



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS**



**MARCADORES DE LESÃO CARDÍACA EM PACIENTES
VÍTIMAS DE ENVENENAMENTO BOTRÓPICO**

MARIA RAIMUNDA DA COSTA

Manaus – AM

2024



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS**



MARIA RAIMUNDA DA COSTA

**MARCADORES DE LESÃO CARDÍACA EM PACIENTES
VÍTIMAS DE ENVENENAMENTO BOTRÓPICO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Amazonas, como requisito obrigatório para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. Wuelton Marcelo Monteiro

Coorientador: Prof. Dr. Marco Aurélio Sartim

Manaus - AM

2024

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

C837m Costa, Maria Raimunda
Marcadores de Lesão Cardíaca em pacientes vítimas de
envenenamento botrópico / Maria Raimunda Costa. 2024
127 f.: il. color; 31 cm.

Orientador: Wuelton Marcelo Monteiro
Coorientador: Marco Aurélio Sartim
Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) –
Universidade Federal do Amazonas

1. Envenenamento botrópico. 2. lesão cardíaca.
3. enzimas cardíacas; 4. distúrbios de coagulação; 5. FABP3.
I. Monteiro, Wuelton Marcelo. II. Universidade Federal do
Amazonas. III. Título

**“MARCADORES DE LESÃO CARDÍACA EM PACIENTES
VÍTIMAS DE ENVENENAMENTO BOTRÓPICO”**

DISCENTE: MARIA RAIMUNDA DA COSTA

PARECER:

Esta dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas em sua forma final e definitiva pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Amazonas.

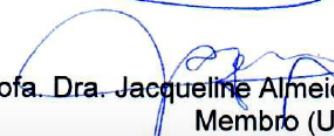
Manaus, AM, 20/08/2024.


Profa. Dra. Patrícia Danielle Oliveira de Almeida
Coordenadora do PPGCF

**A mesma foi apresentada perante a banca composta pelos seguintes
professores:**


Prof. Dr. Wuelton Marcelo Monteiro
Orientador e Presidente da Banca (UEA)


Prof. Dr. Emerson Silva Lima
Membro (UFAM)


Profa. Dra. Jacqueline Almeida Gonçalves Sachett
Membro (UEA)

DEDICATÓRIA

A Jose Pedro da Costa (*in memoriam*).

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, por ter me segurado nos momentos mais difíceis, por ter guiado minha jornada até neste momento, por nunca ter deixado eu desistir e por me mostrar que eu nunca estive sozinha. A minha mãe Vilma Costa e meu pai Jose Pedro (in memoriam) pelo companheirismo, por estar ao meu lado e por me apoiar em todo o meu percurso, não existem palavras o suficiente para agradecer por todo o tempo dedicado a mim e aos meus filhos Jose e Carlos, por terem feito tudo e nunca esmorecido.

Aos meus filhos Jose e Carlos, vocês são os seres mais importantes para mim. Eu amo vocês. A minha sobrinha Eduarda, lhe amo muito (és como uma filha para mim), obrigado por cuidar e amar o Carlos, seu irmãozinho do coração. Vocês são fundamentais em minha vida.

Ao Giovanni meu namorado e companheiro, sempre disposto a me ajudar e apoiar em todos os momentos, obrigado por todos os conselhos, por toda a sua dedicação, por toda a paciência. Você foi e é meu pilar até aqui. Com você eu sou mais forte. Obrigada por toda a obstinação, por me fazer lutar quando eu pensei em desistir, por acreditar em mim e por me fazer ver que sim, eu consigo. Obrigada por todo o companheirismo e paciência, por toda a força e por nunca ter deixado eu desistir.

À minhas irmãs Vania e Regiane, vocês são o meu maior exemplo de força, sabedoria e exemplo como pessoas, obrigado por tudo, Vania obrigado por cuidar do Carlos (meu bebê lulua), com sua ajuda conseguir estudar.

Ao meu orientador, Wuelton Marcelo Monteiro. Agradeço imensamente por ter me orientado, além de ser uma grande fonte de incentivo e por ter acreditado no meu potencial científico.

Ao meu coorientador, Dr. Marcos Aurélio Sartim, pela oportunidade de tê-lo me orientando no Mestrado, e por dividir sua experiência comigo.

Ao Victor Irungu pelo suporte técnico na realização das dosagens nas análises dos Marcadores Cardíacos, realizados neste estudo, sem você nada disso, teria sido feito, obrigado por toda sua ajuda nas realizações dos testes e dissertação.

À Dra. Sâmella Silva de Oliveira pelas contribuições e disponibilização das amostras para a realização desta pesquisa.

À Jady Shayenne pelo suporte nas análises estatísticas realizadas neste estudo.

À Karol Bentes pelas contribuições no manuscrito e obrigado pela sua ajuda na correção da dissertação.

Ao grupo de pesquisa CEPCLAM, por terem me acolhido tão bem. Agradeço aos seus coordenadores, Dr. Wuelton Monteiro e Dra. Jacqueline Sachett, aos colaboradores e alunos.

À equipe do Biorrepositório, muito obrigada por todo suporte, aos colegas que o mestrado me proporcionou, Cristina Maritns, Karol Bentes, Victor, Bianca, Suzi, Endila, Alice, Thiago e Liseri agradeço por todos os conselhos, risadas e por sempre estarem dispostos a me ouvir, pelas histórias que fazem meu dia muito mais alegre.

Ao Thiago obrigado pelo suporte na minha qualificação, muito obrigado por tudo.

À equipe da Administrativa (FMT-HVD), em especial Wal e o Eduardo obrigado pelo acolhimento e ajuda, vocês moram no meu coração.

À Prefeitura de Careiro da Várzea, pelo apoio e liberação para que eu pudesse ter a oportunidade de estudar e conseguir mais conhecimento.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Amazonas (FAPEAM), pela concessão da bolsa durante o mestrado, me permitindo dedicação a execução desse estudo.

À Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado (FMT-HVD) por fornece a estrutura necessária ao desenvolvimento desse estudo.

Aos pacientes que aceitaram em participar do projeto. Espero poder contribuir na vida de cada um com os resultados aqui obtidos, assim como vocês contribuíram com a conclusão desse estudo.

A Deus, a quem pertence todas as coisas. A Ele seja dada toda a Glória!

A todos que participaram direta ou indiretamente da minha vida acadêmica seja ensinando, contribuindo, apoiando, incentivando ou orando.

Meu muito obrigada!!!

RESUMO

No Brasil, os envenenamentos ofídicos são mais prevalentes na região amazônica, caracterizada por áreas remotas de difícil acesso que dificultam o tratamento adequado e exacerbam o quadro de envenenamento. As toxinas dos venenos das serpentes, como as metaloproteinases, causam lesão aguda das células musculares ao interferir nos fatores de coagulação e na função plaquetária. Além das metaloproteinases, as fosfolipases também desempenham um papel crucial nas lesões cardíacas, sendo responsáveis pela degradação de fosfolípidios nas membranas celulares, levando à ruptura celular e à morte de células musculares cardíacas, o que pode agravar ainda mais o dano cardíaco em casos de envenenamento. O objetivo deste estudo foi descrever os níveis dos marcadores de lesão cardíaca: proteína de ligação a ácidos graxos do tipo cardíaco (FABP3), creatina quinase MB (CK-MB), peptídeo natriurético do tipo B (NTproBNP) e troponina I no envenenamento por *Bothrops atrox*. O estudo observacional foi conduzido com 80 pacientes vítimas de envenenamento por *B. atrox* tratados num hospital de referência em Manaus, na Amazônia brasileira. Os pacientes foram avaliados nos tempos T0 (antes da administração do soro antiofídico) e T48 (48 horas após), com processamento das amostras em duplicata para a detecção e medição de enzimas cardíacas circulantes pelos biomarcadores cardiovasculares. Foram incluídos 80 pacientes com envenenamento botrópico e 20 doadores saudáveis como grupo controle. Os resultados mostraram que os parâmetros de hemostasia estavam alterados na admissão (T0), mas retornaram ao normal em 48 horas (T48). O biomarcador FABP3 estava significativamente elevado em T0 ($P < 0,001$), reduzindo-se em T48. Na correlação entre os marcadores cardíacos e de hemostasia, em T0, alfa 2-antiplasmina foi negativamente correlacionada com FABP3 ($P = 0,017$), enquanto FDP ($P = 0,051$), fator tecidual ($P = 0,022$) e fator VII foram positivamente correlacionados com troponina I ($P = 0,008$) e o fator X foi negativamente correlacionado com CKMB ($P = 0,045$). Apenas FABP3 correlacionou-se positivamente com os níveis séricos de veneno de *Bothrops* em T0 ($P = 0,040$) e T48 ($P = 0,034$). Esses resultados preliminares indicam uma associação significativa entre a coagulopatia induzida pelo envenenamento botrópico e a lesão cardíaca. Concluímos que o monitoramento dos biomarcadores cardíacos

é crucial para a avaliação do risco de lesão cardíaca em pacientes afetados, o que pode contribuir para um manejo clínico mais eficaz e direcionado.

Palavras-chave: Envenenamento botrópico; lesão cardíaca; coagulopatia; proteína de ligação a ácidos graxos do tipo cardíaco, creatina quinase MB, peptídeo natriurético do tipo B; troponina I

ABSTRACT

In Brazil, snake envenomations are more prevalent in the Amazon region, characterized by remote areas with difficult access, which hinders adequate treatment and exacerbates the severity of envenomation. Snake venom toxins, such as metalloproteinases, cause acute muscle cell injury by interfering with coagulation factors and platelet function. In addition to metalloproteinases, phospholipases also play a crucial role in cardiac injuries by degrading phospholipids in cell membranes, leading to cell rupture and death of cardiac muscle cells, which can further aggravate cardiac damage in envenomation cases. The aim of this study was to describe the levels of cardiac injury markers: heart-type fatty acid-binding protein (FABP3), creatine kinase MB (CK-MB), B-type natriuretic peptide (NTproBNP), and troponin I in *Bothrops atrox* envenomation. The observational study was conducted with 80 patients who suffered *B. atrox* envenomation treated at a reference hospital in Manaus, in the Brazilian Amazon. Patients were evaluated at T0 (before antivenom administration) and T48 (48 hours after), with samples processed in duplicate for the detection and measurement of circulating cardiac enzymes using cardiovascular biomarkers. The study included 80 patients with *Bothrops* envenomation and 20 healthy donors as the control group. Results showed that hemostasis parameters were altered upon admission (T0) but returned to normal at 48 hours (T48). The FABP3 biomarker was significantly elevated at T0 ($P < 0.001$), decreasing at T48. In the correlation between cardiac and hemostasis markers at T0, alpha 2-antiplasmin was negatively correlated with FABP3 ($P = 0.017$), while FDP ($P = 0.051$), tissue factor ($P = 0.022$), and factor VII were positively correlated with troponin I ($P = 0.008$), and factor X was negatively correlated with CKMB ($P = 0.045$). Only FABP3 was positively correlated with *Bothrops* venom serum levels at T0 ($P = 0.040$) and T48 ($P = 0.034$). These preliminary results indicate a significant association between coagulopathy induced by *Bothrops* envenomation and cardiac injury. We conclude that monitoring cardiac biomarkers is crucial for assessing the risk of cardiac injury in affected patients, which may contribute to more effective and targeted clinical management.

Keywords: *Bothrops* envenomation; cardiac injury; coagulopathy; Heart-type fatty acid-binding protein; Creatine kinase-MB; B-type natriuretic peptide; Troponin I.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Distribuição geográfica de envenenamentos ofídicos no mundo.....	15
Figura 2: Distribuição espacial dos envenenamentos botrópicos por município no ano de 2022.....	17
Figura 3: Serpentes envolvidas nos envenenamentos em humanos na Amazônia Brasileira.....	18
Figura 4: Exemplar juvenil de jararaca-do-norte (<i>Bothrops atrox</i>), em repouso sobre um galho.....	19
Figura 5: Manifestações locais após envenenamento botrópico	20
Figura 6: Manifestações sistêmicas após envenenamento botrópico.....	22

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Classificação quanto à gravidade e terapia antiveneno recomendada.....23

Quadro 2: Proteínas de venenos de serpentes atuando no sistema hemostático.....24

Quadro 3: Número de frasco-ampolas de antiveneno indicado para o envenenamento botrópico de acordo com a gravidade clínica.....36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Número absoluto e proporção de envenenamentos ofídicos, óbitos, coeficientes de incidência e letalidade segundo a região e a UF de ocorrência.....	16
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E UNIDADES DE MEDIDA

μl – microlitros

ANP – peptídeo natriurético atrial

AVC – Acidente vascular cerebral

BNP – peptídeo natriurético tipo B

CEPCLAM – Centro de Pesquisa Clínica em Acidentes por Animais

CK – creatina quinase

CK-MB – creatina quinase MB

CNP – peptídeo natriurético tipo C

CT – cardiomiopatia de Takotsubo

cTn – Troponinas cardíacas

cTnC – Troponina C

cTnI – Troponina I

cTnT – Troponina T

DCVs – doenças cardiovasculares

ECA – enzima conversora de angiotensina

EP – embolia pulmonar

Fator IX – Fator de coagulação IX

FII – Fator de coagulação II

FIIa – Fator de coagulação II ativado

FMT-HVD – Fundação de Medicina Doutor Heitor Vieira Dourado

FV – Fator de coagulação V

FVII – Fator de coagulação VII

FVIIa – Fator de coagulação VII ativado

FX – Fator de coagulação X

FXa – Fator de coagulação X ativado

H-FABP – proteína de ligação a ácidos graxos do tipo cardíaco

IAM – Infarto agudo do miocárdio

LRA – Lesão renal aguda

NP – peptídeo natriurético

°C – cesius

OMS – Organização Mundial de Saúde

PC – Proteína C

PLA2 – Fosfolipases A2

PPB – peptídeos potencializadores de bradicina

SAB – Soro antiofídico botrópico

SABC – Soro antiofídico botrópico-crotálico

SABL – Soro antiofídico botrópico-laquétrico

SINAN – Sistema de Informações de Agravos e Notificações

SVMPs – Metaloproteases

SVSPs – Serinoproteases

TCLE – Termo de consentimento livre e esclarecido

Tn – Troponinas

UF – Unidade Federativa

DCVs – Doenças cardiovasculares

PA – Pressão Arterial

DCNTs – Doenças Crônicas

HAS- Hipertensão Arterial

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	20
1.1 Epidemiologia dos envenenamentos ofídicos	20
1.2 As serpentes da amazônia brasileira	23
1.3 O envenenamento botrópico	25
1.4 Fisiopatologia das lesões cardíacas associadas ao envenenamento ofídico.....	29
1.5 A ação do veneno de <i>bothrops atrox</i> sobre a hemostasia.....	32
1.6 Biomarcadores de lesão cardíaca	35
1.7 Justificativa	40
2. OBJETIVOS	41
2.1 Objetivo geral.....	41
2.2 Objetivos específicos	41
3. METODOLOGIA.....	42
3.1 Desenho geral e Local do estudo	42
3.2 Aspectos éticos	42
3.3 Participantes, Classificação clínica e Coleta de dados	42
3.4 Processamento e Análise.....	44
3.5 Quantificação de biomarcadores	45
3.6 Análise estatística	45
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
5. CONCLUSÃO	77
6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	78
7. ANEXO I - ORÇAMENTO E RECURSOS FINANCEIROS	103
9. ANEXO III – CRONOGRAMA DE ATIVIDADES	105

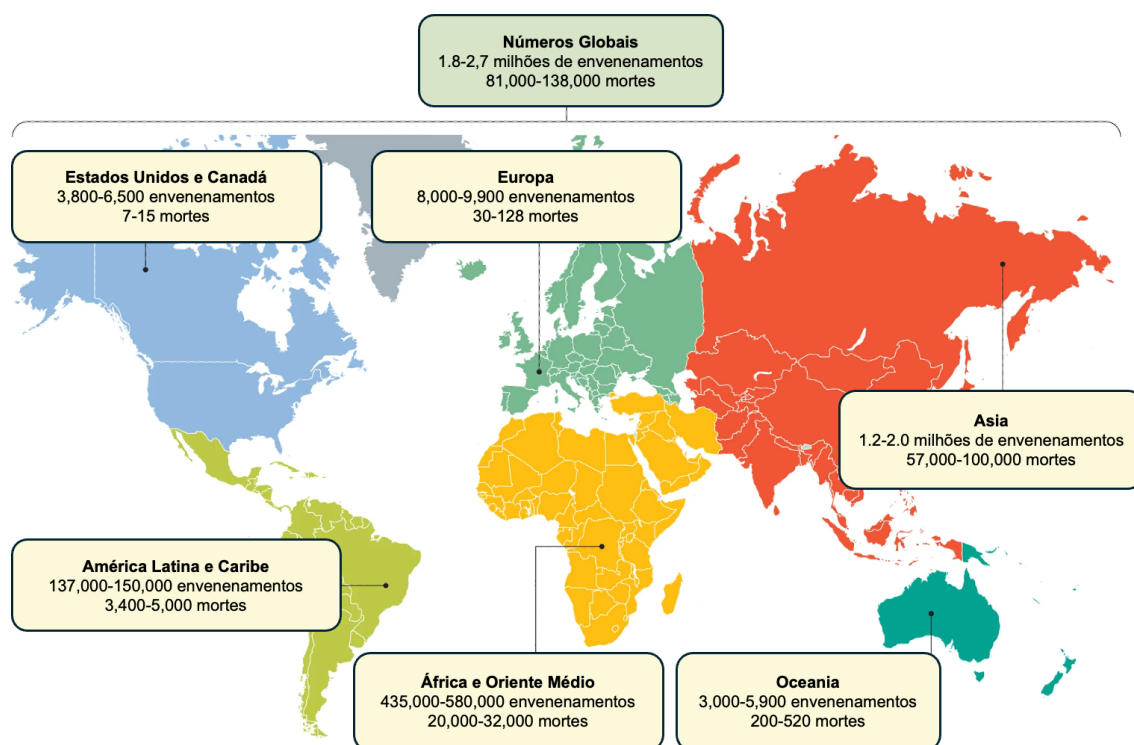
10. ANEXO IV – PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP.....	106
11. ANEXO V – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	114
12. ANEXO – FORMULÁRIO DE REGISTRO CLÍNICO	116
13. APENDICE I – PROCEDIMENTO PARA DOSAGEM DE MARCADORES CARDÍACOS POR LUMINEX.....	125

1. INTRODUÇÃO

1.1 Epidemiologia dos envenenamentos ofídicos

A Organização Mundial da Saúde (OMS) classifica os envenenamentos ofídicos como um grave problema de saúde negligenciado globalmente. As mortes e sequelas, que afetam principalmente jovens em idade produtiva, têm um impacto social e econômico significativo. A alta incidência de acidentes em todo o mundo torna o ofidismo um problema emergente de saúde pública global. (WORD HEALTH ORGANIZATION, 2020). Eles constituem importante causa de morbidade e mortalidade, especialmente na Ásia, África Subsaariana, América Latina e partes da Oceania. As estimativas globais mostram que são registrados anualmente pelo menos 1.8 milhões de acidentes ofídicos e 81.000 mortes. Na América Latina e Caribe ocorrem anualmente pelo menos 137.000 acidentes ofídicos e 3.400 mortes (Figura 1) (GUTIÉRREZ et al., 2017).

Figura 1: Distribuição geográfica de envenenamentos ofídicos no mundo



Fonte: GUTIERREZ et al., 2017.

No Brasil, os envenenamentos ofídicos representam um significativo problema de saúde pública pela frequência com que ocorrem. Em 2022, o coeficiente de incidência no Brasil foi de 14,55/100 mil habitantes. As Regiões Norte $n=10.284$ (34,81%) e Nordeste $n=8.822$ (29,86%) notificaram juntas quase dois terços dos acidentes ofídicos, mesmo nestas estando apenas 36% da população brasileira. Os maiores coeficientes de incidência por ofidismo foram observados nos Estados de Roraima (68,64/100 mil habitantes.), Pará (65,27/100 mil habitantes) e Amapá (52,41/100 mil habitantes). A Região Norte, como um todo, apresentou coeficiente de incidência de 55,26/100 mil habitantes, cerca de 4,1 vezes o coeficiente de incidência do Brasil (BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2023).

Nesse contexto, o estado do Amazonas em número absoluto de casos notificados registrou 1.955 (6,62%), sendo o segundo estado da Região Norte com o maior número de casos, com incidência de 49,57/100 mil habitantes (Tabela 1) (BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2023).

Tabela 1: Número absoluto e proporção de envenenamentos ofídicos e óbitos e coeficientes de indecência e letalidade segundo a região e a UF de ocorrência – Brasil, 2022.

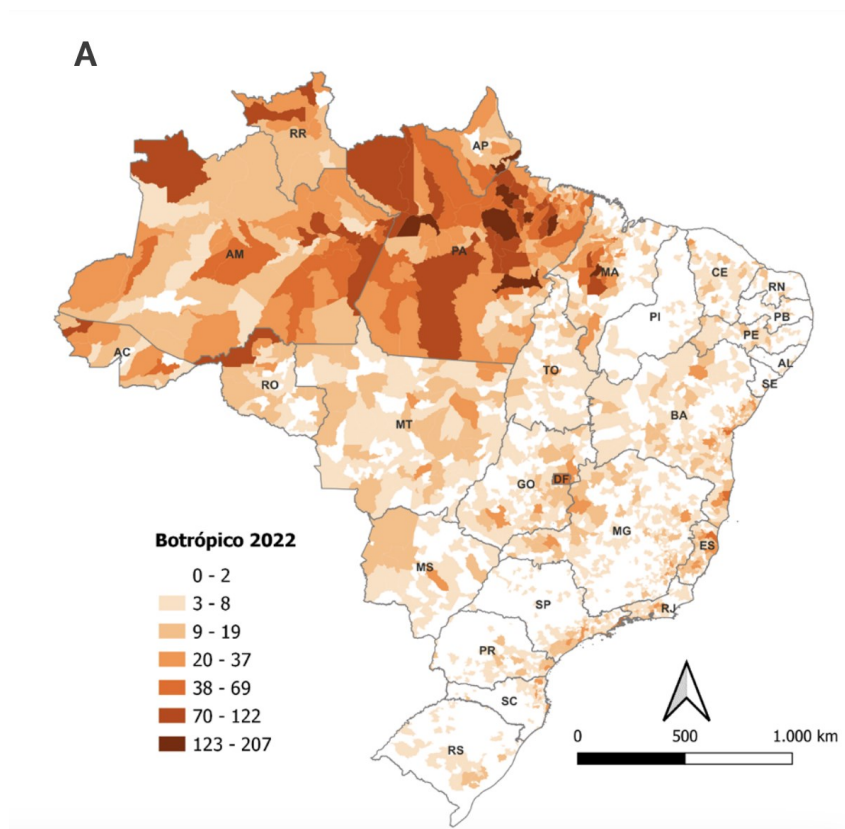
2022	Casos		Óbitos		Coeficiente de incidência (acidentes/100 mil hab.)	Taxa de letalidade (%)
	N	%	N	%		
Região Norte	10.284	34,81	36	38,30	55,26	0,35
Rondônia	494	1,67	1	1,06	30,02	0,20
Acre	460	1,56	2	2,13	49,73	0,43
Amazonas	1.955	6,62	11	11,70	49,67	0,56
Roraima	566	1,92	6	6,38	68,64	1,06
Pará	5.695	19,28	14	14,89	65,27	0,25
Amapá	443	1,50	2	2,13	52,41	0,45
Tocantins	671	2,27	0	0,00	43,18	0,00

Fonte: BRASIL. Ministério da Saúde, 2023

Ainda, foram registrados 29.543 casos de envenenamentos ofídicos, sendo 20.566 por serpentes do gênero *Bothrops*, representando 69,61% do total de casos de envenenamentos ofídicos no país (Figura 2), com 67 óbitos

registrados e uma letalidade associada de 0,33% de acordo com os dados do SINAN.

Figura 2: Distribuição espacial dos envenenamentos botrópico por município no ano de 2022.



Fonte: BRASIL. Ministério da Saúde, 2023.

As notificações de envenenamento botrópico na Região Norte podem ser mais elevadas em áreas remotas da Amazônia brasileira devido à subnotificação considerável dos casos. Essa subnotificação é resultado das atividades rurais das vítimas, especialmente aquelas envolvidas em agricultura, caça e silvicultura, bem como da dificuldade de acesso às unidades de saúde. Esses fatores tornam esses grupos os mais afetados, sugerindo um risco ocupacional significativo (CAMPOS BORGES; SADAHIRO; DOS SANTOS, 1999). Além disso, o tempo médio para chegar a uma unidade de saúde é consideravelmente maior nessa região quando comparado com outras regiões do Brasil (BRASIL, 2019). E o estado do Amazonas tem uma incidência de 48,12 casos de envenenamento botrópico por 100.000 habitantes, com uma letalidade de 0,6%. Sendo o segundo estado da Região Norte com a maior taxa de notificações,

registrando 1.852 casos, ficando atrás apenas do Pará, que registrou 5.203 casos (BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2022).

1.2 As serpentes da Amazônia Brasileira

No Brasil, existem cerca de 366 espécies de serpentes, distribuídas em 78 gêneros e 10 famílias. Destas, aproximadamente 15% são peçonhentas, pertencendo a duas famílias: Viperidae, que inclui os gêneros *Bothrops*, *Crotalus* e *Lachesis*; e Elapidae, que abrange os gêneros *Micrurus* e *Leptomicrurus* (Figura 3). O gênero *Bothrops* é o principal responsável pelos envenenamentos ofídicos na Amazônia brasileira (87,0%), seguido pelos gêneros *Lachesis* (7,9%), *Crotalus* (4,7%) e *Micrurus* (0,4%) (ALCÂNTARA et al., 2018; CARDOSO, JOAO & FRANCA et al., 2003).

Figura 3. Serpentes envolvidas nos envenenamentos em humanos na Amazônia Brasileira. Imagens das oito principais espécies de serpentes responsáveis por envenenamentos (A-H).



Fonte: HUI WEN et al., 2015

Nas áreas de floresta tropical da Amazônia brasileira, encontram-se as seguintes espécies de serpentes do gênero *Bothrops*: *B. atrox*, *B. bilineatus*, *B. brazili*, *B. marajoensis* e *B. taeniatus* (ALCÂNTARA et al., 2018; DA SILVA SOUZA et al., 2018; DE OLIVEIRA et al., 2018; HUI WEN et al., 2015). A espécie *Bothrops atrox* é a mais comum na Amazônia e a principal causadora dos acidentes ofídicos nessa região (Figura 4) (DE OLIVEIRA PARDAL et al., 2017;

HUI WEN et al., 2015). Esta espécie está amplamente distribuída na América do Sul, exceto no Paraguai, Argentina e Uruguai, ocorrendo predominantemente em toda a Amazônia (CAMPBELL; WILLIAM W et al., 2004).

Figura 4: Exemplar juvenil de jararaca-do-norte (*Bothrops atrox*), em repouso sobre um galho.



Fonte: Paulo Bernarde, 2023.

A *B. atrox* é uma espécie generalista, de coloração críptica, podendo ultrapassar 1,5 metro de comprimento (OLIVEIRA; MARTINS, 2001). Pode ser encontrada tanto em áreas de floresta quanto em pastagens, áreas agrícolas e até urbanas. É uma serpente ativa principalmente à noite; os adultos caçam preferencialmente no chão, enquanto os juvenis são mais encontrados na vegetação (OLIVEIRA; MARTINS, 2001; TURCI et al., 2009). Comumente conhecida como jararaca, surucucurana, surucucu, surucucu-do-barranco, boca-podre e comboia (BERNADE; GOMES, 2012; DE OLIVEIRA et al., 2018), essa diversidade de nomes populares pode confundir a identificação da serpente causadora do acidente pela população local, uma vez que *B. atrox* e *Lachesis muta* compartilham o nome popular "surucucu" em certas áreas da Amazônia brasileira (BERNADE; GOMES, 2012; HUI WEN et al., 2015).

1.3 O envenenamento botrópico

Os envenenamentos botrópico resultam da inoculação de peçonha produzida por glândulas venenosas através de presas especializadas, podendo causar alterações locais e sistêmicas na pessoa acidentada (MOREIRA et al., 2020). Estes, caracterizam-se por manifestações clínicas locais, como edema, equimose e dor. Podem surgir bolhas com conteúdo seroso, hemorrágico ou necrótico. As marcas das presas no local da picada geralmente são visíveis, assim como o sangramento nos pontos de inoculação. Poucas horas após o acidente, pode aparecer linfadenomegalia regional, com gânglios aumentados e dolorosos (BRASIL, 2019).

Na Amazônia, os dados clínicos de envenenamento por *Bothrops atrox* revelam que a dor e o edema são as manifestações locais mais frequentes, ocorrendo em mais de 90% dos pacientes. Além disso, foram observadas a presença de equimose em 8,7% dos casos, formação de bolhas em 1,7%, necrose tecidual em 12,3%, e celulite causada por infecção bacteriana secundária em 40% dos pacientes. Complicações adicionais incluem síndrome compartimental, déficit funcional e, em alguns casos, amputação (Figura 5) (CAMPOS BORGES; SADAHIRO; DOS SANTOS, 1999; DE OLIVEIRA PARDAL et al., 2017; OLIVEIRA et al., 2019; SOUZA, 2002).

Figura 5: Manifestações locais após envenenamento botrópico. A. Picada ocorreu na mão direita, presença de bolhas, evoluindo para necrose 5 dias após o envenenamento. B. Picada em membro inferior direito, com presença de edema e bolhas. C. Paciente com presença de abscesso e celulite por infecção bacteriana secundária na região dorsal do pé esquerdo, 48h após a picada.



Fonte: Centro de Pesquisa Clínica em Acidentes por Animais (CEPCLAM)

Em um estudo conduzido por Feitosa e colaboradores (2015), observou-se que a um melhor conhecimento da gravidade e mortalidade por serpentes pode levar a uma gestão mais eficaz, incluindo encaminhamento imediato para centros terciários quando necessário, e uma resposta efetiva dos sistemas de vigilância e dos formuladores de políticas, são essenciais para reduzir a mortalidade e as sequelas em grupos vulneráveis. Fatores de risco para a gravidade e letalidade de envenenamentos por serpentes no estado do Amazonas foram descritos com base nas informações das fichas de notificação do SINAN. Entre os fatores associados à gravidade estão a idade ≤ 15 e ≥ 65 anos, a ocorrência de acidentes na zona rural, acidentes ocupacionais e a busca por assistência médica após mais de 6 horas do incidente. A letalidade foi associada à idade ≥ 65 anos e à demora superior a 6 horas para procurar assistência médica (FEITOSA et al., 2015).

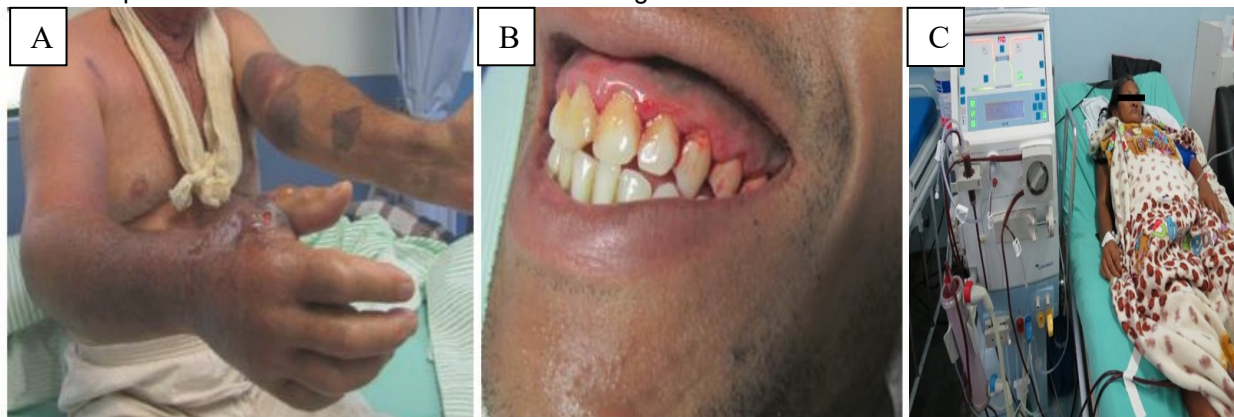
As principais manifestações sistêmicas do envenenamento botrópico reportadas incluem cefaleia, tontura, náuseas, vômitos, alterações da coagulação e sangramentos, podendo evoluir para choque (DE OLIVEIRA PARDAL et al., 2017; TURCI et al., 2009). Complicações sistêmicas graves, como lesão renal aguda, septicemia, cardiotoxicidade e neurotoxicidade também podem ocorrer (DE OLIVEIRA et al., 2018; MALBRANQUE et al., 2008; SACHETT et al., 2017). Entretanto, assim como em muitos viperídeos, a gravidade do envenenamento botrópico é amplamente atribuída aos distúrbios hemostáticos, que resultam em incoagulabilidade sanguínea, eventos trombóticos e diversos tipos de sangramentos, incluindo gengivorragia, hematúria, sangramento conjuntival e hematêmese (DE OLIVEIRA et al., 2018; MALBRANQUE et al., 2008).

Embora sejam raros, casos de AVC hemorrágico associados à hipertensão arterial e ao atraso na assistência médica têm sido relatados na região (SILVA DE OLIVEIRA et al., 2017). Além disso, também há registros de AVC isquêmico relacionados a longos períodos de internação, resultando em sequelas debilitantes de longo prazo (BENTES et al., 2024).

Uma complicação sistêmica significativa dos envenenamentos botrópico é a lesão renal aguda (LRA), que impacta gravemente a morbimortalidade. Em um estudo recente conduzido por Brasileiro-Martins e colaboradores (2022), a LRA foi observada em aproximadamente 40% dos pacientes vítimas de envenenamento botrópico atendidos em um hospital de referência em Manaus (Figura 6C) (BRASILEIRO-MARTINS et al., 2022). A isquemia, a hemorragia e a ação nefrotóxica direta do veneno são fatores importantes no desenvolvimento da LRA (ALBUQUERQUE et al., 2013a, 2019).

Ainda, é importante salientar, a relação da hipertensão arterial sistêmica com os envenenamentos ofídicos, uma vez que pacientes hipertensos possuem uma predisposição a doenças cardiovasculares (THYGESEN et al., 2019), e o envenenamento ofídico, como o causado por serpentes do gênero *Bothrops*, induzem uma série de respostas inflamatórias e trombogênicas (CAVALCANTE et al., 2023; WELLMANN et al., 2020), além de lesões vasculares diretas, que podem desestabilizar ainda mais o sistema cardiovascular, aumentando o risco e eventos como o infarto agudo do miocárdio, insuficiência cardíaca e arritmias em pacientes hipertensos (ANTMAN et al., 2000; THYGESEN et al., 2019). Em alguns casos, o estresse fisiológico e inflamatório causado pelo envenenamento também podem aumentar uma crise hipertensiva, levando ao quadro de hipertensão maligna, necessitando de intervenção urgente, aumentando o risco de dano a órgãos-alvo como coração, cérebro e rins (AKIMOTO et al., 2011; MATHEW; NAYER; ASIF, 2016; MENNUNI et al., 2014; NELWAN et al., 2016; STRANDGAARD; PAULSON, 1989; THIND; KAILASAM, 2017). Além da associação do envenenamento botrópico com os distúrbios hemostáticos, uma vez que pacientes hipertensos já apresentam disfunções endotelial e maior rigidez arterial, o que pode potencializar os distúrbios, aumentando o risco de sangramentos graves ou trombozes (MALBRANQUE et al., 2008; SILVA DE OLIVEIRA et al., 2017).

Figura 6: Manifestação sistêmicas após envenenamento botrópico. A. picada na mão direita com presença de equimose em ambos os braços. B. Gengivorragia. C. Paciente realizando terapia renal substitutiva devido à lesão renal aguda.



Fonte: Figura 7A e 7B (SANT'ANA MALAQUE; GUTIÉRREZ, 2015) e 7C (CEPCLAM).

Conforme as diretrizes do Ministério da Saúde para o diagnóstico e tratamento de envenenamentos ofídicos no Brasil, os envenenamentos por *Bothrops* são classificados em diferentes níveis de gravidade: i) casos leves, onde as manifestações clínicas locais são discretas ou ausentes, podendo haver ou não sangramento sistêmico, e o tempo de coagulação pode ser normal ou alterado; ii) casos moderados, caracterizados por manifestações locais evidentes que afetam três a quatro segmentos do membro afetado, podendo ou não haver sangramentos sistêmicos e coagulopatia; iii) casos graves, onde o edema atinge todo o membro picado, geralmente acompanhado de dor intensa, com ou sem coagulopatia. Nestes casos graves, podem ocorrer sangramento sistêmico significativo, choque e/ou insuficiência renal (BRASIL, 2019).

A classificação dos casos de acordo com a gravidade visa principalmente orientar o tratamento específico dos envenenamentos ofídicos, que consiste na administração de antiveneno (CARDOSO, JOAO et al., 2003). No caso de envenenamentos botrópicos, a dosagem do antiveneno é ajustada conforme a gravidade clínica do paciente (BRASIL, 2022).

1.4 Fisiopatologia das lesões cardíacas associadas ao envenenamento ofídico

As lesões cardíacas relacionadas aos envenenamentos por serpentes são raras, porém potencialmente fatais se não diagnosticadas e tratados rapidamente (BO LANGHOFF HØNGE et al., 2015; GABALLA et al., 2005; MALBRANQUE et al., 2008; NAMAL RATHNAYAKA et al., 2018; NELWAN et al., 2016; ROSEN; LEIVA; ROSS, 2000). A fisiopatologia dessas lesões ainda não está completamente elucidada, em grande parte devido à sua baixa incidência e à escassez de dados robustos (LIBLIK et al., 2022).

As toxinas presentes na peçonha das serpentes possuem efeitos que podem modificar os processos fisiológicos. Alguns desses componentes modulam especificamente processos biológicos como, regulação da pressão arterial, coagulação, inflamação, função nervosa e impulsos musculares. (GOLD; DART; BARISH, 2002; WARRELL, 2010; WHITE, 2005).

As serpentes do gênero *Bothrops* produzem diversas toxinas, destacando-se as fosfolipases A2, que possuem ação cardiotoxica, devido sua capacidade de se ligarem e perturbarem a integridade da membrana plasmática das fibras musculares cardíacas. Isso resulta em hipercontratação do miofilamento, disfunção mitocondrial e outros eventos degenerativos, culminando em disfunção celular e comprometimento da contratilidade cardíaca (DIXON; HARRIS, 1996; GUTIÉRREZ; OWNBY, 2003a; LIBLIK et al., 2022; MONTECUCCO; GUTIÉRREZ; LOMONTE, 2008).

Ainda, o sangramento sistêmico induzido pelo envenenamento é uma das principais causas dos distúrbios hemodinâmicos observados em pacientes vítimas de envenenamentos por viperídeos, que podem evoluir para choque cardiovascular hipovolêmico (WARRELL, 2010). A hemorragia sistêmica observada nos envenenamentos botrópicos está associada a distúrbios hemostáticos e ação de toxinas que levam a ruptura de vasos sanguíneos, acarretando (em casos mais graves) em uma perda de sangue que pode levar a alterações hemodinâmicas. Os distúrbios de coagulação são devido a ação de toxinas como as metaloproteases (SVMPs), onde no veneno de *B. atrox* o mecanismo pró-coagulante consiste na ativação direta dos fatores II e X, resultando na formação de trombina endógena e pela ação de

serinoproteases do tipo *trombin-like*, que atuam diretamente sobre fibrinogênio (ESCALANTE et al., 2011; LARRÉCHÉ et al., 2021; MONTEIRO et al., 2020); e também possui ação de serinoproteases (SVSPs), que podem intensificar os quadros de lesão cardíaca através da clivagem de proteínas da coagulação, contribuindo para os distúrbios hemostáticos, como quadros de coagulopatia e eventos trombóticos, que comprometem o fluxo sanguíneo e podem causar isquemia no tecido cardíaco (KINI, 2006; MALBRANQUE et al., 2008; SAJEVIC; LEONARDI; KRIŽAJ, 2011).

A combinação de toxinas que atuam sobre a hemostasia e sobre a microvasculatura atuam de maneira sinérgica para o desencadeamento de sangramentos, que em larga escala, podem levar ao choque hipovolêmico e consequentemente a quadros de hipotensão. A hipotensão após picada de cobra é atribuível a várias atividades do veneno, também podendo estar associada pela ação dos peptídeos potencializadores de bradicina (PPB) (CAMARGO et al., 2012; MORAIS et al., 2013). Esses peptídeos, encontrados em espécies como a *Bothrops jararaca*, aumentam os níveis de bradicinina, um potente vasodilatador, ao inibir a enzima conversora de angiotensina (ECA), que normalmente degrada a bradicinina e converte a angiotensina I em angiotensina II. A inibição da ECA prolonga o efeito hipotensivo da bradicinina, resultando em uma vasodilatação prolongada e queda da pressão arterial. Essa descoberta foi crucial para o desenvolvimento de inibidores da ECA, como o captopril, usados no tratamento da hipertensão (CAMARGO et al., 2012; E SILVA; BERALDO; ROSENFELD, 1949; FERREIRA, 1965).

Vários peptídeos de veneno de serpentes mimetizam as ações de peptídeos endógenos, incluindo os peptídeos natriuréticos (NPs). Existem três isoformas de NPs em mamíferos: atrial (ANP), NP cerebral (BNP) e NP tipo C (CNP) (AVERIN; UTKIN, 2021). Os ANPs são hormônios-chave na regulação da homeostase de pressão-volume, interagindo com receptores NPs ligados à membrana (NPRs) no coração, vasos sanguíneos e rins, o que reduz a pressão arterial e o volume circulante. Uma propriedade comum dos NPs é induzir a produção de óxido nítrico (NO) e ativar a proteína quinase G, mediando seu efeito vasorrelaxante (DA SILVA et al., 2012; FRY et al., 2005). Além disso, alguns NPs podem causar relaxamento em preparações aórticas sem endotélio

(Chen et al., 2011). Assim, os NPs têm um espectro de efeitos fisiológicos que podem ser explorados para tratar doenças cardiovasculares (CHEN et al., 2011). A presença de NPs em venenos botrópicos foi identificada em estudos proteômicos e transcriptômicos das glândulas produtoras de veneno (MUNAWAR et al., 2011; MURAYAMA et al., 1997). Embora a purificação e a atividade biológica desses peptídeos nos venenos botrópico ainda não tenham sido elucidadas, sua presença pode estar associada a casos de hipotensão

Danos sobre o tecido cardíaco já foram descritos em estudos *in vitro* e *in vivo*, evidenciando uma direta e indireta de toxinas. Dentre os mecanismos diretos, Cano-Sanchez e colaboradores (2022) mostraram que o veneno de *Bothrops lanceolatus* é capaz de reduzir a capacidade de fosforilação oxidativa mitocondrial e aumentar a permeabilidade da membrana mitocondrial em células de trabécula atrial humanas. A disfunção mitocondrial cardíaca associada pode alterar a função do miocárdio, participando da cardiotoxicidade que ocorre em pacientes com envenenamento grave (CANO-SANCHEZ et al., 2022). Em outro estudo, foi evidenciado que o veneno de *Bothrops jararacussu* tecido atrial direito de ratos foi capaz de causar uma contratura muscular, associada a um dano muscular histológico e confirmado pela liberação de creatina quinase-MB (CK-MB). Interessantemente a pré-incubação do veneno com brometo de p-bromofenacil (um inibidor da fosfolipase A2) aboliu a contratura induzida pelo veneno e o dano muscular, indicando que a ação do veneno de *B. jararacussu* afetando adversamente a atividade contrátil atrial e a organização muscular de ratos foi por meio da ação PLA2 do veneno (RODRIGUES et al., 2014).

As miotoxinas são proteínas básicas encontrados em venenos de serpentes responsáveis por levar à necrose muscular grave. Diversos estudos já evidenciaram a ação de miotoxinas sobre musculatura esquelética, porém sobre a musculatura cardíaca ainda são restritos. Considerando as diferenças em relação as fibras musculares esqueléticas e cardíacas, López-Dávila e colaboradores (2021) evidenciaram que a miotoxina Mt-II, isolada do veneno de *Bothrops asper*, induziu hipercontração rápida de cardiomiócitos íntegros de ratos administrados com a toxina, associada ao aumento da concentração citosólica de cálcio e ao rompimento da membrana celular (LÓPEZ-DÁVILA et al., 2021).

Dentre os mecanismos indiretos, o processo inflamatório também pode ser um mecanismo relacionado a patogenia dos distúrbios cardíacos. Cano-Sanchez e colaboradores (2022) mostraram que o veneno de *Bothrops lanceolatus* foi capaz de induzir danos a cardiomiócitos, associados a liberação de mediadores inflamatórios (CANO-SANCHEZ et al., 2022).

Além do mecanismo inflamatório, a formação de trombos em vasculatura cardíaca e hemorragia também é responsável por danos teciduais. Sartim e colaboradores (2017), demonstraram que uma metaloprotease ativadora dos fatores de coagulação II e X foi capaz de induzir a formação de trombos e pontos hemorrágicos no coração de ratos administrados com a toxina (SARTIM et al., 2017). Já em um estudo de relato de caso, de Azevedo e Teixeira (1938) evidenciaram que uma criança vítima de envenenamento botrópicos apresentou quadros de trombose grave, que levam a infartos nos pulmões, cérebro, rins e coração (DE AZEVEDO; TEIXEIRA, 1938).

1.5A ação do veneno de *Bothrops atrox* sobre a hemostasia

A ocorrência de distúrbios hemostáticos nos envenenamentos ofídicos é provocada por uma complexa mistura de componentes presentes nas peçonhas de serpentes, resultando em perfis bioquímicos e toxicológicos variados que determinam uma ampla gama de manifestações clínicas (CALVETE et al., 2011; WHITE, 2005). Certas dessas toxinas possuem diversas atividades enzimáticas, como: metaloproteases, serinoproteases, 5'-nucleotidases, fosfolipases A2 e L-aminoácido oxidases e não enzimáticas, como: desintegrinas, lectinas tipo-C e toxinas "three-finger" (SAJEVIC; LEONARDI; KRIŽAJ, 2011; SANO-MARTINS; SANTORO, 2009).

Algumas toxinas do veneno causam danos tecidual local, frequentemente resultando em sequelas permanentes, enquanto outras induzem efeitos sistêmicos, como manifestações neurotóxicas que podem levar à paralisia respiratória, sangramentos, LRA, rabdomiólise, que provoca ruptura generalizada das fibras musculares, cardiotoxicidade e trombose. A *Bothrops atrox*, pertencente à família Viperidae, provocando tanto efeitos locais quanto

manifestações sistêmicas, incluindo sangramentos, coagulopatia e choque hipovolêmico (GUTIÉRREZ et al., 2017).

Os componentes dos venenos podem ser classificados de acordo com suas atividades no sistema hemostático: coagulantes e anticoagulantes (atuando na coagulação), agregantes e antiagregantes plaquetários (atuando nas plaquetas) e fatores hemorrágicos (causando lesão vascular) (Quadro 2) (SANO-MARTINS; SANTORO, 2009).

Quadro 2: Proteínas de venenos de serpentes atuando no sistema hemostático.

Família de Proteína	Alvo no sistema hemostático	Efeito
Metaloproteases	Células endoteliais, membrana basal Plaquetas FX, FII Fibrina(ogênio) Serpinas	Hemorragia Inibição da agregação Ativação Degradação Inativação
Serinoproteases	Plaquetas FX, FVII, FV, FII, PC Plasminogênio Fibrinogênio Fibrina(ogênio) Serpinas	Agregação Ativação Ativação Coagulante Degradação Inativação
5'-nucleotidases	Plaquetas	Inibição da agregação
Fosfolipases A ₂	FXa, FIIa, FVII/FIII Plaquetas	Inibição Inibição da agregação
L-aminoácido oxidases	Células endoteliais Plaquetas	Hemorragia Agregação Inibição da agregação
Desintegrinas	Plaquetas	Inibição da agregação
Lectinas tipo-C	FIX, FX, trombina FX, FII Plaquetas	Inibição Ativação Agregação
"Three-finger"	FVIIa Plaquetas	Inibição Inibição da agregação

Abreviações usadas: F – fator de coagulação; PC – proteína C. Fonte: Sajevic et al. (2011) (adaptado).

O veneno das serpentes do gênero *Bothrops* geralmente apresenta uma ação multifacetada no sistema hemostático. Ele atua diretamente sobre o fibrinogênio, convertendo-o em fibrina, além de ativar os fatores de coagulação FX e FII, assim como as plaquetas, enquanto causa lesões no endotélio vascular.

Os venenos de serpentes com atividade coagulante frequentemente resultam em incoagulabilidade sanguínea, devido ao consumo de fibrinogênio e de alguns fatores de coagulação. A combinação da ação coagulante do veneno de *Bothrops* com sua influência sobre plaquetas e o endotélio vascular pode aumentar significativamente a incidência de sangramentos sistêmicos em vítimas de envenenamentos ofídicos (KAMIGUTI; CARDOSO, 1989; WHITE, 2005).

Dentre os distúrbios hemostáticos observados decorrente do envenenamento botrópico na Amazônia, a incoagulabilidade sanguínea é o mais prevalente, afetando entre 43,1% e 61,1% das vítimas, seguida por sangramentos sistêmicos, que ocorrem em aproximadamente 15% dos pacientes (BRASIL, 2019; MACHADO et al., 2010; SANT'ANA MALAQUE; GUTIÉRREZ, 2015). Entre as manifestações clínicas apresentadas pelos pacientes destacam-se o prolongamento do tempo de coagulação ou incoagulabilidade sanguínea, além de sangramentos como gengivorragia, hematúria, sangramento conjuntival, ocorrência de sangramentos em feridas recentes, equimoses distantes do local da picada, hemorragias digestivas e até mesmo hemorragia intracraniana (PETRETSKI et al., 2000). Ainda, entre os pacientes vítimas de envenenamento botrópico, também pode-se observar a instalação de eventos trombóticos, envolvendo vasos de artérias femorais, cerebrais, miocárdicas e pulmonares, podendo levar à morte ou sequelas funcionais (HOFMANN; BON, 1987a, 1987b; K. STOCKER, 1976; KENNETH R. WOODS, MARILYN STEPHENS HOROWITZ, 1972; NIEWIAROWSKI et al., 1979; PETRETSKI et al., 2000).

1.6 Biomarcadores de lesão cardíaca

Os biomarcadores podem ser classificados em várias categorias, incluindo: 1) estresse e/ou lesão miocárdica; 2) ativação neuro-hormonal; 3) remodelação cardíaca; e 4) comorbidades. Essas categorias permitem monitorar diferentes estágios da doença. Por exemplo, os peptídeos natriuréticos e as troponinas são biomarcadores específicos para avaliar o estresse e/ou lesão miocárdica. A identificação e monitoramento desses biomarcadores são cruciais, pois o tempo é um fator essencial na escolha do tratamento adequado, permitindo uma identificação rápida dos fatores causadores da disfunção cardíaca (BEREZIN, 2018).

A medição de biomarcadores cardíacos é um dos testes diagnósticos mais importantes em casos de infarto agudo do miocárdio, insuficiência cardíaca e outros distúrbios cardiovasculares (VASATOVA et al., 2013). Além disso, esses marcadores também têm um valor preditivo para eventos cardiovasculares futuros e mortalidade em indivíduos inicialmente saudáveis, mesmo após o ajuste para fatores de risco cardiovascular estabelecidos (SIPOS et al., 2021). Dependendo do seu papel, os biomarcadores se enquadram em três classificações principais: triagem, diagnóstico e prognóstico (OMRAN et al., 2022).

As troponinas cardíacas (cTn), também conhecidas como complexo de troponina, consistem em três proteínas reguladoras: troponina I (cTnI), troponina T (cTnT) e troponina C (cTnC). Essas proteínas são componentes essenciais dos filamentos finos do músculo cardíaco, especificamente da proteína actina, e desempenham um papel crucial na regulação da atividade cardíaca, incluindo as concentrações de cálcio intracelular durante o ciclo de contração e relaxamento muscular (OMRAN et al., 2022).

A troponina C (TnC) é expressa tanto nos miócitos cardíacos quanto nos músculos esqueléticos lentos (LI; HWANG, 2015). Em contraste, as isoformas cardíacas de troponina I (TnI) e troponina T (TnT) são expressas exclusivamente no coração (ANDERSON et al., 1991; DELLOW et al., 2001). Durante o desenvolvimento fetal humano, a proporção dessas isoformas

aumenta, sendo que, no nono mês após o nascimento, elas são expressas exclusivamente no coração. Devido a essa especificidade, tanto a TnI quanto a TnT são biomarcadores ideais para a investigação de distúrbios cardiovasculares (ANDERSON et al., 1991; ANDERSON; OAKELEY, 1989; BHAVSAR et al., 2000; KARLÉN et al., 2019; MESNARD et al., 1995; SASSE et al., 1993).

Atualmente, a avaliação dos níveis séricos de troponina T (TnT) e troponina I (TnI) é um dos métodos mais valiosos no diagnóstico precoce de infarto agudo do miocárdio (IAM) (ANTMAN et al., 2000; THYGESEN et al., 2012). Essas troponinas, altamente específicas para dano aos miócitos cardíacos, desempenham um papel crucial na identificação da remodelação dos vasos coronarianos e ventriculares associada ao infarto. Essa especificidade torna TnT e TnI biomarcadores indispensáveis na prática clínica para a detecção precoce de eventos cardíacos adversos, permitindo intervenções mais rápidas e eficazes.

Outro biomarcador utilizado, é a creatina quinase MB (CK-MB) é uma das isoenzimas da creatina quinase (CK), sendo considerada o padrão-ouro para a detecção e monitoramento de lesões cardíacas na década de 1980 (DANESE; MONTAGNANA, 2016). Como marcador cardíaco, a CK-MB aumenta para níveis detectáveis no sangue em resposta a danos no miocárdio, como isquemia ou lesão necrótica (AYDIN et al., 2019; DOLCI; PANTEGHINI, 2006). Um aumento nos níveis de CK-MB acima do limite superior de referência do percentil 99 indica uma origem miocárdica, ao invés de muscular. Os níveis de CK-MB são frequentemente detectados dentro de três a quatro horas após o início do infarto agudo do miocárdio (IAM), atingindo o pico em 24 horas e retornando ao normal em 24 a 72 horas. As medições laboratoriais de CK-MB refletem o total das isoformas CK-MB1 e CK-MB2 (CHRISTENSON et al., 1999; OMRAN et al., 2022; THYGESEN et al., 2012).

Além do IAM, outras condições cardiovasculares podem causar elevação de CK-MB, como miocardite, embolia pulmonar (EP), trauma cardíaco, transplante cardíaco, cardiotoxicidade induzida por quimioterapia (CT) e cirurgia cardíaca (CHRISTENSON et al., 1999; DE IULIIS et al., 2016; JO et al., 2019; LADOWSKI et al., 1992; LAUER et al., 1997; SINGH; BAWEJA,

2014). No entanto, os níveis elevados de CK-MB nessas condições não acrescentam valor significativo ao diagnóstico ou prognóstico, frequentemente causando confusão na interpretação dos resultados. Ademais, níveis elevados de CK-MB não especificam a etiologia subjacente, podendo resultar em falsos positivos em várias condições não cardiovasculares, como: trauma do músculo esquelético, distrofia muscular, dermatomiosite, rabdomiólise e amiloidose (JEAN-FRANÇOIS BENOIST et al., 1997; MATSUMURA et al., 2007; NGUYEN; NGUYEN, 2020; RUPPERT; VAN HEE, 2001; VOLOCHAYEV et al., 2012).

Com o advento das troponinas (Tn), especificamente as troponinas de alta sensibilidade, a CK-MB tornou-se obsoleta como biomarcador de IAM. O teste de CK-MB possui agora valor limitado no diagnóstico precoce e tardio de IAM tendo sido substituído pelo teste de Tn, que é muito mais específico e sensível. No entanto, a cinética de liberação da CK-MB pode ainda auxiliar no diagnóstico de reinfarto se os níveis aumentarem após o declínio inicial de um IAM (THYGESEN et al., 2012)

Outra classe de biomarcadores cardíacos comumente utilizados, são os peptídeos natriuréticos (NPs). Estes, são hormônios secretados pelos cardiomiócitos que desempenham várias funções protetoras no sistema cardiovascular, como diurese, natriurese e vasodilatação. Além disso, eles antagonizam os efeitos do sistema renina-aldosterona (DANIELS; MAISEL, 2007; GUPTA; WANG, 2015). Entre os principais NPs cardíacos em humanos estão o peptídeo natriurético atrial (ANP), o peptídeo natriurético tipo B (BNP) e o peptídeo natriurético tipo C (CNP). Esses peptídeos formam um sistema regulador integrado, possuem estruturas semelhantes, mas variam em potência (DEL RY; CABIATI; CLERICO, 2014; POTTER et al., 2009).

A elevação dos níveis circulantes de NPs ajuda a detectar doenças cardiovasculares (DCVs) e está associada a um pior prognóstico, independentemente da causa (DANIELS; MAISEL, 2007). Eles são cruciais para classificar a gravidade das DCVs, influenciar os planos de tratamento e avaliar o prognóstico (FU et al., 2018; GUÉANT RODRIGUEZ et al., 2013; KHANAM et al., 2017). Tanto os níveis de BNP quanto de NT-proANP são preditores independentes do risco de morte por eventos cardiovasculares

maiores, insuficiência cardíaca, acidente vascular cerebral, ataque isquêmico transitório e fibrilação atrial (WANG et al., 2004). Além disso, em indivíduos aparentemente saudáveis, o NTproBNP fornece informações prognósticas de mortalidade e primeiros eventos cardiovasculares importantes que vão além dos fatores de risco clássicos (KISTORP, 2005).

Evidências de experimentos com animais mostram que o mRNA de BNP e sua proteína aumentam em até 10 minutos após arritmias ventriculares letais transitórias, possivelmente devido ao estiramento do miocárdio (QI et al., 2000). Além disso, os níveis de BNP são significativamente elevados na cardiomiopatia de Takotsubo (CT), e a relação precoce BNP/cTnT e BNP/CK-MB pode distinguir CT de IAM com maior precisão do que o BNP isolado (RANDHAWA et al., 2014). Isso sugere que combinar a medição dos níveis de BNP com outros biomarcadores pode ser útil para o diagnóstico diferencial de certos distúrbios cardiovasculares.

Em relação aos biomarcadores prospectivos para avaliação de distúrbios cardiovasculares, a proteína de ligação a ácidos graxos do tipo cardíaco (H-FABP ou FABP3) pertencem à família FABP, foi descrita pela primeira vez em 1972. Ela desempenha um papel de múltiplas atividades celulares, incluindo transporte de lipídios, cardíacos, regulação da proliferação celular e homeostase dos miócitos (BINAS; EROL, 2007; SHEN et al., 2013; WANG et al., 2014; ZHU et al., 2011).

Altas concentrações de H-FABP são encontradas nas células musculares e são rapidamente secretadas após uma lesão cardíaca, devido ao seu baixo peso molecular e localização citoplasmática livre (IIDA et al., 2007; LIEBETRAU et al., 2014). Este biomarcador é altamente específico para o diagnóstico de lesão miocárdica, pois não foi observada reação cruzada entre H-FABP e outros tipos de FABP, devido às suas diferenças morfológicas e imunológicas (OMRAN et al., 2022).

Além disso, a H-FABP é um biomarcador sensível para detecção precoce de IAM e outras condições cardíacas, sendo liberada na corrente sanguínea dentro de 30 minutos a 3 horas após o evento isquêmico (LIEBETRAU et al., 2014). Estudos demonstraram que níveis elevados de H-FABP estão

associados a piores prognósticos em pacientes com insuficiência cardíaca e podem ajudar na estratificação de risco e no monitoramento da resposta ao tratamento (NAKATA et al., 2003; REITER et al., 2013). A rápida liberação e alta especificidade tornam a H-FABP uma ferramenta valiosa na prática clínica para a avaliação de distúrbios cardiovasculares agudos.

1.7 Justificativa

Embora haja poucas investigações clínicas sobre as alterações cardiovasculares decorrentes de envenenamentos botrópico, estudos pré-clínicos demonstram um grave potencial desses efeitos induzidos pelas toxinas. A alta prevalência de acidentes ofídicos envolvendo serpentes do gênero *Bothrops* no Brasil sublinha a necessidade urgente de mais estudos clínicos para avaliar a acurácia diagnóstica e prognóstica, bem como para compreender melhor a toxicidade cardíaca potencial.

Os efeitos cardiovasculares, embora raros, podem resultar em consequências crônicas significativas para os pacientes envenenados. Dessa forma, o presente trabalho justifica-se pela necessidade de investigações clínicas que examinem o risco de exposição em populações vulneráveis. O veneno botrópico interfere na hemostasia por meio de suas toxinas, afetando os fatores de coagulação e a função plaquetária, o que pode estar relacionado aos mecanismos patogênicos dos distúrbios cardiovasculares. Além disso, é fundamental estudar a associação entre esses efeitos e biomarcadores de lesão cardíaca, como FABP3, NT-proBNP e cTnI, para entender melhor as implicações clínicas do envenenamento botrópico.

Além disso, é essencial investigar a relação entre esses efeitos e biomarcadores de lesão cardíaca, como FABP3, NT-proBNP e cTnI, para compreender melhor as implicações clínicas do envenenamento. O uso de biomarcadores quantitativos é crucial para diferenciar e avaliar a previsibilidade da miotoxicidade cardíaca e esquelética, permitindo a detecção precoce da toxicidade. Com base na distribuição tecidual específica dessas proteínas, esses marcadores ajudam a monitorar o início e a reversibilidade da lesão cardíaca, melhorando a segurança do paciente durante o atendimento nas unidades de saúde

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Analisar os níveis de marcadores de lesão cardíaca (FABP3, BNP, Troponina I e CK-MB) em pacientes vítimas de envenenamentos por *B. atrox*.

2.2 Objetivos específicos

- Comparar os níveis de marcadores de lesão cardíaca em pacientes com envenenamento por *Bothrops atrox*, na admissão e 48 horas após, para identificar a evolução do dano cardíaco;
- Avaliar a relação entre a gravidade do envenenamento (leve, moderado, grave) e os níveis de marcadores de lesão cardíaca;
- Analisar a correlação entre os parâmetros de hemostasia e os níveis de marcadores de lesão cardíaca nos envenenamentos por *Bothrops atrox*;
- Investigar a relação entre a venenemia e os níveis de marcadores de lesão cardíaca para avaliar o impacto da carga de veneno no coração.

3. METODOLOGIA

3.1 Desenho Geral e Local do Estudo

Este foi um estudo observacional, com 80 pacientes clínicos e 20 pacientes controles, desenhado para descrever os níveis de marcadores de lesão miocárdica e investigar a correlação desses marcadores com os parâmetros de gravidade do envenenamento, antigenemia e coagulopatia de consumo induzida por veneno. O estudo incluiu uma amostra não probabilística consecutiva na FMT-HVD, em Manaus, Amazônia brasileira, de janeiro de 2016 a dezembro de 2017. Este hospital é um hospital de referência no estado do Amazonas para o tratamento de acidentes ofídicos. Em Manaus, a FMT-HVD é a única unidade hospitalar que administra o tratamento antiofídico ofídico.

3.2 Aspectos Éticos

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado (FMT-HVD) (parecer número 1.302.174/2015). Os participantes leram e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Os procedimentos realizados estão de acordo com a Declaração de Helsinque e a Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde para pesquisas envolvendo seres humanos.

3.3 Participantes, Classificação clínica e Coleta de Dados

Foram avaliados 80 pacientes, com diagnóstico clínico-epidemiológico de envenenamento botrópico, atendidos na FMT-HVD, na admissão, foram diagnosticados com base em características clínicas e epidemiológicas. Foram considerados elegíveis para a inclusão, pacientes vítimas de envenenamento botrópico, que não tenham recebido terapia antiveneno em outros serviços de saúde com idade ≥ 14 anos. Mulheres grávidas, indivíduos que relataram ter uma história de doenças inflamatórias prévias e comorbidades, como diabetes, doenças autoimunes ou imunodeficiência, ou em uso de antiagregantes

plaquetários e/ou anticoagulantes não foram incluídos. Em relação ao grupo controle, foram incluídos 20 acompanhantes de pacientes vítimas de envenenamento botrópico, sem história clínica de envenenamento ofídico prévio, em ambos os sexos.

O grupo controle foi selecionado a fim de refletir uma população semelhante em termos de idade e sexo aos pacientes vítimas de envenenamento botrópico, excluindo fatores de confusão como doenças pré-existentes ou tratamentos que pudessem alterar os resultados, como diabetes, doenças autoimunes, inflamatórias ou imunossupressoras. Além disso, os controles não possuíam história prévia de envenenamento ofídico, o que permite uma comparação mais precisa dos marcadores laboratoriais investigados.

A inclusão de 20 acompanhantes de pacientes vítimas de envenenamento botrópico como controles, ambos de sexos, assegura uma representatividade adequada e reduz o risco de variáveis não controladas que poderiam comprometer a análise dos dados. Este grupo controle serve como referência para as respostas inflamatórias e hemostáticas naturais em indivíduos saudáveis, fornecendo uma base comparativa crucial para avaliar a gravidade e as alterações fisiológicas induzidas pelo veneno botrópico nos pacientes do estudo.

O tratamento com soro antiofídico botrópico foi administrado de acordo com as diretrizes do Ministério da Saúde (Ministério da Saúde, 2023). O antiveneno foi administrado 30 minutos após a pré-medicação com hidrocortisona intravenosa (500 mg), cimetidina intravenosa (300 mg) e dexclorfeniramina oral (5 mg) (padronizada de acordo com as diretrizes locais). Foram obtidas amostras de soro na admissão (antes da terapia antiveneno – T0 - e 48 horas depois do antiveneno – T48). Todas as amostras de soro foram imediatamente centrifugadas após a coleta, congeladas e armazenadas a -80 °C.

Os participantes responderam a um questionário com variáveis sociodemográficas e epidemiológicas para obtenção de dados clínicos e epidemiológicos, sendo também utilizadas informações clínicas presentes no prontuário eletrônico (iDoctor) do FMT-HVD. Um formulário padrão foi

preenchido com características do paciente, como sexo, idade, área onde ocorreu envenenamento de serpente (rural ou urbana), mordida relacionada ao trabalho, tempo para chegar ao médico assistência, localização anatômica da picada, tratamento pré-hospitalar (uso de tópica ou oral medicamentos, uso de torniquete e outros procedimentos), confirmação de acidente botrópico, presença de sangramento sistêmico (antes ou depois da terapia antiofídica), presença de comorbidades e gravidade clínica do envenenamento (leve, moderada e grave), presença de comorbidades e gravidade clínica do envenenamento (leve, moderada ou casos graves de acordo com as diretrizes do Ministério da Saúde).

Em T0 e T48, a temperatura axilar, a frequência cardíaca, a pressão arterial e a frequência respiratória em repouso foram coletadas sistematicamente. A temperatura axilar normal foi considerada normal de 36,5 a 37 °C. A bradicardia foi definida como frequência cardíaca inferior a 60 vezes por minuto, e a taquicardia refere-se a uma frequência cardíaca superior a 100 batimentos por minuto. A pressão arterial elevada foi definida como superior a 139/89 mmHg e a pressão arterial baixa como inferior a 90/60 mmHg. A frequência respiratória normal foi considerada de 12 a 20 respirações por minuto.

As variáveis laboratoriais obtidas foram tempo de coagulação (em minutos), hemoglobina (mg/dL), hematócrito (%), contagem de plaquetas (número/ μ L), creatinina, testes de coagulação, quantificação de veneno de *Bothrops* no soro e marcadores de lesão miocárdica.

3.4 Processamento e Análise

Os níveis séricos de peptídeo natriurético tipo B N-terminal (NTproBNP), troponina I e proteína de ligação a ácidos graxos 3 (FABP3) foram determinados usando kits de imunoensaio baseados em esferas disponíveis comercialmente (MILLIPLEX MAP HCVD1MAG-67K e HNS2MAG-95K; Merck KGaA, Alemanha). Para expandir a faixa de ensaio do analito alvo, o soro para análise de FABP3 foi diluído (1:10). Amostras, padrões e controles foram executados em duplicata com coeficiente de variância de <20% realizadas usando um ímã portátil (Bloco Separador Magnético Portátil, 40-285; Merck KGaA, Alemanha).

Para leitura e aquisição de dados, foi utilizado um leitor MAGPIX (Luminex Corporation) com o software xPONENT (versão 4.3), para leitura e aquisição de dados, enquanto o Belysa Curve Fitting Software versão 1.0.19 (Merck KGaA, Alemanha) foi utilizado para ajuste de curva.

A atividade da creatina quinase-MB (CK-MB) no soro foi determinada usando um kit baseado em imuno inibição disponível comercialmente com um auto analisador (CMD 800 Series MODULAR SYSTEMS). Os ensaios foram realizados de acordo com as instruções do fabricante, nas concentrações de 0 e 48 hours (T0 e T48).

3.5 Quantificação de biomarcadores

Os níveis séricos de NTproBNP, troponina I e FABP3 foram determinados usando kits de imunoensaio (kits MILLIPLEX MAP). O ensaio foi realizado seguindo as instruções do fabricante, com amostras, padrões e controles executados em duplicata (Apêndice I). A leitura e aquisição dos dados foram realizadas utilizando o leitor MAGPIX® (Luminex Corporation) com o software xPONENT® (versão 4.3) e o ajuste de curvas com o Belysa® Curve Fitting Software versão 1.0.19 (Merck KGaA, Darmstadt, Alemanha). O processamento e leitura do CK-MB foram realizados com controle em 3 níveis, utilizando um controle liofilizado baseado em albumina sérica bovina com isoenzima CK-MB humana. Esse controle foi usado para garantir a precisão dos kits CK-MB DS UV, operando em um sistema com Windows XP Professional/Home SP2 ou Windows Vista Home Business. As amostras variaram de 1,5 µL a 35 µL, com um acréscimo de 0,1 µL.

3.6 Análise estatística

A estatística descritiva foi utilizada para apresentar as variáveis clínico-epidemiológicas. As análises estatísticas foram feitas por meio do software GraphPad Prism versão 9.0.2 (Graphpad Software, Inc., San Diego, EUA). Os dados foram submetidos ao teste de Shapiro-Wilk para análise de distribuição normal, e todos os dados assumiram distribuição não paramétrica. O teste de

Kruskal-Wallis foi realizado para comparação entre dois grupos, e o teste de Mann-Whitney foi realizado para comparar três ou mais grupos. O teste qui-quadrado ou exato de Fisher foi usado para testar a diferença entre as frequências observadas e esperadas de pacientes com marcadores anormais de lesão cardíaca entre T0 e T48. Os marcadores de coagulação/níveis de veneno e os níveis de marcadores de lesão cardíaca foram submetidos primeiramente ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk. Em seguida, para entender a direção ou força das correlações entre os marcadores de coagulação/veneno e os marcadores de lesão cardíaca, foram feitos os coeficientes de correlação não paramétricos de Spearman. Os mapas de calor da matriz de correlação foram gerados usando o GraphPad versão 9.0.2. O nível de significância foi determinado em $P < 0,05$.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Manuscrito científico redigido conforme normas da revista Clinical Toxicology, à qual será submetido:

Article

Myocardial Injury and its Association with Venom-Induced Coagulopathy Following *Bothrops atrox* Snakebite Envenomation

Marco Aurélio Sartim (1,2,3), Maria Raimunda da Costa (1,2), Karolaine Oliveira Bentes (2,3), Victor Irungu Mwangi (2,3), Thiago Serrão (1,2,3), Samella Oliveira (2,3), Jady Shayene (2,3), José Wilson do Nascimento Corrêa (4), João Marcos Bemfica Barbosa Ferreira (3), Gisely Cardoso de Melo (2,3), Jacqueline Sachett (2,3), Wuelton Monteiro (1,2,3)*

1 Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Brazil

2 Diretoria de Ensino e Pesquisa, Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado, Manaus, Brazil

3 Escola Superior de Ciências da Saúde, Universidade do Estado do Amazonas, Manaus, Brazil

4 Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Brazil

*Correspondence author

ABSTRACT

In Brazil, the highest incidences of snakebite envenomation (SBE) occur in the Brazilian Amazon, and *Bothrops atrox* is the most frequently perpetrating species in the region. Among envenomation effects, cardiac alterations are not a frequent outcome but are highly associated with severe cases. Studies on this theme are limited to animal models and case reports. The present study investigated the serum profile of cardiac injury markers (H-FABP3, BNP, CPK-MB, and Troponin I) following *Bothrops* SBE and its association with venom-induced coagulopathy. This is an observational-prospective study, with patients' victims of *B. atrox* SBE admitted at the Fundação de Medicina Tropical Dr Heitor Vieira Dourado, Manaus, State of Amazonas (Brazil) on a two-day follow-up (admission and 48 hours after antivenom treatment). Results showed that elevation of Troponin I and/or FABP3 was more clinically significant, associated with increased heart rate, envenomation severity, and age dependent. Concerning coagulopathy, these myocardial injury markers were correlated to hemostatic factors, serum levels of alpha 2-antiplasmin, fibrin degradation products, tissue factor, and factor VII, characterized by a consumption coagulopathy. These results enlighten clinical data on cardiovascular alterations following *Bothrops* SBE and its association with venom-induced

coagulopathy and demonstrate the importance of myocardial markers investigation in improving clinical management.

Keywords: *Bothrops atrox*; Myocardial injury markers; Coagulopathy; Troponin I; Fatty acid binding protein 3; Creatine kinase-MB.

INTRODUCTION

Snakebite envenoming (SBE) represents a major burden for public health in low- and middle-income countries, where it constitutes a potentially life-threatening disease (GUTIÉRREZ; OWNBY, 2003a). Available data show that 4.5-5.4 million people get bitten by snakes worldwide annually, and of this, 1.8–2.7 million develop clinical illness, and 81,000 to 138,000 victims die from complications (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2019). In Latin America, snakebites are caused mainly by viperids of the *Bothrops* genus (SANT'ANA MALAQUE; GUTIÉRREZ, 2015). *Bothrops* venoms induce prominent local tissue damage (GIMENES et al., 2021; MONTEIRO et al., 2020; SILVA et al., 2021) and systemic disturbances associated with venom-induced consumption coagulopathy (CAVALCANTE et al., 2023; OLIVEIRA et al., 2020; WELLMANN et al., 2020), which may lead to transient and/or permanent disabilities (ALBUQUERQUE et al., 2013b; DE OLIVEIRA et al., 2018; OLIVEIRA et al., 2019; RODRIGUES SGRIGNOLLI et al., 2011). Systemic bleeding, circulatory shock, acute kidney failure, sepsis, and acute respiratory failure are the major contributors to deaths from *Bothrops* snakebites (DA SILVA SOUZA et al., 2018; RIBEIRO et al., 1998). Hemodynamic and cardiac alterations from *Bothrops* snakebites have not been extensively investigated. In fact, these alterations are rarely observed in patients victims of *Bothrops* SBEs, but they are of great relevance since they are associated with severe cases

(DE AZEVEDO; TEIXEIRA, 1938; OTERO-PATÍÑO, 2009; PINHO; BURDMANN, 2001). These cases are characterized by hemodynamic repercussions, especially hypotension (17,18). Several mechanisms may be associated with the pathogenesis of cardiac disorders in *Bothrops* envenomations, among which we can mention hypovolemia secondary to massive systemic bleeding (ABAD RIBEIRO et al., 2024; DA SILVA SOUZA et al., 2018; MILANI et al., 1997); ischemia caused by the formation of thrombi in the cardiac vasculature (16,21); hemorrhages from microvascular damage in the cardiac parenchyma and stroma (22); action of hypotensive toxins such as bradykinin-enhancing peptides (23,24); action of natriuretic peptides (25); direct lysis of cardiac muscle fibers by PLA₂ (26–28); and energetic metabolism blockade (29). Acute kidney injury (10,11,30) and respiratory distress (31,32) could also contribute to the emergence of cardiac alterations in *Bothrops* SBEs.

Bothrops atrox, the common lancehead, is a South American pitviper responsible for most of the SBE in the Amazon region (33). *B. atrox* venom is a rich source of several biologically active molecules capable of inducing local and systemic disorders during envenomation. Among systemic effects, hemostatic alterations and hemorrhagic disturbs are essential factors associated with the severity of snakebite cases and are directly related to end-organ

complications. These effects are induced by toxins that interfere with coagulation, platelet function, fibrinolysis system, and degradation of the vascular basement membrane, leading to thrombotic and hemorrhagic events (MONTEIRO et al., 2020). Severe hemodynamic disturbances from bleeding and ischemia have been reported in patients bitten by *B. atrox*, commonly associated with blood pressure alterations and heart rhythm abnormalities (34–39).

This study aimed to investigate the serum level of myocardial injury markers and its association with venom-induced coagulopathy to describe the levels of myocardial injury markers in *B. atrox* SBE patients and test the correlation of these markers with envenoming severity, antigenemia, and coagulation parameters. These findings not only enhance our understanding of this species' pathogenesis of systemic envenoming but also may inform whether these patients need close cardiac monitoring.

MATERIAL AND METHODS

Ethics

The study protocol was approved by the Ethics Committee of the Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado (FMT-HVD), Manaus, Brazil (approval number: 1.433.431, approval date: 2 March 2016). All patients and volunteer donors signed the consent form.

Study design and setting

This observation study was designed to describe the levels of myocardial injury markers and investigate the correlation of these markers with envenoming severity, antigenemia, and hemostasis parameters. The study included a consecutive non-probabilistic sample of patients admitted at the FMT-HVD in Manaus, Brazilian Amazon, from January 2016 to December 2017. This hospital is a reference hospital in the Amazonas state for treating snakebites. In Manaus, FMT-HVD is the only hospital unit that administers snakebite antivenom treatment.

Participants

On admission, *Bothrops* snakebites were diagnosed based on clinical and epidemiological characteristics, and when the patient brought the snake responsible for the envenomation, by its identification by a trained biologist. *Bothrops* or *Bothrops-Lachesis* antivenom treatment was administered according to the guidelines of the Brazilian Ministry of Health (40) and cases were classified as (1) mild: local pain, swelling, and bruising; (2) moderate: local manifestations without necrosis and minor systemic signs (coagulopathy and bleeding, no shock); or (3) severe: life-threatening snakebite, with severe bleeding, hypotension, shock, and/or acute kidney failure (BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE COORDENAÇÃO-GERAL DE DESENVOLVIMENTO DA EPIDEMIOLOGIA EM

SERVIÇOS, 2024). Antivenom was given 30 minutes after premedication with intravenous hydrocortisone (500 mg), intravenous cimetidine (300 mg), and oral dexchlorpheniramine (5 mg) (standardized according to local guidelines). Patients with no previous antivenom therapy in other health services and age ≥ 14 years were eligible to participate in this study. Pregnant women, patients with inflammatory and autoimmune diseases, immunodeficiency, and those using antiplatelet agents and/or anticoagulants were not included.

A standard form was filled in with patients' clinical and epidemiological features on admission (T0 - before antivenom treatment) and 48 hours (T48) after antivenom therapy. The clinical-epidemiological variables collected were gender, age (in years), geographical location of the occurrence of the snakebite (rural or urban), work-related bite, occupation, time taken to reach medical assistance (in hours), anatomical region of the bite, pre-hospital treatment (use of topical or oral medicines, use of tourniquet and other procedures), local and systemic manifestations, clinical severity of envenomation (mild, moderate, or severe according to the Brazilian Health Ministry guidelines), presence of comorbidities, time spent in hospital (in days), and outcome (discharge or death).

At T0 and T48, axillary temperature, heart rate, blood pressure, and respiratory rate at rest were systematically collected. Normal axillary temperatures were considered normal from 36.5 to 37 °C. Bradycardia was defined as a heart rate lower than 60 times per minute, and tachycardia refers to a heart rate of more than 100 beats per minute. High blood pressure was defined as higher than 130/80 mmHg, and low blood pressure as lower than 90/60 mmHg. The normal respiratory rate was 12 to 20 breaths per minute.

Laboratory variables obtained were clotting time (in minutes), hemoglobin (mg/dL), hematocrit (%), platelet count (number/ μ L), creatinine, coagulation tests, *Bothrops* venom quantification in serum, and myocardial injury markers.

Laboratory procedures

Myocardial injury markers: Serum levels of N-terminal type B natriuretic peptide (NTproBNP), Creatine phosphokinase-MB (CPK-MB), Fatty acid binding protein 3 (FABP3) and Troponin I were determined using commercially available bead-based immunoassay kits (MILLIPLEX MAP HCVD1MAG-67K, and HNS2MAG-95K; Merck KGaA, Germany). For FABP3 analysis, serum dilution was adapted to 1:10 to improve the assay range of the target analyte. Samples, standards, and controls were run in duplicate with a coefficient of variance of $<20\%$. Washing steps were done using a handheld magnet (Handheld Magnetic Separator Block, 40-285; Merck KGaA, Germany). For readout and data acquisition, a MAGPIX reader (Luminex Corporation) with xPONENT software (version 4.3) was used, while curve fitting was done using Belysa Curve Fitting Software version 1.0.19 (Merck KGaA, Germany). Creatine kinase-MB (CK-MB) activity in serum was measured using a commercially available

immunoinhibition-based kit with an autoanalyzer (CMD 800 Series MODULAR SYSTEMS). The assays followed the manufacturer's instructions at T0 and T48.

Hematology and biochemistry: Hemoglobin and platelet counts were measured on samples containing potassium EDTA as the anticoagulant in an automated cell counter (Sysmex Corp., Kobe, Japan). Anemia was defined as hemoglobin <12 g/dL in women and <13 g/dL in men. Creatinine was measured in serum samples in an autoanalyzer, following the manufacturer's instructions (CMD 800 Series MODULAR SYSTEMS). Acute kidney injury was defined according to the Acute Kidney Injury Network (AKIN) Guideline, as an increase of >0.3 mg/dL or up to 199% of baseline creatinine levels (KDIGO, 2013).

Coagulation markers: Clotting time was determined by the 20-minute whole blood clotting test (SANO-MARTINS et al., 1994). Blood was defined as unclottable when no clot was formed within 20 min and clottable when a solid or partial clot was formed within 20 min. For the following tests, 2% v/v *Bothrops-Lachesis* antivenom was added to the tubes to neutralize *Bothrops* venom present in the blood samples. Clotting factors were measured on samples containing sodium citrate. Fibrinogen was measured based on the Clauss method ((CLAUSS, 1957) with an ACL TOP300CTS coagulation analyzer (Werfen Instrumentation Laboratory, Spain). Fibrin/fibrinogen degradation product (FDP) was determined qualitative and semi-quantitative by latex agglutination (Diagnostica Stago S.A.S., France). D-dimer was measured by immunoturbidimetry with an ACL TOP300CTS coagulation analyzer (Werfen Instrumentation Laboratory, Spain). Alpha 2-antiplasmin was determined by the synthetic chromogenic substrate method (Diagnostica Stago S.A.S., France). The plasma tissue factor was measured by the human EIA kit (Abcam, United Kingdom). Plasma factor VII was estimated using deficient plasma kits (Diagnostica Stago S.A.S., France) with a semi-automatic Start4 coagulation analyzer (Diagnostica Stago S.A.S., France). Levels of plasma factors II and X were determined by performing a modified prothrombin time test using deficient plasmas kits (HemosIL[®], Instrumentation Laboratory, USA) with an ACL TOP 300 CTS coagulation analyzer (Werfen Instrumentation Laboratory, Spain). Plasma factor V was determined using the Denson standardized method (Denson, 1976). Plasma plasminogen was determined by chromogenic assay (American Diagnostica Inc., UK). The assays were performed according to the manufacturer's protocol. Clotting time, fibrinogen, fibrin/fibrinogen degradation product (FDP), and D-dimer were measured both at T0 and T48. The other coagulation markers were measured only at T0.

Bothrops venom quantification: Venom-specific enzyme immune assay (EIA) was used to differentiate *Bothrops* from *Lachesis* venoms and quantify venom in serum samples ((COLOMBINI, 2003) at T0 and T48. Values were calculated using standard curves with known concentrations of venom. The cut-off level corresponded to the mean plus 2 S.D. values of negative samples obtained from 20 volunteer donors with no history of snakebite, residents in the Manaus rural area.

Data analysis

Descriptive statistics were used to present clinical-epidemiological variables. Statistical analyses were made using GraphPad Prism version 9.0.2 (Graphpad Software, Inc., San Diego, USA). Data were submitted to Shapiro-Wilk test for normal distribution analysis, and all data assumed non-parametric distribution. Kruskal-Wallis test was performed for comparison between two groups, and Mann-Whitney test was performed for comparing three or more groups. Chi-square or Fisher's exact test were used to test the difference between the observed and expected frequencies of patients with abnormal heart injury markers between T0 and T48. The coagulation markers/venom levels and the levels of cardiac injury markers were first subjected to Shapiro-Wilk normality test. Thereafter, to understand the direction or strength of correlations between the coagulation markers/venom and cardiac injury markers, the non-parametric Spearman rank correlation coefficients was done. Correlation matrix heatmaps were generated using GraphPad version 9.0.2. The significance level was determined at $P < 0.05$.

RESULTS

Characteristics of the participants

A total of 80 snakebite patients were included in the study. Participants were primarily male (86%) and aged 14-39 years old (46%). Most of the snakebites occurred in the rural area (94%). Feet was the most affected anatomical region (76%). Snakebite severity was classified as moderate in 56% of the cases. Pain and edema were recorded in all patients. Secondary bacterial infection and bleeding from the perilesional region on admission were recorded in 36.3% and 18.8% of the patients, respectively. Systemic bleeding was observed in 12.5% and acute kidney injury in 21.3% of the patients. Unclottable blood was observed in 56.3% of the patients. Anemia was observed in 11.3% of the patients. Comorbidities were represented by hypertension (15%) and diabetes (7%). Bradycardia was reported in 8.8%, and tachycardia in 1.2% of cases. High and low blood pressure were present in 45% and 5% of the patients, respectively. A high respiratory rate was seen in 3.8% of the patients. A frequency of 44% of the patients had a hospital stay of 4-8 days. The characteristics of the study participants are presented in Table 1.

Table 1. Characteristics of the participants.

Variable	Frequency
Male	69 (86%)
Age groups (years)	
14-39	37 (46%)
40-59	33 (41%)
≥60	10 (13%)

Geographical location of the snakebite	
Rural	75 (94%)
Urban	5 (6%)
Time from bite to medical assistance (hours)	
<3	36 (45%)
3-12	34 (42%)
>12	10 (13%)
Anatomical region of the bite	
Feet	61 (76%)
Leg	13 (16%)
Hand	6 (8%)
Local manifestations/complications	
Pain	80 (100%)
Edema	80 (100%)
Secondary bacterial infection ^a	29 (36.3%)
Bleeding	15 (18.8%)
Ecchymosis	3 (3.8%)
Necrosis ^a	3 (3.8%)
Systemic manifestations	
Bleeding [#]	10 (12.5%)
Acute kidney injury ^a	17 (21.3%)
Lee-White clotting test	
Unclottable blood	45 (56.3%)
Anemia, on admission ⁺	9 (11.3%)
Clinical severity of envenomation	
Mild	30 (38%)
Moderate	45 (56%)
Severe	5 (6%)
Presence of comorbidities, self-reported	
Hypertension	13 (15%)
Diabetes	6 (7%)
Vital signs, on admission ^o	
Axillary temperature	
Normal	80 (100%)

Heart rate	
Bradycardia	7 (8.8%)
Normal	72 (90%)
Tachycardia	1 (1.2%)
Blood pressure	
Low	4 (5%)
Normal	40 (50%)
High	36 (45%)
Respiratory rate	
Normal	77 (96.2%)
High	3 (3.8%)
Time of hospital stay (days)	
2-3	26 (32%)
4-8	35 (44%)
>8	19 (24%)

[#]Gingival bleeding 5 cases, and one case each of hemorrhagic stroke, hemoptysis, hematemesis, hematuria, and epistaxis.

^³During hospital stay.

⁺Anemia was defined as hemoglobin <12 g/dL in women and <13 g/dL in men.

[°]Normal axillary temperature was considered normal from 36.5 to 37 °C. Bradycardia was defined as heart rate lower than 60 times per minute, and tachycardia refers to a heart rate of more than 100 beats per minute. High blood pressure was defined as higher than 130/80 mmHg and low blood pressure as lower than 90/60 mmHg. The normal respiratory rate was considered 12 to 20 breaths per minute.

Myocardial injury markers

Median FABP3 concentrations significantly decreased from T0 to T48 ($P<0.001$). There was no significant difference in the median of CPK-MB, NTproBNP, and Troponin I concentrations between T0 and T48 (**Figure 1**). Regarding FABP3, 98.7% of the patients at T0 and 61.3% at T48 had values above the median value of a sex- and age-matched healthy control group (235pg/mL) ($P<0.001$). In relation to Troponin I (cut off 160pg/mL), increased values were present in 12.5% of the patients at T0 and 8.8% at T48 ($P=0.442$). In the remaining patients, values of Troponin I were below the detection limit (<5pg/mL). Concerning NTproBNP (cut off 70pg/mL), elevated values were present in 15.6% of the patients at T0 and 16% at T48 ($P=0.994$). About CPK-MB (cut off 25U/L), increased values were present in 8.8% of the patients at T0 and 6.3% at T48 ($P=0.766$).

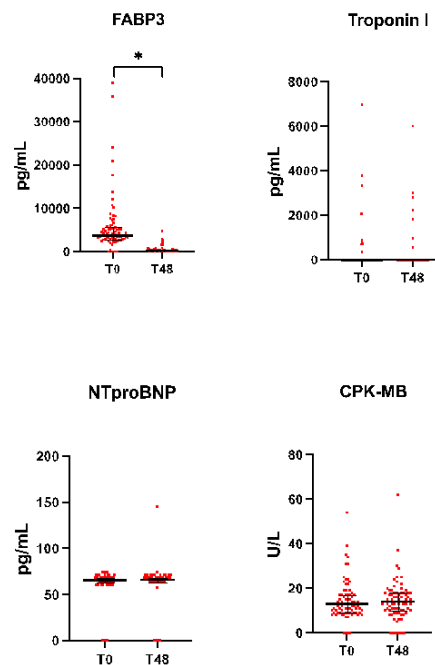


Figure 1. The concentration of myocardial injury markers over the patients' follow-up. Wilcoxon test was used to compare medians. Statistical significance in results was considered when $P < 0.05$. The asterisk is used in case of significant difference. NTproBNP: N-terminal type B natriuretic peptide, FABP3: fatty acid binding protein 3, and CPK-MB: creatine phosphokinase-MB. Values of Troponin I below the detection limit ($< 5 \text{ pg/mL}$) were considered as zero.

Myocardial injury markers and clinical and epidemiological variables

On hospital admission (Table 2), the median of the serum levels of FABP3 were higher in patients aged > 60 years ($P = 0.054$). Median CPK-MB serum levels were significantly higher in patients admitted to the hospital with $> 12 \text{ h}$ after the bite ($P = 0.031$), although these values are within the reference limit (25 U/L). Regarding serum levels of NTproBNP, no significant changes were observed. Considering that several patients presented Troponin I levels below the detection limit ($< 5 \text{ pg/mL}$), a specific analysis compared by the Tobit model for zero-inflated data was performed, and no significant differences were observed.

Table 2. Variables associated with myocardial injury markers at hospital admission.

Variable	Myocardial injury markers, Median (IQR)					
Age (years)	FABP3 (pg/mL)	<i>P</i>	NTproBNP (pg/mL)	<i>P</i>	CPK-MB (U/L)	<i>P</i>
14-40	3,456 (2,597-5,202)		66.1 (63.4-68.8)		13.0 (11.0-19.0)	
41-60	4,216 (3,224-5,416)	0.399	66.1 (63.4-63.4)	> 0.999	12.0 (9.0-17.0)	0.367
> 60	5,513 (3,757-7,407)	0.054	66.1 (62.0-66.1)	0.395	10.0 (8.5-17.0)	0.509
Gender						

Male	3,969 (2,840-5,855)		66.1 (63.4-68.8)		13.0 (9.0-17.5)	
Female	3,801 (2,950-5,166)	0.825	63.4 (60.7-68.8)	0.186	10.0 (8.0- 14.0)	0.067
Time to assistance						
<3h	4,379 (3,332-5,825)		66.1 (63.4-68.8)		12.5 (9.3-14.8)	
3-12h	3,969 (2,900-7,164)	>0.999	66.1 (61.5-66.1)	0.509	11.5 (9.0- 17.0)	>0.999
>12h	2,836 (2,200-4,800)	0.128	67.4 (66.1-70.1)	0.520	17.0 (14.0-31.0)	0.031
Case severity						
Mild	3,714 (2,725-5,157)		66.1 (61.5-68.8)		13.0 (8.8-17.5)	
Moderate	3,969 (2,980-6,524)	0.830	66.1 (64.1-68.8)	0.816	12.0 (9.0-17.0)	>0.999
Severe	4,287 (1,900-23,295)	0.781	66.1 (64.7-71.5)	0.649	17.0 (9.5-32.5)	0.639
Hypertension						
Yes	4,640 (3,435-5,825)		66.1 (63.4-66.1)		14.0 (8.5-17.0)	
No	3,830 (2,820-5,479)	0.514	66.1 (63.4-68.8)	0.555	12.0 (9.0-17.0)	0.936
Diabetes						
Yes	5,825 (1,560-17,448)		66.1 (63.4-68.8)		15.5 (0.0-22.5)	
No	3,830 (2,950-5,269)	0.499	66.1 (63.4-68.8)	0.816	12.5 (9.0-17.0)	0.827
Hypertension + Diabetes						
Yes	4,176 (2,924-5,855)		66.1 (63.4-66.8)		14.0 (8.3-17.0)	
No	3,860 (2,827-5,279)	0.760	66.1 (63.4-68.8)	0.683	12.0 (9.0-17.0)	0.856
Clotting time						
Unclottable	4,111 (2,858-6,046)		66.1 (63.4-68.8)		13.0 (10.0-17.0)	
Normal	3,716 (2,897-5,132)	0.504	66.1 (64.7-70.2)	0.290	13.0 (9.0-17.0)	0.443
Anemia ⁺						
Yes	4,406 (3,497-5,455)	0.934	66.1 (60.7-66.1)	0.910	14.0 (8.5-35.0)	0.507
No	3,860 (2,950-5,396)		66.1 (63.4-68.8)		13.0 (10.0-17.0)	
Systemic bleeding						
Yes	5,279 (2,650-7,629)	0.463	66.08 (63.4-68.8)	0.525	12.0 (10.0-31.0)	0.456
No	3,759 (2,950-5,221)		66.08 (63.4-68.8)		13.0 (9.0-17.0)	
Vital signs ³						
Heart rate						
Normal	3,801 (2,827-5,279)		66.1 (63.4-68.8)		13.0 (9.3-17.0)	
Bradycardia	5,513 (3,481-13,774)	0.407	66.1 (30.3-66.1)	0.313	9.0 (0.0-19.0)	0.575
Blood pressure						

Normal	3,614 (2,712-5,208)		66.1 (63.4-68.8)		13.0 (10.0-19.0)	
High	4,325 (3,246-7,288)	0.220	66.1 (63.4-71.5)	>0.999	13.0 (9.0-15.5)	0.630
Low	4,601 (2,921-6,928)	>0.999	68.8 (64.1-73.5)	0.504	12.5 (9.8-26.5)	>0.999
Respiratory rate						
Normal	4,078 (2,950-5,825)		66.08 (63.38-68.79)		13.0 (9.0-17.0)	
High	2,539 (2,427-2,650)	0.106	64.73 (63.38-66.08)	0.540	14.0 (11.0-17.0)	0.765

Legend: FABP3: fatty acid binding protein 3; NTproBNP: N-terminal type B natriuretic peptide; CPK-MB: creatine phosphokinase-MB. FABP3, NTproBNP, and CPK-MB levels were compared using the Kruskal-Wallis or Mann-Whitney test. Statistical significance results were considered when $P < 0.05$.

⁺Anemia was defined as hemoglobin <12 g/dL in women and <13 g/dL in men.

³ Bradycardia was defined as a heart rate lower than 60 times per minute, and tachycardia refers to a heart rate of more than 100 beats per minute. High blood pressure was defined as higher than 130/80 mmHg, and low blood pressure as lower than 90/60 mmHg. The normal respiratory rate was considered 12 to 20 breaths per minute. Only one case of tachycardia was reported on admission.

On T48, there was a trend towards an increase in the median of the serum levels of FABP3 in patients aged 41-60 years ($P=0.051$) and >60 years ($P=0.070$). Median CPK-MB serum levels were significantly higher in patients aged 14-40 years compared to those aged 41-60 years ($P=0.026$), although these values are within reference limit. Anemia was associated to significantly slightly higher values of CPK-MB serum levels ($P=0.007$). Bradycardia was associated to significantly slightly lower values of CPK-MB serum levels ($P=0.001$) (Table 3). Troponin I levels were compared by Tobit model for zero-inflated data, and no significant differences were observed.

Table 3. Variables associated to myocardial injury markers at 48 hours after admission.

Variable	Myocardial injury markers, Median (IQR)					
Age (years)	FABP3	<i>P</i>	NTproBNP	<i>P</i>	CPK-MB	<i>P</i>
14-40	224.6 (198.5-308.7)		66.1 (63.4-68.8)		15.0 (11.0-19.0)	
41-60	264.1 (2,371-345.4)	0.051	66.1 (63.4-68.8)	>0.999	12.0 (6.5-15.0)	0.026
>60	348.6 (241.7-587.0)	0.070	66.1 (64.7-67.4)	>0.999	14.0 (10.5-17.5)	>0.999
Gender						
Male	247.2 (211.1-354.4)		66.1 (63.4-68.8)		14.0 (9.5-18.0)	
Female	283.4 (214.6-340.0)	0.493	66.1 (63.4-68.8)	0.788	11.0 (10.0-14.0)	0.178
Time to assistance						
<3 h	250.4 (199.9-334.0)		66.1 (66.1-68.8)		13.5 (9.3-16.8)	
3-12h	252.5 (220.1-361.4)	0.954	66.1 (63.4-68.8)	0.147	13.5 (9.8-18.0)	0.891

>12h	249.0 (207.3-2015.0)	>0.999	66.1 (31.7-70.2)	0.754	16.0 (9.8-23.5)	0.419
Case severity						
Mild	249.0 (206.4-312.4)		66.1 (66.1-68.8)		11.5 (8.0-16.3)	
Moderate	252.5 (211.3-370.3)	0.552	66.1 (63.4-68.8)	0.174	14.0 (10.0-18.0)	0.169
Severe	1.649.0 (319.5-3,723.0)	0.010	68.8 (33.0-71.5)	>0.999	14.0 (13.0-28.0)	0.223
Hypertension						
Yes	312.4 (241.8-634.9)		66.1 (63.4-68.8)		13.0 (10.0-17.0)	
No	248.4 (207.5-338.5)	0.214	66.1 (64.1-68.8)	0.228	14.0 (9.0-18.0)	0.589
Diabetes						
Yes	327.9 (255.0-759.3)		68.8 (33.0-68.8)		5.0 (0.0-17.3)	
No	249.7 (209.8-342.2)	0.162	66.1 (63.4-68.8)	0.717	14.0 (10.0-18.0)	0.099
Hypertension + diabetes						
Yes	299.8 (239.1-656.4)		66.1 (63.4-68.8)		13.0 (2.5-17.0)	
No	245.4 (205.4-337.0)	0.145	66.1 (63.4-68.8)	0.528	14.0 (10.0-18.0)	0.264
Anemia ⁺						
Yes	254.3 (229.1-340.0)		66.1 (63.4-68.8)		18.0 (10.8-28.0)	
No	247.9 (211.1-358.2)	0.807	66.1 (63.4-68.8)	0.978	13.0 (9.3-16.8)	0.007
Fall in hemoglobin ≥ 2 mg/L						
Yes	261.5 (217.3-759.3)		66.1 (63.4-68.8)		16.5 (1.5-24.5)	
No	247.9 (209.8-335.5)	0.408	66.1 (63.4-68.8)	0.724	13.0 (10.0-17.0)	0.421
Acute kidney injury*						
Yes	341.3 (221.4-854.2)	0.123	66.1 (63.4-66.1)	0.336	14.0 (11.0-16.5)	0.942
No	245.4 (210.9-312.4)		66.1 (63.4-68.8)		14.0 (9.0-18.0)	
Vital signs [‡]						
Heart rate						
Normal	249.7 (207.5-326.6)		66.1 (63.4-68.8)		14.0 (10.8-18.0)	
Bradycardia	361.4 (238.1-2,336.0)	0.203	68.8 (63.4-71.5)	0.899	7.0 (0.0-9.5)	0.001
Blood pressure						
Normal	252.1 (212.5-329.4)		66.1 (63.4-68.8)		13.0 (10.0-18.0)	
High	249.0 (211.7-571.4)	>0.999	66.1 (66.1-68.8)	>0.999	14.0 (4.0-17.0)	>0.999
Low	824.7 (0.0-1,649)	>0.999	68.8 (66.1-71.5)	0.645	30.5 (24.0-37.0)	0.061
Respiratory rate						

<3	32 (47.1%)	4 (33.3%)				
3-12	27 (39.7%)	7 (58.3%)	0.448			
>12	9 (13.2%)	1 (8.4%)	>0.999			
Case severity						
Mild	23 (33.8%)	7 (58.3%)				
Moderate	41 (60.3%)	4 (33.3%)	0.164			
Severe	4 (5.9%)	1 (8.4%)	>0.999			
Hypertension						
Yes	10 (14.7%)	3 (25%)				
No	58 (85.3%)	9 (75%)	0.604			
Diabetes						
Yes	5 (7.4%)	1 (8.3%)				
No	63 (92.6%)	11 (91.7%)	>0.999			
Hypertension + Diabetes						
Yes	13 (19.1%)	3 (25%)				
No	55 (80.9%)	9 (75%)	0.639			
Systemic bleeding						
Yes	7 (10.3%)	4 (33.3%)				
No	61 (89.7%)	8 (66.7%)	0.033			
Anemia⁺						
Yes	6 (8.8%)	3 (25%)				
No	62 (91.2%)	9 (75%)	0.258			
Acute renal injury*						
Yes	16 (23.5%)	1 (8.3%)				
No	53 (76.5%)	11 (91.7%)	0.436			
Fall in hemoglobin ≥2mg/mL						
Yes	22.0 (15)	8.3 (1)				
No	78.0 (53)	91.7 (11)	0.504			
Systolic blood pressure (mmHg)	127.5 (119.3-140.0)	130.0 (107.0-130.0)	0.349	130.0 (119.3-140.0)	130.0 (107.0-130.0)	0.291
Diastolic blood pressure (mmHg)	80.0 (71.0-86.0)	70.0 (69.0-90.0)	0.499	80.0 (71.0-86.0)	70.0 (69.0-90.0)	0.499
Mean blood pressure (mmHg)	96.0 (87.2-104.3)	90.0 (81.7-106.7)	0.593	96.7 (89.0-105.5)	90.0 (81.7-106.7)	0.458

Respiratory rate (RR/mm)	20.0 (18.7-20.0)	20.0 (18.5-20.0)	0.973	20.0 (18.0-20.0)	20.0 (19.3-20.0)	0.902
Heart rate (HR/min)	71.0 (60.0-83.0)	85.0 (80.0-95.0)	0.005	70.5 (61.0-79.5)	82.5 (77.0-93.8)	0.009

Legend: Continuous variables were compared using the Kruskal-Wallis or Mann-Whitney test; dichotomous variables' frequencies were compared by Chi-square or Fisher's test. Statistical significance was considered when $P < 0.05$.

⁺Anemia was defined as hemoglobin < 12 g/dL in women and < 13 g/dL in men.

^{*}Acute kidney injury was defined as an increase of > 0.3 mg/dL or up to 199% of baseline creatinine levels.

Association of hemostatic alterations and myocardial injury markers

All cases were confirmed as *Bothrops* envenomations by the EIA technique. Median *Bothrops* venom serum levels were significantly decreased from T0 (15, 7-22 ng/mL) to T48 (3, 0-7 ng/mL) ($P < 0.001$). On T0 ($r = 0.234$; $P = 0.040$) and T48 ($r = 0.245$; $P = 0.034$), there was a significant positive correlation between *Bothrops* venom serum levels and FABP3 concentrations, but not between CPK-MB, NTproBNP, and Troponin I concentrations (Figures 2 and 3).

At T0, alpha 2-antiplasmin concentrations were negatively correlated with FABP3 levels ($r = -0.271$; $P = 0.017$). At this same time, FDP ($r = 0.219$; $P = 0.051$), tissue factor ($r = 0.255$; $P = 0.022$), and plasma factor VII ($r = 0.291$; $P = 0.008$) levels were positively correlated with Troponin I concentrations. There was a significant negative correlation between coagulation factor X and CKMB concentrations at T0 ($r = -0.230$; $P = 0.045$). No correlation was observed between NTproBNP and cardiac markers (**Figure 2**). At T48, no significant correlation was observed between coagulation parameters and cardiac markers' concentrations (**Figure 3**).

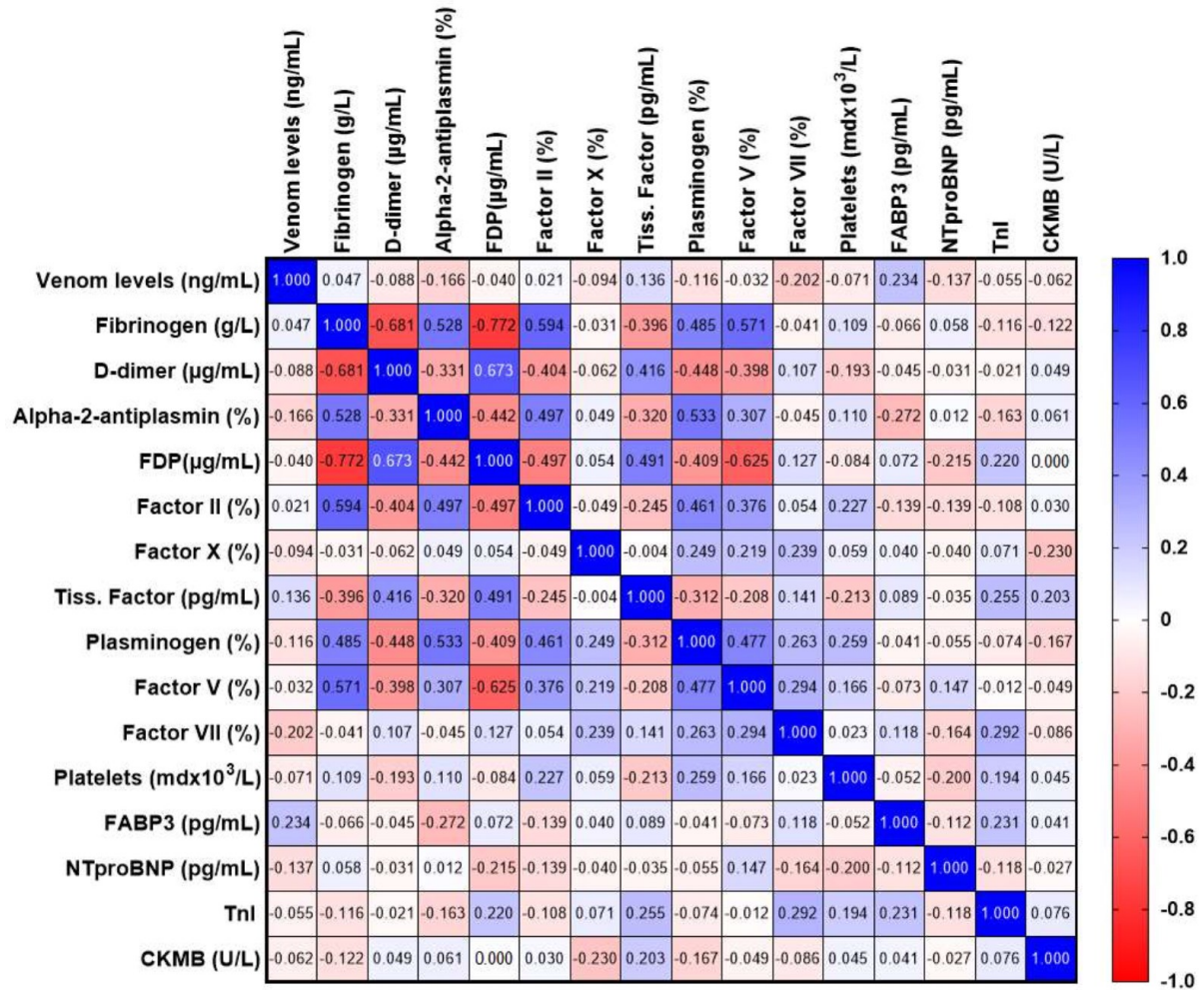


Figure 2. Heatmap with direction and strength of correlations between the coagulation markers and venom serum level, with cardiac injury markers, on hospital admission (T0). Data were expressed as Spearman correlation coefficient (R) ranging from -1.0 (negative correlation) to 1.0 (positive correlation). NTproBNP: N-terminal type B natriuretic peptide, FABP3: fatty acid binding protein 3, and CPK-MB: creatine phosphokinase-MB.

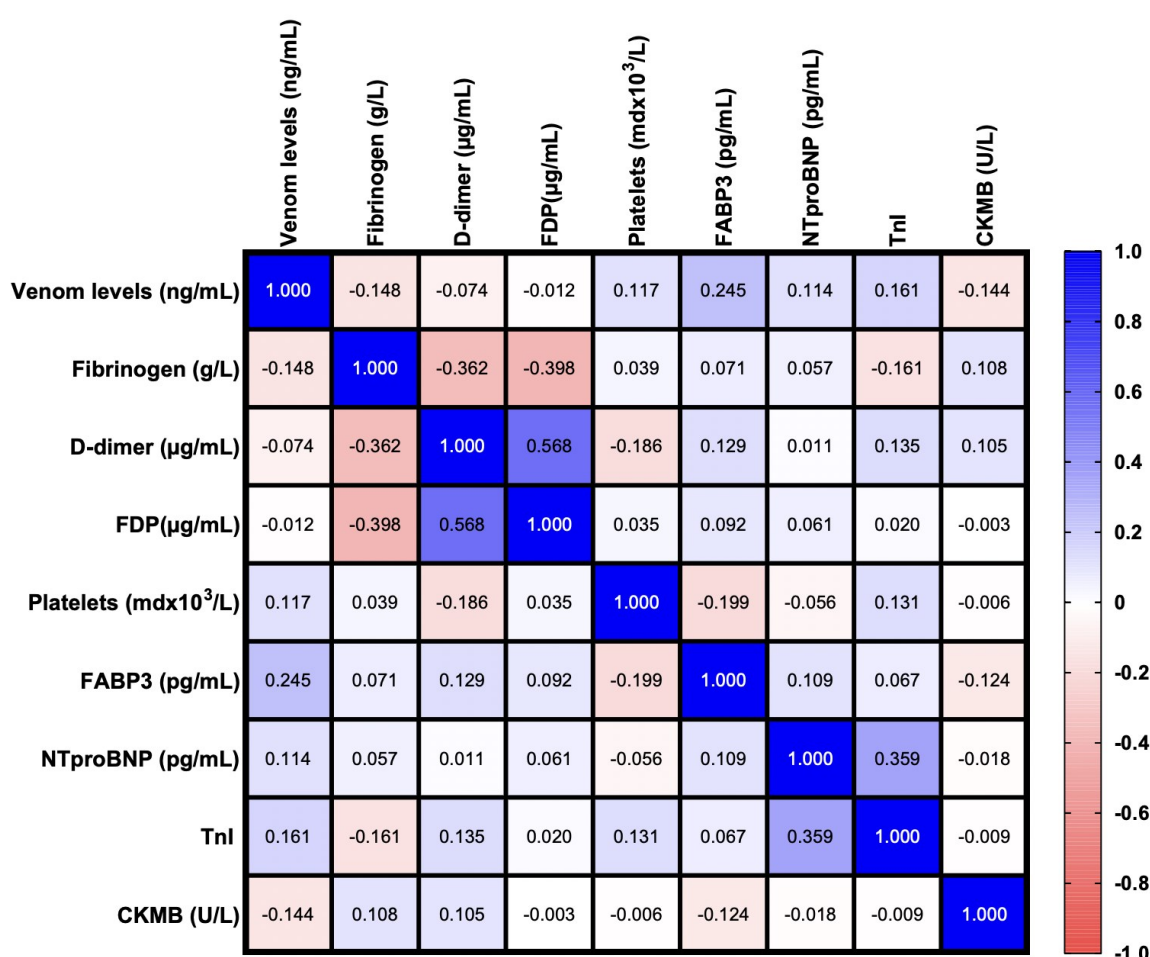


Figure 3. Heatmap with direction and strength of correlations between the coagulation markers and venom serum level, with cardiac injury markers, at 48 hours after hospital admission (T48). NTproBNP: N-terminal type B natriuretic peptide, FABP3: fatty acid binding protein 3, and CPK-MB: creatine phosphokinase-MB.

The group of patients with increased Troponin I levels presented significantly higher FDP concentrations at T0 ($P=0.021$), higher D-dimer concentrations at T48 ($P=0.043$), and slightly increased platelet counts at T0 ($P=0.043$) within normal range. Patients with increased Troponin I levels also presented significantly higher plasma factor VII levels at T0 ($P=0.008$) (Table 5).

Table 5. Evaluation of coagulation markers in patients with normal and increased levels of Troponin I over follow-up.

Variable	Median (IQR) or frequency, T0			Median (IQR) or frequency, T48		
	Normal Troponin I (n=68)	Increased Troponin I (n=12)	<i>P</i>	Normal Troponin I (n=68)	Increased Troponin I (n=12)	<i>P</i>
Clotting time						
Uncloitable	35 (51.5%)	10 (83.3%)	0.075			

Fibrinogen (g/L)	0.35 (0.35-0.68)	0.35 (0.35-0.35)	0.140	2.72 (2.03-4.27)	2.05 (1.56-4.02)	0.245
FDP (µg/mL)	160.0 (40.0-640.0)	640.0 (320.0-1280)	0.021	5.0 (5.0-5.0)	5.0 (5.0-8.8)	>0.999
D-dimer (µg/mL)	128.0 (13.9-128.0)	128.0 (45.8-128.0)	0.783	0.96 (0.51-1.56)	1.97 (0.93-3.40)	0.043
Platelets (x10³/µL)	222.0 (179.0-261.4)	266.8 (206.1-292.4)	0.043	180.0 (157.5-225.0)	209.5 (152.0-226.0)	0.377
Alpha 2-antiplasmin (%)	68.04 (51.75-85.81)	56.41 (48.81-65.57)	0.107			
Plasminogen (%)	48.94 (35.20-61.89)	45.57 (39.12-54.80)	0.674			
FII (%)	76.1 (55.4-88.3)	59.00 (46.40-84.88)	0.289			
FX (%)	99.9 (79.4-128.6)	118.9 (86.2-210.6)	0.294			
FV (%)	52.88 (25.35-73.60)	45.24 (23.00-77.05)	0.992			
FVII (%)	74.34 (62.76-101.4)	105.7 (84.66-123.7)	0.008			
Tissue factor (%)	21.69 (5.88-38.6)	49.55 (11.42-123.0)	0.085			

Normal range: Fibrinogen (2.38–4.98 g/L), Fibrin/fibrinogen Degradation Product - FDP (<5 mg/mL), D-Dimer (≤ 0.5 µg/mL), Platelets (150–450 $\times 10^9$ /L), Alpha 2-antiplasmin (80-120%), Plasminogen (80 – 120%), Coagulation Factor II – FII (79–131%), Coagulation Factor X – FX (77-131%), Coagulation Factor V – FV (56–124%), Coagulation Factor VII – FVII (55–170%).

DISCUSSION

Myocardial injury from *Bothrops* snakebites are most observed in severe cases of envenomation, primarily by hemodynamic repercussions, such as hypotension (16–18). Among the mechanisms associated with cardiac alterations, a direct effect of venom toxins inducing myocardial damage, and an indirect effect related to venom-induced coagulopathy (ALIRIO RESTREPO BASTIDAS et al., 2024; CAÑAS, 2016; RODRIGUES et al., 2014; SILVA DE OLIVEIRA et al., 2017). Experimental studies on *Bothrops* venom-induced myocardial injury were able to enlighten some of the possible mechanisms. Cano-Sanchez and colleagues (29) reported that *Bothrops lanceolatus* venom impairs mitochondrial function in human heart cells by reducing oxidative phosphorylation and increasing mitochondrial membrane permeability. Furthermore, Rodrigues and colleagues (RODRIGUES et al., 2014) described that *Bothrops jararacussu* venom can cause muscle contractures and histological damage in the atrial tissue of rats with CPK-MB release. López-Dávila colleagues (LÓPEZ-DÁVILA et al., 2021) also found that the myotoxin Mt-II from *Bothrops asper* induces hypercontraction and increased cytosolic calcium in rat cardiomyocytes, associating these effects with cell membrane disruption. The approach used in the present study to evaluate myocardial damage consisted of the serum quantification of the markers NT-ProBNP, CPK-MB, FABP3 and Troponin I.

Our findings demonstrate a slight neurohormonal activation by elevation of NT-proBNP (cut off 70pg/mL) in 16% of the patients with *Bothrops* snakebites both at T0 and T48. NT-ProBNP is a prohormone with a 76 amino acid N-terminal inactive protein that is cleaved from the molecule to release BNP, a hormone secreted from the cardiac ventricles to correct the

vasoconstrictive, sodium retaining, antidiuretic, and antifibrotic effects caused by the neurohormonal imbalance (46,47). Elevations in NT-ProBNP levels was observed in ventricular dysfunction (48,49) and other cardiac processes such as myocardial ischemia (AZEVEDO et al., 2014; BIBBINS-DOMINGO et al., 2003; NAKAMURA et al., 2002), coronary disease (KOTECHA et al., 2019), and aortic valve stenosis (HADZISELIMOVIC et al., 2022). In this study, levels of NT-proBNP were not influenced by demographic parameters such as sex and age, snakebite severity and presence of comorbidities. Likewise, physiological variables such as heart rate and blood pressure, and coagulation activation, were not associated with the levels of this marker. Our findings suggest that the mechanism underlying neurohormonal activation from *Bothrops* snakebites is multifactorial, possibly involving the interaction between circulatory disorders, systemic inflammation, changes in hemostasis and renal clearance (TSUTAMOTO et al., 2019). Previously, coagulation activation was associated to significantly and positively associated with NT-proBNP levels in men aged 60-79 years even after adjustment for age, lifestyle characteristics, renal dysfunction, atrial fibrillation and inflammation (C-reactive protein) (WANNAMETHEE et al., 2017). Unlike this study, ours included mainly young patients with a low frequency of comorbidities.

Elevation of the blood levels of CPK-MB (cut off 25U/L) were observed in 8.8% of the patients at T0 and 6.3% at T48. Creatine phosphokinase (CPK) is an enzyme expressed by various tissues and cell types, which catalyses the conversion of creatine and uses ATP to create phosphocreatine and ADP (WALLIMANN; HEMMER, 1994). High blood CPK levels may be an indication of damage to CPK-rich tissue, such as in rhabdomyolysis, myocardial infarction, myositis and myocarditis (ROSALKI, 1989). The myocardium has about 30% CPK-MB, and thus lacks the specificity for cardiac damage, and noncardiac muscle damage may also cause a rise of this marker (SCHLATTNER; TOKARSKA-SCHLATTNER; WALLIMANN, 2006). In *Bothrops* venoms, most subtypes of phospholipase A₂ (PLA₂) exert myotoxic effects that may lead to necrosis and permanent tissue damage (GUTIÉRREZ; OWNBY, 2003b). Along with PLA₂, snake venom metalloproteases have also been described as inducing myonecrosis in experimental models, which is possibly secondary to tissue ischemia associated with bleeding (GUTIÉRREZ, 2000). Thus, elevation of CPK-MB levels in our study is potentially overestimating the number of patients with myocardial injury. De Souza and colleagues (AT DE SOUZA et al., 2012) have reported that CPK-MB levels in mice injected with *B. atrox* venom were not significantly different compared to the control group. In our patients, CPK-MB levels were significantly higher in patients admitted to the hospital >12h after the bite. Actually, CPK-MB increases and disappears 12-36 hours following the onset of symptoms and returns within two days to baseline values (ROSALKI, 1989). At T48, it is expected that CPK-MB levels have already returned to values close to normal after a myocardial injury, which did not occur in our group of patients. Again, results indicate that there may be a problem of low specificity due to the injury to non-cardiac muscle that occurs in *Bothrops* envenomations up to a few days after the bite, especially in patients evolving to secondary bacterial infections (SACHETT et al., 2017).

Regarding FABP3, most patients had values above the median value of a sex- and age-matched healthy control group (235pg/mL), with 98.7% of the patients at T0 and 61.3% at T48. Interestingly, even patients admitted within 3 hours of snakebite had higher median FABP3 values than the control group. Additionally, FABP3 values were notably higher in severe patients and correlated with circulating venom levels, even without association with hemodynamic parameters. Interestingly, FABP3 levels significantly correlated with blood venom levels. These findings may be influenced by the increase in isoforms from other tissues, especially skeletal muscle tissue, intestine, kidney, liver and brain (PELSERS; HERMENS; GLATZ, 2005). FABP3 works as a chaperone for lipids and is critical for maintaining the homeostatic function of skeletal and cardiac muscle (MOON et al., 2021; VERGNES et al., 2011). The peak plasma levels are reached after 3-4 hours, and it returns to referent range in 18-30h (SAVIC-RADOJEVIC et al., 2017). FABP3 is considered reliable as an early marker for myocardial injury, more sensitive than myoglobin, CPK-MB and troponin, in the first hours after the onset of symptoms (ISHII et al., 1997). Patients >60 years old presented slightly higher levels of FABP3 at T0, followed by the age group of 41-60 greater at T48. Studies have demonstrated that age is a factor positively correlated with FABP3 levels in cardiovascular diseases, in which ages >50 years old presented increased levels (69,70).

In relation to Troponin I (cut off 160pg/mL), increased values were present in 12.5% of the patients at T0 and 8.8% at T48. The cardiac isotype of the myofibrillar contractile protein, Troponin I, is located specifically in the mammalian heart (SARKO; POLLACK, 2002). Measurement of Troponin I is extensively used as diagnostic of stroke or other myocardial injury (ROOS et al., 2017; STRANDBERG; ROOS; HOLZMANN, 2021; THYGESEN et al., 2019). Systemic bleeding was less frequent in patients with Increased Troponin I. However, since only mild bleeding was reported, without hemodynamic complications, we believe this was a fortuitous finding. Heart rate median was significantly higher in patients with increased Troponin I, both in T0 and T48, but generally within the reference values and without any clinical repercussions. Bastidas et al. (ALIRIO RESTREPO BASTIDAS et al., 2024) reported a case of *Bothrops* envenomation who developed heart failure, with a Troponin I level of 6.000pg/mL, severe hemodynamic instability, cardiomyopathy with biventricular failure and left ventricular ejection fraction of 25%.

Aside from the direct action of venom toxins on heart muscle, systemic effects can lead to cardiovascular alterations and enhance myocardial damage. Among the mechanisms, venom-induced coagulopathy has been described as an event closely associated with cardiac effects (BITTENBINDER et al., 2024). Venom-induced consumption coagulopathy (VICC) during *Bothrops* envenomation is characterized by the action of venom toxins on the activation of coagulation factors and the modulation of platelets function, leading to the consumption of hemostatic factors resulting in hemorrhagic and thrombotic events (76). These events can contribute to a direct myocardial infarction and hypotension due to hypovolemic shock (BITTENBINDER et al., 2024). Concerning the myocardial injury markers observed in the present study, FABP3 was negatively correlated to alpha 2-antiplasmin, FDP, and tissue factor serum levels. In contrast, Troponin I concentrations were positively correlated with plasma factor VII levels. This profile shows a pattern of activation and consumption of factors

associated with the coagulation cascade and fibrinolysis while Troponin I increases. Moreover, patients with increased levels of Troponin I presented an increased frequency of systemic bleeding and increased values of Fibrin/Fibrinogen Degradation Product (FDP), which was found >5x greater than the reference limit in this group. Based on these results and previous studies on *B. atrox* envenomation, the coagulopathy installed potentiates systemic bleeding frequently associated with hypotensive events (CAÑAS, 2016; OLIVEIRA et al., 2020; PÉREZ-GÓMEZ et al., 2019). Therefore, the result of our present study addresses the activation/consumption of hemostatic factor as an important factor associated with Troponin I elevation, which could be associated with myocardial ischemia, an imbalance between oxygen supply and demand, and/or inflammatory mediator-related myocardial cell injury (ALATASSI et al., 2018).

This study was carried out with a non-probabilistic consecutive sample, which did not cover the entire possible clinical spectrum of *B. atrox* envenomings. No clinically relevant hemodynamic disturbances were observed in our case series, with notable effects on the physiological parameters, and therefore the accuracy of the markers measured in severe cases was not estimated. Future studies with electrocardiogram, strain echocardiography and cardiac magnetic resonance may better assess the magnitude of myocardial injury in these cases. Since patients were only evaluated during their hospital stay, another limitation of this study was the lack of follow-up of patients to assess possible long-term repercussions on cardiac function.

CONCLUDING REMARKS

This is the first study designed to provide information on cardiac consequences following *B. atrox* envenomations. Elevation in myocardial injury markers, especially Troponin I, confirms that cardiac muscle is affected in *B. atrox* snakebites, although not associated to severe outcomes. Moreover, venom-induced coagulopathy has been directly associated to myocardial alterations via Troponin I elevation. FABP3, a marker involved in membrane lipid transport, was associated to severe snakebites, even without cardiac repercussions. Future studies are needed to regarding its potential application of this marker to *Bothrops* envenomation cases. These results also accredit the use of cardiac markers to screen patients for more detailed cardiac alterations from *Bothrops* SBE.

REFERENCES

1. Gutiérrez JM, Ownby CL. Skeletal muscle degeneration induced by venom phospholipases A 2: Insights into the mechanisms of local and systemic myotoxicity. *Toxicon*. 2003; 42:915–931. doi: 10.1016/j.toxicon.2003.11.005. Cited: in: PMID: 15019491.
2. World Health Organization. Snakebite envenoming: a strategy for prevention and control. [Internet]. 2019. Available from: <http://apps.who.int/bookorders>.

3. Sant'Ana Malaque CM, Gutiérrez JM. Snakebite Envenomation in Central and South America. *Critical Care Toxicology*. Springer International Publishing; 2015. p. 1–22.
4. Monteiro WM, Contreras-Bernal JC, Bisneto PF, Sachett J, Mendonça da Silva I, Lacerda M, Guimarães da Costa A, Val F, Brasileiro L, Sartim MA, et al. Bothrops atrox, the most important snake involved in human envenomings in the amazon: How venomics contributes to the knowledge of snake biology and clinical toxinology. *Toxicon X* [Internet]. 2020 [cited 2022 Mar 10];6. doi: 10.1016/J.TOXCX.2020.100037.
5. Gimenes SNC, Sachett JAG, Colombini M, Freitas-De-sousa LA, Ibiapina HNS, Costa AG, Santana MF, Park JJ, Sherman NE, Ferreira LCL, et al. Observation of bothrops atrox snake envenoming blister formation from five patients: Pathophysiological insights. *Toxins (Basel)*. 2021; 13:1–13. doi: 10.3390/toxins13110800. Cited: in: PMID: 34822585.
6. Silva FS, Ibiapina HNS, Neves JCF, Coelho KF, Barbosa FBA, Lacerda MVG, Sachett JAG, Malheiro A, Monteiro WM, da Costa AG. Severe tissue complications in patients of bothrops snakebite at a tertiary health unit in the brazilian amazon: Clinical characteristics and associated factors. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2021;54. doi: 10.1590/0037-8682-0374-2020. Cited: in: PMID: 33656146.
7. Oliveira SS, Alves EC, Santos AS, Nascimento EF, Pereira JPT, Silva IM, Sachett JAG, Sarraff LKS, Freitas-De-Sousa LA, Colombini M, et al. Bleeding Disorders in Bothrops atrox Envenomations in the Brazilian Amazon: Participation of Hemostatic Factors and the Impact of Tissue Factor. *Toxins* 2020, Vol 12, Page 554 [Internet]. 2020 [cited 2022 Mar 11]; 12:554. doi: 10.3390/TOXINS12090554. Cited: in: PMID: 32872404.
8. Wellmann IAM, Ibiapina HNS, Sachett JAG, Sartim MA, Silva IM, Oliveira SS, Tarragô AM, Moura-da-Silva AM, Lacerda MVG, Ferreira LC de L, et al. Correlating Fibrinogen Consumption and Profiles of Inflammatory Molecules in Human Envenomation's by Bothrops atrox in the Brazilian Amazon. *Front Immunol*. 2020; 11:1–12. doi: 10.3389/fimmu.2020.01874. Cited: in: PMID: 32973773.
9. Cavalcante JS, de Almeida DEG, Santos-Filho NA, Sartim MA, de Almeida Baldo A, Brasileiro L, Albuquerque PL, Oliveira SS, Sachett JAG, Monteiro WM, et al. Crosstalk of Inflammation and Coagulation in Bothrops Snakebite Envenoming: Endogenous Signaling Pathways and Pathophysiology. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2023;24. doi: 10.3390/ijms241411508. Cited: in: PMID: 37511277.

10. Rodrigues Sgrignolli L, Florido Mendes GE, Carlos CP, Burdmann EA. Acute kidney injury caused by bothrops snake venom. *Nephron Clin Pract.* 2011; 119:131–137. doi: 10.1159/000324228. Cited: in: PMID: 21757950.
11. Albuquerque PLMM, N. Jacinto C, Silva Junior GB, Lima JB, Veras M do SB, Daher EF. ACUTE KIDNEY INJURY CAUSED BY *Crotalus* AND *Bothrops* SNAKE VENOM: A REVIEW OF EPIDEMIOLOGY, CLINICAL MANIFESTATIONS AND TREATMENT. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* [Internet]. 2013; 55:295–301. doi: 10.1590/S0036-46652013000500001.
12. de Oliveira SS, de Souza Sampaio V, de Almeida Gonçalves Sachett J, Campos Alves E, da Silva VC, Alcântara de Lima JA, da Silva IM, de Lima Ferreira LC, Bernarde P, Fan HW, et al. Snakebites in the Brazilian Amazon: Current Knowledge and Perspectives. *herpetofauna.com.br* [Internet]. 2018 [cited 2022 Feb 16]. p. 73–99. Available from: http://www.herpetofauna.com.br/SnakebitesInTheBrazilianAmazon-CurrentKnowledge_and_Perspectives.pdf.
13. Oliveira SS, Alves EC, Santos AS, Pereira JPT, Sarraff LKS, Nascimento EF, De-Brito-sousa JD, Sampaio VS, Lacerda MVG, Sachett JAG, et al. Factors associated with systemic bleeding in bothrops envenomation in a tertiary hospital in the brazilian amazon. *Toxins (Basel)* [Internet]. 2019 [cited 2022 Feb 16];11. doi: 10.3390/toxins11010022. Cited: in: PMID: 30621001.
14. Ribeiro LA, Albuquerque MJ, Pires de Campos VAF, Katz G, Takaoka NY, Lebrão ML, Jorge MT. Óbitos por serpentes peçonhentas no Estado de São Paulo: avaliação de 43 casos, 1988/93. *Rev Assoc Med Bras* [Internet]. 1998; 44:312–318. doi: 10.1590/S0104-42301998000400010.
15. da Silva Souza A, de Almeida Gonçalves Sachett J, Alcântara JA, Freire M, Alecrim M das GC, Lacerda M, de Lima Ferreira LC, Fan HW, de Souza Sampaio V, Monteiro WM. Snakebites as cause of deaths in the Western Brazilian Amazon: Why and who dies? Deaths from snakebites in the Amazon. *Toxicon.* 2018; 145:15–24. doi: 10.1016/j.toxicon.2018.02.041. Cited: in: PMID: 29490236.
16. de Azevedo AP, Teixeira J de C. Intoxicação por veneno de cobra. Necrose symetrica da cortex renal. *Uremia. Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1938;1.

17. Pinho FMO, Burdmann EDA. Fatal cerebral hemorrhage and acute renal failure after young Bothrops jararacussu snake bite. *Ren Fail.* 2001; 23:269–277. doi: 10.1081/JDI-100103499. Cited: in: PMID: 11417959.
18. Otero-Patiño R. Epidemiological, clinical and therapeutic aspects of Bothrops asper bites. *Toxicon.* 2009; 54:998–1011. doi: 10.1016/j.toxicon.2009.07.001. Cited: in: PMID: 19591857.
19. Milani R, Jorge MT, Ferraz De Campos FP, Martins FP, Bousso A, Cardoso JLC, Ribeiro LA, Fan HW, França FOS, Sano-Martins IS, et al. Snake bites by the jararacucu (Bothrops jararacussu): Clinicopathological studies of 29 proven cases in Sao Paulo State, Brazil. *QJM.* 1997; 90:323–334. doi: 10.1093/qjmed/90.5.323. Cited: in: PMID: 9205667.
20. Abad Ribeiro AB, Santoro ML, Duarte MR, Virgulino CC, de Oliveira GSS, França FO de S. Hemoperitoneum after a Bothrops snakebite: Case report. *Toxicon.* 2024;237. doi: 10.1016/j.toxicon.2023.107350. Cited: in: PMID: 38016581.
21. Sartim MA, Cezarette GN, Jacob-Ferreira AL, Frantz FG, Faccioli LH, Sampaio S V. Disseminated intravascular coagulation caused by moojenactivase, a procoagulant snake venom metalloprotease. *Int J Biol Macromol.* 2017; 103:1077–1086. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2017.05.146. Cited: in: PMID: 28552727.
22. Escalante T, Rucavado A, Fox JW, Gutiérrez JM. Key events in microvascular damage induced by snake venom hemorrhagic metalloproteinases. *J Proteomics.* 2011. p. 1781–1794.
23. Camargo ACM, Ianzer D, Guerreiro JR, Serrano SMT. Bradykinin-potentiating peptides: Beyond captopril. *Toxicon.* 2012. p. 516–523.
24. Sciani JM, Pimenta DC. The modular nature of bradykinin-potentiating peptides isolated from snake venoms. *Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases.* BioMed Central Ltd.; 2017.
25. Murayama N, Hayashi MAF, Ohi H, Ferreira LAF, Hermann V V, Saito H, Fujita Y, Higuchi S, Fernandes BL, Yamane T, et al. Cloning and sequence analysis of a Bothrops jararaca cDNA encoding a precursor of seven bradykinin-potentiating peptides and a C-type natriuretic peptide [Internet]. *Biochemistry.* 1997. Available from: www.pnas.org.
26. Dias L, Rodrigues MAP, Smaal A, Rennó AL, Mello SM, Moreno H, Hyslop S. Cardiovascular responses to bothrops alternatus (Urutu) snake venom in anesthetized dogs. *Cardiovasc Toxicol.* 2012; 12:243–257. doi: 10.1007/s12012-012-9163-1. Cited: in: PMID: 22528815.

27. Rodrigues MAP, Dias L, Rennó AL, Sousa NC, Smaal A, Silva DA da, Hyslop S. Rat atrial responses to *Bothrops jararacussu* (jararacuçu) snake venom. *Toxicology*. 2014; 323:109–124. doi: 10.1016/j.tox.2014.06.010. Cited: in: PMID: 24973630.
28. López-Dávila AJ, Weber N, Kraft T, Matinmehr F, Arias-Hidalgo M, Fernández J, Lomonte B, Gutiérrez JM. Cytotoxicity of snake venom Lys49 PLA2-like myotoxin on rat cardiomyocytes ex vivo does not involve a direct action on the contractile apparatus. *Sci Rep*. 2021;11. doi: 10.1038/s41598-021-98594-5. Cited: in: PMID: 34593882.
29. Cano-Sanchez M, Ben-Hassen K, Louis OP, Dantin F, Gueye P, Roques F, Mehdaoui H, Resiere D, Nevriere R. *Bothrops lanceolatus* snake venom impairs mitochondrial respiration and induces DNA release in human heart preparation. *PLoS Negl Trop Dis*. 2022;16. doi: 10.1371/JOURNAL.PNTD.0010523. Cited: in: PMID: 35727836.
30. Alves EC, De Almeida Gonçalves Sachett J, Sampaio VS, De Brito Sousa JD, De Oliveira SS, Do Nascimento EF, Dos Santos Santos A, Da Silva IM, Da Silva AMM, Wen FH, et al. Predicting acute renal failure in *Bothrops* snakebite patients in a tertiary reference center, Western Brazilian Amazon. *PLoS One*. 2019;13. doi: 10.1371/journal.pone.0202361. Cited: in: PMID: 30118505.
31. Silveira KSO, Boechem NT, Do Nascimento SM, Murakami YLB, Barboza APB, Melo PA, Castro P, De Moraes VLG, Rocco PRM, Zin WA. Pulmonary mechanics and lung histology in acute lung injury induced by *Bothrops jararaca* venom. *Respir Physiol Neurobiol*. 2004; 139:167–177. doi: 10.1016/j.resp.2003.10.002. Cited: in: PMID: 15123000.
32. Alberto-Silva C, Querobino SM, Melo-Silva CA, Costa MS, Franco Oliveira LV, Zamuner SR. Local envenomation caused by a bioactive peptide fraction of *Bothrops jararaca* snake venom induces leukocyte influx in the lung and changes in pulmonary mechanics. *Toxicon*. 2022; 207:52–59. doi: 10.1016/j.toxicon.2022.01.001. Cited: in: PMID: 34999120.
33. Hui Wen F, Monteiro WM, Moura da Silva AM, Tambourgi D V., Mendonça da Silva I, Sampaio VS, dos Santos MC, Sachett J, Ferreira LCL, Kalil J, et al. Snakebites and Scorpion Stings in the Brazilian Amazon: Identifying Research Priorities for a Largely Neglected Problem. *PLoS Negl Trop Dis* [Internet]. 2015 [cited 2022 Mar 11];9: e0003701. doi: 10.1371/journal.pntd.0003701.
34. Cañas CA. Brainstem ischemic stroke after to *Bothrops atrox* snakebite. *Toxicon*. 2016; 120:124–127. doi: 10.1016/j.toxicon.2016.08.005. Cited: in: PMID: 27527269.

35. Silva de Oliveira S, Freitas-de-Sousa LA, Alves EC, de Lima Ferreira LC, da Silva IM, de Lacerda MVG, Fan HW, Moura-da-Silva AM, Monteiro WM. Fatal stroke after Bothrops snakebite in the Amazonas state, Brazil: A case report. *Toxicon* [Internet]. 2017; 138:102–106. doi: 10.1016/j.toxicon.2017.08.021. Cited: in: PMID: 28842354.
36. Pérez-Gómez AS, Monteiro WM, João GAP, Sousa JD de B, Safe IP, Damian MM, Sachett JAG, da Silva IM. Hemorrhagic stroke following viper bites and delayed antivenom administration: Three case reports from the western Brazilian Amazon. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2019;52. doi: 10.1590/0037-8682-0115-2019. Cited: in: PMID: 31340373.
37. Galan LEB, Silva VS, Silva VS, Monte RC, Jati SR, Oliveira IS, Cerni FA, Monteiro WM, Sachett J, Dantas DSM, et al. Acute mesenteric ischemia following lancehead snakebite: an unusual case report in the Northernmost Brazilian Amazon. *Front Med (Lausanne)*. 2023;10. doi: 10.3389/fmed.2023.1197446.
38. De Almeida J, Sachett G, Mota Da Silva A, Alba, Coelho W, Dantas B, Theobaldo ;, Dantas R, M[^] Onica Colombini ;, Ana ;, et al. Cerebrovascular Accidents Related to Snakebites in the AmazondTwo Case Reports.
39. da Silva AM, Monteiro WM, Bernarde PS. Envenomation by a juvenile pit viper (*Bothrops atrox*) presumed to be dead. *Rev Soc Bras Med Trop. Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*; 2019.
40. BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde Coordenação-Geral de Desenvolvimento da Epidemiologia em Serviços. Guia de Vigilância em Saúde: 6^a edição revisada [recurso eletrônico] [Internet]. 6^a edição. Brasília; 2024. Available from: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_vigilancia_saude_6edrev_v3.pdf.
41. Kdigo. Clinical Practice Guideline for Lipid Management in Chronic Kidney Disease. *Kidney Int* [Internet]. 2013; 3:182–189. Cited: in: PMID: 24323134.
42. Sano-Martins IS, Fan HW, Castro SCB, Tomy SC, Franca FOS, Jorge MT, Kamiguti AS, Warrell DA, Theakston RDG, Biasg. Reliability of the simple 20 minute whole blood clotting test (WBCT20) as an indicator of low plasma fibrinogen concentration in patients envenomed by *Bothrops* snakes. *Toxicon*. 1994; 32:1045–1050. doi: 10.1016/0041-0101(94)90388-3. Cited: in: PMID: 7801340.
43. Clauss A. Rapid physiological coagulation method in determination of fibrinogen. *Acta Haematol* [Internet]. 1957; 17:237–246. Cited: in: PMID: 13434757.

44. Colombini M. Reatividade antigênica cruzada entre os venenos de *Bothrops atrox* e *Lachesis muta muta* e desenvolvimento de um teste imunoenzimático diferencial para [Internet]. [São Paulo]: Universidade de São Paulo; 2003 [cited 2024 Jul 23]. Available from: <https://bv.fapesp.br/en/dissertacoes-teses/5810/cross-reactivity-between-bothrops-atrox-e-lachesis-muta-muta>.
45. Alirio Restrepo Bastidas A, Aguirre Flórez M, Andrés Hoyos Muñoz J, Gonzales Ramírez M, Ricardo Echeverry Piedrahita D, Bastidas R, Alirio A, Flórez A, Muñoz H, Andrés J, et al. Recommended Citation Recommended Citation Facultad de Medicina Humana URP HEART FAILURE SECONDARY TO A SNAKE BITE. THE INTENSIVIST'S VISION: CASE REPORT. Iss 1, Article 19 Rev Fac Med Hum [Internet]. 2024; 24:179–185. doi: 10.25176/RFMH.v24i1.6099.
46. Yoshimura M, Yasue H, Okumura K, Ogawa H, Jougasaki M, Mukoyama M, Nakao K, Imura H. Different secretion patterns of atrial natriuretic peptide and brain natriuretic peptide in patients with congestive heart failure. *Circulation* [Internet]. 1993; 87:464–469. doi: 10.1161/01.CIR.87.2.464.
47. Maeda K, Tsutamoto T, Wada A, Hisanaga T, Kinoshita M. Plasma brain natriuretic peptide as a biochemical marker of high left ventricular end-diastolic pressure in patients with symptomatic left ventricular dysfunction. *Am Heart J* [Internet]. 1998; 135:825–832. doi: 10.1016/S0002-8703(98)70041-9.
48. Maisel AS, Koon J, Krishnaswamy P, Kazenegra R, Clopton P, Gardetto N, Morrissey R, Garcia A, Chiu A, De Maria A. Utility of B-natriuretic peptide as a rapid, point-of-care test for screening patients undergoing echocardiography to determine left ventricular dysfunction. *Am Heart J* [Internet]. 2001; 141:367–374. doi: 10.1067/mhj.2001.113215.
49. Lubien E, DeMaria A, Krishnaswamy P, Clopton P, Koon J, Kazanegra R, Gardetto N, Wanner E, Maisel AS. Utility of B-Natriuretic Peptide in Detecting Diastolic Dysfunction. *Circulation* [Internet]. 2002; 105:595–601. doi: 10.1161/hc0502.103010.
50. Nakamura T, Sakamoto K, Yamano T, Kikkawa M, Zen K, Hikosaka T, Kubota T, Azuma A, Nishimura T. Increased plasma brain natriuretic peptide level as a guide for silent myocardial ischemia in patients with non-obstructive hypertrophic cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* [Internet]. 2002; 39:1657–1663. doi: 10.1016/S0735-1097(02)01813-2.

51. Bibbins-Domingo K, Ansari M, Schiller NB, Massie B, Whooley MA. B-Type Natriuretic Peptide and Ischemia in Patients with Stable Coronary Disease. *Circulation* [Internet]. 2003; 108:2987–2992. doi: 10.1161/01.CIR.0000103681.04726.9C.
52. Azevedo JC de, Reis BCC, Barreto NMPB, F. Junior DS, Prezotti LS, Procaci VR, Octaviano VW, Volschan A, Mesquita ET, Mesquita CT. BNP was Associated with Ischemic Myocardial Scintigraphy and Death in Patients at Chest Pain Unit. *Arq Bras Cardiol* [Internet]. 2014; 104:16–22. doi: 10.5935/abc.20140175.
53. Kotecha D, Flather MD, Atar D, Collins P, Pepper J, Jenkins E, Reid CM, Eccleston D. B-type natriuretic peptide trumps other prognostic markers in patients assessed for coronary disease. *BMC Med* [Internet]. 2019; 17:72. doi: 10.1186/s12916-019-1306-9.
54. Hadziselimovic E, Greve AM, Sajadieh A, Olsen MH, Kesäniemi YA, Nienaber CA, Ray SG, Rossebø AB, Willenheimer R, Wachtell K, et al. Association of Annual N-Terminal Pro-Brain Natriuretic Peptide Measurements with Clinical Events in Patients with Asymptomatic Nonsevere Aortic Stenosis. *JAMA Cardiol* [Internet]. 2022 [cited 2024 Sep 11]; 7:435. doi: 10.1001/jamacardio.2021.5916.
55. Tsutamoto T, Sakai H, Yamamoto T, Nakagawa Y. Renal Clearance of N-Terminal pro-Brain Natriuretic Peptide Is Markedly Decreased in Chronic Kidney Disease. *Circ Rep* [Internet]. 2019; 1:326–332. doi: 10.1253/circrep.CR-19-0063.
56. Wannamethee SG, Whincup PH, Papacosta O, Lennon L, Lowe GD. Associations between blood coagulation markers, NT-proBNP and risk of incident heart failure in older men: The British Regional Heart Study. *Int J Cardiol* [Internet]. 2017; 230:567–571. doi: 10.1016/j.ijcard.2016.12.056.
57. Wallimann T, Hemmer W. Creatine kinase in non-muscle tissues and cells. *Cellular Bioenergetics: Role of Coupled Creatine Kinases* [Internet]. Boston, MA: Springer US; 1994. p. 193–220. Available from: http://link.springer.com/10.1007/978-1-4615-2612-4_13.
58. Rosalki SB. Serum Enzymes in Disease of Skeletal Muscle. *Clin Lab Med* [Internet]. 1989; 9:767–782. doi: 10.1016/S0272-2712(18)30604-8.
59. Schlattner U, Tokarska-Schlattner M, Wallimann T. Mitochondrial creatine kinase in human health and disease. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease* [Internet]. 2006; 1762:164–180. doi: 10.1016/j.bbadis.2005.09.004.

60. Gutiérrez JM, Ownby CL. Skeletal muscle degeneration induced by venom phospholipases A2: insights into the mechanisms of local and systemic myotoxicity. *Toxicon* [Internet]. 2003; 42:915–931. doi: 10.1016/j.toxicon.2003.11.005.
61. Gutiérrez J. Snake venom metalloproteinases: Their role in the pathogenesis of local tissue damage. *Biochimie* [Internet]. 2000; 82:841–850. doi: 10.1016/S0300-9084(00)01163-9.
62. At De Souza C, Kayano AM, Setúbal SS, Pontes AS, Furtado JL, Kwasniewski FH, Zaqueo KD, Soares AM, Stábeli RG, Zuliani JP, et al. Local and systemic biochemical alterations induced by *Bothrops atrox* snake venom in mice. *Authors | Journal of Venom Research |* [Internet]. 2012; 3:28–34.
63. Sachett JAG, da Silva IM, Alves EC, Oliveira SS, Sampaio VS, do Vale FF, Romero GAS, dos Santos MC, Marques HO, Colombini M, et al. Poor efficacy of preemptive amoxicillin clavulanate for preventing secondary infection from *Bothrops* snakebites in the Brazilian Amazon: A randomized controlled clinical trial. *PLoS Negl Trop Dis*. 2017; 11:1–21. doi: 10.1371/journal.pntd.0005745. Cited: in: PMID: 28692641.
64. Pelsers MMAL, Hermens WT, Glatz JFC. Fatty acid-binding proteins as plasma markers of tissue injury. *Clinica Chimica Acta* [Internet]. 2005; 352:15–35. doi: 10.1016/j.cccn.2004.09.001.
65. Vergnes L, Chin R, Young SG, Reue K. Heart-type fatty acid-binding protein is essential for efficient brown adipose tissue fatty acid oxidation and cold tolerance. *Journal of Biological Chemistry*. 2011; 286:380–390. doi: 10.1074/jbc.M110.184754. Cited: in: PMID: 21044951.
66. Moon MG, Yoon CH, Lee K, Kang SH, Youn TJ, Chae IH. Evaluation of Heart-type Fatty Acid-binding Protein in Early Diagnosis of Acute Myocardial Infarction. *J Korean Med Sci*. 2021; 36:1–12. doi: 10.3346/jkms.2021.36.e61. Cited: in: PMID: 33650337.
67. Savic-Radojevic A, Pljesa-Ercegovac M, Matic M, Simic D, Radovanovic S, Simic T. Novel Biomarkers of Heart Failure. *Adv Clin Chem* [Internet]. Academic Press Inc.; 2017. p. 93–152. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0065242316300816>.
68. Ishii J, Wang J, Naruse H, Taga S, Kinoshita M, Kurokawa H, Iwase M, Kondo T, Nomura M, Nagamura Y, et al. Serum concentrations of myoglobin vs human heart-type cytoplasmic fatty acid-binding protein in early detection of acute myocardial infarction. *Clin Chem* [Internet]. 1997; 43:1372–1378. doi: 10.1093/clinchem/43.8.1372.

69. Lu YC, Lee TL, Hsuan CF, Hung WC, Wu CC, Wang CP, Wei CT, Yu TH, Chung FM, Lee YJ, et al. Elevated plasma fatty acid-binding protein 3 is related to prolonged corrected qt interval and reduced ejection fraction in patients with stable angina. *Int J Med Sci*. 2021; 18:2076–2085. doi: 10.7150/ijms.54508. Cited: in: PMID: 33850478.
70. Zamzam A, Syed MH, Rotstein OD, Eikelboom J, Klein DJ, Singh KK, Abdin R, Qadura M. Validating fatty acid binding protein 3 as a diagnostic and prognostic biomarker for peripheral arterial disease: A three-year prospective follow-up study. *EClinicalMedicine*. 2023;55. doi: 10.1016/j.eclinm.2022.101766. Cited: in: PMID: 36531981.
71. Sarko J, Pollack C V. Cardiac troponins. *J Emerg Med [Internet]*. 2002; 23:57–65. doi: 10.1016/S0736-4679(02)00463-8.
72. Roos A, Bandstein N, Lundbäck M, Hammarsten O, Ljung R, Holzmann MJ. Stable High-Sensitivity Cardiac Troponin T Levels and Outcomes in Patients with Chest Pain. *J Am Coll Cardiol [Internet]*. 2017; 70:2226–2236. doi: 10.1016/j.jacc.2017.08.064.
73. Strandberg LS, Roos A, Holzmann MJ. Stable high-sensitivity cardiac troponin T levels and the association with frailty and prognosis in patients with chest pain. *American Journal of Medicine Open*. 2021;1–6:100001. doi: 10.1016/J.AJMO.2021.100001.
74. Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, Chaitman BR, Bax JJ, Morrow DA, White HD, Mickley H, Crea F, Van De Werf F, et al. Fourth universal definition of myocardial infarction (2018). *Eur Heart J*. 2019; 40:237–269. doi: 10.1093/eurheartj/ehy462. Cited: in: PMID: 30580786.
75. Bittenbinder MA, van Thiel J, Cardoso FC, Casewell NR, Gutiérrez J-M, Kool J, Vonk FJ. Tissue damaging toxins in snake venoms: mechanisms of action, pathophysiology and treatment strategies. *Commun Biol [Internet]*. 2024; 7:358. doi: 10.1038/s42003-024-06019-6.
76. Larréché S, Chippaux JP, Chevillard L, Mathé S, Résière D, Siguret V, Mégarbane B. Bleeding and thrombosis: Insights into pathophysiology of bothrops venom-related hemostasis disorders. *Int J Mol Sci*. 2021;22. doi: 10.3390/ijms22179643. Cited: in: PMID: 34502548.
77. Alatassi A, Habbal M, Tamim H, Sadat M, Al Qasim E, Arabi YM. Association between troponin-I levels and outcome in critically ill patients admitted to non-cardiac intensive care unit with high prevalence of cardiovascular risk factors. *BMC Anesthesiol*. 2018;18. doi: 10.1186/s12871-018-0515-7. Cited: in: PMID: 29788912.

5. CONCLUSÃO

Em conclusão, este estudo destaca os diferentes efeitos clínicos dos venenos de *Bothrops atrox*, que envolvem diversos mecanismos hemostáticos e fisiológicos. As metaloproteinases do veneno de serpentes (SVMPs), as toxinas mais abundantes nesses venenos, interagem com uma ampla gama de alvos biológicos, como plaquetas e fatores da cascata de coagulação. Esses alvos estão diretamente envolvidos nos efeitos locais e sistêmicos do veneno, resultando em danos teciduais, hemorragias e coagulopatias. A ação das SVMPs, juntamente com outras enzimas pró-coagulantes e hemorrágicas, contribui para distúrbios de coagulação, com níveis aumentados de fibrinogênio e formação rápida de tampões plaquetários em lesões vasculares.

A associação entre os níveis de veneno e o aumento da FABP3 sugere uma ligação direta com o dano cardíaco, reforçando o papel da cardiotoxicidade como uma das principais complicações desses envenenamentos. A presença de toxinas como as fosfolipases A2, peptídeos elapídeos de três dedos e serina proteases induz alterações patológicas no coração, manifestadas clinicamente por colapso cardiovascular, infarto agudo do miocárdio e arritmias.

O estudo ressalta a importância da FABP3 como um biomarcador precoce de lesão cardíaca em pacientes envenenados por *Bothrops*, posicionando-o como uma ferramenta promissora para o diagnóstico e prognóstico. Esses achados foram corroborados por exames hematológicos e bioquímicos clássicos, demonstrando a relevância de biomarcadores padrão-ouro na avaliação clínica desses pacientes.

Por fim, é necessário o desenvolvimento de estratégias de tratamento que priorizem o manejo precoce desses marcadores cardíacos, especialmente a FABP3, a fim de diminuir as complicações cardiovasculares graves em vítimas de envenenamento por *Bothrops*.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABAD RIBEIRO, A. B. et al. Hemoperitoneum after a Bothrops snakebite: Case report. **Toxicon**, v. 237, 1 jan. 2024.

AKIMOTO, T. et al. Clinical features of malignant hypertension with thrombotic microangiopathy. **Clinical and Experimental Hypertension**, v. 33, n. 2, p. 77–83, 2011.

ALATASSI, A. et al. Association between troponin-I levels and outcome in critically ill patients admitted to non-cardiac intensive care unit with high prevalence of cardiovascular risk factors. **BMC Anesthesiology**, v. 18, n. 1, 22 maio 2018.

ALBERTO-SILVA, C. et al. Local envenomation caused by a bioactive peptide fraction of Bothrops jararaca snake venom induces leukocyte influx in the lung and changes in pulmonary mechanics. **Toxicon**, v. 207, p. 52–59, 1 fev. 2022.

ALBUQUERQUE, P. L. M. M. et al. Lesão renal aguda causada pelo veneno das cobras Crotalus e Bothrops: Revisão da epidemiologia, das manifestações clínicas e do tratamento. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 55, n. 5, p. 295–301, 2013a.

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**, v. 55, n. 5, p. 295–301, set. 2013b.

ALBUQUERQUE, P. L. M. M. et al. Acute kidney injury induced by bothrops venom: Insights into the pathogenic mechanisms. **Toxins**, v. 11, n. 3, p. 1–14, 2019.

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, 1 dez. 2018.

ALIRIO RESTREPO BASTIDAS, A. et al. Recommended Citation Recommended Citation Facultad de Medicina Humana URP HEART FAILURE SECONDARY TO A SNAKE BITE. THE INTENSIVIST'S VISION: CASE REPORT. **Iss. 1, Article 19. Rev. Fac. Med. Hum**, v. 24, n. 1, p. 179–185, 2024.

ALVES, E. C. et al. Predicting acute renal failure in Bothrops snakebite patients in a tertiary reference center, Western Brazilian Amazon. **PLoS ONE**, v. 13, n. 8, 1 jul. 2019.

ANDERSON, P. A. et al. Troponin T isoform expression in humans. A comparison among normal and failing adult heart, fetal heart, and adult and fetal skeletal muscle. **Circulation Research**, v. 69, n. 5, p. 1226–1233, nov. 1991.

ANDERSON, P. A. W.; OAKELEY, A. E. **Immunological Identification of Five Troponin T Isoforms Reveals an Elaborate Maturational Troponin T Profile in Rabbit Myocardium****Circulation Research**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<http://circres.ahajournals.org/>>.

ANTMAN, E. et al. Myocardial infarction redefined - A consensus document of The Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee for the redefinition of myocardial infarction. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 36, n. 3, p. 959–969, 2000.

AT DE SOUZA, C. et al. Local and systemic biochemical alterations induced by Bothrops atrox snake venom in mice. **Authors | Journal of Venom Research** |, v. 3, p. 28–34, 2012.

AVERIN, A. S.; UTKIN, Y. N. Cardiovascular Effects of Snake Toxins: Cardiotoxicity and Cardioprotection. **Acta Naturae**, v. 13, n. 3, p. 4–14, 2021.

AYDIN, S. et al. **Biomarkers in acute myocardial infarction: Current perspectives. Vascular Health and Risk Management** Dove Medical Press Ltd., , 2019.

AZEVEDO, J. C. DE et al. BNP was Associated with Ischemic Myocardial Scintigraphy and Death in Patients at Chest Pain Unit. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 104, n. 1, p. 16–22, 2014.

BENTES, K. O. et al. Long-term disability after cerebral ischemic stroke following a Bothrops atrox snakebite in the Brazilian Amazon. **Toxicon**, v. 247, p. 107793, ago. 2024.

BEREZIN, A. E. Circulating biomarkers in heart failure. Em: **Advances in Experimental Medicine and Biology**. [s.l.] Springer New York LLC, 2018. v. 1067p. 89–108.

BERNADE, P. S.; GOMES, J. DE O. **Serpentes peçonhentas e ofidismo em Cruzeiro do Sul, Alto Juruá, Estado do Acre, Brasil**. [s.l: s.n.].

BHAVSAR, P. K. et al. **Identification of cis-acting DNA Elements Required for Expression of the Human Cardiac Troponin I Gene Promoter** J Mol Cell Cardiol. [s.l: s.n.].

BIBBINS-DOMINGO, K. et al. B-Type Natriuretic Peptide and Ischemia in Patients With Stable Coronary Disease. **Circulation**, v. 108, n. 24, p. 2987–2992, 16 dez. 2003.

BINAS, B.; EROL, E. FABPs as determinants of myocellular and hepatic fuel metabolism. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 299, n. 1–2, p. 75–84, maio 2007.

BITTENBINDER, M. A. et al. Tissue damaging toxins in snake venoms: mechanisms of action, pathophysiology and treatment strategies. **Communications Biology**, v. 7, n. 1, p. 358, 22 mar. 2024.

BO LANGHOFF HØNGE et al. Hospital contacts after bite by the European adder (*Vipera berus*). **Danish Medical Journal**, mar. 2015.

BRASIL, M. DA S.-S. DE V. EM S. C.-G. DE D. DA E. EM S. Guia de Vigilância em Saúde : volume único [recurso eletrônico]. v. 3ª, 2019.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **ACIDENTE POR ANIMAIS PEÇONHENTOS - Notificações registradas no Sistema de Informação de Agravos de Notificação - Sinan.** Disponível em: <<http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sinannet/cnv/animaisbr.def>>.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Aspectos epidemiológicos do ofidismo no Brasil em 2022. **Ministério da Saúde - Boletim Epidemiológico**, v. 54, p. 1–11, 19 dez. 2023.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. COORDENAÇÃO-GERAL DE DESENVOLVIMENTO DA EPIDEMIOLOGIA EM SERVIÇOS. **Guia de Vigilância em Saúde: 6ª edição revisada [recurso eletrônico]**. 6ª edição ed. Brasília : [s.n.]. v. 3

CALVETE, J. J. et al. Snake population venomomics and antivenomics of *Bothrops atrox*: Paedomorphism along its transamazonian dispersal and implications of geographic venom variability on snakebite management. **Journal of Proteomics**, v. 74, n. 4, p. 510–527, 2011.

CAMARGO, A. C. M. et al. **Bradykinin-potentiating peptides: Beyond captopril**. **Toxicon**, 15 mar. 2012.

CAMPBELL, J. A.; WILLIAM W. LAMAR; EDMUND D. BRODIE. **The venomous reptiles of the western hemisphere**. New York: Comstock Pub. Associates, 2004. v. 1

CAMPOS BORGES, C.; SADAHIRO, M.; DOS SANTOS, M. C. Epidemiological and clinical aspects of snake bites in the municipalities of the state of Amazonas, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 32, n. 6, p. 637–646, 1999.

CAÑAS, C. A. Brainstem ischemic stroke after to *Bothrops atrox* snakebite. **Toxicon**, v. 120, p. 124–127, 2016.

CANO-SANCHEZ, M. et al. *Bothrops lanceolatus* snake venom impairs mitochondrial respiration and induces DNA release in human heart preparation. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 16, n. 6, 1 jun. 2022.

CARDOSO, JOAO & FRANCA, FRANCISCO & WEN, F.H. & MALAQUE, CEILA & JUNIOR, VIDAL. Animais peçonhentos no Brasil: biologia, clínica e terapêutica dos acidentes. **Revista Do Instituto De Medicina Tropical De Sao Paulo - REV INST MED TROP SAO PAULO**, 2003.

CAVALCANTE, J. S. et al. Crosstalk of Inflammation and Coagulation in Bothrops Snakebite Envenoming: Endogenous Signaling Pathways and Pathophysiology. **International journal of molecular sciences**, v. 24, n. 14, 2023.

CHEN, B. Y. et al. AC-NP: A novel chimeric peptide with natriuretic and vasorelaxing actions. **PLoS ONE**, v. 6, n. 5, 2011.

CHRISTENSON, R. H. et al. **Standardization of Creatine Kinase-MB (CK-MB) Mass Assays: The Use of Recombinant CK-MB as a Reference Material**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <<https://academic.oup.com/clinchem/article/45/9/1414/5643457>>.

CLAUSS, A. Rapid physiological coagulation method in determination of fibrinogen. **Acta haematologica**, v. 17, n. 4, p. 237–246, 1957.

COLOMBINI, M. **Reatividade antigênica cruzada entre os venenos de Bothrops atrox e Lachesis muta muta e desenvolvimento de um teste imunoenzimático diferencial para**. São Paulo: Universidade de São Paulo, 2003.

DA SILVA, A. M.; MONTEIRO, W. M.; BERNARDE, P. S. **Envenomation by a juvenile pit viper (Bothrops atrox) presumed to be dead**. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, , 2019.

DA SILVA, S. L. et al. Vascular effects and electrolyte homeostasis of the natriuretic peptide isolated from *Crotalus oreganus abyssus* (North American Grand Canyon rattlesnake) venom. **Peptides**, v. 36, n. 2, p. 206–212, ago. 2012.

DA SILVA SOUZA, A. et al. Snakebites as cause of deaths in the Western Brazilian Amazon: Why and who dies? Deaths from snakebites in the Amazon. **Toxicon**, v. 145, p. 15–24, 1 abr. 2018.

DANESE, E.; MONTAGNANA, M. An historical approach to the diagnostic biomarkers of acute coronary syndrome. **Annals of Translational Medicine**, v. 4, n. 10, 1 maio 2016.

DANIELS, L. B.; MAISEL, A. S. **Natriuretic Peptides**. **Journal of the American College of Cardiology**, 18 dez. 2007.

DE ALMEIDA, J. et al. **Cerebrovascular Accidents Related to Snakebites in the Amazon** **Two Case Reports**. [s.l.: s.n.].

DE AZEVEDO, A. P.; TEIXEIRA, J. DE C. Intoxicação por veneno de cobra. Necrose symetrica da cortex renal. Uremia. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 1, n. 33, 1938.

DE IULIIS, F. et al. Serum biomarkers evaluation to predict chemotherapy-induced cardiotoxicity in breast cancer patients. **Tumor Biology**, v. 37, n. 3, p. 3379–3387, 1 mar. 2016.

DE OLIVEIRA PARDAL, P. P. et al. Clinical trial of two antivenoms for the treatment of Bothrops and Lachesis bites in the north eastern Amazon region of Brazil. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 103, n. 1, p. 28–42, 2017.

DE OLIVEIRA, S. S. et al. Snakebites in the Brazilian Amazon: Current Knowledge and Perspectives. Em: **herpetofauna.com.br**. [s.l: s.n.]. p. 73–99.

DEL RY, S.; CABIATI, M.; CLERICO, A. Natriuretic peptide system and the heart. Em: **Cardiovascular Issues in Endocrinology**. [s.l.] S. Karger AG, 2014. v. 43p. 134–143.

DELLOW, K. A. et al. **Identification of novel, cardiac-restricted transcription factors binding to a CACC-box within the human cardiac troponin I promoter** **Cardiovascular Research**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <www.elsevier.com/locate/cardioresearch>.

DIAS, L. et al. Cardiovascular responses to bothrops alternatus (Urutu) snake venom in anesthetized dogs. **Cardiovascular Toxicology**, v. 12, n. 3, p. 243–257, 2012.

DIXON, R. W.; HARRIS, J. B. Myotoxic Activity of the Toxic Phospholipase, Notexin, from the Venom of the Australian Tiger Snake. **Journal of Neuropathology and Experimental Neurology**, v. 55, n. 12, p. 1230–1237, dez. 1996.

DOLCI, A.; PANTEGHINI, M. **The exciting story of cardiac biomarkers: From retrospective detection to gold diagnostic standard for acute myocardial infarction and more**. **Clinica Chimica Acta**, 31 jul. 2006.

E SILVA, M. R.; BERALDO, W. T.; ROSENFELD, G. BRADYKININ, A HYPOTENSIVE AND SMOOTH MUSCLE STIMULATING FACTOR RELEASED FROM PLASMA GLOBULIN BY SNAKE VENOMS AND BY TRYPSIN. **American Journal of Physiology-Legacy Content**, v. 156, n. 2, p. 261–273, 1 fev. 1949.

ESCALANTE, T. et al. **Key events in microvascular damage induced by snake venom hemorrhagic metalloproteinases**. **Journal of Proteomics**, 24 ago. 2011.

FEITOSA, E. L. et al. Older age and time to medical assistance are associated with severity and mortality of snakebites in the Brazilian Amazon: A case-control study. **PLoS ONE**, v. 10, n. 7, 13 jul. 2015.

FERREIRA, S. H. A BRADYKININ-POTENTIATING FACTOR (BPF) PRESENT IN THE VENOM OF *BOTHROPS JARARACA*. **British Journal of Pharmacology and Chemotherapy**, v. 24, n. 1, p. 163–169, 19 fev. 1965.

FRY, B. G. et al. Novel natriuretic peptides from the venom of the inland taipan (*Oxyuranus microlepidotus*): Isolation, chemical and biological characterisation. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 327, n. 4, p. 1011–1015, 25 fev. 2005.

FU, S. et al. **Synthesis, secretion, function, metabolism and application of natriuretic peptides in heart failure**. **Journal of Biological Engineering** BioMed Central Ltd., , 12 jan. 2018.

GABALLA, M. et al. Myocardial Infarction as a Rare Consequence of a Snakebite. **Circulation**, v. 112, n. 11, 13 set. 2005.

GALAN, L. E. B. et al. Acute mesenteric ischemia following lancehead snakebite: an unusual case report in the Northernmost Brazilian Amazon. **Frontiers in Medicine**, v. 10, n. 1, 2023.

GIMENES, S. N. C. et al. Observation of bothrops atrox snake envenoming blister formation from five patients: Pathophysiological insights. **Toxins**, v. 13, n. 11, p. 1–13, 2021.

GOLD, B. S.; DART, R. C.; BARISH, R. A. Bites of Venomous Snakes. **New England Journal of Medicine**, v. 347, n. 5, p. 347–356, ago. 2002.

GUÉANT RODRIGUEZ, R. M. et al. Homocysteine predicts increased NT-pro-BNP through impaired fatty acid oxidation. **International Journal of Cardiology**, v. 167, n. 3, p. 768–775, 10 ago. 2013.

GUPTA, D. K.; WANG, T. J. Natriuretic peptides and cardiometabolic health. **Circulation Journal**, v. 79, n. 8, p. 1648–1655, 24 jul. 2015.

GUTIÉRREZ, J. Snake venom metalloproteinases: Their role in the pathogenesis of local tissue damage. **Biochimie**, v. 82, n. 9–10, p. 841–850, 10 set. 2000.

GUTIÉRREZ, J. M. et al. **Snakebite envenoming. Nature reviews. Disease primers** Nature Publishing Group, , 14 set. 2017. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/nrdp201763>>. Acesso em: 16 fev. 2022

GUTIÉRREZ, J. M.; OWNBY, C. L. Skeletal muscle degeneration induced by venom phospholipases A 2: Insights into the mechanisms of local and systemic myotoxicity. **Toxicon**, v. 42, n. 8, p. 915–931, 2003a.

GUTIÉRREZ, J. M.; OWNBY, C. L. Skeletal muscle degeneration induced by venom phospholipases A2: insights into the mechanisms of local and systemic myotoxicity. **Toxicon**, v. 42, n. 8, p. 915–931, dez. 2003b.

HADZISELIMOVIC, E. et al. Association of Annual N-Terminal Pro-Brain Natriuretic Peptide Measurements With Clinical Events in Patients With Asymptomatic Nonsevere Aortic Stenosis. **JAMA Cardiology**, v. 7, n. 4, p. 435, 1 abr. 2022.

HOFMANN, H.; BON, C. Blood Coagulation Induced by the Venom of Bothrops atrox. 1. Identification, Purification, and Properties of a Prothrombin Activator. **Biochemistry**, v. 26, n. 3, p. 772–780, 1987a.

HOFMANN, H.; BON, C. Blood Coagulation Induced by the Venom of Bothrops atrox. 2. Identification, Purification, and Properties of Two Factor X Activators. **Biochemistry**, v. 26, n. 3, p. 780–787, 1987b.

HUI WEN, F. 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, 21 maio 2015.

IIDA, M. et al. Predictive value of heart-type fatty acid-binding protein for left ventricular remodelling and clinical outcome of hypertensive patients with mild-to-moderate aortic valve diseases. **Journal of Human Hypertension**, v. 21, n. 7, p. 551–557, jul. 2007.

ISHII, J. et al. Serum concentrations of myoglobin vs human heart-type cytoplasmic fatty acid-binding protein in early detection of acute myocardial infarction. **Clinical Chemistry**, v. 43, n. 8, p. 1372–1378, 1 ago. 1997.

JEAN-FRANÇOIS BENOIST et al. Serum Cardiac Troponin I, Creatine Kinase (CK), and CK-MB in Early Posttraumatic Rhabdomyolysis. **Clinical Chemistry**, v. 43, n. 2, p. 416–417, 1 fev. 1997.

JO, M. S. et al. Comparison between creatine kinase MB, heart-type fatty acid-binding protein, and cardiac troponin T for detecting myocardial ischemic injury after cardiac surgery. **Clinica Chimica Acta**, v. 488, p. 174–178, 1 jan. 2019.

K. STOCKER, G. H. B. [18] The coagulant enzyme from Bothrops atrox venom (batroxobin)¹. **Methods in Enzymology**, v. 45, p. 214–223, 1976.

KAMIGUTI, A. S.; CARDOSO, J. L. C. Haemostatic changes caused by the venoms of South American snakes. **Toxicon**, v. 27, n. 9, p. 955–963, 1989.

KARLÉN, J. et al. Cardiac Troponin T in Healthy Full-Term Infants. **Pediatric Cardiology**, v. 40, n. 8, p. 1645–1654, 1 dez. 2019.

KDIGO. Clinical Practice Guideline for Lipid Management in Chronic Kidney Disease. **Kidney international**, v. 3, n. 3, p. 182–189, 2013.

KENNETH R. WOODS, MARILYN STEPHENS HOROWITZ, AND B. B. Effect of thrombin on the molecular weights of N-terminal fragments of human fibrinogen. **Thrombosis Research**, v. 1, n. 3, p. 113–126, 1972.

KHANAM, S. S. et al. Prognostic value of short-term follow-up BNP in hospitalized patients with heart failure. **BMC Cardiovascular Disorders**, v. 17, n. 1, 3 ago. 2017.

KINI, R. M. Serine proteases affecting blood coagulation and fibrinolysis from snake venoms. **Pathophysiology of Haemostasis and Thrombosis**, v. 34, n. 4–5, p. 200–204, 2006.

KISTORP, C. N-Terminal Pro-Brain Natriuretic Peptide, C-Reactive Protein, and Urinary Albumin Levels as Predictors of Mortality and Cardiovascular Events in Older Adults. **JAMA**, v. 293, n. 13, p. 1609, 6 abr. 2005.

KOTECHA, D. et al. B-type natriuretic peptide trumps other prognostic markers in patients assessed for coronary disease. **BMC Medicine**, v. 17, n. 1, p. 72, 3 dez. 2019.

LADOWSKI, J. S. et al. Cardiac isoenzymes following heart transplantation. **Chest**, v. 102, n. 5, p. 1520–1521, 1992.

LARRÉCHÉ, S. et al. Bleeding and thrombosis: Insights into pathophysiology of bothrops venom-related hemostasis disorders. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 17, 2021.

LAUER, B. et al. **Cardiac Troponin T in Patients With Clinically Suspected Myocarditis** *J Am Coll Cardiol*. [s.l: s.n.].

LI, M. X.; HWANG, P. M. **Structure and function of cardiac troponin C (TNNC1): Implications for heart failure, cardiomyopathies, and troponin modulating drugs**. *Gene* Elsevier B.V., , 25 out. 2015.

LIBLIK, K. et al. **Snakebite Envenomation and Heart: Systematic Review**. *Current Problems in Cardiology* Elsevier Inc., , 1 set. 2022.

LIEBETRAU, C. et al. Release kinetics of early ischaemic biomarkers in a clinical model of acute myocardial infarction. **Heart**, v. 100, n. 8, p. 652–657, 2014.

LÓPEZ-DÁVILA, A. J. et al. Cytotoxicity of snake venom Lys49 PLA2-like myotoxin on rat cardiomyocytes ex vivo does not involve a direct action on the contractile apparatus. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, 1 dez. 2021.

LU, Y. C. et al. Elevated plasma fatty acid-binding protein 3 is related to prolonged corrected qt interval and reduced ejection fraction in patients with stable angina. **International Journal of Medical Sciences**, v. 18, n. 9, p. 2076–2085, 2021.

LUBIEN, E. et al. Utility of B-Natriuretic Peptide in Detecting Diastolic Dysfunction. **Circulation**, v. 105, n. 5, p. 595–601, 5 fev. 2002.

MACHADO, A. S. et al. Relato de Caso/Case Report Acidente vascular cerebral hemorrágico associado à acidente ofídico por serpente do gênero bothrops: relato de caso Hemorrhagic stroke related to snakebite by bothrops genus: a case report. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 43, n. 5, p. 602–604, 2010.

MAEDA, K. et al. Plasma brain natriuretic peptide as a biochemical marker of high left ventricular end-diastolic pressure in patients with symptomatic left ventricular dysfunction. **American Heart Journal**, v. 135, n. 5, p. 825–832, maio 1998.

MAISEL, A. S. et al. Utility of B-natriuretic peptide as a rapid, point-of-care test for screening patients undergoing echocardiography to determine left ventricular dysfunction. **American Heart Journal**, v. 141, n. 3, p. 367–374, mar. 2001.

MALBRANQUE, S. et al. Case report: Fatal diffuse thrombotic microangiopathy after a bite by the “Fer-de-Lance” pit viper (*Bothrops lanceolatus*) of Martinique. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 78, n. 6, p. 856–861, 2008.

MATHEW, R. O.; NAYER, A.; ASIF, A. The endothelium as the common denominator in malignant hypertension and thrombotic microangiopathy. **Journal of the American Society of Hypertension**, v. 10, n. 4, p. 352–359, 2016.

MATSUMURA, T. et al. Cardiac troponin I for accurate evaluation of cardiac status in myopathic patients. **Brain and Development**, v. 29, n. 8, p. 496–501, set. 2007.

MENNUNI, S. et al. Hypertension and kidneys: Unraveling complex molecular mechanisms underlying hypertensive renal damage. **Journal of Human Hypertension**, v. 28, n. 2, p. 74–79, 2014.

MESNARD, L. et al. **Rapid Communication Human Cardiac Troponin T: Cloning and Expression of New Isoforms in the Normal and Failing Heart**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <<http://ahajournals.org>>.

MILANI, R. et al. Snake bites by the jararacucu (*Bothrops jararacussu*): Clinicopathological studies of 29 proven cases in Sao Paulo State, Brazil. **QJM - Monthly Journal of the Association of Physicians**, v. 90, n. 5, p. 323–334, 1997.

MONTECUCCO, C.; GUTIÉRREZ, J. M.; LOMONTE, B. **Cellular pathology induced by snake venom phospholipase A2 myotoxins and neurotoxins: Common aspects of their mechanisms of action**. **Cellular and Molecular Life Sciences**, set. 2008.

MONTEIRO, W. M. et al. Bothrops atrox, the most important snake involved in human envenomings in the amazon: How venomomics contributes to the knowledge of snake biology and clinical toxinology. **Toxicon: X**, v. 6, 1 jun. 2020.

MOON, M. G. et al. Evaluation of Heart-type Fatty Acid-binding Protein in Early Diagnosis of Acute Myocardial Infarction. **Journal of Korean Medical Science**, v. 36, n. 8, p. 1–12, 2021.

MORAIS, K. L. P. et al. Proline rich-oligopeptides: Diverse mechanisms for antihypertensive action. **Peptides**, v. 48, p. 124–133, 2013.

MOREIRA, V. et al. 12-HETE is a regulator of PGE2 production via COX-2 expression induced by a snake venom group IIA phospholipase A2 in isolated peritoneal macrophages. **Chemico-Biological Interactions**, v. 317, p. 108903, 1 fev. 2020.

MUNAWAR, A. et al. Venom peptide analysis of Vipera ammodytes meridionalis (Viperinae) and Bothrops jararacussu (Crotalinae) demonstrates subfamily-specificity of the peptidome in the family Viperidae. **Molecular BioSystems**, v. 7, n. 12, p. 3298–3307, 1 dez. 2011.

MURAYAMA, N. et al. **Cloning and sequence analysis of a Bothrops jararaca cDNA encoding a precursor of seven bradykinin-potentiating peptides and a C-type natriuretic peptide** *Biochemistry*. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <www.pnas.org>.

NAKAMURA, T. et al. Increased plasma brain natriuretic peptide level as a guide for silent myocardial ischemia in patients with non-obstructive hypertrophic cardiomyopathy. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 39, n. 10, p. 1657–1663, maio 2002.

NAKATA, T. et al. Human heart-type fatty acid-binding protein as an early diagnostic and prognostic marker in acute coronary syndrome. **Cardiology**, v. 99, n. 2, p. 96–104, 2003.

NAMAL RATHNAYAKA, R. M. M. K. et al. Cardiac arrest and atrial fibrillation in a patient after hump-nosed pit viper (*Hypnale hypnale*) bite. **Toxicon**, v. 148, p. 33–39, 15 jun. 2018.

NELWAN, E. J. et al. Severe coagulopathy and transient hypertension following a *Rhabdophis subminiatus* bite: A case report. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 49, n. 4, p. 520–522, 1 jul. 2016.

NGUYEN, H. T.; NGUYEN, C. T. H. **Cardiac amyloidosis mimicking acute coronary syndrome: A case report and literature review**. **European Heart Journal - Case Reports** Oxford University Press, , 1 dez. 2020.

NIEWIAROWSKI, S. et al. Thrombocytin, a Serine Protease from *Bothrops atrox* Venom. 2. Interaction with Platelets and Plasma-Clotting Factors. **Biochemistry**, v. 18, n. 16, p. 3570–3577, 1979.

OLIVEIRA, M.; MARTINS, O. When and where to find a pitviper: activity patterns and habitat use of the lancehead *Bothrops atrox* in central Amazonia, Brazil. **Herpetological Natural History**, v. 8, n. 2, p. 101–110, 2001.

OLIVEIRA, S. S. et al. Factors associated with systemic bleeding in bothrops envenomation in a tertiary hospital in the Brazilian Amazon. **Toxins**, v. 11, n. 1, 2019.

OLIVEIRA, S. S. et al. Bleeding Disorders in Bothrops atrox Envenomations in the Brazilian Amazon: Participation of Hemostatic Factors and the Impact of Tissue Factor. **Toxins** 2020, Vol. 12, Page 554, v. 12, n. 9, p. 554, 29 ago. 2020.

OMRAN, F. et al. **Cardiovascular Biomarkers: Lessons of the Past and Prospects for the Future**. *International Journal of Molecular Sciences* MDPI, , 1 maio 2022.

OTERO-PATIÑO, R. Epidemiological, clinical and therapeutic aspects of Bothrops asper bites. **Toxicon**, v. 54, n. 7, p. 998–1011, 1 dez. 2009.

PELSERS, M. M. A. L.; HERMENS, W. T.; GLATZ, J. F. C. Fatty acid-binding proteins as plasma markers of tissue injury. **Clinica Chimica Acta**, v. 352, n. 1–2, p. 15–35, fev. 2005.

PÉREZ-GÓMEZ, A. S. et al. Hemorrhagic stroke following viper bites and delayed antivenom administration: Three case reports from the western Brazilian Amazon. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 52, 2019.

PETRETSKI, J. H. et al. Two related thrombin-like enzymes present in Bothrops atrox venom. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 33, n. 11, p. 1293–1300, 2000.

PINHO, F. M. O.; BURDMANN, E. D. A. Fatal cerebral hemorrhage and acute renal failure after young Bothrops jararacussu snake bite. **Renal Failure**, v. 23, n. 2, p. 269–277, 2001.

POTTER, L. R. et al. Natriuretic Peptides: Their Structures, Receptors, Physiologic Functions and Therapeutic Applications. Em: [s.l: s.n.]. p. 341–366.

QI et al. Cardiac natriuretic peptides and continuously monitored atrial pressures during chronic rapid pacing in pigs. **Acta Physiologica Scandinavica**, v. 169, n. 2, p. 95–102, 24 jun. 2000.

RANDHAWA, M. S. et al. Diagnostic utility of cardiac biomarkers in discriminating takotsubo cardiomyopathy from acute myocardial infarction. **Journal of Cardiac Failure**, v. 20, n. 1, p. 2–8, jan. 2014.

REITER, M. et al. Heart-type fatty acid-binding protein in the early diagnosis of acute myocardial infarction. **Heart**, v. 99, n. 10, p. 708–714, maio 2013.

RIBEIRO, L. A. et al. Óbitos por serpentes peçonhentas no Estado de São Paulo: avaliação de 43 casos, 1988/93. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 44, n. 4, p. 312–318, dez. 1998.

RODRIGUES, M. A. P. et al. Rat atrial responses to Bothrops jararacussu (jararacuçu) snake venom. **Toxicology**, v. 323, p. 109–124, 2 set. 2014.

RODRIGUES SGRIGNOLLI, L. et al. Acute kidney injury caused by bothrops snake venom. **Nephron - Clinical Practice**, v. 119, n. 2, p. 131–137, 2011.

ROOS, A. et al. Stable High-Sensitivity Cardiac Troponin T Levels and Outcomes in Patients With Chest Pain. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 70, n. 18, p. 2226–2236, 31 out. 2017.

ROSALKI, S. B. Serum Enzymes in Disease of Skeletal Muscle. **Clinics in Laboratory Medicine**, v. 9, n. 4, p. 767–782, dez. 1989.

ROSEN, P. B.; LEIVA, J. I.; ROSS, C. P. Delayed antivenom treatment for a patient after envenomation by *Crotalus atrox*. **Annals of Emergency Medicine**, v. 35, n. 1, p. 86–88, jan. 2000.

RUPPERT, M.; VAN HEE, R. U. **Creatinine-kinase-MB determination in non-cardiac trauma: its difference with cardiac infarction and its restricted use in trauma situations** **EUROPEAN JOURNAL OF EMERGENCY MEDICINE**. [s.l: s.n.].

SACHETT, J. A. G. et al. Poor efficacy of preemptive amoxicillin clavulanate for preventing secondary infection from Bothrops snakebites in the Brazilian Amazon: A randomized controlled clinical trial. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 11, n. 7, p. 1–21, 2017.

SAJEVIC, T.; LEONARDI, A.; KRIŽAJ, I. Haemostatically active proteins in snake venoms. **Toxicon**, v. 57, n. 5, p. 627–645, 2011.

SANO-MARTINS, I. S. et al. Reliability of the simple 20 minute whole blood clotting test (WBCT20) as an indicator of low plasma fibrinogen concentration in patients envenomed by Bothrops snakes. **Toxicon**, v. 32, n. 9, p. 1045–1050, 1994.

SANO-MARTINS, I. S.; SANTORO, M. L. Distúrbios hemostáticos em envenenamentos por animais peçonhentos no Brasil. **Animais Peçonhentos no Brasil: Biologia, Clínica e Terapêutica dos Acidentes.**, p. 289–309, 2009.

SANT'ANA MALAQUE, C. M.; GUTIÉRREZ, J. M. Snakebite Envenomation in Central and South America. Em: **Critical Care Toxicology**. [s.l.] Springer International Publishing, 2015. p. 1–22.

SARKO, J.; POLLACK, C. V. Cardiac troponins. **The Journal of Emergency Medicine**, v. 23, n. 1, p. 57–65, jul. 2002.

SARTIM, M. A. et al. Disseminated intravascular coagulation caused by moojenactivase, a procoagulant snake venom metalloprotease. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 103, p. 1077–1086, 1 out. 2017.

SASSE, S. et al. Troponin I gene expression during human cardiac development and in end-stage heart failure. **Circulation Research**, v. 72, n. 5, p. 932–938, 1993.

SAVIC-RADOJEVIC, A. et al. Novel Biomarkers of Heart Failure. Em: **Advances in Clinical Chemistry**. [s.l.] Academic Press Inc., 2017. v. 79p. 93–152.

SCHLATTNER, U.; TOKARSKA-SCHLATTNER, M.; WALLIMANN, T. Mitochondrial creatine kinase in human health and disease. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease**, v. 1762, n. 2, p. 164–180, fev. 2006.

SCIANI, J. M.; PIMENTA, D. C. **The modular nature of bradykinin-potentiating peptides isolated from snake venoms. Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases** BioMed Central Ltd., , 26 out. 2017.

SHEN, Y. et al. Silencing of FABP3 Inhibits Proliferation and Promotes Apoptosis in Embryonic Carcinoma Cells. **Cell Biochemistry and Biophysics**, v. 66, n. 1, p. 139–146, 1 maio 2013.

SILVA DE OLIVEIRA, S. et al. Fatal stroke after Bothrops snakebite in the Amazonas state, Brazil: A case report. **Toxicon**, v. 138, p. 102–106, 2017.

SILVA, F. S. et al. Severe tissue complications in patients of bothrops snakebite at a tertiary health unit in the brazilian amazon: Clinical characteristics and associated factors. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 54, 2021.

SILVEIRA, K. S. O. et al. Pulmonary mechanics and lung histology in acute lung injury induced by Bothrops jararaca venom. **Respiratory Physiology and Neurobiology**, v. 139, n. 2, p. 167–177, 15 jan. 2004.

SINGH, G.; BAWEJA, P. S. Creatine Kinase-MB. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 141, n. 3, p. 415–419, 1 mar. 2014.

SIPOS, B. et al. **Promising novel biomarkers in cardiovascular diseases. Applied Sciences (Switzerland)**MDPI AG, , 2 abr. 2021.

SOUZA, A. R. B. Snakebite by *Bothrops atrox* (Lin. 1758) in the State of Amazonas - Brazil: Study of 212 cases with identified snake. Disponível em: <https://scholar.google.com.br/scholar?hl=pt-BR&as_sdt=0%2C5&q=Souza+ARB.+Snakebite+by+Bothrops+atrox+%28Lin.+1758%29+in+the+State+of+Amazonas+-+Brazil%3A+Study+of+212+cases+with+identified+snake.+Rev+Patol+Trop+%5BInternet%5D.+2002+%5Bcited+2015+Mar+17%5D>. Acesso em: 20 fev. 2022.

STRANDBERG, L. S.; ROOS, A.; HOLZMANN, M. J. Stable high-sensitivity cardiac troponin T levels and the association with frailty and prognosis in patients with chest pain. **American Journal of Medicine Open**, v. 1–6, p. 100001, 1 jan. 2021.

STRANDGAARD, S.; PAULSON, O. B. Cerebral blood flow and its pathophysiology in hypertension. **American Journal of Hypertension**, v. 2, n. 6 I, p. 486–492, 1989.

THIND, G.; KAILASAM, K. Malignant hypertension as a rare cause of thrombotic microangiopathy. **BMJ Case Reports**, v. 2017, 2017.

THYGESEN, K. et al. Third universal definition of myocardial infarction. **European Heart Journal**, v. 33, n. 20, p. 2551–2567, out. 2012.

THYGESEN, K. et al. Fourth universal definition of myocardial infarction (2018). **European Heart Journal**, v. 40, n. 3, p. 237–269, 14 jan. 2019.

TSUTAMOTO, T. et al. Renal Clearance of N-Terminal pro-Brain Natriuretic Peptide Is Markedly Decreased in Chronic Kidney Disease. **Circulation Reports**, v. 1, n. 8, p. 326–332, 9 ago. 2019.

TURCI, L. C. B. et al. Uso do hábitat, atividade e comportamento de *Bothriopsis bilineatus* e de *Bothrops atrox* (Serpentes: Viperidae) na floresta do Rio Moa, Acre, Brasil. **Biota Neotropica**, v. 9, n. 3, p. 197–206, 2009.

VASATOVA, M. et al. Current Applications of Cardiac Troponin T for the Diagnosis of Myocardial Damage. Em: **Advances in Clinical Chemistry**. [s.l.] Academic Press Inc., 2013. v. 61p. 33–65.

VERGNES, L. et al. Heart-type fatty acid-binding protein is essential for efficient brown adipose tissue fatty acid oxidation and cold tolerance. **Journal of Biological Chemistry**, v. 286, n. 1, p. 380–390, 7 jan. 2011.

VOLOCHAYEV, R. et al. **Laboratory Test Abnormalities are Common in Polymyositis and Dermatomyositis and Differ Among Clinical and Demographic Groups***The Open Rheumatology Journal*. [s.l: s.n.].

WALLIMANN, T.; HEMMER, W. Creatine kinase in non-muscle tissues and cells. Em: **Cellular Bioenergetics: Role of Coupled Creatine Kinases**. Boston, MA: Springer US, 1994. v. 1331134p. 193–220.

WANG, S. et al. Overexpression of FABP3 inhibits human bone marrow derived mesenchymal stem cell proliferation but enhances their survival in hypoxia. **Experimental Cell Research**, v. 323, n. 1, p. 56–65, 15 abr. 2014.

WANG, T. J. et al. **Plasma Natriuretic Peptide Levels and the Risk of Cardiovascular Events and Death From the Framingham Heart Study, Framinghamn engl j med**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <www.nejm.org>.

WANNAMETHEE, S. G. et al. Associations between blood coagulation markers, NT-proBNP and risk of incident heart failure in older men: The British Regional Heart Study. **International Journal of Cardiology**, v. 230, p. 567–571, 1 mar. 2017.

WARRELL, D. A. **Snake bite. The Lancet**Elsevier B.V., , 2010.

WELLMANN, I. A. M. et al. Correlating Fibrinogen Consumption and Profiles of Inflammatory Molecules in Human Envenomation's by Bothrops atrox in the Brazilian Amazon. **Frontiers in Immunology**, v. 11, n. August, p. 1–12, 2020.

WHITE, J. Snake venoms and coagulopathy. **Toxicon**, v. 45, n. 8, p. 951–967, 2005.

WORD HEALTH ORGANIZATION. Ending the neglect to attain the Sustainable Development Goals: a road map for neglected tropical diseases 2021–2030. Geneva: World Health Organization. **Word Health Organization**, v. 5, p. 196, 2020.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Snakebite envenoming: a strategy for prevention and control**. [s.l: s.n.].

YOSHIMURA, M. et al. Different secretion patterns of atrial natriuretic peptide and brain natriuretic peptide in patients with congestive heart failure. **Circulation**, v. 87, n. 2, p. 464–469, fev. 1993.

ZAMZAM, A. et al. Validating fatty acid binding protein 3 as a diagnostic and prognostic biomarker for peripheral arterial disease: A three-year prospective follow-up study. **eClinicalMedicine**, v. 55, 1 jan. 2023.

ZHU, C. et al. Fabp3 Inhibits Proliferation and Promotes Apoptosis of Embryonic Myocardial Cells. **Cell Biochemistry and Biophysics**, v. 60, n. 3, p. 259–266, jul. 2011.

7. ANEXO I - ORÇAMENTO E RECURSOS FINANCEIROS

Especificação	Custo	Justificativa
FABP3 (HNS2MAG-95K)	R\$ 7.720,00	Kits para avaliação Marcadores Cardíacos
NT proBNP (HCVD1MAG-67K)	R\$ 15.280,00	Kits para avaliação Marcadores Cardíacos
Hs-TnI (HCVD1MAG-67K)	R\$ 15.280,00	Kits para avaliação Marcadores Cardíacos
CK-MB NAC UV LIQUIDA	R\$ 4.122,62	Kits para avaliação Marcadores Cardíacos

Obs.: Os Recursos para custeio da pesquisa são provenientes de projetos aprovados em agências de fomento sob a coordenação do orientador **Prof. Dr. Wuelton Marcelo Monteiro**.

8. ANEXO II - EQUIPE CIENTÍFICA EXECUTORA

NOME	FORMAÇÃO	ATIVIDADE NO PROJETO
Maria Raimunda Da Costa	Mestranda	Aluno
Wuelton Marcelo Monteiro	Doutor	Orientador
Marcos Aurélio Sartim	Doutor	Co-Orientador
Victor Irungu Mwangi	Doutor	Colaborador
Gisely Cardoso Melo	Doutora	Colaborador
Samella Oliveira	Doutora	Colaborador
Karolaine Oliveira Bentes	Doutoranda	Colaborador
Jady Shayenne Mota	Mestranda	Colaborador
Michael Nosano Yakubu	Doutor	Colaborador

10. ANEXO IV – PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

FUNDAÇÃO DE MEDICINA
TROPICAL "DOUTOR HEITOR
VIEIRA DOURADO"



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Distúrbios hemostáticos em acidentes botrópicos e laquéticos na região de Manaus, estado do Amazonas.

Pesquisador: Sâmella Silva de Oliveira

Área Temática:

Versão: 4

CAAE: 49671615.5.0000.0005

Instituição Proponente: Fundação de Medicina Tropical do Amazonas - FMT/IMT/AM

Patrocinador Principal: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas - FAPEAM

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.886.626

Apresentação do Projeto:

A maioria dos acidentes ofídicos na Amazônia brasileira é causada por serpentes *Bothrops atrox*. Os acidentes botrópicos caracterizam-se por manifestações clínicas locais (edema, dor e equimose) e sistêmicas (alterações da coagulação e sangramentos). A serpente *Lachesis muta*, coabitante na região Amazônica, ocasiona acidentes com sintomatologia semelhante à dos acidentes botrópicos, o que dificulta o diagnóstico clínico diferencial desses acidentes na região. Contudo, o imunodiagnóstico ainda não é rotina nos serviços de saúde e poucos pacientes levam a serpente causadora do acidente para identificação. O tratamento específico do acidente botrópico consiste na administração dos antivenenos botrópico, botrópico-laquético ou botrópico-crotálico. No entanto, o veneno de *B. atrox* não faz parte do pool de imunização utilizado na produção desses antivenenos. Estudos demonstram que o veneno de *B. atrox* possui componentes com atividades pro-coagulante e trombina-símile, o que leva a um consumo dos fatores de coagulação resultando em incoagulabilidade sanguínea nas vítimas desses acidentes. Os componentes que

induzem ou inibem a agregação plaquetária foram também isolados do veneno de *B. atrox*. Sabe-se que a composição e as atividades biológicas dos venenos de serpentes podem variar de maneira inter ou intraespecífica, a depender da origem geográfica, sexo ou estágio ontogenético das serpentes. Assim, a presença dessa variabilidade poderia repercutir diretamente na gravidade das manifestações clínicas observadas nos acidentes ofídicos, bem como na necessidade de

Endereço: Av. Pedro Teixeira, 25

Bairro: D. Pedro I

CEP: 69.040-000

UF: AM

Município: MANAUS

Telefone: (92)2127-3572

Fax: (92)2127-3572

E-mail: cep@fmt.am.gov.br

**FUNDAÇÃO DE MEDICINA
TROPICAL "DOUTOR HEITOR
VIEIRA DOURADO"**



Continuação do Parecer: 5.886.626

antivenenos mais efetivos. Desse modo, um estudo mais detalhado sobre as alterações da coagulação e função plaquetária observadas em vítimas de acidentes ofídicos ocorridos na Amazônia brasileira ajudará a entender melhor o mecanismo de ação do

veneno de serpentes de importância médica nessa região, ainda pouco conhecido. Além disso, uma vez que o veneno de *B. atrox* não é utilizado na produção do antiveneno comercial e há variação intraespecífica no veneno de serpentes de diferentes origens geográficas, torna-se necessário avaliar a eficácia do antiveneno na reversão dos distúrbios hemostáticos presentes nas vítimas de acidentes botrópicos e laquéticos nas diferentes regiões. Diante disso, o objetivo desse trabalho é avaliar os distúrbios da coagulação e função plaquetária nos acidentes causados por serpentes *Bothrops atrox* e *Lachesis muta* na região de Manaus, estado do Amazonas, e a eficácia do antiveneno na reversão desses distúrbios. Para isso, será realizado um estudo observacional de coorte prospectivo, no qual os pacientes com diagnóstico clínico-epidemiológico de acidente botrópico e ou laquético (n=100) que forem atendidos na Fundação de Medicina Tropical "Dr. Heitor Vieira Dourado", nos setores de pronto atendimento e enfermaria de dermatologia, no período de janeiro de 2016 a dezembro de 2017, terão quantificados os níveis de veneno circulante, fibrinogênio, fatores II, X, VII, tissular e XIII, complexo antitrombina-trombina, produtos de degradação de fibrinogênio e fibrina, d-dímeros; identificados e quantificados as toxinas de veneno e de proteínas do plasma dos pacientes com abundância diferencial através de ELISA, Western blot e espectrometria de massas; e avaliados a função plaquetária (agregação e expressão de glicoproteínas) através de citometria de fluxo, antes e após

a administração do antiveneno. Como controles serão utilizadas amostras de sangue obtidas de doadores voluntários (acompanhantes/responsável legal dos pacientes; n=20).

Trata-se da EMENDA 1, versão 3, sobre o Projeto intitulado "Título da Pesquisa: Distúrbios hemostáticos em acidentes botrópicos e laquéticos na região de Manaus, estado do Amazonas.". Pesquisador Responsável: Sâmella Silva de Oliveira.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Avaliar os distúrbios da coagulação e função plaquetária nos acidentes causados por serpentes *Bothrops atrox* e *Lachesis muta* e a eficácia do antiveneno na reversão desses distúrbios.

Endereço: Av. Pedro Teixeira, 25

Bairro: D. Pedro I

CEP: 69.040-000

UF: AM

Município: MANAUS

Telefone: (92)2127-3572

Fax: (92)2127-3572

E-mail: cep@fmt.am.gov.br

**FUNDAÇÃO DE MEDICINA
TROPICAL "DOUTOR HEITOR
VIEIRA DOURADO"**



Continuação do Parecer: 5.886.626

Objetivo Secundário:

- Determinar os níveis de fibrinogênio, fatores II, X, VII, tissular e XIII, antitrombina-trombina, produtos de degradação de fibrinogênio e fibrina, ddímeros e contagem de plaquetas em repouso e ativadas circulantes antes e após a administração do antiveneno;
- Avaliar a função plaquetária antes e após a administração do antiveneno através de citometria de fluxo;
- Verificar a frequência das manifestações hemorrágicas locais e sistêmicas e seus fatores associados;
- Verificar a correlação entre os distúrbios da coagulação e contagem plaquetária e a presença de sangramentos sistêmicos.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

É possível que durante a pesquisa o participante experimente alguma dor/ desconforto e ou apareçam equimoses resultantes da punção venosa realizada para a coleta de sangue. No entanto, esses riscos serão diminuídos uma vez que quem realizará a coleta de sangue são pessoas experientes do laboratório da FMTHVD. Ainda, será garantido ao participante da pesquisa que os problemas mencionados anteriormente decorrentes do estudo serão assistidos, tratados e acompanhados na FMT-HVD e pela equipe do presente estudo, sem qualquer ônus para este, durante todo o tempo que for necessário.

Benefícios:

Os benefícios esperados com essa pesquisa para o participante são a realização de exames que normalmente não fazem parte da rotina hospitalar, sendo que ao ser encontrada alguma alteração importante esta será comunicada. Este estudo permitirá conhecer mais sobre o mecanismo de ação de venenos de serpentes de importância médica na Amazônia brasileira, ainda pouco conhecido; avaliar os distúrbios hemostáticos em vítimas de acidentes botrópicos e laquéticos, bem como a eficácia do antiveneno na reversão desses distúrbios. Além disso, o perfil de toxinas de veneno de serpentes na Amazônia brasileira que permanecem e/ou que são liberadas de forma residual no plasma de vítimas de acidentes botrópicos, ainda pouco conhecida, poderá ser esclarecida, o que futuramente poderia ser constituído como método de identificação a ser utilizado para a construção de dispositivos de diagnósticos e monitoramento de acidentes

Endereço: Av. Pedro Teixeira, 25

Bairro: D. Pedro I

CEP: 69.040-000

UF: AM

Município: MANAUS

Telefone: (92)2127-3572

Fax: (92)2127-3572

E-mail: cep@fmt.am.gov.br

**FUNDAÇÃO DE MEDICINA
TROPICAL "DOUTOR HEITOR
VIEIRA DOURADO"**



Continuação do Parecer: 5.886.626

ofídicos.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A EMENDA 1, versão 3, é relevante, e o protocolo devidamente instruído está apto para análise.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O protocolo da EMENDA 1, versão 3, traz a documentação seguinte: 1. Projeto gerado na Plataforma Brasil (PB); 2. Projeto detalhado, e 3. Carta de justificativa para emenda ao projeto.

Carta justificativa enviada pela pesquisadora, a seguir:

CARTA JUSTIFICATIVA PARA EMENDA AO PROJETO

CAAE N° 49671615.5.0000.0005

TÍTULO DA PESQUISA: Distúrbios hemostáticos em acidentes botrópicos e laquéticos na região de Manaus, estado do Amazonas

PESQUISADOR PRINCIPAL: Sâmella Silva de Oliveira

Apesar do desenvolvimento de novas e avançadas abordagens diagnósticas, o monitoramento da evolução clínica dos acidentes causados por animais peçonhentos ainda é um desafio para a ciência. Alguns kits de diagnóstico baseados na rastreabilidade de toxinas livres no plasma têm sido propostos, mas com pouco êxito devido à reatividade cruzada entre os venenos, alterações no perfil proteico dos venenos e a sensibilidade desses. Dessa forma, submetemos esta emenda para fins de aprovação de inclusão de novas análises utilizando as amostras de plasmas dos participantes da pesquisa incluídos neste estudo com o objetivo de identificar e quantificar toxinas nas amostras de plasma, além de identificar proteínas do plasma dos pacientes envenenados que sejam candidatas a biomarcadores para o envenenamento e suas complicações clínicas como os sangramentos sistêmicos.

As amostras de plasma (150 microlitros por ensaio) serão utilizadas em ensaios de ELISA, Western blotting e espectrometria de massas para identificação e quantificação de toxinas dos venenos animais e proteínas do plasma dos pacientes envenenados que apresentem abundância diferencial e possam ser candidatas a biomarcadores para o envenenamento e suas complicações clínicas,

Endereço: Av. Pedro Teixeira, 25

Bairro: D. Pedro I

CEP: 69.040-000

UF: AM

Município: MANAUS

Telefone: (92)2127-3572

Fax: (92)2127-3572

E-mail: cep@fmt.am.gov.br

**FUNDAÇÃO DE MEDICINA
TROPICAL "DOUTOR HEITOR
VIEIRA DOURADO"**



Continuação do Parecer: 5.886.626

como os sangramentos sistêmicos.

O uso dessas amostras evitará que novos participantes sejam recrutados e submetidos a riscos como (i) dor/ desconforto e ou aparecimento de equimoses resultantes da punção venosa realizada para a coleta de sangue. A partir dos dados obtidos com a presente proposta de emenda poderemos identificar o perfil de toxinas que permanecem e/ou que são liberadas de forma residual no plasma, ainda pouco explicado, além de apresentar método de identificação destas, o que poderá contribuir como base para a construção de dispositivos de diagnósticos e monitoramento, e métodos validados para diagnóstico laboratorial em envenenamentos por animais peçonhentos no Brasil.

Além disso, poderá ser identificado biomarcadores para o envenenamento ofídico e suas complicações clínicas como os sangramentos sistêmicos.

Nesta emenda, foram incluídos os seguintes documentos:

- Carta de Justificativa para Emenda
- Projeto de Pesquisa - Emenda

As alterações realizadas nos itens 5. Pacientes e métodos, 7. Cronograma e 9. Equipe de trabalho foram destacadas em verde no texto do Projeto de Pesquisa – emenda.

A identificação de toxinas de venenos e proteínas plasmáticas dos pacientes através da quantificação de veneno por ELISA sanduiche, identificação de toxinas/fragmentos presentes no plasma e preparo da amostra de plasma para espectrometria de massas e análise serão realizados em colaboração com os membros da equipe de trabalho destacados em verde abaixo, que foram incluídos na emenda:

9. Equipe de trabalho

Foram incluídos os seguintes membros na equipe de pesquisa, todos da Unesp, a seguir:

Amanda de Almeida Baldo Iniciação, Joeliton dos Santos Cavalcante, Micael Saggion Moraes, Pedro Marques Riciopo, Pedro Moriel Pincinato, Rui Seabra Ferreira Junior, e Sophia Ribeiro Santos.

Cronograma de atividades com a inclusão do seguinte: 2º semestre de 2022; 1º e 2º semestres de 2023, e 1º semestre de 2024.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

PENDÊNCIA/SOLICITAÇÃO visando atender a Resolução nº 466/2012, CNS/MS e suas

Endereço: Av. Pedro Telxela, 25		CEP: 69.040-000
Bairro: D. Pedro I		
UF: AM	Município: MANAUS	
Telefone: (92)2127-3572	Fax: (92)2127-3572	E-mail: cep@fmt.am.gov.br

**FUNDAÇÃO DE MEDICINA
TROPICAL "DOUTOR HEITOR
VIEIRA DOURADO"**



Continuação do Parecer: 5.886.626

complementares.

PENDÊNCIA ÚNICA: Na carta justificativa para a emenda do projeto foi mencionado o seguinte: " Dessa forma, submetemos esta emenda para fins de aprovação de inclusão de novas análises utilizando as amostras de plasmas dos participantes da pesquisa incluídos neste estudo com o objetivo de identificar e quantificar toxinas nas amostras de plasma, além de identificar proteínas do plasma dos pacientes envenenados que sejam candidatas a biomarcadores para o envenenamento e suas complicações clínicas como os sangramentos sistêmicos."

Não se observou a inclusão dos objetivos acima mencionados nos projetos detalhado e gerado na plataforma Brasil (PB).

Diante disso, solicita-se a inclusão dos objetivos "identificar e quantificar toxinas nas amostras de plasma, além de identificar proteínas do plasma dos pacientes envenenados que sejam candidatas a biomarcadores para o envenenamento e suas complicações clínicas como os sangramentos sistêmicos.", nos projetos supracitados.

RESPOSTA DA PESQUISADORA: A inclusão dos objetivos "identificar e quantificar toxinas nas amostras de plasma, além de identificar proteínas do plasma dos pacientes envenenados que sejam candidatas a biomarcadores para o envenenamento e suas complicações clínicas como os sangramentos sistêmicos" foi realizada nos projetos detalhado e gerado na plataforma Brasil (PB), conforme solicitado por este CEP.

ANÁLISE: Observou-se que a pesquisadora atendeu conforme a solicitação. Diante do exposto, considera-se a **PENDÊNCIA ATENDIDA**.

Devido a pesquisadora ter atendido conforme a solicitação, sugere-se que o protocolo da **EMENDA 1, versão 3, seja APROVADA**.

S.M.J. É o parecer.

Considerações Finais a critério do CEP:

A presente EMENDA 1, VERSÃO 4 está APROVADA e os interessados ficam informados de dar

Endereço: Av. Pedro Teixeira, 25

Bairro: D. Pedro I

CEP: 69.040-000

UF: AM

Município: MANAUS

Telefone: (92)2127-3572

Fax: (92)2127-3572

E-mail: cep@fmt.am.gov.br

**FUNDAÇÃO DE MEDICINA
TROPICAL "DOUTOR HEITOR
VIEIRA DOURADO"**



Continuação do Parecer: 5.886.626

continuidade em apresentar a este CEP os relatórios parciais e final do estudo, conforme prevê a Resolução CNS nº 466/2012, utilizando o formulário de Roteiro para Relatório Parcial/Final de estudos clínicos Unicêntricos e Multicêntricos, proposto pela CONEP em nossa home page.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_204979_9_E1.pdf	16/12/2022 19:15:15		Aceito
Outros	Projeto_de_Pesquisa_emenda_2v.pdf	16/12/2022 19:06:30	Sâmella Silva de Oliveira	Aceito
Outros	Resposta_a_pendencia_Emenda_1.pdf	16/12/2022 11:54:58	Sâmella Silva de Oliveira	Aceito
Outros	Carta_de_Justificativa_Emenda.pdf	04/12/2022 22:00:02	Sâmella Silva de Oliveira	Aceito
Outros	Respostas_as_pendencias.pdf	18/10/2015 20:12:51	Sâmella Silva de Oliveira	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_RESPONSÁVEL_LEGAL.pdf	18/10/2015 20:01:44	Sâmella Silva de Oliveira	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_PACIENTE.pdf	18/10/2015 20:01:13	Sâmella Silva de Oliveira	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_DOADOR.pdf	18/10/2015 20:00:27	Sâmella Silva de Oliveira	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TA_PACIENTE.pdf	18/10/2015 19:57:04	Sâmella Silva de Oliveira	Aceito
Outros	curriculo_Samella_Silva.doc	30/09/2015 11:55:56	José Wílzar Monteiro de Luna	Aceito
Outros	Formulario.pdf	23/09/2015 18:40:37	Sâmella Silva de Oliveira	Aceito
Outros	Carta_de_Anuencia.pdf	23/09/2015 18:38:34	Sâmella Silva de Oliveira	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_de_Pesquisa.pdf	23/09/2015 11:54:55	Sâmella Silva de Oliveira	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_Rosto.pdf	23/09/2015 11:51:54	Sâmella Silva de Oliveira	Aceito

Endereço: Av. Pedro Teixeira, 25

Bairro: D. Pedro I

CEP: 69.040-000

UF: AM

Município: MANAUS

Telefone: (92)2127-3572

Fax: (92)2127-3572

E-mail: cep@fnt.am.gov.br

FUNDAÇÃO DE MEDICINA
TROPICAL "DOUTOR HEITOR
VIEIRA DOURADO"



Continuação do Parecer: 5.886.626

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

MANAUS, 10 de Fevereiro de 2023

Assinado por:
Marilaine Martins
(Coordenador(a))

•

Endereço: Av. Pedro Teixeira, 25

Bairro: D. Pedro I

CEP: 69.040-000

UF: AM

Município: MANAUS

Telefone: (92)2127-3572

Fax: (92)2127-3572

E-mail: cep@fmt.am.gov.br

11. ANEXO V – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - PACIENTE

Nós, Sâmella Silva de Oliveira e Wuelton Marcelo Monteiro, pesquisadores da Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado, estamos convidando o senhor/a senhora/você que foi picado por serpente (cobra) a participar de um estudo chamado **"DISTÚRBIOS HEMOSTÁTICOS EM ACIDENTES BOTRÓPICOS E LAQUÉTICOS NA REGIÃO DE MANAUS, ESTADO DO AMAZONAS"**. Esse estudo permitirá conhecer melhor as alterações que ocorrem após uma picada de cobra e verificar a necessidade ou não de um soro que funcione melhor contra o veneno da cobra.

Os acidentes com cobras podem causar alterações na coagulação do sangue (deixando o sangue incoagulável), sangramentos e dor, inchaço e manchas roxas no local da picada. O tratamento do acidente é feito através do uso do soro contra o veneno da cobra que causou o acidente.

- a) O objetivo desta pesquisa é avaliar as alterações que ocorrem com o sangue após uma picada por cobra, verificando os fatores associados aos sangramentos, e a necessidade ou não de um soro que funcione melhor na reversão dessas alterações;
- b) Caso você participe da pesquisa, será necessário que você responda perguntas de um formulário sobre o acidente com a cobra, bem como realizar a coleta de sangue durante 3 ocasiões diferentes no período de internação. A coleta de sangue para esse estudo ocorrerá no mesmo momento que a coleta de sangue para os exames de rotina do hospital. Em cada coleta serão retirados 20 mL de sangue ("4 colheres de sopa");
- c) É possível que, durante a participação na pesquisa o senhor/a senhora/você experimente alguma dor/ desconforto e ou apareçam manchas roxas que desaparecem com o tempo no local da punção venosa, ou seja, da retirada de sangue. No entanto, esses riscos serão diminuídos uma vez que quem realizará a coleta de sangue são pessoas experientes do laboratório do hospital;
- d) Os benefícios esperados com essa pesquisa são: realização de exames que normalmente não fazem parte da rotina hospitalar, sendo que ao ser encontrada alguma alteração importante esta será comunicada. Além disso, este estudo permitirá conhecer mais sobre as alterações que ocorrem no sangue após os acidentes com cobras e sobre a necessidade ou não de um soro que funcione melhor contra o veneno da cobra no tratamento destes acidentes;
- e) Qualquer dúvida a respeito da pesquisa antes, durante ou depois de encerrado o estudo, o senhor/a senhora/você poderá entrar em contato com a enfermeira Sâmella Silva de Oliveira no telefone 92 991063465 e com o Dr. Wuelton Marcelo Monteiro no telefone 92 91652486, na Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado, Gerência de Malária, localizada na av. Pedro Teixeira, 25, Dom Pedro, Manaus, AM, de segunda a sexta-feira, das 8 às 12 horas e 14 às 17 horas. E poderá também entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da FMT-HVD na av. Pedro Teixeira, 25, Dom Pedro, Manaus, AM, CEP 69040-000, telefone 92 2127 3572, horário de funcionamento: de segunda a sexta-feira, das 8 horas às 14 horas; coordenadora Dra Marilaine Martins, e-mail cep@fmt.am.gov.br;

Rubricas:

Sujeito da Pesquisa _____

Pesquisador Responsável _____

Impressão do dedo polegar

- f) A sua participação neste estudo é voluntária e se o senhor/a senhora/você não quiser mais fazer parte da pesquisa poderá desistir a qualquer momento e retirar o seu consentimento. Essa decisão não prejudicará de forma alguma o seu atendimento, tratamento ou acompanhamento na FMT-HVD;
- g) Todas as informações obtidas serão para uso exclusivo deste estudo. Nomes serão substituídos por códigos, com isso as amostras de sangue serão armazenadas utilizando esses códigos. Dessa forma, a identidade do senhor/da senhora/sua será preservada e mantida em segredo;
- h) As despesas necessárias para a realização da pesquisa não são de sua responsabilidade e pela sua participação no estudo você não receberá qualquer valor em dinheiro;
- i) O senhor/a senhora/você terá a garantia de que problemas como dor e desconforto e ou manchas roxas no local da retirada de sangue decorrentes do estudo serão assistidos, tratados e acompanhados na FMT-HVD e pela equipe do presente estudo, sem qualquer gasto para o senhor/a senhora/você, durante todo o tempo que for necessário. Da mesma forma, terá direito à indenização diante de eventuais danos decorrentes da pesquisa caso seja comprovado;
- j) O sangue coletado do senhor/da senhora/sua será utilizado exclusivamente para atender aos objetivos desta pesquisa e, caso haja sobra, serão devidamente eliminados ao final do estudo.

Eu, _____, li esse termo de consentimento e compreendi a natureza e objetivo do estudo do qual concordei em participar. A explicação que recebi tratou dos riscos e benefícios. Eu entendi que sou livre para interromper minha participação a qualquer momento sem justificar minha decisão e sem que esta decisão afete meu tratamento. Eu fui informado que serei atendido sem custos para mim se eu apresentar algum problema dos relacionados no item i). Este documento é emitido em duas vias que serão ambas assinadas por mim e pelo pesquisador, ficando uma via com cada um de nós. Sendo assim, eu concordo voluntariamente em participar deste estudo.

(Assinatura do participante da pesquisa)

Manaus, ____ de _____ de _____



Impressão do dedo polegar

(Assinatura da testemunha)

Manaus, ____ de _____ de _____

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste indivíduo para a participação neste estudo

(Assinatura do Pesquisador)

Manaus, ____ de _____ de _____

12. ANEXO – FORMULÁRIO DE REGISTRO CLÍNICO

Formulário para Coleta de Dados Clínicos e Epidemiológicos

**DISTÚRBIOS HEMOSTÁTICOS EM ACIDENTES
BOTRÓPICOS E LAQUÉTICOS NA REGIÃO DE MANAUS,
ESTADO DO AMAZONAS**

PESQUISADORES RESPONSÁVEIS: Sâmella Silva de Oliveira (92) 98204 5999

Wuelton Marcelo Monteiro

EQUIPE DE TRABALHO: Iran Mendonça da Silva (92) 99322 3775

Jacqueline Sachett (92) 98151 8086

Eliane Campos Alves (92) 98199 7110

Prontuário: _____

Nome: _____

Código do Estudo: _____

CRITÉRIOS DE NÃO INCLUSÃO:

1. Uso de soro antiofídico em outra unidade de saúde:	☐ SIM ☐ NÃO
2. Falta de vontade ou incapacidade de assinar o consentimento informado (paciente e ou pais / responsável legal):	☐ SIM ☐ NÃO

1. Dados do Paciente	
Contato telefônico: () _____ () _____	
Endereço: _____ nº _____	Bairro: _____
Município: _____	
Sexo: ☐ 1-Masculino 2-Feminino	Profissão: _____
Data de nascimento ____/____/____	Idade:

2. Dados do acidente ofídico	
2.1 Procedência: ☐ 1-Manaus 2-Interior. Qual? _____	
2.2 Data do acidente: ____/____/____	2.3 Hora Aproximada do Acidente: ____:____
2.4 Data da internação na FMT-HVD: ____/____/____	2.5 Hora da admissão: ____:____
2.6 Data da saída na FMT-HVD: ____/____/____	
2.7 Motivo: ☐ 1-Alta 2-Óbito 3-Transferência	
2.8 Zona de Ocorrência: ☐ 1-Rural 2-Urbana 3-Periurbana 9-Ignorado	
2.9 Local da picada: ☐ 1-Cabeça 2-Braço 3-Perna 4-Tronco 5-Pescoço 6-Mão 7-Coxa 8-Antebraço 9-Pé 10-Dedo do pé 11 – Dedo da mão	
2.10 Lado do corpo afetado: ☐ 1-Direito 2-Esquerdo 3-Central	
2.11 Andou ou caminhou após acidente: ☐ 1-Não 2-Sim. Quanto tempo? ____ min.	
2.12 Acidente relacionado ao trabalho: ☐ 1-Não 2-Sim	
2.13. Circunstâncias do acidente: _____	
Viu o animal? _____ Nome atribuído ao animal: _____	

2.14. Houve acidente anterior: ☐ 1-Não 2-Sim. Quantos? _____ Data do último: ____/____/____ (mês/ano)											
3. Soroterapia – Classificação do Acidente ofídico											
3.1 Tipo do acidente: ☐ 1-Botrópico 2-Laquétrico 3-Não identificado											
3.2 Classificação do acidente: 1-Leve 2-Moderado 3-Grave Classificação do Acidente e Soroterapia (Ver quadro a seguir): (*antes de iniciar soroterapia coletar sangue). Botrópico <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 60%;"> Leve: quadro local discreto (edema local de até 2 segmentos), sangramento em pele ou mucosas; pode haver apenas distúrbio na coagulação. </td> <td style="width: 40%;"> Antiveneno: botrópico (SAB) 2 a 4 ampolas </td> </tr> <tr> <td> Moderado: edema (edema local de 3 a 4 segmentos) e equimose evidentes, sangramento sem comprometimento do estado geral; pode haver distúrbio na coagulação. </td> <td> Antiveneno: botrópico (SAB) 5 a 8 ampolas </td> </tr> <tr> <td> Grave: alterações locais intensas (edema local de 5 segmentos), hemorragia grave, hipotensão, anúria. </td> <td> Antiveneno: botrópico (SAB). 12 ampolas </td> </tr> </table> Laquétrico <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 60%;"> Moderado: quadro local presente (Idem botrópico), pode haver sangramentos, manifestações vagas leves (PA>80x40 mmHg e pulso acima de 50 bpm). </td> <td style="width: 40%;"> Antiveneno botrópico-laquétrico (SABL) 10 ampolas </td> </tr> <tr> <td> Grave: quadro local intenso (Idem botrópico), hemorragia intensa, com manifestações vagas (PA<80x40 mmHg e Pulso abaixo de 50 bpm). </td> <td> Antiveneno: botrópico-laquétrico (SABL) 20 ampolas </td> </tr> </table>		Leve: quadro local discreto (edema local de até 2 segmentos), sangramento em pele ou mucosas; pode haver apenas distúrbio na coagulação.	Antiveneno: botrópico (SAB) 2 a 4 ampolas	Moderado: edema (edema local de 3 a 4 segmentos) e equimose evidentes, sangramento sem comprometimento do estado geral; pode haver distúrbio na coagulação.	Antiveneno: botrópico (SAB) 5 a 8 ampolas	Grave: alterações locais intensas (edema local de 5 segmentos), hemorragia grave, hipotensão, anúria.	Antiveneno: botrópico (SAB). 12 ampolas	Moderado: quadro local presente (Idem botrópico), pode haver sangramentos, manifestações vagas leves (PA>80x40 mmHg e pulso acima de 50 bpm).	Antiveneno botrópico-laquétrico (SABL) 10 ampolas	Grave: quadro local intenso (Idem botrópico), hemorragia intensa, com manifestações vagas (PA<80x40 mmHg e Pulso abaixo de 50 bpm).	Antiveneno: botrópico-laquétrico (SABL) 20 ampolas
Leve: quadro local discreto (edema local de até 2 segmentos), sangramento em pele ou mucosas; pode haver apenas distúrbio na coagulação.	Antiveneno: botrópico (SAB) 2 a 4 ampolas										
Moderado: edema (edema local de 3 a 4 segmentos) e equimose evidentes, sangramento sem comprometimento do estado geral; pode haver distúrbio na coagulação.	Antiveneno: botrópico (SAB) 5 a 8 ampolas										
Grave: alterações locais intensas (edema local de 5 segmentos), hemorragia grave, hipotensão, anúria.	Antiveneno: botrópico (SAB). 12 ampolas										
Moderado: quadro local presente (Idem botrópico), pode haver sangramentos, manifestações vagas leves (PA>80x40 mmHg e pulso acima de 50 bpm).	Antiveneno botrópico-laquétrico (SABL) 10 ampolas										
Grave: quadro local intenso (Idem botrópico), hemorragia intensa, com manifestações vagas (PA<80x40 mmHg e Pulso abaixo de 50 bpm).	Antiveneno: botrópico-laquétrico (SABL) 20 ampolas										
3.3 Número de ampolas administradas: _____ Hora da Soroterapia: ____:____ Obs: _____											
3.4 Reação Adversa à Soroterapia (até 24 horas após infusão): ☐ 1-Não 2-Sim ☐ taquicardia ☐ taquipneia ☐ dispneia ☐ urticária ☐ náuseas ☐ vômitos ☐ hipotensão ☐ prurido ☐ choque ☐ broncoespasmo ☐ rouquidão e estridor laríngeo ☐ reação anafilática ☐ outra: _____											
3.5 Hora da Reação Adversa: ____:____											

4. Histórico:

4.1 Houve medicamentos orais/injetáveis anteriores a internação:
☐ 1-Não 2-Sim (Espec.): _____

4.2 Houve uso de produtos no local do acidente:
☐ 1-Não 2-Sim (Espec.): _____

4.3 Condutas adotadas após o acidente: ☐ 1-Não 2-Sim
☐ Torniquete/garrote ☐ Sucção Labial ☐ Outro: _____

T0 – ADMISSÃO DO PACIENTE

5. Dados clínicos do paciente

5.1 Data da avaliação: ____/____/____ **5.2 Hora:** ____:____

5.3 Pressão arterial: ____X____ mm Hg **5.4 Pulso** ____ por min

5.5 Temp. ____ °C **5.6 Freq. Resp.** ____ rpm

5.8 Doenças, Tratamentos ou Queixas concomitantes (comorbidades): ☐ 1-Não 2-Sim
☐ Doenças Hematológicas ☐ Uso de anticoncepcional
☐ Uso de anticoagulante ☐ Outro: _____

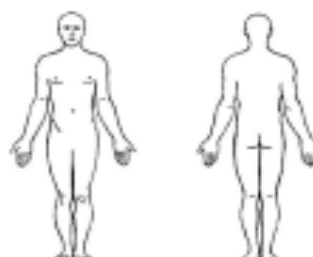
5.9 Manifestações Locais: ☐ 1-Não 2-Sim

5.9.1 Sangramento
☐ Sangramento no local da picada
☐ Equimose local evidente

5.9.2 Edema
☐ Leve - edema local de até 2 segmentos
☐ Moderado - edema local de 3 a 4 segmentos
☐ Grave - edema local de 5 segmentos

Circunferência da região acometida (cm):
 Lado direito: ____ cm Lado esquerdo: ____ cm região ímpar: ____ cm
 Extensão do edema: ____ cm

*marcar na figura o edema tanto no sentido distal quanto proximal do local da picada (marcar com P o local da picada)



5.9.3 Linfonodos: ☐ 1-Não 2-Sim Características: _____

5.9.4 Dor - classificação numérica na escala de 0 - 10 (Antes do uso de analgésico):

Valor: ☐ Ausente: 0; ☐ Leve: 1-3; ☐ Moderado: 4-7; ☐ Grave: 8-10

☐ Espontânea ☐ Ao toque ☐ Ao movimento

5.9.5. Tonalidade perilesional:

☐ Normal ☐ violácea ☐ vermelhidão ☐ necrótica

5.9.6 Características da Pele: 1-Não 2-Sim

☐ equimose ☐ bolhas ☐ secreção serosa ☐ somente a marca da presa

5.9.7.Temperatura: área acometida _____ °C área contralateral _____ °C

5.10 Manifestações Sistêmicas: 1-Não 2-Sim, marcar um X:

☐ Anúria ☐ Cefaleia ☐ Choque ☐ Cólicas abdominais ☐ Convulsão

☐ Diarreia ☐ Enterorragia (melena e hematoquesia) ☐ Epistaxe

☐ Equimose ☐ Gengivorragia ☐ Hematêmese ☐ Hematúria ☐ Petéquias

☐ Hemoptise ☐ Hemorragia conjuntival ☐ Hipermenorragia ☐ Náuseas

☐ Oligúria ☐ Otorragia ☐ Sudorese ☐ Vômito

☐ Outras: _____

5.11. Complicações locais e sistêmicas:

5.11.1. Infecção Secundária: ☐ 1-Não 2-Sim

Manifestações locais: ☐ Celulite ☐ Abscesso ☐ outro: _____

5.11.2. Síndrome Compartimental: ☐ 1-Não 2- Sim

5.11.3. Insuficiência Renal Aguda: ☐ 1-Não 2-Sim

5.11.4. Outros: _____

Tratamento instituído: _____

6. Dados da Serpente6.1 Trouxe a serpente: ☐ 1-Não 2-Sim**INFORMAÇÕES ABAIXO SERÃO INFORMADAS PELA GERÊNCIA DE ANIMAIS PEÇONHENTOS**6.2 Serpente envolvida: ☐ 1-*Bothrops* 2-*Lachesis* 3-Ignorado

3-Outro (Espec.): _____

6.3 Sexo da serpente: ☐ 1-Masculino 2-Feminino

6.4 Estágio ontogenético: _____ 6.5 Tamanho da serpente: _____cm

Tempo de coagulação: _____

Avaliador: _____

T12 – 12 HORAS APÓS O AV	
7. Dados clínicos do paciente	
7.1 Data da avaliação: ____/____/____ 7.2 Hora: ____:____	
7.3 Pressão arterial: ____X____ mm Hg 7.4 Pulso ____ por min	
7.5 Temp. ____ °C 7.6 Freq. Resp. ____ rpm	
QUEIXAS: _____	
7.7. Manifestações Locais: ☐ 1-Não 2-Sim	
7.7.1 Sangramento	
☐ Sangramento no local da picada	
☐ Equimose local evidente	
7.7.2 Edema	
☐ Leve - edema local de até 2 segmentos	
☐ Moderado - edema local de 3 a 4 segmentos	
☐ Grave - edema local de 5 segmentos	
Circunferência da região acometida (cm):	
Lado direito: ____ cm Lado esquerdo: ____ cm região ímpar: ____ cm	
Extensão do edema: ____ cm	
*marcar na figura o edema tanto no sentido distal quanto proximal do local da picada (marcar com P o local da picada)	
7.7.3 Linfonodos: ☐ 1-Não 2-Sim Características: _____	
7.7.4 Dor - classificação numérica na escala de 0 - 10 (Após o uso de analgésico):	
Valor: ☐ Ausente: 0; ☐ Leve: 1-3; ☐ Moderado: 4-7; ☐ Grave: 8-10	
☐ Espontânea ☐ Ao toque ☐ Ao movimento	
7.7.5. Tonalidade perilesional:	
☐ Normal ☐ violácea ☐ vermelhidão ☐ necrótica	
7.7.6 Características da Pele: 1-Não 2-Sim	
☐ equimose ☐ bolhas ☐ secreção serosa ☐ somente a marca da presa	
7.7.7.Temperatura: área acometida ____ °C área contralateral ____ °C	

7.8 Manifestações Sistêmicas: ☐ 1-Não 2-Sim, marcar um X:

☐ Anúria ☐ Cefaleia ☐ Choque ☐ Cólicas abdominais ☐ Convulsão
☐ Diarreia ☐ Enterorragia (melena e hematoquesia) ☐ Epistaxe
☐ Equimose ☐ Gengivorragia ☐ Hematêmese ☐ Hematúria ☐ Petéquias
☐ Hemoptise ☐ Hemorragia conjuntival ☐ Hipermenorragia ☐ Náuseas
☐ Oligúria ☐ Otorragia ☐ Diarreia ☐ Sudorese ☐ Vômito
☐ Outras: _____

7.9. Complicações locais e sistêmicas:

7.9.1. Infecção Secundária: ☐ 1-Não 2-Sim

Manifestações locais: ☐ Celulite ☐ Abscesso ☐ outro: _____

7.9.2. Síndrome Compartimental: ☐ 1-Não 2-Sim

7.9.3. Insuficiência Renal Aguda: ☐ 1-Não 2-Sim

7.9.4. Outros: _____

Tratamento instituído: _____

Tempo de coagulação: _____

Avaliador: _____

T24 – 24 HORAS APÓS O AV	
8. Dados clínicos do paciente	
8.1 Data da avaliação: ____/____/____	8.2 Hora: ____:____
8.3 Pressão arterial: ____X____ mm Hg	8.4 Pulso ____ por min
8.5.Temp. ____ °C	8.6 Freq. Resp. ____ rpm
QUEIXAS: _____	
8.7 Manifestações Locais: ☐ 1-Não 2-Sim	
8.7.1 Sangramento	
☐ Sangramento no local da picada	
☐ Equimose local evidente	
8.7.2 Edema	
☐ Leve - edema local de até 2 segmentos	
☐ Moderado - edema local de 3 a 4 segmentos	
☐ Grave - edema local de 5 segmentos	
Circunferência da região acometida (cm):	
Lado direito: _____ cm	Lado esquerdo: _____ cm região ímpar: _____ cm
Extensão do edema: _____ cm	
*marcar na figura o edema tanto no sentido distal quanto proximal do local da picada (marcar com P o local da picada)	
8.7.3 Linfonodos: ☐ 1-Não 2-Sim Características: _____	
8.7.4 Dor - classificação numérica na escala de 0 - 10 (Após o uso de analgésico):	
Valor: ☐ Ausente: 0; ☐ Leve: 1-3; ☐ Moderado: 4-7; ☐ Grave: 8-10	
☐ Espontânea ☐ Ao toque ☐ Ao movimento	
8.7.5. Tonalidade perilesional:	
☐ Normal ☐ violácea ☐ vermelhidão ☐ necrótica	
8.7.6 Características da Pele: 1-Não 2-Sim	
☐ equimose ☐ bolhas ☐ secreção serosa ☐ somente a marca da presa	
8.7.7.Temperatura: área acometida _____ °C área contralateral _____ °C	

13. APENDICE I – PROCEDIMENTO PARA DOSAGEM DE MARCADORES CARDÍACOS POR LUMINEX

MÉTODO

1. Antes de iniciar este ensaio, é imperativo ler o protocolo completamente e entender completamente as diretrizes técnicas permitir que todos os reagentes aqueçam até à temperatura ambiente (20-25) antes da utilização no ensaio diagrama a colocação de padrões 0 pg/ml padrão (fundo) padrões no. 1-7 controles 1 e 2, e amostras na planilha de mapa de poço em uma configuração vertical. (nota: a maioria dos instrumentos só lerá a placa de 96 poços verticalmente por padrão), recomenda-se executar o ensaio em duplicado. se utilizar uma placa de filtro, coloque a placa de filtro num suporte de placa em todos os momentos durante as etapas de distribuição e incubação do reagente para que o fundo da placa não toque em nenhuma superfície
2. Adicionar 100 microlitros de tampão de ensaio em cada alvéolo da placa. sele e misture em um agitador de pratos por 10 minutos à temperatura ambiente (20-25).
3. Decantar o tampão de ensaio e remover a quantidade residual de todos os poços, invertendo a placa e batendo-a inteligentemente em toalhas absorventes várias vezes
4. Adicionar 25 microlitros de matriz sérica (para amostras de soro e plasma) a cada padrão, poços de controle e de fundo. adicionar 25ml para tampão de ensaio a cada bem amostra. testa cultura de tecidos, utiliza o meio de cultura no local da matriz sérica
5. Adicionar 25 microlitros de padrão ou controle nos poços apropriados. tampão de ensaio deve ser usado para 0 pg/ml padrão (fundo)
6. Adicionar 25 microlitros de amostra aos poços apropriados
7. Frasco de mistura de vórtice e adicione 25ml das contas misturadas a cada poço. (nota: durante a adição de contas, agite o frasco de contas intermitentemente para evitar a decantação)

8. Sele a placa com um selador de placas. enrole a placa com papel alumínio e incube com agitação em um agitador de pratos durante a noite (16-18 horas) a 4°C
9. Remova suavemente o conteúdo do poço e lave a placa 3 vezes seguindo as instruções listadas na seção de lavagem da placa
10. Adicionar 50 microlitros de anticorpos de detecção em cada poço. (nota: permitir que os anticorpos de detecção aqueçam à temperatura ambiente antes da adição)
11. Selar, cobrir com e incubar com agitação em um agitador de placas por 1 hora à temperatura ambiente (20-25). não aspirar após a incubação.
12. Adicionar 50 microlitros de estreptavidina-ficoeritrina a cada poço contendo os 50µl de anticorpos de detecção.
13. Selar, cobrir com papel alumínio e incubar com agitação em um agitador de placa por 30 minutos à temperatura ambiente (20-25°C).
14. Remova suavemente o conteúdo do poço e lave a placa 3 vezes seguindo as instruções listadas na seção de lavagem da placa.
15. Adicione 100 microlitros de fluido de bainha mais (ou fluido de acionamento mais se estiver usando magpix) a todos os poços. ressuspeite as contas em um agitador de placa por 5 minutos
16. Placa de execução em luminex 200, hts, flexmap 3d, instrumento magpix com software xponent ou instrumento xmap intelliflex com software intelliflex
17. Guardar e analisar os dados da intensidade fluorescente mediana (mfi) utilizando um método logístico de ajuste da curva spline para calcular as concentrações de analitos em amostras (nota: para amostras diluídas, multiplique a concentração calculada pelo fator de diluição).

MATERIAL UTILIZADO:

- Amostras de soro (150 microlitros),
- Papel Alumínio,
- Equipamento (Luminex 200, HTS FLEXMAP 3D, MAGAPIX, instrumento with Xponent software),
- Almofada absorvente,

- Reservatório de reagente,
- Pipetas de 25 e 1000 (microlitros),
- Pipetas Multicanal de 25 a 200 (microlitros)
- Reagente (MAGPIX) Drive Fluid PLUS (Cat. No. 40-50030), Xmap Sheath Fluid PLUS (Cat. No. 40-50021), or Xmap Sheath Concentrate PLUS (Cat. No. 40-50023)
- Laboratory vortex mixer
- Sonicator (Brason Ultrasonic Cleaner Model B200 or equivalent)
- Titer plate shaker (VWR Microplate Shaker Cat No. 12620-926 or equivalent)