÃO

1.1 ACIDENTES OFÍDICOS

A Organização Mundial de Saúde (OMS) estima que aproximadamente 2,7 milhões de pessoas sofrem com acidentes ofídicos anualmente em todo mundo. No ranking de incidência de ofidismo, o Brasil se encontra em terceiro lugar, de acordo com o panorama global, contendo 250 espécies de serpentes, sendo 70 delas consideradas peçonhentas (MATOS e IGNOTTI, 2020; SARAIVA et al., 2012).

As espécies peçonhentas são aquelas que injetam seu veneno no corpo de suas vítimas (PUZZI et al., 2008). De acordo com o Ministério da Saúde, no Brasil ocorreram aproximadamente 31.395 acidentes ofídicos no ano de 2020, com sua letalidade chegando a 0,39% (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2021).

As mordidas de serpentes retratam um grande problema de saúde pública em países de clima tropical (PINHO e BURDMANN, 2001). As regiões tropicais e áreas rurais são as mais acometidas pelos acidentes com serpentes. O clima e a alta densidade de mata, somada as enchentes frequentes, proporcionam condições ideais para o habitat das serpentes (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2021).

A problemática social dessa questão deve-se ao sistema de saúde mais escasso e precário nessas regiões, além de frequentemente não apresentar a estrutura adequada para receber e tratar acidentes decorrentes do envenenamento (LIMA et al., 2009; MATOS e IGNOTTI, 2020). Os indivíduos mais acometidos pelos acidentes ofídicos em áreas rurais, são em maioria homens, predominantemente trabalhadores agrícolas. A faixa etária mais frequente está entre 20 a 64 anos, por ser a idade mais ativa dos trabalhadores. As pessoas de cor parda foram consideradas o grupo em que os acidentes ofídicos ocorrem com maior frequência, devido ao fato de viverem de forma mais precária e em locais próximos de habitat das serpentes, sendo os índios um exemplo destes (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2021).

O principal gênero causador dos acidentes ofídicos no Brasil é o *Bothrops* (25 espécies), configurando aproximadamente 90% dos acidentes ofídicos ocorridos, acompanhado dos gêneros *Crotalus* 7,7%, *Lacbesis* 1,4% e *Micrurus* 0,5%. Em função da alta mortalidade/morbidade e da alta frequência nacional, os acidentes ofídicos são clinicamente caracterizados como acometimento médico de

alta gravidade, necessitando de tratamento emergencial. (LIMA et al., 2009; SARAIVA et al., 2012).

1.2 O GÊNERO *BOTHROPS* E A ESPÉCIE *BOTHROPS JARARACUSSU*

Dentre todas as espécies incluídas no gênero *Bothrops*, a espécie *Bothrops jararacussu* é amplamente estudada (Figura 1). Essa espécie pode ser encontrada em florestas e matas, em lugares úmidos e em áreas recorrentes de enchentes, comumente em regiões tropicais. Seu comprimento pode chegar até aproximadamente 2 metros (BERNARDE, 2009). O gênero *Bothrops* também possui outros nomes populares, como: Jararaca, Jararacuçu, entre outros. O gênero *Bothrops* possui características que o distinguem de outros gêneros, sendo estas, a presença de fosseta loreal e uma fina cauda (característica da espécie *Bothrops jararacussu*) (PUZZI et al., 2008).



FIGURA 1. Serpente da espécie *Bothrops jararacussu*. FONTE: (Fauna digital - RS).

Os sintomas apresentados após uma mordida de *Bothrops jararacussu* podem incluir: dor e edema local, podendo evoluir para todo o membro, sangramento, hemorragias locais e sistêmicas, equimose, formação de bolhas e necrose. Em casos mais graves, pode haver hipotensão, choque anafilático, necrose de tecidos moles, abscessos, síndrome compartimental, perda do membro ferido e falecimento devido a ocorrência de complicações, como a lesão renal aguda (LRA) (BERNARDE, 2009; SANTOS et al., 1992).

1.2.1 VENENO BOTRÓPICO

O veneno das espécies *Bothrops*, ao entrar em contato com o organismo, pode causar ação proteolítica, hemorrágica e coagulante. Sua ação proteolítica pode ocorrer por meio da atividade das enzimas proteases, hialuronidasas e, principalmente, fosfolipases A2 (PLA₂s) (PUZZI et al., 2008).

As fosfolipases presentes no veneno de *Bothrops jararacussu* são as do tipo II (não-neurotóxicas), sendo divididas em três tipos diferentes: Bothrops toxina I (BthTX-I); Bothrops toxina II (BthTX-II) e a isoforma Bothrops toxina ácida (BthA-I). ABthTX-I e a BthTX-II são fosfolipases miotóxicas, de caráter básico, que atuam se ligando à membrana plasmática das células musculares esqueléticas, promovendo uma descontinuidade da membrana e conseqüentemente inativação de enzimas citosólicas e despolarização das células musculares. Mais especificamente, a BthTX-I (fosfolipase mais abundante no veneno botrópico) rompe a membrana plasmática devido a uma interação eletrostática (interação de resíduos catiônicos com a bicamada lipídica negativamente carregada). A BthTX II também promove ruptura da membrana plasmática, associada a hidrólise Ca²⁺ - dependente, das ligações ácido-éster na posição sn-2 de glicerofosfolipídios, formando ácido graxos e lisofosfolipídios (ARAGÃO, 2008). A toxina BthA-I age causando edema, inibindo a agregação plaquetária e exerce efeito hipotensor (GUTIÉRREZ; OWNBY, 2003).

As enzimas PLA₂, isoladas do veneno botrópico, apresentaram elevada atividade miotóxica, causando necrose das fibras musculares estriadas, que conseqüentemente tem sua regeneração retardada. Essas lesões musculares apresentam correlação com o aumento de creatinina quinase sérica (CK), algo já bem estabelecido na literatura (SANTOS et al., 1992).

Enquanto a ação hemorrágica do veneno ocorre, principalmente, devido às metaloproteinases, causando dano vascular e gerando áreas isquêmicas no tecido, promovendo a necrose tecidual local. As metaloproteinases possuem capacidade de degradar a laminina, colágeno e nidogênio que são componentes da membrana basal vascular. Essa degradação acarreta uma alteração nos componentes responsáveis pela adesão celular entre as células endoteliais e a matriz extracelular, causando modificação nos vasos capilares e ocasionando apoptose do tecido, gerando espaços por onde o sangue extravasa para o espaço intersticial produzindo hemorragias (SANTOS, 2020; SILVA et al., 2017).

Por fim, a ação coagulante ocorre devido as serinoproteases presentes no veneno botrópico. As serinoproteases são enzimas que convertem fibrinogênio em fibrina. No envenenamento os distúrbios na coagulação são provocados devido ao consumidos fatores de coagulação e pelos produtos da degradação da conversão de fibrinogênio e fibrina (principalmente nos rins e pulmões). Ademais, a ação coagulante também decorre de uma modificação na protrombina e no fator X, através da ativação desses fatores isoladamente ou simultaneamente, e da ativação das moléculas com ação análoga à protrombina (PUZZI et al., 2008; SANTOS, 2020).

1.2.2 SORO ANTIOFÍDICO

Atualmente, o uso de soros antivenenos é espécie-específico é o único tratamento disponível para tratar indivíduos que sofreram acidentes ofídicos. O soro antibotrópico administrado pela via intravenosa é o tratamento de referência para a espécie *Bothrops jararacussu*. O mesmo soro é usado para acidentes ofídicos causados pela espécie *Bothrops jararaca* (PINHO e BURDMANN, 2001; GONÇALVES-MACHADO et al., 2016). O soro antiveneno possui ação rápida, demonstrando seu efeito instantaneamente. Logo após a sua administração, promove neutralização das toxinas do veneno, que se encontram no sangue e nos tecidos do corpo. Seu potencial terapêutico é maior se sua administração for feita no menor período de tempo possível após a ocorrência do acidente ofídico (FUNED, 2018).

O soro antiveneno compreende anticorpos ou fragmentos de anticorpos derivados do plasma de grandes mamíferos (geralmente cavalos, mas também ovelhas, cabras ou coelhos) que foram previamente imunizados com venenos em doses não letais. Com isso, as doses administradas podem provocar reações adversas como reações alérgicas (manifestadas na forma de prurido cutâneo, urticária, tosse seca, náuseas e crise asmátiforme), e choque anafilático, menos frequente (FUNED, 2018; GÓMEZ-BETANCUR et al., 2019).

A instabilidade do mercado antiveneno com falta de investimento pelas empresas farmacêuticas em função de baixos lucros é um problema que afeta a disponibilidade e o acesso dos antídotos em populações rurais, principalmente em países em desenvolvimento como o Brasil. Além disso, o planejamento nacional inadequado da distribuição regional do veneno e falta de treinamento do corpo clínico nessas regiões agrava as consequências dos acidentes ofídicos, aumentando da

incidência de óbitos (GÓMEZ-BETANCUR et al., 2019).

1.3 RIM E FUNÇÃO RENAL

1.3.1 ANATOMIA RENAL

Os rins são órgãos localizados abaixo da caixa torácica, atrás da cavidade peritoneal, na parede abdominal posterior, pesando aproximadamente 150g e divididos em: polo superior, polo inferior e hilo. O hilo está localizado medialmente, por onde passam o ureter, veias e artérias renais, vasos linfáticos e nervos (SCHMITZ, 2012; CARVALHO, 2014).

O parênquima renal é constituído pelo córtex renal e medula renal, que se diferenciam através de suas diferentes funções e estruturas (EATON e POOLER, 2015). O córtex renal apresenta glomérulos, ductos coletores corticais e túbulos retos e contorcidos. A medula renal possui estruturas denominadas pirâmides renais e possui uma subdivisão, sendo dividida em zona interna e zona externa. Sua aparência característica é a aparência listrada devido aos ductos coletores que estão presentes na estrutura da medula (Figura 2) (SCHMITZ, 2012).

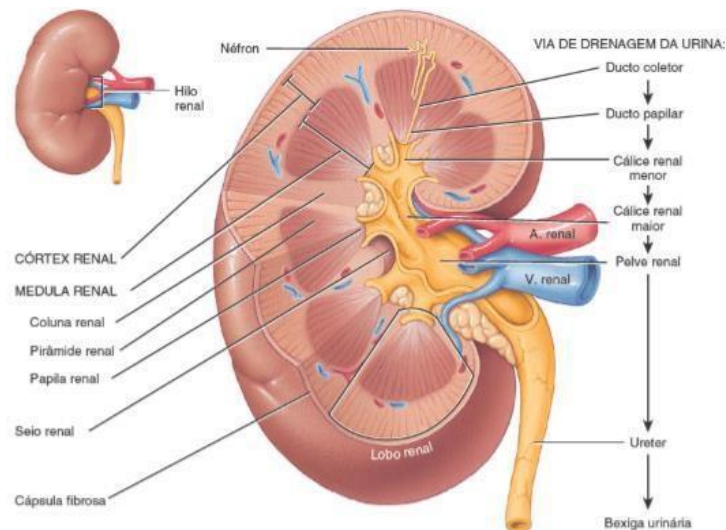


FIGURA 2. Anatomia do rim. Fonte: Tortora, 2016.

O néfron é a unidade funcional dos rins. Ele é composto pelo corpúsculo renal, e um longo túbulo, que se divide em: túbulo proximal, alça de Henle, túbulo distal e ducto coletor, que desempenham funções de reabsorção e secreção (SCHMITZ, 2012; MCANINCH e LUE, 2014). O corpúsculo renal é formado pelo glomérulo vascular, que se projeta para dentro da cápsula de Bowman, que, por sua vez, dá continuidade ao epitélio do túbulo proximal (Figura 3) (MCANINCH e LUE, 2014).

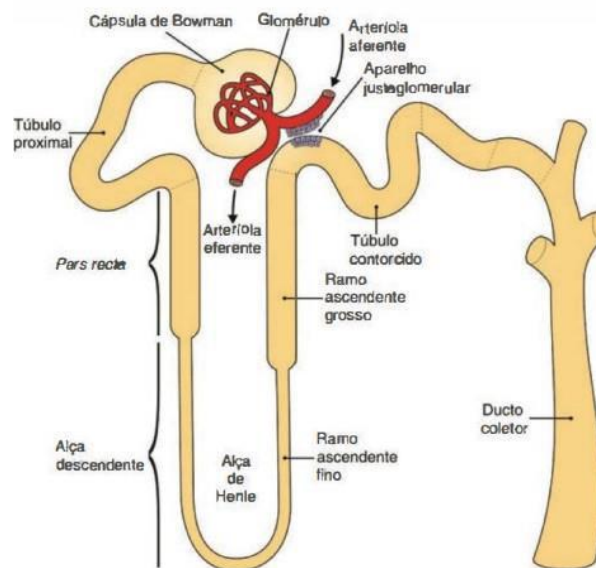


FIGURA 3. Anatomia do néfron. FONTE: Curi & Procopio, 2009.

1.3.2 FUNÇÃO RENAL

Os rins são órgãos responsáveis, dentre outras funções, pela regulação da composição de fluidos extracelulares e do seu volume, assim como pela formação de urina. Desempenham diversas funções associadas a completa regulação do organismo, tais como: controle do balanço eletrolítico, regulação do equilíbrio ácido-base, conservação de nutrientes, regulação do volume de água do organismo, excreção de resíduos metabólicos, regulação da hemodinâmica renal e sistêmica e na participação da produção de glóbulos vermelhos e do metabolismo ósseo de cálcio e fósforo (AIRES et al., 2008).

O controle do balanço eletrolítico se dá através dos íons (sódio, potássio, cloreto, magnésio, entre outros) e de seus diversos mecanismos tubulares de reabsorção e secreção. Outra importante função desempenhada pelos rins é a

regulação do equilíbrio ácido-base do organismo.

O pH ideal do meio interno é de 7,4 para que ocorra o funcionamento intra e extracelular de maneira adequada, visto que o pH é importante para o desempenho adequado das proteínas do organismo e atividades enzimáticas. A função dos rins nesse processo, é manter o pH ideal para o meio interno, facilitando a excreção de radicais de pH ácido e conservando as bases (secreção de próton e reabsorção de bicarbonato).

A conservação de nutrientes também ocorre através dos rins, que reabsorvem os nutrientes para a corrente sanguínea após serem filtrados pelos glomérulos. Esses nutrientes (glicose, proteínas e aminoácidos) são conservados pelos rins, pois são de extrema importância para o meio interno.

Outra importante função é a regulação do volume de água do organismo, através da reabsorção de água e excreção em forma de urina. São filtrados diariamente aproximadamente 180 litros de plasma, sendo destes excretados em forma de urina apenas de 1 a 2 litros de fluidos. Os outros aproximadamente 178 litros de água são reabsorvidos pelo organismo juntamente com a reabsorção do sódio. Além disso, a excreção de resíduos metabólicos também é feita pelos rins, sendo eliminados principalmente os metabólicos: creatinina, uréia, ácido úrico e bilirrubina, por exemplo.

Os rins também são órgãos essenciais na regulação da pressão arterial, que ocorre através de dois mecanismos: hipertensor e hipotensor renal. O mecanismo hipertensor ocorre mediante o sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) que, em instância, estimula a reabsorção de sódio e água. Enquanto o efeito hipotensor acontece principalmente por meio das substâncias: prostaglandinas, lipídios medulares vasodilatadores, óxido nítrico e cininas renais (WORONIK, 1998). As cininas, como a bradicinina (BK) são os peptídeos ativos produzidos pelo sistema caliceína-cinina. São potentes vasodilatadores dependentes do endotélio que contribuem para a vasodilatação e hipotensão. Nos rins, as cininas induzem natriurese e diurese, que levam à diminuição da pressão arterial. São hormônios parácrinos, pois são rapidamente degradados por várias enzimas. A enzima conversora de angiotensina (ECA), também conhecida como cininase II, possui alta afinidade pela BK, ocasionando sua degradação, o que contribui para o aumento da pressão arterial (GARDINER et al., 1990).

Por fim, esses órgãos participam da produção de glóbulos vermelhos e do metabolismo ósseo de cálcio e fósforo. Na participação da produção das hemácias através da produção do hormônio eritropoietina. Já na produção do metabolismo ósseo de cálcio e fósforo, contribuem formando vitamina D, convertendo a forma inativa (25-hidroxicolecalciferol) na forma mais ativa da vitamina D (1,25-dihidroxicolecalciferol). A forma mais ativa da vitamina D é responsável pela absorção gastrointestinal e óssea de fósforo (CaHPO_4) (AIRES et al., 2008; HALL e GUYTON, 2011).

1.3.2.1 FORMAÇÃO DA URINA

A manutenção e regulação do volume corporal tem como principal resultado a produção da urina, formada através de três principais processos: filtração glomerular, reabsorção tubular e secreção tubular (CURI e PROCOPIO, 2009).

A filtração glomerular é o primeiro processo para formação da urina, onde apenas 20% do volume de plasma é filtrado pelos glomérulos, enquanto os restantes 80% que não são filtrados, circulam pelos capilares glomerulares e voltam para a circulação sistêmica, através da arteríola eferente (CURI e PROCOPIO, 2009; AIRES et al., 2008).

O conteúdo filtrado pelos glomérulos chama-se ultrafiltrado, esse é manipulado ao longo dos túbulos renais. No processo de reabsorção, são reabsorvidos água e metabólitos, que retornam dos túbulos para a circulação sistêmica, pelos capilares peritubulares. O processo de secreção de resíduos metabólicos, ocorre simultaneamente aos processos de reabsorção, onde xenobióticos e metabólitos são secretados para o lúmen renal, sendo posteriormente eliminados na urina (AIRES et al., 2008).

A excreção da urina consiste no processo onde água e resíduos metabólicos em excesso são eliminados do corpo através da urina. Enquanto 98,75% do volume inicial é reabsorvido para a circulação sistêmica, apenas aproximadamente 1,25% são excretados na forma de urina (CURI e PROCOPIO, 2009; AIRES et al., 2008; MORAES e COLICIGNO, 2022).

Os rins apresentam o segundo maior conteúdo mitocondrial e consumo de oxigênio quando comparados a todos os outros órgãos. Este fato ocorre devido à sua elevada demanda energética, uma vez que o órgão requer uma abundância de mitocôndrias para fornecer energia suficiente para remover resíduos do sangue, reabsorver nutrientes, regular o equilíbrio de eletrólitos e fluidos, manter a homeostase ácido-base e regular pressão arterial (BHARGAVA & SCHNELLMANN, 2017).

1.3.2.2 PARÂMETROS PARA AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO RENAL

A taxa de filtração glomerular (TFG) descreve a taxa de fluxo do fluido filtrado através do rim, avaliando a função renal através da medida de substâncias que são livremente filtradas e não reabsorvidas pelos rins em um determinado período de tempo; seu cálculo provém dos valores das concentrações de creatinina urinária e plasmática (SOARES e BRUNE, 2017; SODRÉ et al., 2007; GANONG et al., 2016).

Em outras palavras a TFG é o volume de fluido filtrado dos capilares glomerulares renais para a cápsula de Bowman por unidade de tempo. O tônus basal diferencial das arteríolas aferentes e eferentes são essenciais para a manutenção fisiológica da TFG. Ela depende da diferença entre a pressão arterial mais alta criada pela vasoconstrição da arteríola aferente *versus* a pressão arterial mais baixa criada pela vasoconstrição menor da arteríola de saída ou eferente (NOSEK, 2016).

A análise de creatinina sérica é um marcador muito aplicado na avaliação do desempenho renal. A creatinina não costuma ter seu valor variável diariamente em um indivíduo sadio, sendo também dependente da massa muscular. Por ser de baixo peso molecular, ela consegue ser livremente filtrada pelos glomérulos renais e é excretada em grandes quantidades na urina, sofrendo mínimo processo de reabsorção. A dosagem da creatinina sérica pode ser feita utilizando plasma e urina, tendo como resultados concentrações de creatinina plasmática e de creatinina urinária, respectivamente. Um indicativo de mau funcionamento renal, é uma alta concentração de creatinina no sangue e uma baixa concentração na urina. Os

valores de creatinina sérica elevam a taxa de TFG, fazendo dele um bom marcador para avaliação da função renal (SODRÉ et al., 2007).

A avaliação da concentração de nitrogênio ureico plasmático também é um importante marcador da função renal. Em condições normais a ureia é uma substância facilmente filtrada pelos glomérulos, e grande parte dela é excretada através da urina. Em casos de lesão renal, a taxa de TFG é diminuída e conseqüentemente a ureia fica retida, levando a um aumento da sua concentração no plasma. Embora seja menos específica para função renal do que a creatinina, a ureia é mais sensível a alterações nos estágios iniciais da disfunção renal (SANTOS, 2020).

A proteinúria é um parâmetro muito importante para a avaliação da lesão renal, pois a detecção de uma quantidade anormal de proteínas na urina é um indicador de doença renal (SBN, 2007). As proteínas de alto peso molecular não ultrapassam a barreira de filtração glomerular em néfrons saudáveis. As proteínas de baixo peso molecular podem ser filtradas pelos glomérulos, e também reabsorvidas nos túbulos renais, porém, o rim tem um transporte tubular limitado para reabsorção de proteínas. Sendo assim, o aumento da filtração de proteínas facilmente sobrecarrega os mecanismos de transporte e a reabsorção é diminuída, sendo o excesso de proteínas eliminado na urina (SODRÉ et al., 2007). Em outras palavras, o aumento de proteinúria é visto quando ocorre aumento da quantidade de proteínas nos glomérulos capilares ou quando a reabsorção das mesmas é reduzida (SODRÉ et al., 2007).

Vale ressaltar que apesar da importância clínica e amplo emprego desses marcadores para avaliar a função renal, eles são marcadores tardios para LRA. Atualmente, existe uma busca por marcadores precoces que possam identificar pacientes com alto risco de LRA para prevenir a progressão para DRC (GONSALEZ et al 2019).

1.4 LESÃO RENAL AGUDA

A Lesão Renal Aguda (LRA) é definida como a redução abrupta da função renal em horas ou dias, sendo caracterizada pela alteração TFG e/ou volume urinário, além de distúrbios no controle do equilíbrio hidro-eletrolítico e ácido-básico (SBN, 2007). Outras alterações bioquímicas comumente observadas são o acúmulo de nitrogênio ureico plasmático e de creatinina plasmática, além de intensa proteinúria, gerando

assim, comprometimento da função renal (HOSTE et al., 2018; LUFT et al., 2016).

A LRA possui manifestações clínicas silenciosas que se confundem com sinais clínicos de outras morbidades, sendo descobertas apenas em alterações em exames laboratoriais de rotina, principalmente avaliando a TFG, padrão-ouro na avaliação clínica da função renal (BRITO et al., 2016; MAGRO e VATTIMO, 2007).

A LRA pode ser causada principalmente por infecções, cirurgias, sepse, doenças cardíacas, traumas, uso de medicamentos, síndrome hepatorenal, glomerulonefrites e transplantes renais (HOSTE et al., 2018). A LRA tem sido abordada como fator preocupante de saúde, pois houve aumento do número de casos nos últimos quinze anos, estima-se que na próxima década o número de casos dobre (SILVER et al, 2015). Outro fator preocupante é a alta taxa de prevalência em pacientes internados em Unidades de Tratamento Intensivo (UTI), 20 a 50% dos casos, aumentando risco de complicações e o tempo de internação dos pacientes (HAN et al, 2019).

A fisiopatologia da LRA está associada a infiltração de células inflamatórias, fibrose, disfunções mitocondriais, ativação de estresse oxidativo e peroxidação lipídica, além da ativação do SRAA e comprometimento da produção de óxido nítrico (NO). Esses mecanismos culminam em lesões teciduais renais, como: nefrite intersticial, glomerulonefrite e necrose tubular aguda (CHOU et al 2017; GONSALEZ et al 2019).

As consequências da doença afetam quase todos os órgãos, já que os rins são responsáveis pela homeostase do corpo. O coração e o pulmão podem ser afetados, uma vez que podem ocorrer falhas respiratórias e circulatórias devido a retenção de líquidos (aumentando o débito cardíaco) e ao acúmulo de substâncias tóxicas que não foram depuradas. A LRA também gera distúrbios na barreira intestinal, alterando as funções do trato gastrointestinal e a absorção de fármacos. Ademais, a excreção prejudicada da toxina urêmica pode afetar a funcionalidade do cérebro, da medula óssea, do coração e do sistema imunológico (KELLUM et al., 2021).

Evidências sugerem que os pacientes que se recuperaram da LRA têm um risco 25% maior de desenvolver doença renal crônica (DRC). A literatura relata que a transição da LRA para a DRC poderá se dar por meio de mediadores inflamatórios liberados por células renais, macrófagos e células T, ativando vias de

sinalização e interações com células imunes (RAYEGO-MATEOS et al., 2019).

A DRC é dividida em seis estágios funcionais, de acordo com o grau de insuficiência renal do paciente, como demonstrado na tabela a seguir (OLIVEIRA et al., 2008):

ESTADIAMENTO E CLASSIFICAÇÃO DA DRC		
Estágio	Filtração Glomerular(ml/min)	Grau de Insuficiência Renal
0	> 90	Grupos de risco para DRC Ausência de Lesão Renal
1	> 90	Lesão Renal com Função Renal Normal
2	60 – 89	IR Leve ou Funcional
3	30 – 59	IR Moderada ou Laboratorial
4	15-29	IR Severa ou Clínica
5	< 15	IR Terminal ou Dialítica

Tabela 1. Estadiamento e classificação da lesão renal crônica. Fonte: National Kidney Foundation, 2002

A evolução da doença para a fase crônica está vinculada a elevados gastos do sistema de saúde, uma vez que a DRC e doenças associadas correspondem a 1,82% e 5,79% das internações hospitalares no Brasil, e 2,87% e 10,10% de todas as despesas, respectivamente. Os enxertos renais com doadores falecidos corresponderam a 76% das internações e 80% das despesas com o transplante. Além disso, o sistema único de saúde (SUS) desempenha papel essencial na atenção ao DRC, financiando 90% dos tratamentos de pacientes que se encontram em terapia renal substitutiva (TRS), a qual compreende tanto a diálise (hemodiálise e diálise peritoneal) quanto o transplante renal (ACALDE & KIRSZTAJN, 2018).

1.4.1 LESÃO RENAL AGUDA E ENVENENAMENTO BOTRÓPICO

Os rins por serem órgãos altamente vascularizados são suscetíveis a sofrer ações do veneno B_j, sendo a LRA, caracterizada por severa oligúria, a manifestação clínica mais comum (ALBUQUERQUE et al 2013). A prevalência de LRA após envenenamento botrópico pode alcançar 38% do casos, com letalidade de 10%, sendo considerada umas das principais complicações clínicas (OTERO et al 2002). Além disso, cerca de 75% dos pacientes que sofrem envenenamento necessitam de diálise (PINHO e BURDMANN, 2001; PETEJOVA et al., 2019).

A fisiopatologia da LRA nos acidentes botrópicos não é bem compreendida, sabe-se que o veneno ofídico concentra-se nos tecidos renais rapidamente, dentro de minutos, e pode ser detectado na urina em poucas horas após inoculação (BURDMANN e JHA, 2017). E acredita-se que esse veneno tenha uma ação nefrotóxica direta, ou uma ação indireta através das miotoxinas. Esse efeito miotóxico indireto pode causar mioglobinúria, agravando os sintomas da LRA (PETEJOVA et al., 2019; SOEIRO et al., 2021). Além disso, o efeito cardiotoxico do veneno botrópico provoca colapso circulatório contribuindo para isquemia renal, umas das principais causas de LRA (ROMANELLI et al., 2021).

No tecidos renal, a necrose tubular aguda é a lesão mais relatada, mas a nefrite intersticial, necrose cortical e alterações glomerulares também foram observadas (ALBUQUERQUE et al., 2013). A necrose tubular aguda é acarretada por ação fosfolipásica, devido a excessiva liberação das proteínas hemoglobina e mioglobina, provocando aumento da concentração de proteínas no lúmen tubular renal (SANTOS, 2020; BARROS, 2011).

1.5 WEDELOLACTONA E SUAS PROPRIEDADES

A Wedelolactona (WED) é um coumestano fenólico, que possui nas posições 1, 8 e 9 de sua molécula, substituintes hidroxí, e na sua posição 3 possui um substituinte metoxi. Sua forma molecular é $C_{16}H_{10}O_7$ e sua fórmula estrutural está representada abaixo (Figura 4). Possui peso molecular e massa molecular de aproximadamente, 314,25 kDa e 314,04 g/mol, respectivamente (PUBCHEM, 2004).

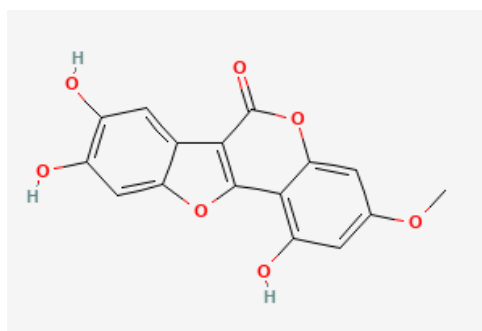


FIGURA 4. Estrutura molecular da Wedelolactona. Fonte: PubChem. Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Wedelolactone>>. Acesso em: 8 de abril de 2022).

A WED é o principal metabólito secundário ativo derivado das folhas da planta *Eclipta prostrata*, que é denominada popularmente como erva botão (família *Asteraceae*, muito comum nas regiões tropicais e subtropicais), uma planta medicinal muito utilizada tradicionalmente na América, Ásia e África para tratar doenças respiratórias e acidentes ofídicos (Figura 5) (MELO et al., 2010; YANG et al., 2019).



FIGURA 5. Planta *Eclipta prostrata* (Erva-botão). Fonte: (Horto didático de plantas medicinais do HU/CCS. Disponível em: <<https://hortodidatico.ufsc.br/erva-botao/>>. Acesso em: 9 de abril de 2022).

A *Eclipta prostrata* é fonte de vários metabólitos secundários, como polipeptídeos, poliacetilenos e triterpenos, flavonóides, fitoesteróis e coumestanos. Os coumestanos, representados pela WED e pela sua forma desmetilada, desmetilwedelolactona, formam uma classe de produtos aromáticos naturais oxigenados muito importante em função das diversas ações farmacológicas (PAN et al., 2020).

Estudos relatam que os extratos de *Eclipta prostrata* e as substâncias isoladas da planta como WED, sitosterol e estigmasterol são capazes de antagonizar a letalidade e a atividade miotóxica de veneno de *Crotalus durissus terrificus* (MELO; OWNBY, 1999). Além disso, Melo et al. (1994) demonstraram os efeitos anti-hemorrágicos, antiproteolíticos e atividade antifosfolipásica em estudos envolvendo o veneno bruto da espécie *Bothrops jararacussu*.

Foram demonstrados na literatura através de estudos experimentais *in vivo* e *in vitro* que a WED possui variados efeitos terapêuticos, sendo eles: antioxidante (UDDIN et al., 2010), hepatoprotetor (YU et al., 2016), antitumoral (NEHYBOVÁ et al., 2017), e anti-inflamatório (WEI et al., 2017). Também foram observados efeitos protetores em dislipidemias, com diminuição de triglicerídeos, colesterol de lipoproteína de baixa densidade e de colesterol total, através da regulação positiva de PPAR- α e na ativação de AMPK (VINYAGAM et al., 2021).

De acordo com o CUONG *et al* (2018), a WED também é usada no tratamento de hepatite e cirrose, assim como em casos de infecções virais. Ademais, o estudo de CUONG *et al* (2018) demonstrou o poder inibidor da WED no crescimento de tumores de próstata e de células da hipófise (CUONG *et al.*, 2018). Além disso, o estudo *in vivo* e *in vitro* utilizando o extrato aquoso da planta juntamente com a WED isolada, foram eficientes neutralizando as atividades proteolíticas, miotóxicas e hemorrágicas do veneno botrópico, assim como de suas toxinas (JORGE *et al.*, 2011).

WED demonstrou-se uma molécula promissora no tratamento da lesão renal induzida por sepse como Zhi *et al* (2021) demonstraram. Neste trabalho, a WED aumentou a viabilidade celular em linhagem HK-2 exposta a pré-tratamento com Lipopolissacarídeos (LPS), além de diminuir a produção de citocinas inflamatórias e a taxa de apoptose celular (ZHI *et al.*, 2021).

Ademais, no modelo celular foi observado que a WED também possui capacidade de atenuar a inflamação em podócitos causada pela doxorubicina (DOX) e reduzir os níveis de citocinas relacionadas ao estresse oxidativo, além de diminuir os níveis de interleucina-6 (IL-6), fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e o fator de crescimento transformador beta 1 (TGF- β 1) elevados pela ação da DOX nos podócitos (ZHU *et al.*, 2019).

1.6 JUSTIFICATIVA

Os acidentes ofídicos são bastante frequentes em áreas de florestas e matas, atingindo preferencialmente trabalhadores de áreas rurais e agrícolas, que possuem atendimento de saúde precário, sendo os jovens e adultos ativos, responsáveis pela renda familiar, os mais acometidos (LIMA *et al.*, 2009; MATOS *et al.*, 2020; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2021). No Brasil, o gênero comumente encontrado nessas áreas, é o gênero *Bothrops*, responsável por aproximadamente 90% dos acidentes ofídicos, com alta mortalidade (19%) (LIMA *et al.*, 2009; SARAIVA *et al.*, 2012). O estudo proposto para tratar a LRA decorrente do envenenamento botrópico por *Bothrops jararacussu* tem como objetivo propor uma possível farmacoterapia, importante para melhora da condição de vida das vítimas de acidentes ofídicos, evitando o alto custeio dos tratamentos pelo SUS. Ademais, o único tratamento existente neste caso é o soro antiofídico, não sendo completamente eficiente para impedir a LRA decorrente do envenenamento botrópico. Sendo assim, a hipótese

deste trabalho é que o tratamento com a wedelolactona reverte a LRA decorrente do acidente ofídico.

2 OBJETIVO

O objetivo central do presente trabalho é avaliar se o tratamento com a wedelolactona (WED) reverte a lesão renal aguda induzida por intoxicação experimental com veneno de *Bothrops jararacussu* (Bj).

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

2.1.1 Determinar a ação do tratamento com Wedelolactona sobre o dano muscular provocado pelo envenenamento.

2.1.2 Determinar a ação do tratamento com Wedelolactona sobre a ingestão de água e o volume urinário.

2.1.3 Determinar a ação do tratamento com Wedelolactona sobre os seguintes parâmetros fisiológicos renais: proteinúria, nitrogênio uréico plasmático, creatinina plasmática, creatinina urinária e TFG.

2.1.4 Determinar a ação do tratamento com Wedelolactona na reversão da lesão tecidual renal causada pelo envenenamento.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 ANIMAIS

Os animais utilizados na pesquisa foram provenientes do Biotério Central de Ratos, localizado no Centro de Ciências da Saúde (CCS) da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ). Todos os procedimentos seguiram as normas de boas práticas em pesquisa e foram aprovados pela Comissão de Ética em Uso de Animais (CEUA) do CCS da UFRJ sob o número 009/22.

Ratos Wistar machos pesando entre 100-120g, foram mantidos durante o período de estudo no biotério Interbloco C/D do CCS-UFRJ com temperatura constante (23 ± 2 °C) e no ciclo padrão claro/escuro (12/12 h).

3.2 GRUPOS EXPERIMENTAIS

Os animais utilizados no estudo foram divididos em 8 grupos experimentais, n experimental de 8 animais por cada grupo:

- Controle (Cont): receberam solução salina 0,9 % por via intramuscular (I.M.) na pata direita.
- Cont + WED 2 mg/Kg: receberam solução salina 0,9 % na pata direita, por via I.M. e, duas horas após, WED na dose de 2 mg/Kg por via I.M. na pata esquerda.
- Cont + WED 5 mg/Kg: receberam solução salina na pata direita, por via I.M. e, duas horas após, WED na dose de 5 mg/Kg por via I.M. na pata esquerda.
- Cont + WED 10 mg/Kg: receberam solução salina na pata direita, por via I.M. e, duas horas após, WED na dose de 10 mg/Kg por via I.M. na pata esquerda.
- *Bothrops jararacussu* (Bj): receberam 3,5 mg/Kg de veneno de Bj por via I.M. na pata direita.
- Bj + WED 2 mg/Kg: receberam 3,5 mg/Kg de veneno de Bj por via I.M. na pata direita e, após 2 horas, WED na dose de 2 mg/Kg por via I.M. na pata esquerda.

- Bj + WED 5 mg/Kg: receberam 3,5 mg/Kg de veneno de Bj por via I.M. na pata direita e, após 2 horas, WED na dose de 5 mg/Kg por via I.M. na pata esquerda.
- Bj + WED 10 mg/Kg: receberam 3,5 mg/Kg de veneno Bj por via I.M. na pata direita e, após 2 horas, WED na dose de 10 mg/Kg por via I.M. na pata esquerda.

O procedimento para intoxicação experimental foi o mesmo de descrito por (ROMANELLI et al, 2021). O tratamento com WED na via de administração I.M. foi utilizado para mimetizar um tratamento de rápida ação e de fácil aplicação necessário a um paciente que passou pelo envenenamento.

3.3 OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS BIOLÓGICAS

Após a indução da intoxicação pelo veneno de Bj, os animais foram alocados em gaiolas metabólicas por 24 horas, com livre acesso a água e ração (Linha Especialidades - Roedores, Ratos e Camundongos Laboratório). Após o período de 24 horas, os animais foram eutanasiados e foram obtidos o volume urinário (VU) e a ingestão de água (IA) de cada animal. As amostras de urina foram coletadas e centrifugadas a 1500 rpm por 5 minutos e o sobrenadante foi coletado e armazenado a temperatura de -80°C.

A eutanásia ocorreu por decapitação consciente para facilitar a obtenção de maior volume de plasma utilizado nas análises bioquímicas e para a preservação da atividade das enzimas no homogeizado. O sangue coletado em recipiente heparinizado e centrifugado a 3000 rpm por 30 minutos para obtenção de plasma. Após a centrifugação, o sobrenadante foi coletado e armazenado a temperatura de -80°C. Os rins foram coletados e metade do rim esquerdo de cada animal foi fixado em formol tamponado 10% para preparo dos blocos de parafina e preparação de lâminas histológicas.

3.4 DETERMINAÇÃO DO DANO MUSCULAR

Como a lesão muscular provocada pelo envenenamento é visível a olho nu (devido à intensa necrose e hemorragia muscular), a determinação da área muscular lesionada foi parametrizada como sendo a maior área de dano longitudinal provocada após envenenamento. Após identificação visual, foi utilizado paquímetro digital 150 mm (marca Mtx) para realização da medida de extensão da lesão. Os valores das medidas observados no paquímetro foram registrados sem nenhum cálculo adicional.

3.5 ANÁLISE DOS PARÂMETROS FISIOLÓGICOS RENAIIS

Para avaliação dos parâmetros fisiológicos renais foram realizadas análises bioquímicas laboratoriais de creatinina urinária e plasmática, cálculo da TFG, nitrogênio ureico plasmático e proteinúria.

3.5.1 CREATININA URINÁRIA E CREATININA PLASMÁTICA

O teste de creatinina urinária e plasmática foi realizado através do método cinético-colorimétrico (Gold Analisa, Cat:435, MS: 80022230066). O método possui a finalidade de quantificar a creatinina. Foram utilizadas as amostras de plasma e urina de todos os grupos experimentais. Os passo a passo é protocolado no kit, a reação final forma complexo colorimétrico cuja absorbância foi lida em leitor de placa para estimação da concentração de creatinina em mg/dL (SPECTRA MAX 250).

3.5.2 TAXA DE FILTRAÇÃO GLOMERULAR

A TFG foi determinada por meio das medidas de creatinina urinária e plasmática. Sendo realizadas através do cálculo matemático abaixo (SANTOS, 2020).

$$TFG = \frac{UCr \times VU}{PCr}$$

FÓRMULA 1. UCr representa a creatinina urinária em mg/dL. VU representa o volume urinário 24h/mL. PCr representa a creatinina plasmática em mg/dL.

3.5.3 NITROGÊNIO UREICO PLASMÁTICO

Para mensurar o nitrogênio ureico plasmático foi utilizado o método enzimático-colorimétrico (Gold Analisa, Cat:427, MS: 80022230063). Foi seguido o passo a passo instruído pelo kit. A reação final forma um composto químico de cor azul cuja absorbância foi lida em 600 nm, sendo proporcional a concentração de ureia presente na amostra de plasma de todos os grupos experimentais.

3.5.4 PROTEINÚRIA

A proteinúria foi realizada pelo método kit enzimático-colorimétrico (Gold Analisa, Cat:498, MS: 80022230078). Foram utilizadas amostras de urina de todos os grupos experimentais cujas proteínas em meio ácido reagem com componentes do kit (vermelho de pirogalol e o molibdato), formando um complexo colorido, sendo este diretamente proporcional à concentração de proteínas obtidas na amostra (Gold Analisa, Cat:498, MS: 80022230078).

3.6 ANÁLISE HISTOLÓGICA

O rim esquerdo foi seccionado transversalmente, processado e incorporado em blocos de parafina. Os blocos foram seccionados em micrótomo, gerando cortes histológicos (5 µm de espessura) que foram fixados em lâminas histológicas. Nas lâminas histológicas foi feita coloração com coloração Hematoxilina Eosina (HE), para avaliação da morfologia renal.

As etapas de processamento, preparação dos blocos histológicos e coloração dos mesmos foram realizadas por técnico patologista. Após finalizada a coloração, foi realizada a avaliação tecidual nos grupos experimentais, a análise histológica foi documentada com microscópio (DP72 Microscope Digital Camera) e as imagens mais representativas foram documentadas no presente trabalho.

A avaliação tecidual qualitativa foi feita por um avaliador cego, por se tratar de uma análise semiquantitativa, a fim de evitar viés de interpretação dos resultados.

3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos foram comparados através do programa GraphPad Prisma 8.3.0. A análise estatística foi feita através do teste One-Way ANOVA e pós-teste Tukey. Neste trabalho foi estabelecido um $p < 0,05$ como nível de significância sendo indicada por símbolos diferentes. Os resultados foram representados como média \pm erro padrão da média.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O presente estudo consiste em investigar se o tratamento com WED em diferentes doses reverte o dano muscular, a deterioração da função renal e o dano tecidual renal na LRA causada pela intoxicação experimental com *Bj*.

4.1 DETERMINAÇÃO DO DANO MUSCULAR

Na figura 6, não foi notado dano muscular nos grupos Cont ou nos grupos Cont + WED2, Cont + WED5 e Cont + WED10, de modo que não diferiram estatisticamente entre si. Entretanto, apresentaram diferença estatística comparados ao grupo Bj ($13,90 \pm 1,484$), demonstrando o intenso efeito do envenenamento sobre a musculatura. De fato, as miotoxinas BthTX-I e BthTX-II são as principais miotoxinas responsáveis pelo dano muscular decorrente do envenenamento. O danomuscular ocorre devido a mionecrose decorrente do veneno da serpente no local da picada, o que gera uma rabdomiólise (lise de células musculares esqueléticas, liberando para a corrente sanguínea substâncias intracelulares). A mionecrose pode ocorrer de maneira indireta (isquemia) ou de maneira direta (miotoxinas) (SANTOS, 2020). De acordo com o experimento de ROMANELLI et al. (2021), também foi observado um aumento da área lesionada no grupo envenenado por *Bothrops jararacussu* (ROMANELLI et al., 2021). Como pode ser percebido, a WED não reverteu o dano muscular provocado pelo envenenamento, sugerindo não haver uma ação farmacológica sobre o dano muscular local.

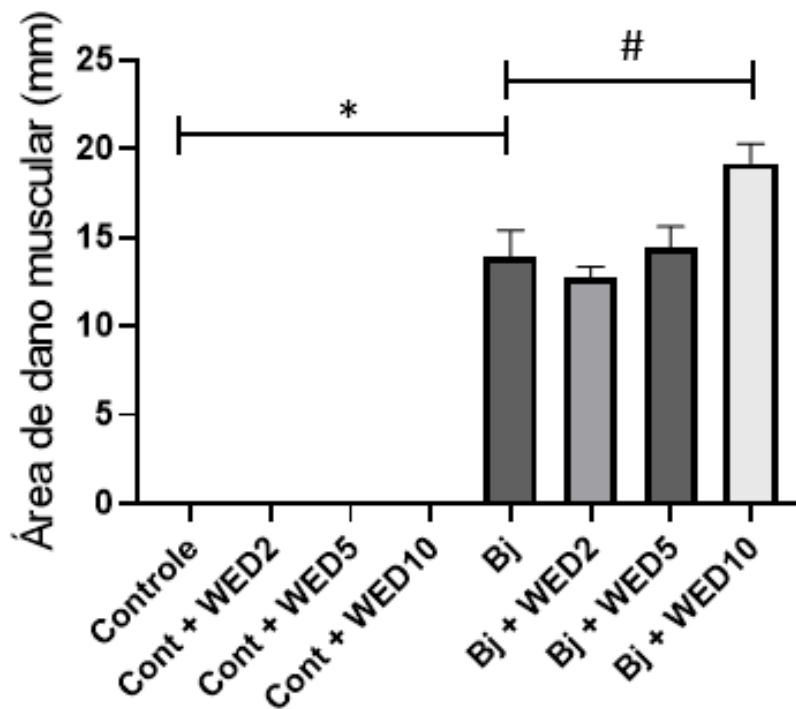


FIGURA 6. Avaliação da área de dano muscular 24 horas após a administração I.M. de solução salina 0,9% (cont), de salina 0,9% e WED (Cont + WED 2, 5 e 10 mg/Kg), de veneno (Bj, dose: 3,5 mg/Kg) e de veneno e WED (Bj + WED 2, 5 e 10 mg/Kg). Os resultados são expressos como média \pm EPM ($p < 0,05$; ANOVA seguido de pós teste Tukey).

4.2 INGESTÃO DE ÁGUA E VOLUME URINÁRIO

Os primeiros parâmetros relacionados a função renal avaliados foram IA e VU. É sabido que a oligúria é um quadro severo e determinante de LRA após evenenamento (ALBUQUERQUE et al 2013). Essas medidas são importantes para caracterizar a replicação do modelo de LRA após intoxicação experimental com Bj, e para avaliar se WED teve eficácia experimental em reverter esse importante marcador clínico de LRA.

Na figura 7, não foram observadas alterações na IA quando comparando todos os grupos experimentais, exceto pela redução da ingestão de água pelo grupo de tratamento com WED na dose de 10 mg/Kg, grupo Bj + WED10 ($27,00 \pm 1,274$), estatisticamente diferente comparado com o grupo Bj ($37,57 \pm 2,181$), mas não com o grupo Cont ($32,75 \pm 3,146$).

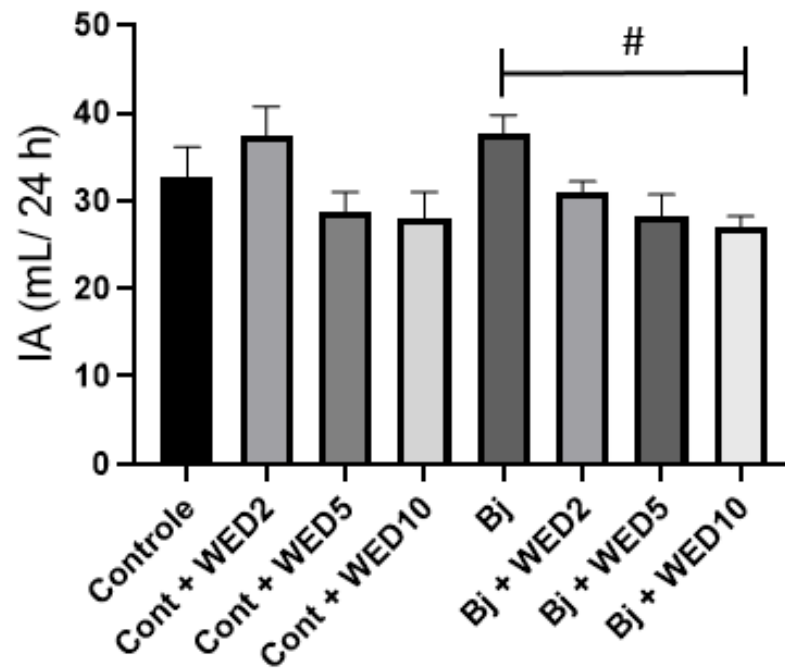


FIGURA 7. Ingestão de água 24 horas após a administração I.M. de solução salina 0,9% (cont), de salina 0,9% e WED (Cont + WED 2, 5 e 10 mg/Kg), de veneno (Bj, dose: 3,5 mg/Kg) e de veneno e WED (Bj + WED 2, 5 e 10 mg/Kg). Os resultados são expressos como média \pm EPM ($p < 0,05$; ANOVA seguido de pós teste Tukey).

Na figura 8, foi observado um aumento do VU do grupo Bj ($16,47 \pm 1,084$) se comparado com o grupo Cont ($12,09 \pm 0,5501$). Os grupos Cont + WED2 ($13,76 \pm 0,7916$), Cont + WED5 ($13,12 \pm 1,211$) e Cont + WED10 ($13,40 \pm 0,4561$) não são estatisticamente diferentes do grupo Cont. Bj + WED5 ($10,92 \pm 0,8823$) não apresenta diferença estatística quando comparado ao grupo Cont, porém apresenta diferença estatística quando comparado ao grupo Bj, revertendo o aumento do volume urinário, retornando aos valores de controle.

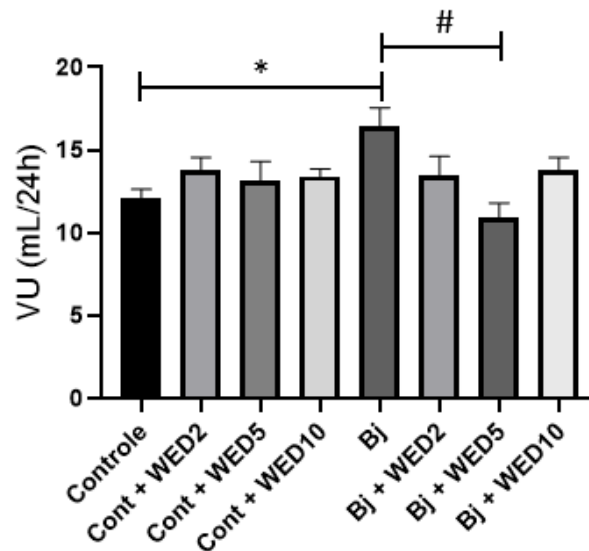


FIGURA 8. Medida de volume urinário 24 horas após a administração I.M. de solução salina 0,9% (cont), de salina 0,9% e WED (Cont + WED 2, 5 e 10 mg/Kg), de veneno (Bj, dose: 3,5 mg/Kg) e de veneno e WED (Bj + WED 2, 5 e 10 mg/Kg). Os resultados são expressos como média \pm EPM ($p < 0,05$; ANOVA seguido de pós teste Tukey).

Avaliando a figura referente à IA, não houve diferença entre os grupos experimentais, exceto no grupo e tratamento de maior dose. Este parâmetro é utilizado em consonância com o VU. Tal fato aponta que o envenenamento não altera a ingestão de água, que é consumida sem variabilidade quando comparados todos os grupos experimentais.

Os resultados de volume de urina excretada, por sua vez, demonstram que o grupo Bj teve um aumento no volume urinário comparado ao grupo controle e no grupo de animais que recebeu a WED na dose de 5 mg/Kg ocorreu uma reversão do aumento de VU provocado pelo envenenamento. Com esse resultado acredita-se que o volume de urina está relacionado com o envenenamento por Bj e com as concentrações utilizadas para avaliar o tratamento da WED, e não com o volume de IA, visto que, não foi percebido nenhuma diferença neste último para a dose de 5 mg/Kg.

Além disso, o aumento de VU pode estar relacionado a um efeito compensatório do aumento de soluto intra-tubular, e/ou a um mecanismo de desregulação de reabsorção tubular regulado pelo SRAA (GONSALEZ et al., 2018). Para testar a primeira hipótese investigamos a concentração de proteínas urinárias.

4.3 PROTEINÚRIA

Na figura 9, foi observado aumento do acúmulo de proteínas na urina no grupo Bj ($43,01 \pm 6,650$) se comparado ao grupo Cont ($20,14 \pm 1,583$). Não foi observado estatisticamente diferença entre os grupos Cont e os grupos Cont + WED2 ($19,82 \pm 1,090$), Cont + WED5 ($18,12 \pm 3,024$) e Cont + WED10 ($24,31 \pm 3,937$). Os grupos Bj + WED2 ($25,74 \pm 2,352$) e Bj + WED5 ($21,69 \pm 2,966$) apresentaram diferença estatística comparado ao grupo Bj, sugerindo que essas concentrações de WED revertem a intensa proteinúria induzida pelo veneno botrópico.

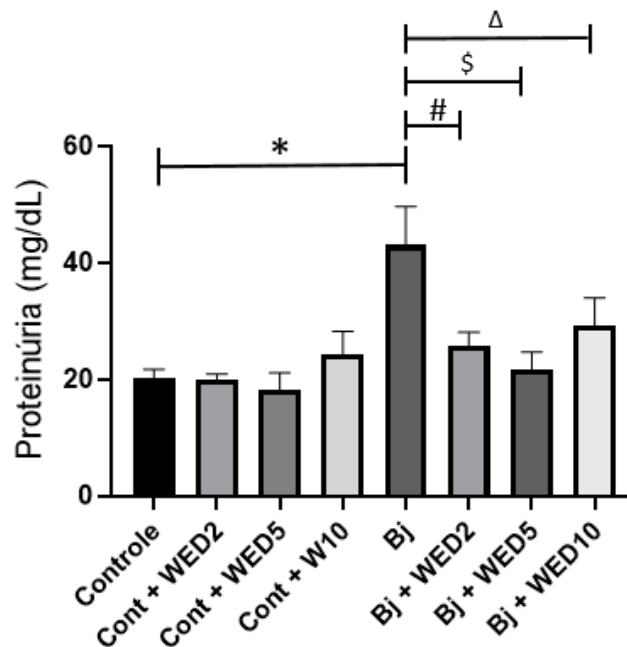


FIGURA 9. Proteinúria 24 horas após a administração I.M. de solução salina 0,9% (cont), de salina 0,9% e WED (Cont + WED 2, 5 e 10 mg/Kg), de veneno (Bj, dose: 3,5 mg/Kg) e de veneno e WED (Bj + WED 2, 5 e 10 mg/Kg). Os resultados são expressos como média \pm EPM ($p < 0,05$; ANOVA seguido de pós teste Tukey).

A proteinúria é uma condição renal onde ocorre a perda de proteínas pela urina acima do limite considerado normal (15 mg/dL ou 140 mg/24 horas); esse aumento no seu valor pode ser devido a uma lesão renal como: tumores renais, síndrome nefrótica e glomerulonefrite (GONSALEZ et al., 2019). Como dito por ROMANELLI et al. (2021), a proteinúria observada no modelo experimental de envenenamento por Bj pode ser causada devido a hemoglobinúria, albuminúria e devido a intensa mioglobinúria. Além disso, também pode ser observada em decorrência de um aumento de permeabilidade da barreira de filtração glomerular ou por uma alteração na reabsorção de proteínas de baixo peso molecular pelas células epiteliais presentes nos túbulos proximais

(ROMANELLI et al., 2021).

O aumento de proteinúria e VU também foi observada em outros modelos experimentais de LRA como a isquemia-reperfusão (CORTÊS et al, 2018; GONSALEZ et al, 2021). O tratamento com WED reverteu o acúmulo de proteínas na urina nas doses de 2 mg/Kg e 5 mg/Kg de WED. O experimento de YOSHIDA et al. (2018) também apresentou um aumento de proteinúria no grupo envenenado, assim como ressaltado no presente trabalho (YOSHIDA et al., 2018).

4.4 NITROGÊNIO URÉICO PLASMÁTICO

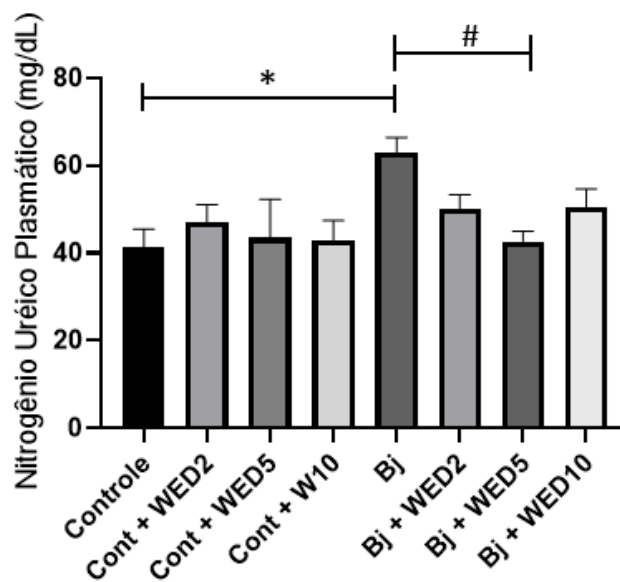


FIGURA 10. Nitrogênio Uréico Plasmático 24 horas após a administração I.M. de solução salina 0,9% (cont), de salina 0,9% e WED (Cont + WED 2, 5 e 10 mg/Kg), de veneno (Bj, dose: 3,5 mg/Kg) e de veneno e WED (Bj + WED 2, 5 e 10 mg/Kg). Os resultados são expressos como média ± EPM ($p < 0,05$; ANOVA seguido de pós teste Tukey).

Na figura 10, foi observado acúmulo de nitrogênio ureico plasmático no grupo Bj ($62,88 \pm 3,538$) se comparado com o grupo Cont ($41,31 \pm 4,222$). Não houve diferença estatística entre o grupo Cont e os grupos Cont + WED2 ($47,18 \pm 3,874$), Cont + WED5 ($43,46 \pm 8,867$) e Cont + WED10 ($42,94 \pm 4,474$). Entretanto, verificou-se diferença entre o grupo Bj e o grupo Bj + WED5 ($42,65 \pm 2,365$), sendo essa dose a única que reverteu esse parâmetro.

O acúmulo de nitrogênio ureico é uma condição renal onde se avalia o nível de nitrogênio presente no sangue em forma de ureia, sendo essa excretada pelos rins (excedente do metabolismo de proteínas). Seus níveis aumentados podem ocorrer

devido à nefrite ou ao desenvolvimento de LRA (RIVADENEYRA-DOMÍNGUEZ et al., 2018). No modelo experimental de ratos Wistar de LRA pré-renal, decorrente da redução do aporte sanguíneo para os rins como a isquemia-reperfusão, houve redução da TFG e o aumento de nitrogênio ureico de plasmático, um marcador importante de redução da função renal (CÔRTEZ et al., 2018; GONSALEZ et al., 2021).

O modelo experimental de envenenamento botrópico em ratos Wistar utilizados por SOEIRO et al. (2021) e de ROMANELLI et al. (2021) também apresentou um acúmulo de nitrogênio ureico no grupo envenenado, assim como observado neste trabalho. A WED na dose de 5 mg/Kg reverteu esse importante marcador de LRA advinda da intoxicação experimental com Bj.

4.5 CREATININA PLASMÁTICA, CREATININA URINÁRIA E TAXA DE FILTRAÇÃO GLOMERULAR

Na figura 11, foi observado um acúmulo de creatinina plasmática no grupo Bj ($0,5867 \pm 0,05493$) em comparação ao grupo Cont ($0,2817 \pm 0,04175$). Os grupos Cont + WED2 ($0,1980 \pm 0,04259$), Cont + WED5 ($0,1967 \pm 0,04910$) e Cont + WED10 ($0,5633 \pm 0,1172$) não apresentaram diferença estatística com o grupo Cont. Estatisticamente, os grupos Bj + WED5 ($0,3414 \pm 0,05239$) e Bj + WED10 ($0,2930 \pm 0,06155$) apresentaram diferença quando comparados ao grupo Bj, ou seja, ambas as doses reverteram o acúmulo de creatinina plasmática provocado pelo veneno de Bj.

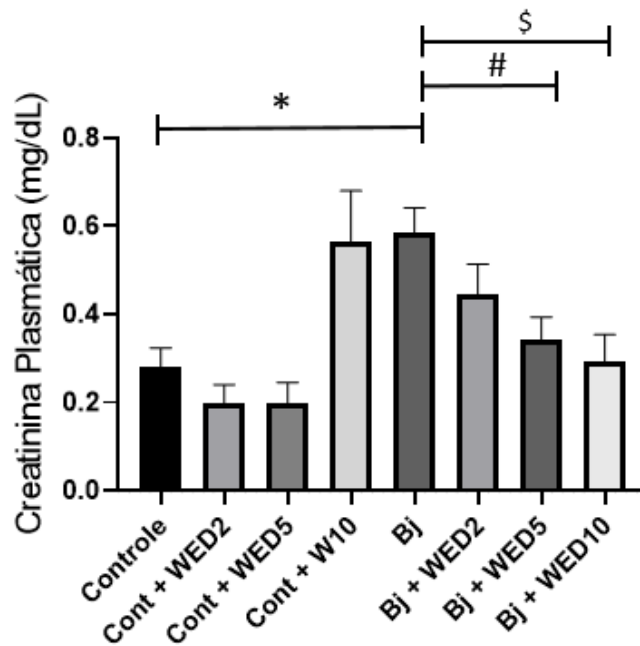


FIGURA 11. Creatinina Plasmática 24 horas após a administração I.M. de solução salina 0,9% (cont), de salina 0,9% e WED (Cont + WED 2, 5 e 10 mg/Kg), de veneno (Bj, dose: 3,5 mg/Kg) e de veneno e WED (Bj + WED 2, 5 e 10 mg/Kg). Os resultados são expressos como média \pm EPM ($p < 0,05$; ANOVA seguido de pós teste Tukey).

Na figura 12, foi observado uma diminuição de creatinina urinária no grupo Bj ($31,13 \pm 0,9385$) se comparado ao grupo Cont ($42,05 \pm 2,860$). No entanto, não foi observado diferença estatística entre os demais grupos experimentais.

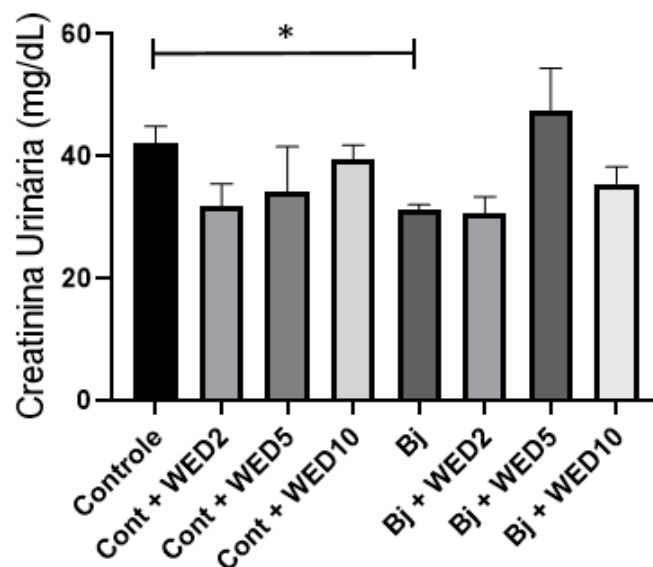


FIGURA 12. Creatinina Urinária 24 horas após a administração I.M. de solução salina 0,9% (cont), de salina 0,9% e WED (Cont + WED 2, 5 e 10 mg/Kg), de veneno (Bj, dose: 3,5 mg/Kg) e de veneno e WED (Bj + WED 2, 5 e 10 mg/Kg). Os resultados são expressos como média \pm EPM ($p < 0,05$; ANOVA seguido de pós teste Tukey).

A creatinina plasmática apresentou-se elevada no grupo envenenado e a dose que reverteu esse aumento foi a dose de 10 mg/Kg de WED. Já a creatinina urinária, em consequência do aumento da creatinina plasmática, se apresentou diminuída no grupo envenenado em relação ao grupo controle, porém nenhuma dose do tratamento com WED reverteu esse efeito. Assim como ocorrido neste experimento, os resultados de ROMANELLI et al. (2021) também apresentaram acúmulo de creatinina plasmática e uma diminuição de creatinina urinária no grupo envenenado, quando comparado com o grupo controle (ROMANELLI et al., 2021).

Na figura 13, foi observada uma elevação da TFG no grupo Bj (2606 ± 359,5) em comparação com o grupo Cont (1165 ± 107,0). Os grupos Bj + WED2 (888,7 ± 235,8), Bj + WED5 (1424 ± 223,9) e Bj + WED10 (1305 ± 205,0) não apresentaram diferença estatística com o grupo Cont. No entanto, todos esses grupos apresentaram diferença estatística com o grupo Bj, demonstrando que todas as doses de WED avaliadas reverteram a elevação da taxa de filtração glomerular.

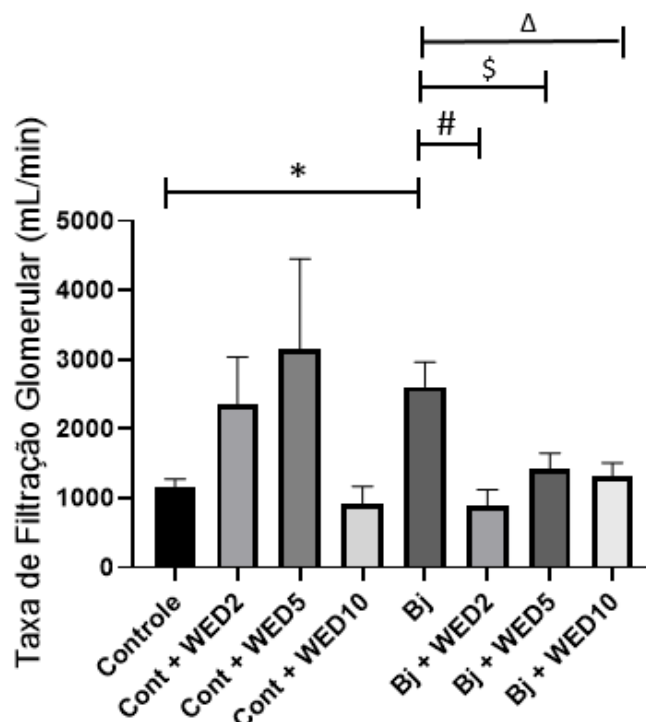


FIGURA 13. Taxa de Filtração Glomerular 24 horas após a administração I.M. de solução salina 0,9% (cont), de salina 0,9% e WED (Cont + WED 2, 5 e 10 mg/Kg), de veneno (Bj, dose: 3,5 mg/Kg) e de veneno e WED (Bj + WED 2, 5 e 10 mg/Kg). Os resultados são expressos como média ± EPM ($p < 0,05$; ANOVA seguido de pós teste Tukey).

O aumento da TFG no envenenamento é similar ao encontrado por HAVT e colaboradores (2001) em um experimento *ex vivo* de envenenamento em rim isolado de ratos Wistar. Nesse trabalho foi observado aumento do VU, acompanhado por um aumento da TFG após infusão com veneno de *Bothrops jararacussu* (30µg/mL). Esse dano renal parece estar relacionado com a ação da PLA e sua atividade mitotóxica ou devido a produção do fator de ativação plaquetária (PAF) (BRAGA, 2006). Neste presente trabalho, sugere-se que a intensa rabdomiólise provocada pelo envenenamento aumenta o aporte de proteínas, aumentando a pressão hidrostática glomerular, promovendo aumento da TFG.

O estudo experimental de NORÕES (2009) também demonstrou um aumento do volume urinário e um aumento na TFG decorrentes do efeito do veneno de *Bothrops atrox* em comparação com o grupo controle, assim como foi visto no presente estudo. Em contrapartida, no estudo experimental de BRAGA (2006), o fluxo urinário e a taxa de filtração glomerular mostraram diminuição em comparação ao grupo controle, utilizando veneno de *Bothrops insularis* no grupo envenenado (BRAGA, 2006). Tais resultados demonstram que o tipo de insulto que leva a alteração da TFG (aumento ou redução) parece ser espécie-dependente ou a depender do modelo experimental adotado. No entanto, a oligúria, intensa proteinúria, aumento de nitrogênio ureico plasmático, somado ao acúmulo de creatinina plasmática reflete o modelo de LRA clinicamente estabelecido. Para caracterizar as lesões glomerulares e tubulares decorrentes do envenenamento e do tratamento com WED a morfologia do tecido renal foi analisada.

4.6 ANÁLISE MORFOLÓGICA COM A COLORAÇÃO HEMATOXILINA – EOSINA (HE).

Nas figuras 14 e 15 demonstra a histologia do tecido renal nos aumentos de 20X e 40X, respectivamente. Foi observado que o grupo Cont apresenta uma estrutura preservada do seu tecido renal, com os glomérulos, cápsula de Bowman e túbulos renais conservados em sua estrutura observada em condições fisiológicas.

Entretanto, para o tecido renal do grupo Bj, no aumento de 20X, foi observado alteração da estrutura renal, com desorganização tecidual marcada por espaços entre os túbulos renais. No aumento de 40X, fica melhor demonstrada a atrofia glomerular que, conseqüentemente, acarreta em aparente dilatação do espaço da cápsula de

Bowman (Figura 15). Além disso, também foi observado epitélio tubular proximal desnudado com perda de borda em escova (*) e necrose tubular (seta), importante marcado de LRA.

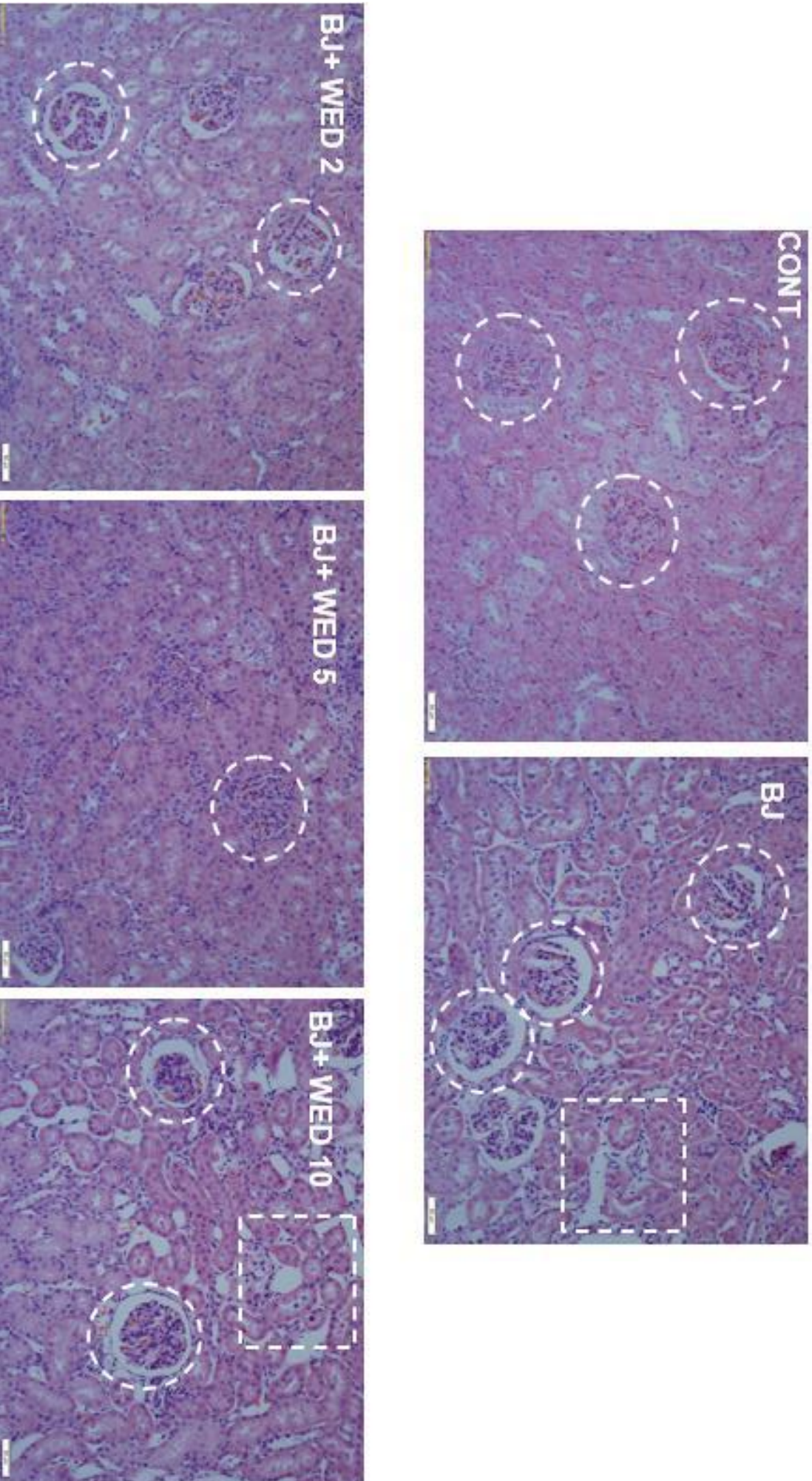


FIGURA 14. Efeito dos tratamentos sobre o tecido renal. Aumento de 20x. Glomérulo (círculo) e desorganização tecidual com espaços entre os túbulos renais (quadrado).

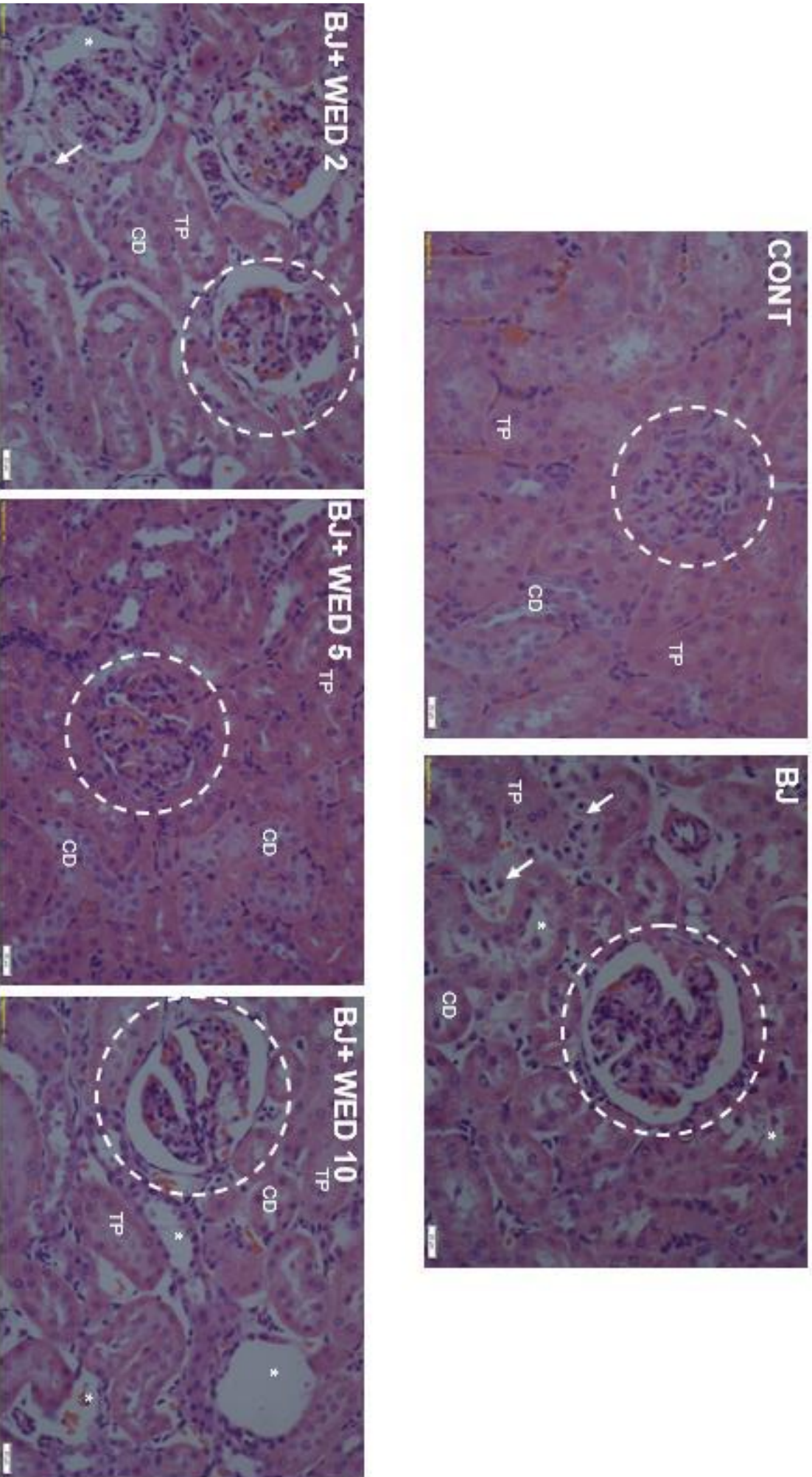


FIGURA 15. Efeito dos tratamentos sobre o tecido renal. Aumento de 40x. (*) epitélio desnudado; (seta) necrose tubular; (círculo) glomérulo.

O estudo histológico de BRAGA (2006) apresentou resultados parecidos com o deste estudo, como a necrose tubular e danos na borda em escova nas células dos túbulos proximais. O estudo de MARINHO et al. (2021) também apresentou mudanças no tecido renal, como danos nos túbulos renais e nos glomérulos decorrentes do envenenamento por *Bothrops jararaca*. Nesse modelo foi apresentada diminuição do glomérulo e aumento do espaço da cápsula de Bowman (MARINHO et al., 2021).

A administração de 3,5 mg/Kg do veneno provocou na região cortical a segmentação glomerular. Foi atribuído o escore 4, que representa que entre 75-100% dos glomérulos em cada campo de análise apresentaram alterações morfológicas. Qualitativamente, os glomérulos aparentavam o aumento do espaço de Bowman. Também foi observada a desorganização do córtex renal e a perda da continuidade tecidual, representada por grandes espaços com ausência de tecido na figura (Figura 14 e Figura 15).

No grupo Bj + WED2 (figura 14 e 15) não foi observada modificação das características do tecido renal quando comparado com o grupo Bj e sugere que essa dose não é suficiente para reverter os danos causados pelo envenenamento por Bj.

No grupo Bj + WED5 (figura 14 e 15) foi observado que o tecido apresenta características mais similares ao grupo Cont, apresentando uma diminuição do lúmen tubular, glomérulos e espaço da cápsula de Bowman preservados, e presença de borda em escova íntegra (parcialmente perdida no grupo Bj). De modo geral, a dose de Bj + WED5 parece reverter os danos teciduais causados pelo veneno de Bj. Já na dose de Bj + WED10 (figura 14 e 15) o tecido aparenta ter características histológicas mais similares àquelas observadas no grupo Bj. Para afirmar esse resultados, são necessário mais experimentos como a quantificação do espaço de Bowman, avaliação e quantificação da deposição de colágeno e confecção do score de dano tecidual em todos os grupos experimentais.

No entanto, o tratamento com as doses de 2, 5 e 10 mg/Kg de WED recuperam a TFG, sendo também um indicador do número de néfrons funcionais. Como medida fisiológica, é considerado mais sensível e específico marcador de mudanças na função renal (GREGORCZYK, 2012). O fato do tratamento na dose de 10 mg/Kg reverter o aumento da TFG, mas não reverter o aumento de proteinúria e acúmulo de nitrogênio ureico reforçam a não recuperação da lesão tecidual renal advindo do envenenamento. Futuramente, esse animal pode desenvolver deterioração da função

renal, com evolução para a DRC. Tal fato, evidencia a necessidade da caracterização de marcadores renais prévios e mais específicos para LRA. A literatura já aponta alguns marcadores em modelos de LRA, como KIM-1, NGAL e TIMP3 (GONSALEZ et al, 2020).

No presente estudo a WED na dose de 5 mg/Kg se mostrou reverteu o aumento do volume urinário, a elevação da proteinúria, o acúmulo de nitrogênio uréico e aumento de creatinina plasmática. Além de diminuir a taxa de filtração glomerular (aumentada em animais envenenados) e de ser mais efetiva na reversão dos danos no tecido renal, provocados pelo veneno de Bj. Entretanto, não se sabe através de qual mecanismo de ação da WED esses processos ocorrem, uma vez que a WED não possui seu mecanismo completamente elucidado, principalmente por se tratar de uma molécula que apresenta ações pleiotrópicas.

Como é descrito pela literatura, a WED possui efeito hepatoprotetor, antioxidante, antitumoral, anti-inflamatório, imunomodulador entre outros. A fisiopatologia da LRA é caracterizada pela ativação de mediadores inflamatórios, expressão tecidual de marcadores de fibrose, além do aumento de espécies reativas de oxigênio e ativação do SRAA (PAN et al., 2020; ZHU et al., 2019). Com isso, neste presente trabalho, acredita-se que a WED reverta os danos renais causados por Bj através de suas propriedades antioxidantes, antifibróticas e anti-inflamatórias.

O estudo de ZHU e colaboradores (2019) demonstrou que a WED reverteu a inflamação nos podócitos renais e atenuou os níveis de citocinas relacionadas ao estresse oxidativo causado pela antineoplásico DOX.

Ademais, pode-se sugerir que a WED regula o estresse oxidativo aumentando a atividade de superóxido Dismutase (SOD), catalase (CAT) e Glutathione Peroxidase (GSH-Px), enzimas antioxidantes, e diminuindo a atividade de Malondialdeído (MDA), marcador de estresse oxidativo. Essas enzimas estão envolvidas no desenvolvimento de estresse oxidativo e, portanto sua regulação é evitar o dano podocitário e a proteinúria, visto que o estresse oxidativo contribui para a proteinúria, dano podocitário e esclerose glomerular (ZHU et al., 2019).

Por fim, um estudo realizado por ZHI et al. (2021), com células renais HK-2 também demonstrou que a WED atenuou a secreção de citocinas inflamatórias induzida por LPS, assim como, diminuiu a apoptose celular nas células HK-2 (YANG et al., 2019). Por esse motivo, acredita-se que reversão da LRA causada por

intoxicação experimental com B_j pode envolver atenuação de mediadores inflamatórios.

5 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste estudo demonstram que:

1. A WED na dose de 5 mg/Kg reverteu a maioria dos parâmetros renais funcionais avaliados nesse trabalho, sendo eles o aumento do volume urinário, o aumento da TFG, o acúmulo de proteinúria, aumento de creatinina plasmática e elevação de nitrogênio ureico plasmático. Ademais, qualitativamente, foi a dose com melhor perfil na atenuação de danos no tecido renal causados pelo veneno de Bj.
2. As três doses de WED utilizadas (2 mg/Kg, 5 mg/Kg e 10 mg/Kg) reverteram o aumento da TFG e aumento de proteinúria observado no grupo envenenado. No entanto, a dose de 5 mg/Kg teve efeito preponderante sobre a oligúria e aumento de nitrogênio ureico plasmático, dois importantes marcadores de LRA.
3. As doses de 5 mg/Kg e 10 mg/Kg reverteram o aumento de creatinina plasmática. No entanto, como visa-se utilizar a menor dose terapêutica que reverta o efeito deletério provocado pelo envenenamento, a dose de 5 mg/Kg foi considerada a mais promissora sobre a deterioração da função renal.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AIRES, M. de M. Fisiologia renal. *In*: AIRES, M. de M. **Fisiologia**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. p. 679-778.

ALBUQUERQUE, P. L. M. M. *et al.* **Acute kidney injury caused by crotalus and bothrops snake venom: a review of epidemiology, clinical manifestations and treatment**. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, São Paulo, v. 55, n. 5, p. 295-301. 2013. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rimtsp/a/8Qy9RKGjGFSTfZc3kSZ3KQc/?lang=en>. Acesso em: 3 maio 2021.

ALCALDE, P. R.; KIRSZTAJN, G. M. **Gastos do sistema único de saúde brasileiro com doença renal crônica**. Brazilian Journal Nephrology, São Paulo, v. 40, n. 2, p. 122-129. 2018. Disponível em: <https://www.bjnephrology.org/article/gastos-do-sistema-unico-de-saude-brasileiro-com-doenca-renalcronica/>. Acesso em: 17 jul. 2022.

ANALISA. Creatina: **Kit para determinação da creatinina por metodologias colorimétrica de ponto final e cinética de dois pontos**. Belo Horizonte: Gold Analisa, 2013. Disponível em: http://www.goldanalisa.com.br/arquivos/%7B3043050F-F4B2-40C2-97AE-78BA9351869D%7D_creatinina.PDF. Acesso em: 5 maio 2022.

ANALISA. Proteinúria - PP: **Kit para determinação da proteinúria por metodologia colorimétrica**. Belo Horizonte: Gold Analisa, 2012. Disponível em: http://www.goldanalisa.com.br/arquivos/%7B3F8C9B94-416C-46EF-A554-DF866AF106C9%7D_proteinuria_pp.PDF. Acesso em: 5 maio 2022.

ANALISA. Uréia - PP: **Kit para determinação da ureia por metodologia enzimática-colorimétrica**. Belo Horizonte: Gold Analisa, 2012. Disponível em: http://www.goldanalisa.com.br/arquivos/%7B8E5B47D6-7A25-4ADE-90F0-B8A7C9443D1A%7D_UREIA_PP.PDF. Acesso em: 5 maio 2022.

ARAGÃO, E. A. **Efeito da suramina na atividade da fosfolipase A2 secretada humana do grupo IIA**. 2008. 94 f. Tese (Doutorado em Química) - Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2008. Disponível em: https://teses.usp.br/teses/disponiveis/59/59138/tde-26052009-181259/publico/tese_lica_final.pdf. Acesso em: 18 jul 2022.

BARRETT, K. E. *et al.* **Ganong's review of medical physiology**. 25th ed. Beijing: McGraw-Hill Education, 2016.

BARROS, M. A. de. **Análise comparativa do potencial de migração de células-tronco imaturas de polpa dentária humana em ratos induzidos a necrose tubular aguda utilizando as vias: intraperitoneal e endovenosa**. 2011. 81 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011. Disponível em: <https://silo.tips/download/analise-comparativa-do-potencial-de-migraao-de-celulas-tronco-imaturas-de-polpa>. Acesso em: 17 jul. 2022.

BERNARDE, P. S. **Acidentes ofídicos**. Floresta: UFAC, 2009. Disponível em: <http://www.herpetofauna.com.br/ofidismobernarde.pdf>. Acesso em: 20 ago. 2021.

BHARGAVA, P.; SCHNELLMANN, R.G. **Mitochondrial energetics in the kidney**. Nature Reviews Nephrology. [S. l.], v. 13, n. 10, p. 629–646, Out. 2017. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5965678/>. Acesso em: 17 jul. 2022.

BRAGA, M. D. M. **Avaliação dos efeitos vasculares e renais do veneno de bothrops insularis e de frações isoladas**. 2006. 238 f. Tese (Doutorado em Medicina) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2006. Disponível em: <https://repositorio.ufc.br/handle/riufc/2751>. Acesso em: 17 jun. 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Com a chegada do verão, Brasil registra maior número de acidentes com animais peçonhentos: saiba como prevenir**. Brasília, Distrito Federal, 2021. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/noticias/2021-1/novembro/com-a-chegada-do-verao-brasil-registra-maior-numero-de-acidentes-com-animais-peconhentos-saiba-como-prevenir>. Acesso em: 4 abr. 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Ministério da Saúde alerta para os impactos dos acidentes relacionados às picadas de cobras**. Brasília, Distrito Federal, 2021. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/noticias/2021-1/setembro/ministerio-da-saude-alerta-para-os-impactos-dos-acidentes-relacionados-as-picadas-de-cobras>. Acesso em: 4 abr. 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Monitoramento dos casos de arboviroses urbanas causados por vírus transmitidos pelo mosquito aedes (dengue, chikungunya e zika), semanas epidemiológicas 1 a 37, 2021**. Boletim Epidemiológico, Brasília, Distrito Federal, v. 52, n. 34, p. 1-27, out. 2021. Disponível em: [govhttps://www.antes-por-abelhas-1/arquivos/boletim-epidemiologico-34-vol-52-out-21-epidemiologia-dos-acidentes-ofidicos.pdf](https://www.antes-por-abelhas-1/arquivos/boletim-epidemiologico-34-vol-52-out-21-epidemiologia-dos-acidentes-ofidicos.pdf). Acesso em: 4 abr. 2022.

BRITO, T. N. de S.; OLIVEIRA, A. R. de A.; SILVA, A. K. C. da. **Taxa de filtração glomerular estimada em adultos: características e limitações das equações utilizadas**. Revista Brasileira de Análises Clínicas, Rio de Janeiro, v. 48, n. 1, p. 7-12, 2016. Disponível em: http://www.rbac.org.br/wp-content/uploads/2016/05/ARTIGO-1_VOL-48_1_-2016-ref-370.pdf. Acesso em: 5 jul. 2021.

BURDMANN, E. A.; VIVEKANAND, J. **Acute kidney injury due to tropical infectious diseases and animal venoms: a tale of 2 continents**. Kidney International, Paris, v. 91, n. 5, p. 1033-1046, maio 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28088326/>. Acesso em: 19 maio 2021.

CARVALHO, M. B. Semiologia do sistema urinário. In: FEITOSA, F. L. F. (org.). **Semiologia veterinária: a arte do diagnóstico**. Roca, 2014. p. 428-448.

CHOU, Y.; HUANG, T.; CHU, T. **Novel insights into acute kidney injury: chronic kidney disease continuum and the role of renin–angiotensin system.** Journal of the Formosan Medical Association, [S. l.], v. 116, n. 9, p. 652-659, Sept. 2017.

Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0929664617303017>. Acesso em: 17 jul. 2022.

CORTÊS, A. L. *et al.* **Protective outcomes of low-dose doxycycline on renal function of Wistar rats subjected to acute ischemia/reperfusion injury.**

Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease. v. 1864, n. 1, p. 102-114. Janeiro, 2018. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0925443917303605>. Acesso em: 23 maio. 2022.

CUONG, T. T. *et al.* **Wedelolactone from vietnamese eclipta prostrata (l) l. protected zymosan-induced shock in mice.**

Iranian Journal of Pharmaceutical Research, Teerão, v. 2, n. 17, p. 653-660, 2018. Disponível em:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29881422/>. Acesso em: 2 jun. 2021.

CURI, R.; PROCOPIO, J. **Fisiologia básica: Fisiologia renal.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009. p. 507-548.

EATON, D. C.; POOLER, J. P. **Fisiologia renal de Vander.** 8. ed. Rio de Janeiro: Artmed, 2015.

ENNA, S. J.; BYLUND, D. B. (ed.). **xPharm: the comprehensive pharmacology reference.** [S. l.]: Elsevier, 2007.

FUNDAÇÃO EZEQUIEL DIAS (FUNED). **Soro antibotrópico (pentavalente) e anticrotálico.** Belo Horizonte, 2018. Disponível em:

<http://www.funed.mg.gov.br/soro-antibotropico-pentavalente-e-anticrotalico/>. Acesso em: 9 ago. 2021.

GARDINER, S. M. *et al.* **Regional and cardiac haemodynamic responses to glyceryl trinitrate, acetylcholine, bradykinin and endothelin-1 in conscious rats: effects of ng-nitro-l-arginine methyl ester.**

British Journal Of Pharmacology, [S.L.], v. 101, n. 3, p. 632-639, nov. 1990. Disponível em:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2127552/>. Acesso em: 04 fev. 2022.

GÓMEZ-BETANCUR, I. *et al.* **Perspective on the therapeutics of anti-snake venom.** Molecules, [S. l.], v. 24, n. 18, p. 3276, Sep. 2019. Disponível em:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31505752/>. Acesso em: 1 ago. 2021.

GONÇALVES-MACHADO, L. *et al.* **Combined venomomics, venom gland transcriptomics, bioactivities, and antivenomics of two bothrops jararaca populations from geographic isolated regions within the brazilian atlantic rainforest.**

Journal of Proteomics, [S. l.], v. 135, p. 73-89, Mar. 2016. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1874391915002213>. Acesso em: 15 ago. 2021.

GONSALEZ, S. R. *et al.* **Acute kidney injury overview: from basic findings to new prevention and therapy strategies.** *Pharmacology & Therapeutics*, [S. l.], v. 200, p. 1-12, ago. 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0163725819300580>. Acesso em: 15 maio 2022.

GONSALEZ, S. R. *et al.* **Inappropriate activity of local renin-angiotensin-aldosterone system during high salt intake: impact on the cardio-renal axis.** *Brazilian Journal Of Nephrology*, São Paulo, v. 40, n. 2, p. 170-178, 18 jun. 2018. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/jbn/a/tSXsxrKfpg97dyFSdFf5jWN/?lang=pt>. Acesso em: 10 maio 2022.

GREGORCZYK, A. P. E. M. **Ritmo de filtração glomerular: o que há de novo?.** 2012. 18 f. Monografia (Especialização em Análises Clínicas) - Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2012. Disponível em: <https://acervodigital.ufpr.br/handle/1884/44638?show=full>. Acesso em: 15 fev. 2022.

GUTIÉRREZ, J. M.; LOMONTE, B. **Local tissue damage induced by Bothrops snake venoms.** A review. *Mem. Inst. Butantan*, São Paulo, v. 4, n. 51, p. 211-223, set. 1989. Disponível em: <https://bibliotecadigital.butantan.gov.br/arquivos/104/PDF/10.pdf>. Acesso em: 08 jul. 2021.

GUTIÉRREZ, J. M.; OWNBY, C. L. **Skeletal muscle degeneration induced by venom phospholipases A2: insights into the mechanisms of local and systemic myotoxicity.** *Toxicon*, Butantã, v. 42, n. 8, p. 915-931, Dec. 2003. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15019491>. Acesso em: 10 jul. 2022.

HALL, J. E.; GUYTON, A. C. **Tratado de Fisiologia Médica.** 12. Ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011. 1173 p.

HAN, S.J.; LEE, T. **Mechanisms and therapeutic targets of ischemic acute kidney injury.** *Kidney Research and Clinical Practice* [S.l.], v.38, n. 4, p. 427-440, dez. 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31537053/>. Acesso em: 04 jun. 2022.

HOSTE, E. A. J. *et al.* **Global epidemiology and outcomes of acute kidney injury.** *Nature Reviews Nephrology*, [S. l.], v. 14, n. 10, p. 607-625, 22 ago. 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30135570/>. Acesso em: 07 jul. 2021.

JORGE, R. J. B. **Inibição dos efeitos locais do veneno de Bothrops pauloensis por alcalóides esteroidais de Solanum campaniforme Roem & Schult. (Solanaceae).** 2011. 84 f. Dissertação (Mestrado em Medicina) – Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Universidade Federal do Paraná, Fortaleza, 2011. Disponível em: <https://repositorio.ufc.br/handle/riufc/2625>. Acesso em: 7 jul. 2021.

KELLUM, J. A. *et al.* **Acute kidney injury.** *Nature Reviews Disease Primers*, [S. l.], v. 7, n. 1, p. 1-17, 15 jul. 2021. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41572-021-00284-z>. Acesso em: 14 jun. 2022.

KIRSZTAJN, G. M. **Avaliação de Função Renal**. Journal Brazilian Nephrology, São Paulo, v. 31, n. 1, p. 14-20, 2009. Disponível em: <https://www.bjnephrology.org/article/avaliacao-de-funcao-renal/>. Acesso em: 10 ago. 2021.

LIMA, A. C. S. F.; CAMPOS, C. E. C.; RIBEIRO, J. R. **Perfil epidemiológico de acidentes ofídicos do estado do Amapá**. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, Brasília, DF, v. 42, n. 3, p. 329-335, jun. 2009. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rsbmt/a/L3dY7TwGxLJcDY7vgDH5NGJ/abstract/?lang=pt>. Acesso em: 20 mar. 2022.

LIMA, J. S. *et al.* **Perfil dos acidentes ofídicos no norte do estado de Minas Gerais, Brasil**. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, Brasília, DF, v. 42, n. 5, p. 561-564, out. 2009. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rsbmt/a/VkcFZG3KnT8z88X33yRB9Yn/abstract/?lang=pt>. Acesso em: 20 mar. 2022.

LU Y. *et al.* **Protective effect of wedelolactone against CCl₄-induced acute liver injury in mice**. International Immunopharmacology [S. l.], v.34, p.44-52, mai. 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1567576916300388>. Acesso em 02 ago. 2022.

LUFT, J. *et al.* **Lesão renal aguda em unidade de tratamento intensivo: características clínicas e desfechos**. Redalyc, Paraná, v. 21, n. 2, p. 01-09, abr. 2016. Disponível em: <https://www.redalyc.org/journal/4836/483653650010/483653650010.pdf>. Acesso em: 20 mar. 2022.

MAGRO, M. C. da S.; VATTIMO, M. de F. F. **Avaliação da função renal: creatinina e outros biomarcadores**. Revista Brasileira de Terapia Intensiva, [S. l.], v. 19, n. 2, p. 182-185, jun. 2007. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbti/a/XRyHX6vtXhydFmL59h8dnzp/abstract/?lang=en>. Acesso em: 5 jun. 2021.

MARINHO, A. D. *et al.* **Bothrops pauloensis snake venom-derived Asp-49 and Lys-49 phospholipases A₂ mediate acute kidney injury by oxidative stress and release of inflammatory cytokines**. Toxicon, [S. l.], v. 190, p. 31-38, jan. 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S004101012030951X>. Acesso em: 21 jun. 2022.

MATOS, R. E.; IGNOTTI, E. **Incidência de acidentes ofídicos por gêneros de serpentes nos biomas brasileiros**. Ciência & Saúde Coletiva, Rio de Janeiro, v. 25, n. 7, p. 2837-2846, jul. 2020. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/csc/a/5vmd4rwxqHZbGbjb67J7QVL/abstract/?lang=pt>. Acesso em: 20 mar. 2022.

MCANINCH, J. W.; LUE, T. F. **Urologia geral de Smith e Tanagho**. [S. l.]: Mc Graw Hill, 2014.

MELO, P. A. *et al.* **Inhibition of the myotoxic and hemorrhagic activities of crotalid venoms by *Eclipta prostrata* (Asteraceae) extracts and constituents.** *Toxicon*, [S. l.], v. 32, n. 5, p.595-603, mai. 1994. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0041010194902070>. Acesso em: 04 jun. 2021.

MELO, P. A. *et al.* **Ability of a synthetic coumestan to antagonize Bothrops snake venom activities.** *Toxicon*, [S. l.], v. 55, n. 2-3, p. 488-496, fev. 2010. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19883675/>. Acesso em: 04 jun. 2021.

MELO, P. A.; OWNBY, CL. **Ability of wedelolactone, heparin, and *para*-bromophenacyl bromide to antagonize the myotoxic effects of two crotaline venoms and their PLA2 myotoxins.** *Toxicon*, [S. l.], v. 37, n.1, p.199-215, jan. 1999. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0041010198001834>. Acesso em: 05 jun. 2021.

MORAES, C. A. de; COLICIGNO, P. R. C. **Estudo morfofuncional do sistema renal.** *Anuário da Produção Acadêmica Docente*, [S. l.], v.1, n.1, p. 161-167, 2007. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Carlos-Moraes-4/publication/350496277_Estudo_morfofuncional_do_sistema_renal/links/60634d0b92851cd8ce7ab07f/Estudo-morfofuncional-do-sistema-renal.pdf. Acesso em: 8 mar. 2022.

NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. **PubChem compound summary for CID 5281813, Wedelolactone.** National Library of Medicine, 2004. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Wedelolactone>. Acesso em: 8 abr. 2022.

NEHYBOVÁ T. *et al.* **Wedelolactone acts as proteasome inhibitor in breast cancer cells.** *International Journal of Molecular Science*. [S. l.], v. 18, n.4, p.729, 2017. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5412315/>. Acesso em: 08 maio. 2022.

NORÕES, T. B. S. de. **Efeitos renais promovidos pelo veneno de serpente *Bothrops atrox* e a produção de óxido nítrico.** 2009. 85 f. Dissertação (Mestrado em Medicina) – Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2009. Disponível em: <https://repositorio.ufc.br/handle/riufc/2640>. Acesso em: 16 jun. 2022.

NOSEK, T. M. **Essentials of human physiology.** [S. l.]: Glomerular Filtration Rate, 2016.

OLIVEIRA, C. de S. **Manifestações bucais e doença renal crônica: revisão de literatura.** *Periodontia*, Rio de Janeiro, v. 18, n. 1, p. 14-19, mar. 2008. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-544186>. Acesso em: 17 jul. 2022.

OTERO, R. *et al.* **Complications of Bothrops, Porthidium, and Bothriechis snakebites in Colombia. A clinical and epidemiological study of 39 cases attended in a university hospital.** *Toxicon*. v. 40, n. 8, p. 1107 - 1114, agosto. 2002. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12165312/>. Acesso em: 12 abril. 2022.

PAN, H. *et al.* **Wedelolactone facilitates Ser/Thr phosphorylation of NLRP3 dependent on PKA signalling to block inflammasome activation and pyroptosis.** *Cell Proliferation*, [S. l.], v. 53, n. 9, p. 1-12, jul. 2020. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/cpr.12868>. Acesso em: 10 jul. 2021.

PETEJOVA, N. *et al.* **Acute toxic kidney injury.** *Renal Failure*, [S. l.] v. 41, n. 1, p. 576-594, Jan. 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31237170/>. Acesso em: 5 jul. 2021.

PINHO, F. M.; BURDMANN, E. A. **Fatal cerebral hemorrhage and acute renal failure after young bothrops jararacussu snake bite.** *Renal Failure*, [S. l.], v. 23, n. 2, p. 269-277, jan. 2001. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11417959/>. Acesso em: 11 maio 2021.

PUZZI, M. B. *et al.* **Acidentes ofídicos.** *Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária, São Paulo*, v. 6, n. 10, p. 1-7, jan. 2008. Disponível em: http://faef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/izej3GEzTkr6OTX_2013-5-29-11-1-33.pdf. Acesso em: 22 mar. 2022.

RAYEGO-MATEOS, S. (ed.). **Progression from acute kidney injury to chronic kidney disease: role of inflammatory mediators.** *Mediators of Inflammation*, [S. l.], 1 Feb. 2020. Disponível em: <https://www.hindawi.com/journals/mi/si/451532/>. Acesso em: 17 jul. 2022.

RIVADENEYRA-DOMÍNGUEZ, E. *et al.* **Alterations of blood chemistry, hepatic and renal function, and blood cytometry in acrylamide-treated rats.** *Toxicology Reports*, [S. l.], v. 5, p. 1124-1128, nov. 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2214750018303986>. Acesso em: 19 jun. 2022.

ROMANELLI, M. A. *et al.* **Revisiting the acute kidney injury in Wistar rats experimentally envenomated with Bothrops jararacussu venom.** *Toxicon*, [S. l.], v. 199, p. 117-126, ago. 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34116084/>. Acesso em: 15 mar. 2022.

SANTOS, M. A. R. F. dos. **Caracterização da lesão renal aguda induzida pelo veneno de Bothrops jararacussu.** 2020. 99 f. Dissertação (Mestrado em Farmácia) – Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2020.

SANTOS, M. C. dos. *et al.* **A eficácia do antiveneno botrópico-crotálico na neutralização das principais atividades do veneno de Bothrops jararacussu.** *Rev. Inst. Med. Trop.*, São Paulo, v. 2, n. 34, p. 77-83, abr. 1992. Disponível em:

<https://www.scielo.br/j/rimtsp/a/4qqZmhWksfbjvtNWDy3RmSz/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 25 mar. 2022.

SARAIVA, M. G. *et al.* **Perfil epidemiológico dos acidentes ofídicos no estado da Paraíba, Brasil, 2005 a 2010.** Epidemiologia e Serviços de Saúde, Brasília, DF, v. 21, n. 3, p. 449-456, set. 2012. Disponível em: http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1679-49742012000300010&lng=pt&nrm=iso. Acesso em: 20 mar. 2022.

SCHMITZ, P. G. **Rins: uma abordagem integrada à doença.** Porto Alegre: McGraw Hill, 2012.

SHAW, S. *et al.* **Acute kidney injury: management.** Clinical Pharmacist, [S. l.], v. 4, Apr. 2012. Disponível em: <https://pharmaceutical-journal.com/article/ld/acute-kidney-injury-management>. Acesso em: 17 jul. 2022.

SILVA, T. P. da *et al.* **Espécies vegetais utilizadas no bloqueio da atividade hemorrágica induzida pelos venenos de serpentes do gênero Bothrops sp.: uma revisão da literatura.** Scientia Amazonia, [S. l.], v. 6, n. 2, p. 36-57, mar. 2017. Disponível em: <https://scientia-amazonia.org/wp-content/uploads/2017/01/v6-n2-36-57-2017.pdf>. Acesso em: 8 maio 2021.

SILVER, S. A. *et al.* **Acute Kidney Injury: Preclinical Innovations, Challenges, and Opportunities for Translation.** Canadian Journal of Kidney Health and Disease. v. 2, p. 1-11. setembro. 2015. Disponível em: <https://journals.sagepub.com/doi/10.1186/s40697-015-0062-9>. Acesso em: 23 abril. 2022.

SOARES, L. de O.; BRUNE, M. F. S. S. **Avaliação da função renal em adultos por meio da taxa de filtração glomerular e microalbuminúrica.** Rev. Bras. Pesq. Saúde, Vitória, v. 3, n. 19, p. 62-68, set. 2017. Disponível em: <https://www.periodicos.ufes.br/rbps/article/download/19566/13127>. Acesso em: 15 jun. 2021.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEFROLOGIA. **Diretrizes da insuficiência renal aguda.** São Paulo, 2007. Disponível em: https://www.sbn.org.br/fileadmin/user_upload/sbn/2020/01/04/Diretrizes_Insuficiencia_Renal_Aguda.pdf. Acesso em: 03 mar. 2022.

SODRÉ, F. L.; COSTA, J. C. B.; LIMA, J. C. C. **Avaliação da função e da lesão renal: um desafio laboratorial.** Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial, Rio de Janeiro, v. 43, n. 5, p. 329-337, out. 2007. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/jbpm/a/r8wxfrYpxXrpjbKdGwSqNBC>. Acesso em: 21 mar. 2022.

SOEIRO, P. A. *et al.* **Doxycycline treatment reestablishes renal function of Wistar rats in experimental envenomation with Bothrops jararacussu venom.** Toxicon, [S. l.], v. 199, p. 20-30, ago. 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34058237>. Acesso em: 05 abr. 2022.

UDDIN M. *et al.* **Antioxidant, cytotoxic and antimicrobial properties of eclipta alba ethanol extract.** International Journal Biological Medical Research, v.1, p.341-346, 2010. Disponível em: https://www.academia.edu/5421400/Antioxidant_cytotoxic_and_antimicrobial_properties_of_Eclipta_alba_ethanol_extract. Acesso em: 10 maio 2022.

VINYAGAM, R. *et al.* **Biological and functional properties of wedelolactone in human chronic diseases.** Phytton, [S. l.], v. 90, n. 1, p. 1-15, 2021. Disponível em: https://file.techscience.com/ueditor/files/TSP_Phyton-90-1/TSP_Phyton_13388/TSP_Phyton_13388.pdf. Acesso em: 15 jul. 2021.

WEI, W. *et al.* **Protective effects of wedelolactone on dextran sodium sulfate induced murine colitis partly through inhibiting the NLRP3 inflammasome activation via AMPK signaling.** Biomed Pharmacotherapy, [S. l.], v. 94, p.27-36, 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S075333221730906X>. Acesso em: 09 jun. 2022.

WORONIK, V. **Hipertensão e doenças primárias renais.** HiperAtivo, São Paulo, v. 5, n. 4, p. 253-260, dez 1998. Disponível em: <http://departamentos.cardiol.br/dha/revista/5-4/hipertensao.pdf>. Acesso em: 17 jul. 2022.

YANG, J. *et al.* **Wedelolactone attenuates pulmonary fibrosis partly through activating AMPK and regulating Raf-MAPKs signaling pathway.** Frontiers In Pharmacology, [S. l.], v. 10, n. 151, p. 1-12, mar. 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30890932/>. Acesso em: 26 jun. 2021.

YOSHIDA, E. H. *et al.* **Acute kidney injury caused by the intraperitoneal injection of Bothrops jararaca venom in rats.** Natural Product Research, [S. l.], v. 34, n. 17, p. 2533-2538, 22 dez. 2018. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/14786419.2018.1543675>. Acesso em: 2 jun. 2022.

ZHI, D. *et al.* **Wedelolactone improves the renal injury induced by lipopolysaccharide in HK-2 cells by upregulation of protein tyrosine phosphatase non-receptor type 2.** Journal of International Medical Research, [S. l.], v. 49, n. 5, p. 1-14, maio 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33983070/>. Acesso em: 8 ago. 2021.

ZHU, M. *et al.* **Wedelolactone alleviates doxorubicin-induced inflammation and oxidative stress damage of podocytes by I κ B/NF- κ B pathway.** Biomedicine & Pharmacotherapy, [S. l.], v. 117, p. 1-7, set. 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0753332219316713>. Acesso em: 10 abr. 2022.