

**Escola Superior de Ensino do Instituto Butantan
Programa de Pós-graduação *Lato Sensu*
Especialização em toxinas de interesse em saúde**

Nathália Silva de Souza

**Venenos e toxinas de serpentes do gênero *Bothrops* com ação na
resposta inflamatória: implicações no tratamento de reações locais**

São Paulo

2023

Nathália Silva de Souza

Venenos e toxinas de serpentes do gênero *Bothrops* com ação na resposta inflamatória: implicações no tratamento de reações locais

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Curso de Especialização em 2023 do Programa de Pós-graduação *Lato Sensu* da Escola Superior do Instituto Butantan como requisito básico para a obtenção do título de Especialista em Toxinas de Interesse em Saúde.

Orientador: Luís Roberto Camargo Gonçalves

São Paulo

2023

**Catálogo na Publicação
Instituto Butantan
Dados inseridos pelo(a) aluno(a)**

Souza, Nathália Silva de

Venenos e toxinas de serpentes do gênero Bothrops com ação na resposta inflamatória : implicações no tratamento de reações locais / Nathália Silva de Souza ; orientador(a) Luís Roberto Camargo Gonçalves - São Paulo, 2023.

30 p. : il.

Monografia (Especialização) - Escola Superior do Instituto Butantan, Especialização na Área da Saúde - Toxinas de Interesse em Saúde.
Versão corrigida final

1. Acidentes ofídicos 2. Inflamação. 3. Proteases. 4. Terapêutica I. Gonçalves, Luís Roberto Camargo. II. Escola Superior do Instituto Butantan. III. Especialização na Área da Saúde - Toxinas de Interesse em Saúde. IV. Título.

AUTORIZAÇÃO PARA ACESSO E REPRODUÇÃO DE TRABALHO

Eu, Nathália Silva de Souza, aluna do Curso de Especialização em Toxinas de Interesse em Saúde, autorizo a divulgação do meu trabalho de conclusão de curso por mídia impressa, eletrônica ou qualquer outra, assim como a reprodução total deste trabalho de conclusão de curso após publicação, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

Prazo de liberação da divulgação do trabalho de conclusão de curso após a data da avaliação:

- Imediato
 06 meses
 12 meses
 Outro prazo _____ Justifique:

São Paulo, 6 de fevereiro de 2023.

Nathália Silva de Souza

.....
Aluna: Nathália Silva de Souza

De acordo:.....
Orientador: Luís Roberto Camargo Gonçalves

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Dr. Luís Roberto Camargo Gonçalves pelo apoio, confiança, amizade, carinho e atenção desde antes da especialização. Obrigada por sempre me estimular a estudar e a seguir a carreira acadêmica com tanta vontade e determinação. És meu exemplo de pesquisador, profissional e ser humano.

À doutoranda Maria Beatriz Bernardez Amorim e a Dra. Bianca Cestari Zychar pela amizade e ensinamentos durante o período da especialização.

À Natasha Farias Marques pela amizade, auxílio e parceria desde o início da especialização.

À Tainá Simonetti pela grande amizade e parceria, levarei sua amizade por toda a vida.

Aos colegas e professores pela agradável convivência e ensinamentos.

A todos que contribuíram, direta ou indiretamente, para a realização deste trabalho.

Ao meu namorado por sempre me incentivar a ser uma pessoa e uma profissional cada vez melhor, e confiar em mim mesmo quando eu mesma não confiei. Amo você!

E à minha mãe, que é o grande motivo para tudo o que já conquistei, venho conquistando e conquistarei. Te amo mais que tudo!

"Em algum lugar, alguma coisa incrível
está esperando para ser descoberta."

- Carl Sagan

RESUMO

SOUZA, Nathália Silva de. **Venenos e toxinas de serpentes do gênero *Bothrops* com ação na resposta inflamatória**: implicações no tratamento de reações locais. 2023. 30 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização em Toxinas de Interesse em Saúde) – Escola Superior do Instituto Butantan, São Paulo, 2023.

O acidente ofídico é uma das doenças negligenciadas na saúde pública e afeta a vida de muitas pessoas pelo mundo. Impacta a qualidade de vida das populações, principalmente carentes e de zonas rurais, que estão constantemente expostas ao risco de serem acometidas por esse acidente. Pode causar distúrbios de coagulação e induzir atividade inflamatória aguda e hemorrágica. Tem capacidade de causar dor local, edema, hemorragia local, formação de bolhas e necrose, podendo progredir para perda de tecido, incapacidade física ou amputação. As principais classes de toxinas presentes no veneno botrópico são as metaloproteases, fosfolipases A₂ e serino proteases, que agem de forma isolada e sinérgica, desencadeando a resposta inflamatória, lesão tecidual e distúrbios hemostáticos. A terapia antiveneno é a única que trata de forma efetiva o envenenamento por serpentes peçonhentas, pois possui uma ótima capacidade de neutralização dos efeitos sistêmicos. Porém, quando se trata dos danos locais, o antiveneno não possui uma ação tão efetiva, pois os mediadores do processo inflamatório agem rapidamente após o acidente, e o soro não atua em mediadores endógenos que já foram liberados e nem em danos já estabelecidos. Portanto, é necessário estudar terapias complementares à soroterapia para que a recuperação após uma picada de cobra tenha um resultado mais eficaz. As terapias complementares são diversas e promissoras. Inúmeros estudos estão sendo feitos em relação a inibidores específicos de toxinas, sejam eles naturais ou sintéticos, demonstrando um potencial para melhorar o tratamento das lesões locais decorrentes de acidentes ofídicos. O campo de estudo para o tratamento desses acidentes é muito extenso e promissor, falta apenas mais investimento e estudos clínicos para, num futuro, possam chegar ao sistema de saúde.

Palavras-chave: Proteases. Inflamação. Acidente ofídico. Terapêutica.

ABSTRACT

SOUZA, Nathália Silva de. **Venoms and toxins from snakes of the genus *Bothrops* with action on the inflammatory response:** implications in the treatment of local reactions. 2023. 30 p. Monograph (Specialist in 2023) – Escola Superior do Instituto Butantan, São Paulo, 2023.

Snakebite is one of the neglected diseases in public health and affects many people's lives worldwide. It impacts the quality of life of populations, mainly poor people and rural areas, constantly exposed to the risk of being affected by this accident. It may cause coagulation disorders and induce acute inflammatory and hemorrhagic activity. It can cause local pain, edema, local hemorrhage, blister formation, and necrosis and may progress to tissue loss, physical disability, or amputation. The main toxins present in *Bothrops* venom are metalloproteases, phospholipases A2, and serine proteases, which act in isolation and synergistically, triggering an inflammatory response, tissue damage, and hemostatic disorders. Antivenom therapy is the only effective treatment for envenoming by venomous snakebites, and it has a remarkable ability to neutralize systemic effects. However, when it comes to local damage, the antivenom does not have such an effective action, since the mediators of the inflammatory process act quickly after the accident, and the antivenom does not act on endogenous inflammatory mediators that have already been released or on the already damaged tissue. Therefore, it is necessary to study complementary therapies to antivenom therapy so that recovery after snakebite is a more effective outcome. Complementary therapies are diverse and encouraging. Studies with specific toxin inhibitors, natural or synthetic, are promising and have shown potential for improvement in treating local lesions induced by snakebites. The field of study for treating these accidents is encouraging but lacks more investment and further clinical studies to confirm these data and reach the health system.

Keywords: Proteases. Inflammation. Snakebite. Treatment.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Diferentes tipos de dentição em serpentes.....	14
Figura 2 - Distribuição das espécies de serpentes do gênero <i>Bothrops</i> no território brasileiro.....	15
Figura 3 - Anatomia das caudas de serpentes peçonhentas com importância médica no Brasil.....	16
Figura 4 - Complicações locais causadas por acidentes de espécies do gênero <i>Bothrops</i>	17
Figura 5 - Processo de fabricação do antiveneno.....	18
Figura 6 - Classificação quanto à gravidade e soroterapia de acidentes botrópicos...	19
Figura 7 - Distribuição de famílias de proteínas do veneno de espécies de <i>Bothrops</i>	20

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 OBJETIVOS.....	12
3 DESENVOLVIMENTO	13
3.1 Epidemiologia.....	13
3.2 Família Viperidae	13
3.3 Gênero <i>Bothrops</i>	14
3.4 Ações do Veneno	16
3.5 Efeitos Clínicos	16
3.6 Soroterapia	18
3.7 Toxinas.....	19
3.8 Metaloproteases	20
3.9 Fosfolipases A₂.....	21
3.10 Serino Proteases	22
3.11 Outras toxinas	22
3.12 Inflamação.....	23
3.13 Toxinas Causadoras da Inflamação.....	24
3.14 Tratamentos de Reações Locais.....	24
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	26
REFERÊNCIAS	27

1 INTRODUÇÃO

No Brasil, a maioria dos casos de acidentes ofídicos são causados por serpentes peçonhentas pertencentes ao gênero *Bothrops*, sendo responsável por cerca de 90% dos casos, com letalidade em torno de 0,3% nos casos tratados (FRANÇA; MÁLAQUE, 2003). O gênero *Bothrops* é composto por serpentes peçonhentas ovovivíparas que possuem ampla distribuição geográfica, podendo ser encontradas no Brasil, Paraguai e Argentina (CAMPBELL; LAMAR, 1989).

O acidente botrópico causa inúmeras alterações patológicas que ocorrem rapidamente após o acidente, podendo ter diferentes graus de seriedade. O veneno após ter sido injetado pode causar desde leves manifestações clínicas, a incapacitações irreversíveis e até mortes (WARREL, 2010). A falta de eficácia do tratamento dos efeitos locais, associada a dificuldade de acesso a locais mais afastados, desinformação em relação ao que fazer após o acidente, desigualdade social, desequilíbrio ambiental e invasão de matas nativas pelas cidades em constante crescimento acarreta inúmeros casos que já não deveriam existir nesse momento da sociedade.

2 OBJETIVOS

O presente trabalho tem como objetivo abordar os principais efeitos do ofidismo por *Bothrops* no Brasil, a terapia antiveneno no tratamento dos efeitos locais, práticas inovadoras e associações que possam aperfeiçoar e minimizar esse problema mundial de saúde pública, e o a participação das principais classes de toxinas no desenvolvimento das reações inflamatórias locais presentes no envenenamento botrópico.

A revisão foi feita de uma forma narrativa, abordando sobre a temática dos principais fatores que causam a inflamação no acidente botrópico e formas de tratamento. As buscas foram realizadas no banco de dados PubMed e Web of Science utilizando as palavras-chave: “snakebite”, “snake antivenom”, “envenomation treatment”, “snake venom toxins”, “metalloproteases”, “serine proteases”, “phospholipase A₂” e “inflammation”.

3 DESENVOLVIMENTO

3.1 Epidemiologia

O acidente ofídico foi classificado como uma das doenças tropicais negligenciadas (DTNs) pela Organização Mundial de Saúde (OMS) e faz parte de um grupo com outras 19 doenças que ocorrem principalmente em áreas tropicais, afetando mais de um bilhão de pessoas, majoritariamente mulheres e crianças, que vivem em condições precárias de saúde, sociais e econômicas, e são caracterizadas como enfermidades que possuem epidemiologia complexa, principalmente infecciosas, causadas por vírus, bactérias, fungos, parasitas ou toxinas (CASULLI, 2021; GUTIÉRREZ; THEAKSTON; WARRELL, 2006; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2020).

A OMS estabeleceu um plano global para prevenir, controlar, eliminar ou erradicar as 20 doenças negligenciadas, e outras se possível, entre os anos de 2021 e 2030 através de inúmeras estratégias que serão executadas durante a próxima década (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2020).

No Brasil, os acidentes ofídicos representam 10,9% dos acidentes por animais peçonhentos, causando por volta de 29 mil casos todos os anos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2018).

3.2 Família Viperidae

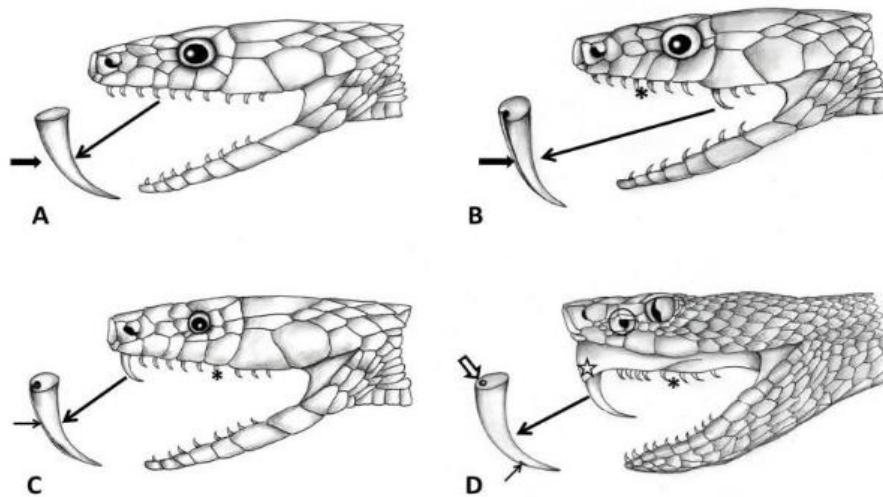
As serpentes fazem parte da classe reptilia, ordem dos squamata e subordem dos ophidia, compreendendo cerca de 34% do número total de répteis no mundo, possuindo 3971 espécies descritas até o presente momento (Uetz *et al.*, 2021).

A família Viperidae é composta por aproximadamente 370 espécies, amplamente distribuídas pelos continentes, com exceção da Antártida e Austrália (Uetz *et al.*, 2021). Os indivíduos pertencentes a essa família possuem uma dentição especializada, na qual suas inoculações ocorrem através da liberação da peçonha de forma subcutânea ou intramuscular, estimulando efeitos locais e sistêmicos, como lesão tecidual. Essa ação evoluiu principalmente para a caça, imobilização da presa e para defesa, sendo o principal motivo da maioria dos acidentes que ocorrem com humanos (GUTIÉRREZ *et al.*, 2017).

3.3 Gênero *Bothrops*

O gênero *Bothrops*, o qual faz parte dos Viperídeos, é composto por espécies que se caracterizam por possuírem um aparelho inoculador do tipo solenóglifo (**Figura 1 D**), cabeça triangular recoberta por pequenas escamas similares às do corpo e presença de fosseta loreal, contém cerca de 60 espécies e é um dos quais possui importância médica no Brasil, juntamente com o gênero *Crotalus*, *Lachesis* e *Micrurus* (MELGAREJO, 2003).

Figura 1 - Diferentes tipos de dentição em serpentes.



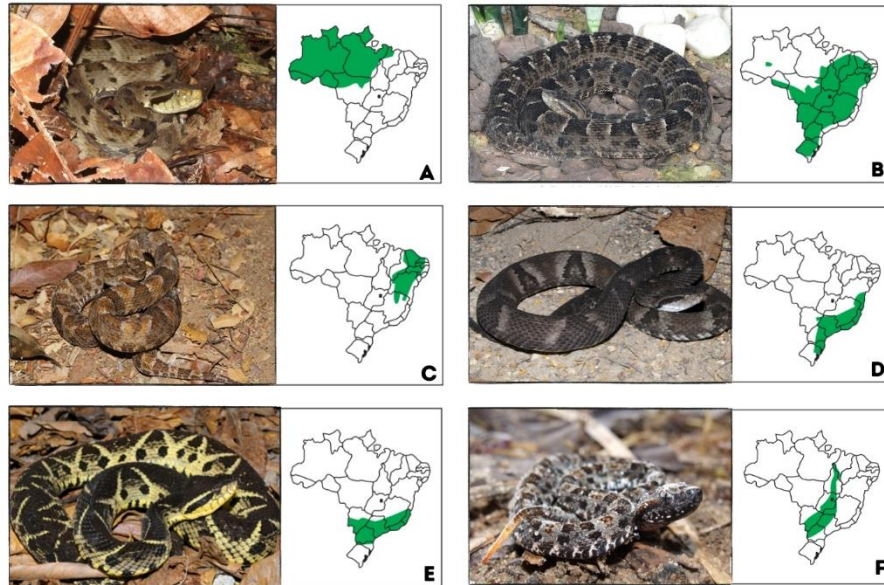
Fonte: LOBO *et al.*, 2014, p. 4

Legenda: **(A)** Dentição áglifa, onde não há o dente inoculador de peçonha. Possui dentes indiferenciados, maciços, sem sulcos ou canalículo;
(B) Dentição opistóglifa, onde há presença do dente inoculador na região posterior da boca, o qual apresenta um sulco. Possui também dentes indiferenciados;
(C) Dentição proteróglifa, onde há presença de dente inoculador fixo, na região anterior da boca, o qual possui sulco profundo, onde o veneno é inoculado. Também possui dentes indiferenciados;
(D) Dentição solenóglifa, onde há presença do dente inoculador móvel, na região anterior da boca, o qual apresenta um canalículo com orifício de saída da peçonha no dente inoculador.

No Brasil são encontradas cerca de 30 espécies dentro do gênero *Bothrops*, formando o gênero mais diverso e abrangente de serpentes distribuídas pelo território brasileiro. Como pode ser observado na **Figura 2**, as espécies possuem distribuições geográficas específicas, como **(A)** *Bothrops atrox*, que se encontra na Região Norte do país, **(C)** *B. erythromelas*, no Nordeste, **(D)** *B. jararaca* e **(E)** *B. jararacussu*, no Sudeste, e **(F)** *B. moojeni*, no Centro-Oeste. Das espécies representadas no mapa, apenas *B. neuwiedi* possui uma distribuição mais ampla pelo Brasil, podendo ser

encontrada em quase todo o território nacional, com exceção da Região Norte do país (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2001).

Figura 2 - Distribuição das espécies de serpentes do gênero *Bothrops* no território brasileiro.

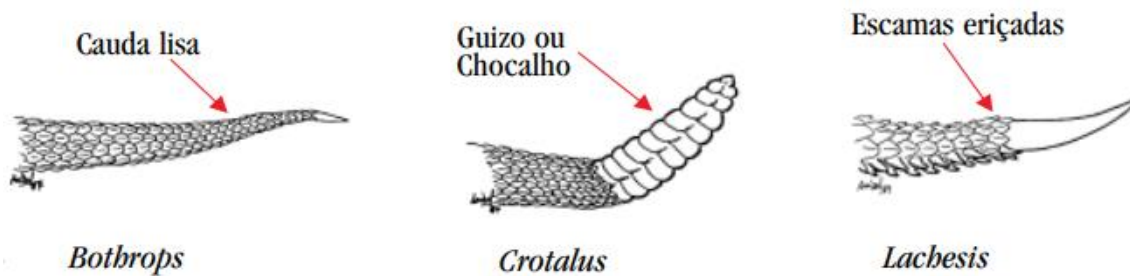


Fonte: Adaptado de Manual de Diagnóstico e Tratamento de Acidentes por Animais Peçonhentos, 2001, p. 15–17.

Lêgenda: (A) *Bothrops atrox* (João Arthur Alcântara) (B) *Bothrops neuwiedi* (Zoológico de Brasília) (C) *Bothrops erythromelas* (Ricardo Marques) (D) *Bothrops jararaca* (Nathalie Citeli) (E) *Bothrops jararacussu* (Nathalie Citeli) (F) *Bothrops moojeni* (João Arthur Alcântara).

Estas serpentes habitam principalmente zonas rurais e periferias de grandes cidades, preferindo ambientes úmidos como matas e áreas cultivadas e locais onde haja facilidade para proliferação de roedores (paióis, celeiros, depósitos de lenha). Têm hábitos predominantemente noturnos ou crepusculares. Podem apresentar comportamento agressivo quando se sentem ameaçadas, desferindo botes sem produzir ruídos. Os indivíduos desse gênero se diferem de outros viperídeos por possuírem a cauda sem grandes modificações e escamas subcaudais (**Figura 3**) (MELGAREJO, 2003).

Figura 3 - Anatomia das caudas de serpentes peçonhentas com importância médica no Brasil.



Fonte: Manual de Diagnóstico e Tratamento de Acidentes por Animais Peçonhentos, 2001, p. 13

3.4 Ações do Veneno

O acidente botrópico possui atividade inflamatória aguda, que é causada por diferentes tipos de ações, sendo elas: ação proteolítica, ação coagulante e hemorrágica.

A ação proteolítica do veneno possui uma patogênese complexa, resultante da atividade das enzimas proteases, hialuronidases e fosfolipases, da liberação de mediadores da resposta inflamatória, da ação das hemorraginas sobre o endotélio vascular e da ação pró-coagulante do veneno.

A ação coagulante é causada pela ativação, isolada ou sinérgica, do fator X e protrombina. O veneno converte fibrinogênio em fibrina através da sua ação semelhante à trombina, consumindo os fatores gerados pela degradação de fibrina e fibrinogênio, ocasionando em distúrbios de coagulação.

A ação hemorrágica é decorrente da ação das hemorraginas, que lisam as células endoteliais de pequenos vasos e capilares, degradando as proteínas dos componentes da membrana basal, como a matriz extracelular. Muitas também degradam vasos sanguíneos através de padrões patológicos celulares similares, como desorganização da membrana basal e destruição da membrana plasmática (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2001).

3.5 Efeitos Clínicos

A ação proteolítica do veneno botrópico é responsável por causar lesões locais, como edema, síndrome compartimental, bolhas e necrose, podendo progredir para

perda de tecido, incapacidade física ou amputação. A ação coagulante pode levar a oscilação da função plaquetária causando plaquetopenia, distúrbios de coagulação ocasionando incoagulabilidade sanguínea e coagulação intravascular disseminada. Já as manifestações hemorrágicas mais comuns são associadas a plaquetopenia e alterações de coagulação, causando hemorragia local e sistêmica (sangramento gengival, hematúria e epistaxe). Podem ocorrer também náuseas, vômitos, sudorese, hipotensão arterial e, mais raramente, choque (FRANÇA; MÁLAQUE, 2003).

Figura 4 – Complicações locais causadas por acidentes de espécies do gênero *Bothrops*.



Fonte: WEN *et al*, 2015, p. 8

Legenda: (A) Paciente 12 horas após a picada, com bolhas de inchaço e sero-hemorrágicas no membro superior esquerdo (B) Paciente 24 horas após a picada apresentando síndrome compartimental no membro superior esquerdo, necessitando de fasciotomia (C) Paciente 24 horas após a picada com extensa área de edema e necrose no membro superior esquerdo e gangrena do quarto dedo (D) O mesmo paciente mostrado em C, após amputação do quarto dedo (na fase de cicatrização).

De acordo com o Manual de Diagnóstico e Tratamento de Acidentes por Animais Peçonhentos, com base nas manifestações clínicas e visando orientar a terapêutica a ser empregada, os acidentes botrópicos são classificados em:

Leve: forma mais habitual acidente. Se caracteriza pela presença de dor e edema local pouco intenso ou ausente, manifestações hemorrágicas discretas ou ausentes, com ou sem alteração do tempo de coagulação. Os envenenamentos por filhotes de (< 40 cm de comprimento) podem apresentar como única manifestação para diagnóstico alteração do tempo de coagulação.

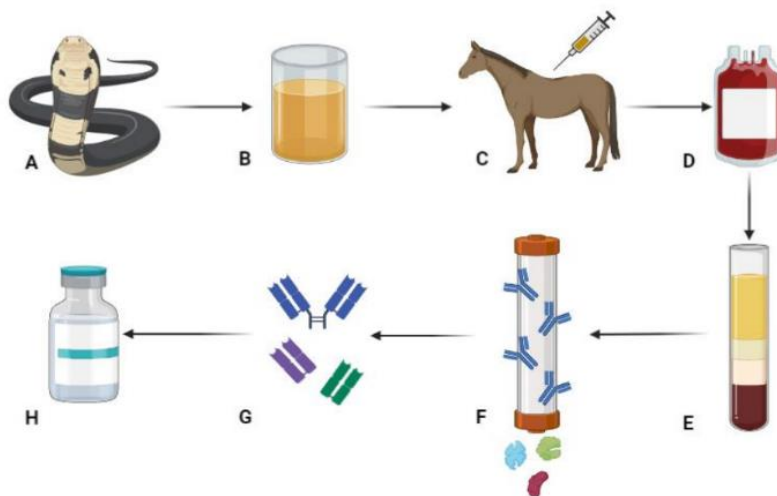
Moderado: se caracteriza pela presença de dor e edema que ultrapassa o segmento anatômico picado, acompanhados ou não de alterações hemorrágicas locais ou sistêmicas como gengivorragia, epistaxe e hematúria.

Grave: se caracteriza pela presença de edema local intenso e extenso, podendo atingir todo o membro picado, geralmente acompanhado de dor intensa e, eventualmente, com presença de bolhas. Podem aparecer sinais de isquemia local devido à compressão dos feixes vasculo-nervosos, decorrente da ação do edema intenso (**Figura 4**). Manifestações sistêmicas como hipotensão arterial, choque, oligoanúria ou hemorragias intensas definem o caso como grave, independentemente do quadro local.

3.6 Soroterapia

O antiveneno é o único fármaco permitido pela OMS, e é seguramente o melhor tratamento para os acidentes ofídicos. Os antivenenos são produzidos a partir da imunização de animais, majoritariamente cavalos, que são imunizados com o veneno de uma ou mais espécies de serpentes, para produzir anticorpos contra o próprio veneno (**Figura 5**). É a terapia principal utilizada, se mostrando, até o momento, inteiramente eficaz para neutralizar os efeitos sistêmicos decorrentes da ação do veneno das serpentes (SEGURA *et al.*, 2010).

Figura 5 - Processo de fabricação do antiveneno.



Fonte: LEÓN *et al.*, 2018

Legenda: (A) Seleção da espécie de interesse (B) Obtenção do veneno (C) Imunização do equino (D)

Sangria e plasmaférese **(E)** Obtenção do plasma **(F)** Separação de anticorpos IgG **(G)** Tratamento para obter as porções F(ab')₂ ou Fab **(H)** Concentração, formulação e envase.

O tratamento do acidente ofídico deve seguir um protocolo, de acordo com o diagnóstico e severidade do envenenamento **(Figura 6)**.

Figura 6 - Classificação quanto à gravidade e soroterapia de acidentes botrópicos.

Manifestações e Tratamento	Classificação		
	Leve	Moderada	Grave
Locais • dor • edema • equimose	ausentes ou discretas	evidentes	intensas**
Sistêmicas • hemorragia grave • choque • anúria	ausentes	ausentes	presentes
Tempo de Coagulação (TC)*	normal ou alterado	normal ou alterado	normal ou alterado
Soroterapia (nº ampolas) SAB/SABC/SABL***	2-4	4-8	12
Via de administração	intravenosa		

* TC normal: até 10 min; TC prolongado: de 10 a 30 min; TC incoagulável: > 30 min.

** Manifestações locais intensas podem ser o único critério para classificação de gravidade.

*** SAB = Soro antiofídico/SABC = Soro antiofídico-crotálico/SABL = Soro antiofídico-laquético.

Fonte: MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2001, p. 25

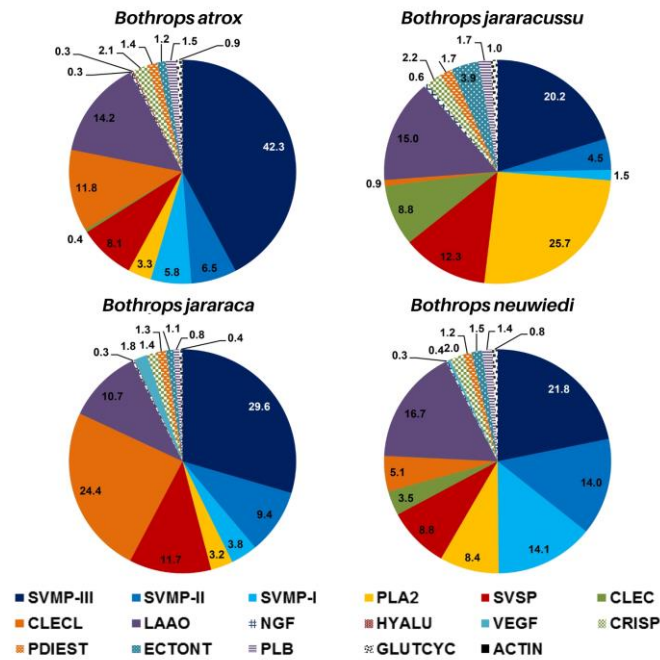
3.7 Toxinas

O gênero *Bothrops* engloba serpentes que possuem inúmeras toxinas, tóxicas e não tóxicas, que agem de forma isolada ou sinérgica, sendo as principais: metaloproteases (*Snake Venom Metalloproteases* - SVMPS), fosfolipases A₂ (PLA₂s) e serino proteases (*Snake Venom Serine proteases* - SVSPs). Essas toxinas podem desencadear uma resposta inflamatória e contribuir para lesão celular e tecidual, bem como distúrbios hemostáticos. Existem também sinergismos entre proteínas venenosas não tóxicas e tóxicas. Um estudo demonstrou que uma PLA₂ ácida não tóxica presente no veneno de *Bothrops alternatus* potencializou a capacidade de uma SVMPS hemorrágica de separar células endoteliais em cultura (BUSTILLO *et al.*, 2015).

A partir de análises proteômicas e de espectrometria de massas **(Figura 7)** foi visto que o conteúdo total de proteínas presentes no veneno de *B. jararaca* é

composto por cerca de 50% de metaloproteases, 14% de serino proteases e uma porção minoritária de PLA2, que pode variar de acordo com a espécie, como por exemplo a *B. jararacussu*, como mostra a **Figura 7** (FOX *et al.*, 2006; CIDADE *et al.*, 2006).

Figura 7. Distribuição de famílias de proteínas do veneno de espécies de *Bothrops*.



Fonte: Adaptado de SOUSA, 2013, p. e2442

3.8 Metaloproteases

As SVMPs são responsáveis por causar principalmente hemorragia, seja ela local ou sistêmica, por intermédio da sua ação nos componentes da matriz extracelular, e coagulopatia, através da sua ativação de fatores de coagulação. Degradam proteínas como laminina, nidogênio, fibronectina, colágeno tipo IV e proteoglicanos da membrana basal endotelial (FOX; SERRANO, 2005). Além disso, seu principal mecanismo de ação para causar a hemorragia induzida é a sua atividade proteolítica, que afeta proteínas de coagulação do sangue como fibrinogênio e fator de Willebrand, inibição da agregação plaquetária e desencadeamento de liberação de citocinas. Ademais, SVMPs induzem, dependendo da sua atividade enzimática, inflamação e dor, bolhas e dermonecrose, e mionecrose, podendo afetar a

regeneração do músculo esquelético (GUTIÉRREZ; RUCAVADO, 2000; QUEIROZ *et al.*, 2008).

São agrupadas em classes e subclasses de P-I a P-IV de acordo com sua organização de domínio, sendo as toxinas mais abundantes nos venenos dos viperídeos.

As classes mais abundantes presentes nos venenos botrópicos são a P-I e P-III, que se diferem principalmente pelo peso molecular e pelo domínio catalítico. A P-I é a classe de menor peso molecular, possuindo entre 20-30 kDa, ela possui apenas o domínio catalítico, sendo geralmente enzimas fibrinogenolíticas, fracamente hemorrágicas. Um exemplo de P-I é BnP1, que é uma toxina isolada de *B. neuwiedi* (BALDO *et al.*, 2008). Em oposição, a P-III possui alto peso molecular, sendo composta por proteínas com peso molecular entre 60-100 kDa, ela possui o domínio catalítico, com adição de domínios tipo desintegrina, e ricos em cisteína. Um exemplo de P-III é a jararagina, uma proteína altamente hemorrágica. As P-I e P-III hidrolisam de forma semelhante as proteínas da matriz extracelular ou fatores de coagulação, enquanto apenas as P-III induzem hemorragia significativa em modelos experimentais (MARKLAND; SWENSON, 2013; BALDO *et al.*, 2008).

3.9 Fosfolipases A₂

As PLA₂s são miotoxinas que acometem diretamente as fibras musculares causando mionecrose. Essas miotoxinas afetam as fibras musculares através do rompimento da integridade da membrana plasmática, no caso da Asp49 PLA₂ (fosfolipase A₂ que possui ácido aspártico na posição 49 e atividade enzimática), ou através da desorganização da bicamada lipídica, permitindo a entrada de um conjunto de resíduos hidrofóbicos e catiônicos, no caso da Lys49 PLA₂ homólogas (fosfolipase A₂ que possui lisina na posição 49 e não possui atividade enzimática). Após o rompimento da membrana plasmática ocorre um influxo de cálcio causando diversas atividades degenerativas, como danos mitocondriais, hipercontração dos miofilamentos e ativação das proteinases e PLA₂s intracelulares cálcio-dependentes, posteriormente levando a degradação de proteínas do citoesqueleto e da actina e miosina (GUTIÉRREZ *et al.*, 2018; KAVAZOI *et al.*, 2022).

3.10 Serino Proteases

As SVSPs são enzimas que interferem no sistema hemostático, causando distúrbios de coagulação. Atuam através da degradação de proteínas por hidrólise enzimática em diversos pontos chave na cascata de coagulação, ativando componentes do sangue envolvidos na agregação de plaquetas, nos sistemas fibrinolítico e calicreína-cinina, e nas células para causar desequilíbrio no sistema hemostático (SERRANO, 2013). Algumas SVSPs possuem tanto a atividade fibrinogenolítica quanto a atividade fibrinolítica. Determinadas SVSPs trabalham ativando o fator V e conseqüentemente a proteína C, que age na degradação do fator Va, causando atividade anticoagulante, porém grande parte atua apenas clivando fibrinogênio estimulando a coagulação (SERRANO; MAROUN, 2005).

3.11 Outras toxinas

O veneno botrópico possui uma composição extremamente complexa, e normalmente, seus efeitos inflamatórios são atribuídos a ação das metaloproteases e das fosfolipases A₂. Porém, o veneno possui diferentes proteínas, que também atuam na inflamação, mesmo que de forma coadjuvante.

A severidade do envenenamento se dá também pela contribuição de proteínas que não possuem atividade enzimática. Essas proteínas se ligam a receptores específicos, canais iônicos ou proteínas plasmáticas, causando distúrbios nos processos fisiológicos levando a efeitos neurotóxicos e cardiotoxicos (MCCLEARY; KINI, 2013).

Uma das classes de proteínas que possuem uma atividade relevante é a CRISP (proteínas secretórias ricas em cisteína), que são proteínas que agem ativando os canais iônicos, bloqueando canais controlados por nucleotídeos cíclicos ou inibindo os canais de potássio ativados por cálcio, bem como os receptores de rianodina. Essas proteínas possuem ação miotóxica, inibitória de canais iônicos, ação antiparasitária, anti-angiogênica, entre outras (TADOKORO *et al.*, 2020).

Outra classe de toxinas presente no processo do envenenamento são as LAAOs (L-aminoácido oxidase), que são toxinas que induzem ou inibem a agregação plaquetária. Possuem também a capacidade de induzir apoptose, edema, hemorragia, hemólise e citotoxicidade (SOARES *et al.*, 2020).

Além dessas, o veneno botrópico possui a classe de toxinas CLECL (Lectina tipo C), que são responsáveis principalmente pela ação na ativação ou inativação plaquetária e por agir na cascata de coagulação. Podem induzir edema de pata e aumentar a permeabilidade vascular em camundongos, e agir na ativação e migração de neutrófilos, aumento de secreção de insulina e mudanças na pressão em perfusão, resistência vascular renal e fluxo urinário (CASTANHEIRA *et al.*, 2013).

3.12 Inflamação

O envenenamento botrópico possui um desenvolvimento rápido de suas manifestações clínicas locais, sendo acompanhado por liberação de mediadores do processo inflamatório. Esses mediadores agem de forma solitária e ou conjunta, elevando a resposta inflamatória e interferindo no decorrer do seu processo. A inflamação é uma reação natural do organismo, que ocorre para que haja um processo de reparo, a partir da cicatrização e reconstituição do tecido lesado, e ativação do sistema complemento, para buscar restabelecer a homeostase após um dano, injúria ou corpos estranhos presentes no organismo. A inflamação é um processo de proteção que envolve mediadores moleculares, vasos sanguíneos e células imunes, que está atrelado à liberação de citocinas, quimiocinas (e.g. TNF- α , lipoxinas, cininas, prostaglandinas, leucotrienos) e proteínas que servem como sinalizadores para que o reparo seja feito. Sua atividade termina quando o processo de eliminação do agente flogístico ou dos mediadores que foram secretados para recuperação da lesão é concluída (ROBBINS; COTRAN, 2005; ETIENNE *et al.*, 2021).

A reação inflamatória pode acabar se tornando desvantajosa a partir do momento em que se torna potencialmente prejudicial para o processo de reparo celular, pois se ativada de forma excessiva ou persistente, pode comprometer órgãos e sistemas, desregular a homeostase do organismo e, em casos extremos, levar a morte. Por isso o uso de anti-inflamatórios é o melhor método para controlar os efeitos adversos da inflamação, sem interferir em seus efeitos benéficos (ROBBINS; COTRAN, 2005).

3.13 Toxinas Causadoras da Inflamação

A reação inflamatória local induzida pelo veneno botrópico não é estimulada por apenas uma toxina específica, mas por uma ação associada entre diversas delas, que agem de forma rápida nos tecidos conjuntivo e muscular induzindo a liberação de diversos mediadores inflamatórios endógenos (CRUZ; VARGAS; LOPES, 2009).

As metaloproteases são as toxinas de maior envolvimento no processo inflamatório causado pelo veneno de *B. jararaca*, sendo a principal classe de toxinas responsável pela evolução da migração celular e migração de leucócitos, após a ativação do sistema complemento. A inibição desta classe de toxinas demonstrou prevenção do desenvolvimento do processo inflamatório, na formação do edema e na diminuição da dor em camundongos através da resposta nociceptiva, evidenciando essas toxinas como sendo as principais causadoras de tais sintomas (ZYCHAR *et al.*, 2010; FARSKY *et al.*, 2000).

As fosfolipases A_2 possuem menor participação no processo inflamatório causado pelo veneno de *B. jararaca*, se limitando principalmente a liberação de histamina e serotonina pelos mastócitos e aos estímulos nociceptivos (Zychar *et al.*, 2010). Em alguns venenos de outras espécies dentro do gênero *Bothrops* também pode estar associada ao processo de formação de edema e possui atividade mais efetiva em espécies com maior concentração de miotoxinas, como *B. jararacussu* e *B. asper* (GUTIÉRREZ; LOMONTE, 1995).

As serino proteases, aparentemente, não contribuem de forma significativa para o processo inflamatório, mas atuam diretamente na cascata de coagulação, agindo no fibrinogênio, causando distúrbios de pressão sanguínea como resultado da produção de bradicinina (SANTORO; SANO-MARTINS, 2003).

3.14 Tratamentos de Reações Locais

O veneno botrópico causa inúmeras reações sistêmicas, que são efetivamente neutralizadas com a administração do antiveneno, restabelecendo os fatores de coagulação de forma eficiente. Porém, os mediadores inflamatórios liberados e os efeitos locais não são tão facilmente revertidos e tratados, pois se desenvolvem de maneira rápida após o envenenamento e se instalam no local da lesão, como: edema, hemorragia, mionecrose e necrose. Sendo assim, se faz necessário o estudo de

terapias complementares para que a recuperação das lesões locais seja mais efetiva, e para diminuir as sequelas que podem acabar se estabelecendo após o acidente. As terapias complementares podem ser feitas a partir da administração de inibidores específicos, de toxinas abundantes e de alta toxicidade, naturais, como: metabólitos secundários de plantas, proteínas de plasma animal, mastócitos e seus produtos. E sintéticos, como: ácido 2,3 dimercapto-1-propanosulfônico (DMPS), LY333013 (*methyl Varespladib*) e mesilato de nafamostat (GUTIÉRREZ *et al.*, 2021).

Estudos prévios demonstraram que o tratamento à base da combinação de dexametasona com antiveneno é benéfico e auxilia na recuperação em período mais curto. Um estudo revelou que a administração associada de dexametasona e antiveneno num período tardio (próximo ao pico do edema) causou redução do edema em pata de camundongos, induzido por veneno de *Bothrops jararaca*. Porém, nesse tempo tardio, a administração individual do antiveneno ou dexametasona não diminuiu o edema (ARAÚJO *et al.*, 2007). Outro estudo evidenciou que o antiveneno reverte efetivamente a coagulopatia induzida pelo veneno de *Bothrops atrox* em camundongos, e salientou que a terapia combinada além de melhorar a redução do edema de pata, também melhorou o processo de regeneração do músculo esquelético que foi lesado pelo veneno (BARRETO *et al.*, 2017). A terapia combinada também se mostrou efetiva na redução de efeitos miotóxicos induzidos pelo veneno de *B. jararaca* e *B. jararacussu* (PATRÃO-NETO *et al.*, 2013).

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A terapia antiveneno é certamente a melhor forma de tratar os acidentes ofídicos, porém falta mais estudos e implementação dos métodos clínicos que já foram tidos como auxiliares, tanto no tempo quanto na eficácia do tratamento dos acidentes, como forma de aperfeiçoar as práticas terapêuticas, e conseqüentemente, melhorar o tratamento dos danos gerados pelo veneno.

Estudos de novas abordagens terapêuticas associadas ao antiveneno, em nível pré-clínico e clínico são essenciais para um melhor resultado no tratamento das lesões locais desses envenenamentos, diminuindo substancialmente os casos de sequelas. O investimento nessas pesquisas, é de extrema importância, principalmente se a OMS pretende erradicar os acidentes ofídicos até 2030.

REFERÊNCIAS¹

- ALCÂNTARA, J. A. *et al.* Stepping into a dangerous quagmire: Macroecological determinants of Bothrops envenomings, Brazilian Amazon. **PLoS One**, v. 13, n.12, p. e0208532, 6 dez. 2018.
- ARAÚJO, S. D. *et al.* Effect of dexamethasone associated with serum therapy on treatment of *Bothrops jararaca* venom-induced paw edema in mice. **Inflammation Research**, v. 56, n. 10, p. 409–413, 18 out. 2007.
- BALDO, C. *et al.* BnP1, a novel P-I metalloproteinase from *Bothrops neuwiedi* venom: Biological effects benchmarking relatively to jararhagin, a P-III SVMP. **Toxicon**, v. 51, n. 1, p. 54–65. 2008.
- BARRETO, G. N. L. S. *et al.* Experimental *Bothrops atrox* envenomation: Efficacy of antivenom therapy and the combination of *Bothrops* antivenom with dexamethasone. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 11, n. 3, p. e0005458, 17 mar. 2017.
- CAMPBELL, J. A. E W. LAMAR. The Venomous Reptiles of Latin America. Ithaca. Cornell University Press. 1989.
- CARDOSO, J. L. C. *et al.* **Animais Peçonhentos no Brasil: Biologia, Clínica e Terapêutica dos Acidentes**. 1. ed. São Paulo: SARVIER, 2003.
- CASTANHEIRA, L. E. *et al.* Biochemical and functional characterization of a C-type lectin (BpLec) from *Bothrops pauloensis* snake venom. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 54, p. 57–64. 2013.
- CASULLI, A. New global targets for NTDs in the WHO roadmap 2021–2030. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 15, n. 5, p. e0009373, 13 maio 2021.
- CIDADE, D. A. P. *et al.* *Bothrops jararaca* venom gland transcriptome: analysis of the gene expression pattern. **Toxicon**, v. 48, n. 4, p. 437–461. 15 set. 2006.
- CITELI, N.; HAMDAN, B.; GUEDES, T. Snake richness in urban forest fragments from Niterói and surroundings, state of Rio de Janeiro, southeastern Brazil. **Biodiversity Data Journal**, v. 4, p. e7145. 2016.
- CRUZ, L. S.; VARGAS, R.; LOPES, A. A. Snakebite envenomation and death in the developing world. **Ethnicity & Disease**, v. 19, n. 1, p. 42–46. 2009.
- ETIENNE, R.; PEREIRA, F. D. V; VIEGAS JR., C. Pathophysiological Aspects of Inflammation and Drug Design: an Updated Overview. **Revista Virtual de Química**, v. 13, n. 1, p. 167–191. 2021.

¹ ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: Informação e documentação - referências - elaboração. Rio de Janeiro: ABNT, 2018.

FARSKY, S. H. P. *Bothrops asper* snake venom and its metalloproteinase BaP-1 activate the complement system. Role in leucocyte recruitment. **Mediators of Inflammation**, v. 9, p. 213–221. 2000.

FOX, J. W. *et al.* Comparison of indirect and direct approaches using ion-trap and Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry for exploring viperid venom proteomes. **Toxicon**, v. 47, n. 6, p. 700–714, maio 2006.

FOX, J. W.; SERRANO, S. M. T. Structural considerations of the snake venom metalloproteinases, key members of the M12 reprolysin family of metalloproteinases. **Toxicon**, v. 45, n. 8, p. 969–985, 15 jun. 2005.

GUTIÉRREZ, J. M. *et al.* Snakebite envenoming. **Nature reviews. Disease primers**, 14 set. 2017.

GUTIÉRREZ, J. M. *et al.* Unresolved issues in the understanding of the pathogenesis of local tissue damage induced by snake venoms. **Toxicon**, v. 148, p. 123–131, jun. 2018.

GUTIÉRREZ, J. M. *et al.* The Search for Natural and Synthetic Inhibitors That Would Complement Antivenoms as Therapeutics for Snakebite Envenoming. **Toxins**, v. 13, n. 7, p. 451, 29 jun. 2021.

GUTIÉRREZ, J. M.; LOMONTE, B. Phospholipase A2 myotoxins from *Bothrops* snake venoms. **Toxicon**, v. 33, n. 11, p. 1405–24, nov. 1995.

GUTIÉRREZ, J. M.; RUCAVADO, A. Snake venom metalloproteinases: Their role in the pathogenesis of local tissue damage. **Biochimie**, v. 82, n. 9-10, p. 841–50, sep-oct. 2000.

GUTIÉRREZ, J. M.; THEAKSTON, R. D. G.; WARRELL, D. A. Confronting the Neglected Problem of Snake Bite Envenoming: The Need for a Global Partnership. **PLoS Medicine**, v. 3, n. 6, p. e150, 6 jun. 2006.

KAVAZOI, V. K. *et al.* A comparative study of endogenous phospholipase A2 inhibitors in the serum of Brazilian pit vipers. **Toxicon**, v. 213, p. 87–91, jul. 2022.

LEÓN, G. *et al.* Current technology for the industrial manufacture of snake antivenoms. **Toxicon**, v. 151, p. 63–73, 2018.

LEONEL, T. B. *et al.* *Bothrops jararaca* Snake Venom Inflammation Induced in Human Whole Blood: Role of the Complement System. **Frontiers in Immunology**, v. 13, 2 jun. 2022.

LOBO, L. M. *et al.* Análise comparativa dos diferentes tipos de denteição em serpentes. **Acta Tecnológica**, v. 9, n. 2, p. 1–8, 2014.

MARKLAND, F. S.; SWENSON, S. Snake venom metalloproteinases. **Toxicon**, v. 62, p. 3–18. 2013.

MARQUES, R. *et al.* Composition and natural history notes of the coastal snake assemblage from Northern Bahia, Brazil. **Zookeys**, v. 611, p. 93–142. 15 aug. 2016.

MCCLEARY, R.J.; KINI, R.M., Non-enzymatic proteins from snake venoms: a gold mine of pharmacological tools and drug leads. **Toxicon**, v. 62, p. 56–74, 2013.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Boletim Epidemiológico - Acidentes ofídicos no Brasil 2018. **Secretaria de Vigilância em Saúde**, v. 51, n. 9, p. 35–40, mar. 2020.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Manual de diagnóstico e tratamento de acidentes por animais peçonhentos**. FUNASA, p. 9–36, 2001. Brasília.

PATRÃO-NETO, F. C. *et al.* Dexamethasone antagonizes the in vivo myotoxic and inflammatory effects of *Bothrops* venoms. **Toxicon**, v. 69, p. 55–64, jul. 2013.

QUEIROZ, G. P. *et al.* Interspecific variation in venom composition and toxicity of Brazilian snakes from *Bothrops* genus. **Toxicon**, v. 52, n. 8, p. 842–851, 15 dez. 2008.

ROBBINS, S. L.; COTRAN, R. S. **Patologia. Bases Patológicas das Doenças**. 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2005.

SANTORO, M. L.; SANO-MARTINS, I. S. Distúrbios hemostáticos em envenenamentos por animais peçonhentos no Brasil. Em: **Animais Peçonhentos no Brasil: Biologia, Clínica e Terapêutica dos Acidentes**. 1. ed. São Paulo: Sarvier, 2003. p. 289–309.

SEGURA, A. *et al.* Preclinical assessment of the neutralizing capacity of antivenoms produced in six Latin American countries against medically-relevant *Bothrops* snake venoms. **Toxicon**, v. 56, n. 6, p. 980–989, nov. 2010.

SERRANO, S. M. T. *et al.* A Novel Phospholipase A2, BJ-PLA2, from the Venom of the Snake *Bothrops jararaca*: Purification, Primary Structure Analysis, and Its Characterization as a Platelet-Aggregation-Inhibiting Factor 1. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 367, n. 1, p. 26–32, jul. 1999.

SERRANO, S. M. T. The long road of research on snake venom serine proteinases. **Toxicon**, v. 62, p. 19–26, fev. 2013.

SERRANO, S. M. T.; MAROUN, R. C. Snake venom serine proteinases: Sequence homology vs. substrate specificity, a paradox to be solved. **Toxicon**, v. 45, n. 8, p. 1115–1132, 15 jun. 2005.

SOARES, T. G. *et al.* Biochemical and functional properties of a new l-amino acid oxidase (LAAO) from *Micrurus lemniscatus* snake venom. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 154, p. 1517–1527. 2020.

SOUSA, L. F., *et al.* Comparison of Phylogeny, Venom Composition and Neutralization by Antivenom in Diverse Species of *Bothrops* Complex. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 7, n. 9, p. e2442, 12 sep. 2013.

TADOKORO, T., *et al.* Cysteine-Rich Secretory Proteins (CRISPs) from Venomous Snakes: An Overview of the Functional Diversity in a Large and Underappreciated Superfamily. **Toxins**, v. 12, n. 3, p. 175. 2020.

UETZ, P. *et al.* **A Quarter Century of Reptile and Amphibian Databases Rattlesnake phylogeonomics and morphology in MX: *Crotalus atrox* and *Crotalus scutulatus* View project Protein function and protein-protein interactions in bacteria View project.** [s.l: s.n.]. Disponível em: <<http://www.reptile-database.org>>.

WARREL, D. A. Snake bite. **Lancet**, v. 375, p. 77–88. 2010.

Wen, F. H. *et al.* Snakebites and Scorpion Stings in the Brazilian Amazon: Identifying Research Priorities for a Largely Neglected Problem. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 9, n. 5, p. e0003701. 2015.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Neglected tropical diseases.**

ZYCHAR, B. C. *et al.* Contribution of metalloproteases, serine proteases and phospholipases A2 to the inflammatory reaction induced by *Bothrops jararaca* crude venom in mice. **Toxicon**, v. 55, n. 2–3, p. 227–234, fev. 2010.