



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



**AVALIAÇÃO DAS ALTERAÇÕES NEUROLÓGICAS E COMPORTAMENTAIS
RESULTANTES DO ENVENENAMENTO POR *BOTHROPS ATROX* EM
CAMUNDONGOS**

LEANDRA DE ALMEIDA LOBO

MANAUS

2024



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



LEANDRA DE ALMEIDA LOBO

**AVALIAÇÃO DAS ALTERAÇÕES NEUROLÓGICAS E COMPORTAMENTAIS
RESULTANTES DO ENVENENAMENTO POR *Bothrops atrox* EM
CAMUNDONGOS**

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

Orientador: Prof. Dr. Wuelton Marcelo Monteiro

MANAUS

2024

Ficha Catalográfica

Elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

- L799a Lobo, Leandra de Almeida
Avaliação das alterações neurológicas e comportamentais
resultantes do envenenamento por *Bothrops atrox* em
camundongos / Leandra de Almeida Lobo. - 2024.
74 f. : il., color. ; 31 cm.
- Orientador(a): Wuelton Marcelo Monteiro.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Amazonas,
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Manaus,
2024.
1. Ofidismo. 2. *Bothrops atrox*. 3. Neurodegeneração. 4.
Hipocampo. I. Monteiro, Wuelton Marcelo. II. Universidade Federal
do Amazonas. Programa de Pós-Graduação em Ciências
Farmacêuticas. III. Título
-

**AVALIAÇÃO DAS ALTERAÇÕES NEUROLÓGICAS E
COMPORTAMENTAIS RESULTANTES DO ENVENENAMENTO POR
Bothrops atrox EM CAMUNDONGOS**

DISCENTE: LEANDRA DE ALMEIDA LOBO

PARECER:

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

Manaus, AM, 30 de setembro de 2024.



Documento assinado digitalmente

PATRICIA DANIELLE OLIVEIRA DE ALMEIDA

Data: 20/02/2026 13:45:21-0300

Verifique em <https://validar.it.gov.br>

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

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

Profº. Drº. Wuelton Marcelo Monteiro

UEA/FMT-HVD

Documento assinado digitalmente



CAMILA FABBRI

Data: 18/11/2025 11:17:32-0300

Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Profª Drª Camila Fabbri

FIOCRUZ/AM

Documento assinado digitalmente



ERICA DA SILVA CARVALHO

Data: 18/11/2025 16:08:01-0300

Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Profª Drª Erica da Silva Carvalho

Universidade do Estado do Amazonas

RESUMO

O acidente ofídico representa um grave problema de saúde pública no Brasil, com implicações significativas para a saúde da população, especialmente em regiões endêmicas, devido à sua elevada incidência, graves consequências clínicas e gastos públicos decorrentes de hospitalização ou aposentadorias por invalidez. Casos decorrentes de envenenamento por *Bothrops atrox* relatados na literatura, quando não fatais, podem cursar com sequelas altamente debilitantes, inclusive no sistema nervoso central (SNC), desencadeados pelo impacto direto ou indireto do veneno nas funções cerebrais. Nesse contexto, o hipocampo desempenha um papel muito importante, uma vez que está envolvido na formação de memória e no processamento cognitivo. Este estudo teve como objetivo avaliar as alterações neurológicas e comportamentais induzidas pela administração da peçonha de *Bothrops atrox* em camundongos, buscando elucidar os efeitos neurotóxicos e as possíveis repercussões no comportamento desses animais. Foram utilizados camundongos da linhagem albina (Balb/C) machos e fêmeas, divididos em grupos que receberam diferentes doses do veneno de *Bothrops atrox* (Vba) (10µg, 30 µg e 70 µg) e avaliados em tempos distintos (24 horas, 72 horas e 7 dias). Para avaliar o comprometimento da função cerebral e as possíveis alterações morfológicas, foi aplicado o teste Score de Severidade Neurológica (SSN) seguido da análise histológica dos encéfalos. O resultado do teste do SSN mostrou que o desempenho dos animais foi pior nas primeiras 24 horas após a administração do veneno quando comparado aos demais grupos de tempos diferentes, 72 horas e 7 dias, sugerindo que, apesar de variáveis, essas alterações decorrentes do envenenamento prejudicam o perfil funcional cerebral. Os achados histológicos mostraram edema, vacuolização tissular e evidências de neurodegeneração, indicando alterações significativas na morfologia cerebral em decorrência da exposição ao veneno. Tais achados reforçam a necessidade de uma investigação mais detalhada sobre os efeitos diretos ou indiretos do veneno de *Bothrops atrox* no SNC, em relação aos mecanismos fisiopatológicos envolvidos e impactos clínicos dos mesmos.

Palavras-chave: Ofidismo; *Bothrops atrox*; Neurodegeneração; Hipocampo.

ABSTRACT

The snakebite accident represents a serious public health issue in Brazil, with significant implications for the population's health, particularly in endemic regions, due to its high incidence, severe clinical consequences, and public spending resulting from hospitalization or disability pensions. Cases of poisoning by *Bothrops atrox* reported in the literature, when not fatal, may result in highly debilitating sequelae, including those in the central nervous system (CNS), triggered by the direct or indirect impact of the venom on brain functions. In this context, the hippocampus plays a very important role, as it is involved in memory formation and cognitive processing. This study aimed to evaluate the neurological and behavioral changes induced by the administration of *Bothrops atrox* venom in mice, seeking to elucidate the neurotoxic effects and the possible repercussions on the behavior of these animals. Male and female albino mice (Balb/C strain) were used, divided into groups that received different doses of *Bothrops atrox* venom (Vba) (10 µg, 30 µg, and 70 µg) and evaluated at different times (24 hours, 72 hours, and 7 days). To assess the impairment of brain function and possible morphological changes, the Neurological Severity Score (NSS) test was applied, followed by histological analysis of the brains. The NSS test results showed that the animals performed worse in the first 24 hours after venom administration when compared to the other groups at different times (72 hours and 7 days), suggesting that, although variable, these changes resulting from poisoning impair the functional brain profile. Histological findings showed edema, tissue vacuolization, and evidence of neurodegeneration, indicating significant changes in brain morphology due to exposure to the venom. These findings reinforce the need for a more detailed investigation of the direct or indirect effects of *Bothrops atrox* venom on the CNS, in relation to the pathophysiological mechanisms involved and their clinical impacts.

Keywords: Snakebite; *Bothrops atrox*; Neurodegeneration; Hippocampus.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Distribuição geográfica da incidência de acidentes ofídicos no Brasil (2007 - 2012).....	13
Figura 2- Distribuição geográfica dos índices de envenenamento e óbito por acidente ofídico.	Erro! Indicador não definido. 7
Figura 3- Acidentes com serpentes no Brasil no período de 2020 a 2022. Fonte: Ministério da Saúde (2024).	199
Figura 4- <i>Bothrops atrox</i>	23
Figura 5- Dentição solenóglifa.....	23
Figura 6- Proporção de presas encontradas na dieta de espécimes de <i>B. atrox</i> da região de Manaus.	Erro! Indicador não definido. 4
Figura 7- Manifestações locais e complicações após acidente botrópico	Erro! Indicador não definido. 32
Figura 8- Classificação quanto a gravidade dos acidentes botrópicos.	3333
Figura 9- Teoria das vias aminérgicas na depressão pós-AVEH.....	4242
Figura 10- Condições de alojamento de animais.....	47
Figura 11- Distribuição de doses de veneno x tempo.....	49
Figura 12- Beam Walking Test. Aparato de avaliação do comportamento motor em lesões neurológicas	50
Figura 13- Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da Universidade Federal do Amazonas (UFAM).....	51
Figura 14- Processamento das amostras para análise histológica.	52
Figura 15- Bateria de desidratação.	52
Figura 16- Procedimento histológico	53
Figura 17- Representação do hipocambo	54
Figura 18- Score de alterações neurológicas	55

Figura 19- Seções representativas cortes histológicos de cérebros de camundongos tratados com solução salina (Cont) ou Vba (10, 30 ou 70µg/animal i.p.) avaliados 24 e 72h.....	56
---	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Acidentes ofídicos nos estados da região Norte entre 2020 e 2022. ... **Erro! Indicador não definido.**

Tabela 2- Frequência de acidentes ofídicos no Amazonas por gênero de serpente, entre 2010 e 2020. 21

Tabela 3- Fosfolipases A2 isoladas e caracterizadas do veneno de *Bothrops atrox*.....27

Tabela 4- Metaloproteinases isoladas do veneno de *B. atrox*. 29

Tabela 5- Serinoproteases presentes no veneno de *Bothrops atrox*. 31

Tabela 6- Score de severidade neurológica após a administração do veneno de *B. atrox* em camundongos.....50

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AVE	Acidente Vascular Encefálico
AVEH	Acidente Vascular Encefálico Hemorrágico
BDNF	Brain-Derived Neurotrophic Factor
BSA	Bovine Serum Albumin
CEUAs	Comissão de Ética no Uso de Animais
CONCEA	Conselho Nacional de Experimentação Animal
HE	Hematoxilina – eosina
IBAMA	Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis
IDO	Indoleamina 2,3-dioxigenase
IL-1 β	Interleucina 1-beta
IL-6	Interleucina 6
INPA	Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia
LCE	Labirinto em Cruz Elevado
MAPK	Mitogen-activated protein kinase
MUSA	Museu da Amazônia
OMS	Organização Mundial da Saúde
PVDF	Polyvinylidene Difluoride
SINAN	Sistema de Informação de Agravos de Notificação
SISBIO	Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade
SSN	Score de Severidade Neurológica
SVMPs	Snake Venom Metalloproteinases
SVSPs	Snake Venom Serine Proteinases

TBST	Tris-buffered saline with 0.1% Tween
TEPT	Transtorno de estresse pós-traumático
TLR	Toll-like receptors
TMB	Teste do Marble Burying
TNF- α	Fator de necrose tumoral alfa
TRKb	Tropomyosin receptor kinase B
TSC	Teste de Suspensão pela Cauda
UFAM	Universidade Federal do Amazonas
VBA	Veneno de <i>Bothrops atrox</i>
WHODAS	World Health Organization Disability Assessment
5-HT	5-hidroxitriptamina

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	12
1 REFERENCIAL TEÓRICO	16
1.1 Ofidismo	16
1.2 Epidemiologia	17
1.3 <i>Bothrops atrox</i>	22
1.4 <i>Composição do veneno botrópico</i>	25
1.4.1 Fosfolipases A2	26
1.4.2 Metaloproteinases	28
1.4.3 Serinoproteases	30
1.5 Ações do veneno: efeitos locais e sistêmicos	31
1.6 Dano neurológico	34
1.6.1 Acidente vascular encefálico	34
1.6.2 Resposta inflamatória após AVE	36
1.7 Alteração comportamental	38
1.7.1 Estruturas cerebrais envolvidas	40
1.7.2 Depressão, ansiedade e déficits cognitivos	41
1.8 Modelos Animais em Neuropsicopatologia	43
2 JUSTIFICATIVA	44
3 OBJETIVOS	46
3.1 Objetivo geral	46
3.2 Objetivos específicos	46
4 METODOLOGIA	47
4.1 Animais	47
4.2 Veneno de <i>Bothrops atrox</i>	47
4.3 Procedimentos experimentais	48
4.3.1 Score de severidade neurológica (SSN)	49
4.3.2 Processamento Histológico	51
4.3.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA	54
5 RESULTADOS	55

5.1	Score de Severidade Neurológica	55
5.2	Avaliação histopatológica do cérebro de camundongos	56
6	DISCUSSÃO	57
7	CONCLUSÃO	61
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	62

INTRODUÇÃO

Mundialmente, o acidente ofídico é considerado um relevante problema de saúde pública. Por ano, é estimado mais de 1,8 milhão de acidentes envolvendo serpentes e mais de 90.000 pessoas vão a óbito em consequência do envenenamento por espécies peçonhentas (DE OLIVEIRA *et al.*, 2017). Os países tropicais são os que apresentam as maiores frequências de casos ocasionando, conseqüentemente, o aumento da taxa de morbimortalidade na região. Devido ao grande contingente de indivíduos atingidos anualmente e diante da gravidade dos casos, no ano de 2009 os acidentes ofídicos foram inseridos na lista de doenças tropicais negligenciadas pela Organização Mundial de Saúde (OMS), representando a importância deste agravo à saúde coletiva assim como seu impacto direto no perfil socioeconômico local (BHAUMIK; JAGADESH; LASSI, 2018).

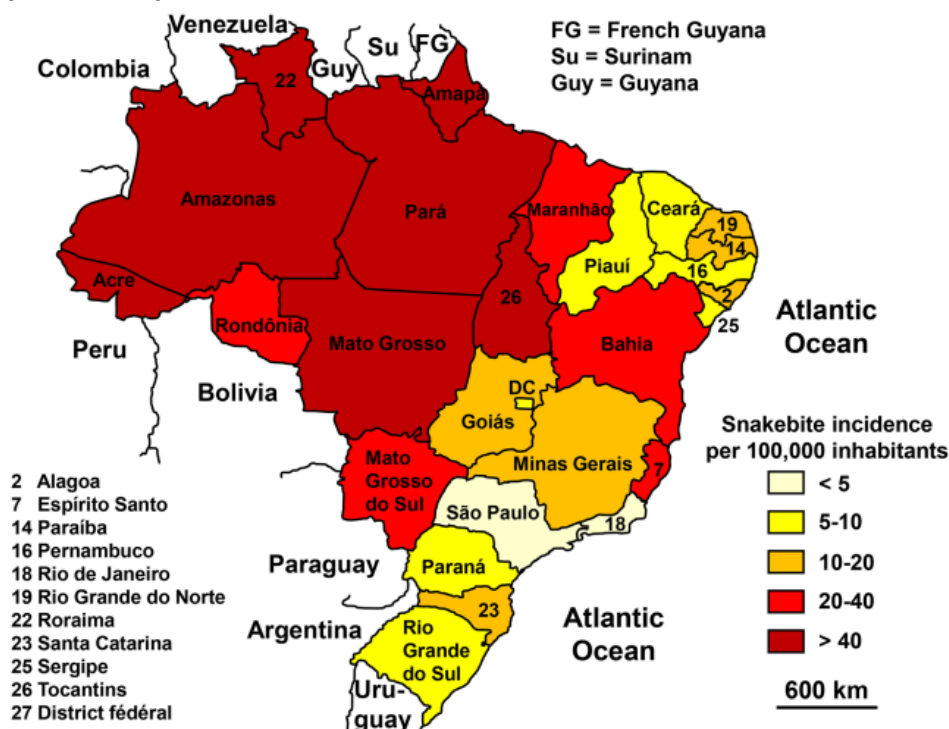
Na América Latina a incidência média é de aproximadamente 57.500 acidentes ofídicos ao ano (6,34 por 100.000 habitantes), resultando em cerca de 370 mortes/ano (0.037 por 100.000 habitantes), com taxa de letalidade abaixo de 0,6%, estes dados se distribuem de forma distinta entre os países intertropicais. No Brasil, a incidência foi de 27.400 casos anuais e destes 115 vieram a óbito (CHIPPAUX, 2017). Ainda de acordo com Chippaux (2017), a distribuição geográfica dos acidentes ofídicos se mostrou predominante na região Norte do país, especialmente na região Amazônica, onde há a maior incidência de envenenamento ofídico no Brasil, com registros de 52,8 casos/ 100.000 habitantes e taxa de letalidade de 0,6% (Figura 1) (FEITOSA *et al.*, 2015).

De acordo com os dados do Ministério da Saúde, entre 2019 e 2021 foram notificados 62.523 casos de acidentes ofídicos em toda região Norte, desse total, 25.192 ocorreram no estado do Pará (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2023).

São duas as principais famílias responsáveis pelos acidentes ofídicos nas Américas: *Viperidae*, que engloba os gêneros *Crotalus* spp., *Bothrops* spp. e *Agkistrodon* spp e a *Elapidae* spp., deste último grupo como principal representante o gênero *Micrurus* spp., responsável por menos de 1% das notificações (SIMPSON; NORRIS, 2009). O gênero *Bothrops* spp. é o responsável pela maioria dos casos em

tudo o território brasileiro, sendo a espécie *Bothrops atrox* envolvida em 90% dos casos (HUI WEN *et al.*, 2015).

Figura 1 - Distribuição geográfica da incidência de acidentes ofídicos no Brasil (2007 - 2012)



Fonte: Adaptado de Chippaux J-P (2017).

Bothrops atrox é a espécie de serpente venenosa mais abundante e a principal responsável pelos envenenamentos na Amazônia. Habitam principalmente áreas de florestas, embora possam ser encontradas ocasionalmente em habitats alterados pelo homem, como áreas desmatadas (pastagens e lavouras) e em ambientes urbanos (PARDAL *et al.*, 2004).

Bioquimicamente, os venenos de serpentes são complexas misturas farmacologicamente ativas de proteínas, enzimas, peptídeos, citotoxinas coagulantes e neurotoxinas que são altamente tóxicas, exibindo efeitos potentes, letais e debilitantes em sistemas vivos (AL-MAMUN *et al.*, 2015; KANG *et al.*, 2011).

São três as principais atividades fisiopatológicas ocasionadas pelo veneno de *B. atrox*: ação coagulante, hemorrágica e proteolítica ou inflamatória (ALVES *et al.*, 2019). A ação anticoagulante se dá pela atividade dos componentes do veneno semelhante à trombina (hidrolisando diretamente o fibrinogênio em fibrina) e pela atividade pró-coagulante, ativando os fatores II e X da coagulação resultando na

formação de trombina endógena (LÓPEZ-LOZANO *et al.*, 2002). A atividade hemorrágica ocorre pela atuação das metaloproteinases que possuem ação fibrinolítica e trombolítica induzindo o sangramento pela digestão de componentes da matriz extracelular (JACOB-FERREIRA *et al.*, 2016). Juntamente com enzimas pró-coagulantes e hemorrágicas, as Fosfolipases A2 (PLA2s) do veneno de *B. atrox* também contribuem para o dano tecidual local devido à sua atividade miotóxica, causando lise de células musculares e liberando proteínas intracelulares que aumentam o estado pró-inflamatório dos tecidos próximos à picada (MONTEIRO *et al.*, 2020).

As manifestações clínicas após o acidente botrópico são comumente caracterizadas por intenso processo inflamatório local, incluindo intensa dor acompanhada de edema, eritema, equimoses e efeitos do dano tecidual no local da picada como necrose, inflamação e ocasionalmente bolhas nas proximidades da ferida (ALVES *et al.*, 2019; OLIVEIRA *et al.*, 2019a), assim como complexas reações sistêmicas, sendo a incoagulabilidade sanguínea a desordem hemostática mais comum em envenenamentos botrópicos, seguida por hemorragia sistêmica e trombocitopenia (ALVES *et al.*, 2019; PARDAL *et al.*, 2004).

Devido a potente atividade hemotóxica do veneno de *B. atrox* os quadros hemorrágicos precipitados incluem hemorragias em feridas previamente cicatrizadas ou no local de punção venosa, sangramento gengival, expectoração de sangue pelos pulmões, vômitos de sangue e macro hematúria (PARDAL *et al.*, 2004). Os quadros mais graves e letais associados a sangramento sistêmico são desencadeados por acidente vascular encefálico hemorrágico (AVEH) (DELGADO *et al.*, 2017; MACHADO *et al.*, 2010; PÉREZ-GÓMEZ *et al.*, 2019; SILVA DE OLIVEIRA *et al.*, 2017).

Os casos de AVEH decorrentes de envenenamento por *B. atrox* relatados na literatura, quando não fatais, cursam com sequelas neurológicas debilitantes (PÉREZ-GÓMEZ *et al.*, 2019). Os sinais e sintomas observados agudamente são: depressão do nível de consciência, presença de convulsões, hemiparesia e paralisia dos nervos cranianos (PÉREZ-GÓMEZ *et al.*, 2019; SACHETT *et al.*, 2020a).

A ocorrência de AVEH, aliada aos danos irreversíveis causados aos neurônios resulta comumente em alterações secundárias neurológicas, cognitivas e

comportamentais (MACDONALD; SCHWEIZER, 2017). Alterações de humor são comuns após AVEH sendo a depressão uma das mais frequentes comorbidades psiquiátricas (WU *et al.*, 2018). O quadro de depressão após AVEH está associado ao prejuízo na recuperação funcional, física e cognitiva do paciente, o que resulta em perda na qualidade de vida, além do aumento da morbidade e mortalidade (LENZI; ALTIERI; MAESTRINI, 2008).

O mecanismo de morte neuronal após um AVEH ainda não foi completamente esclarecido, entretanto, dados da literatura mostram o envolvimento de alguns fatores como toxicidade sanguínea, excitotoxicidade glutamatérgica e aprisionamento neuronal na matriz do hematoma (KEEP; HUA; XI, 2012). A resposta inflamatória que acontece após uma hemorragia encefálica e que está envolvida na progressão dos quadros de AVEH inclui ativação microglial, influxo de leucócitos no cérebro e produção de citocinas pró-inflamatórias, que favorecem a morte neuronal e deterioração estrutural (RAHMAN *et al.*, 2020; WANG, 2010).

Dados da literatura mostram que a ocorrência do acidente ofídico está relacionada a alterações neurológicas e comportamentais relevantes, que prejudicam a recuperação e retorno às atividades cotidianas (WAIDDYANATHA *et al.*, 2019). As consequências neurológicas relatadas incluem efeitos secundários decorrentes de eventos isquêmicos ou hemorrágicos, cegueira, perda de olfato e paladar e hipopituitarismo (WAIDDYANATHA *et al.*, 2019). Já as consequências psicológicas e comportamentais a longo-prazo incluem sintomas de depressão, ansiedade, estresse pós-traumático e somatização (manifestação física de alterações psiquiátricas (WAIDDYANATHA *et al.*, 2019).

Esses efeitos manifestados a longo-prazo comprometem a qualidade de vida dos sobreviventes, todavia, a maioria dos atendimentos clínicos por envenenamento é realizada agudamente e os pacientes não são acompanhados após a alta hospitalar. Devido a essa falta de acompanhamento crônico das vítimas de envenenamento, os efeitos a longo-prazo ainda são pouco investigados, assim como os possíveis mecanismos envolvidos nesse processo (WAIDDYANATHA *et al.*, 2019).

1 REFERENCIAL TEÓRICO

*O ofidismo é a maior crise de saúde pública
que você provavelmente nunca ouviu falar.*

Kofi Annan

1.1 Ofidismo

O envenenamento por picada de serpente é um importante problema de saúde pública de significativo e complexo impacto que necessita de maior interesse e atenção das autoridades de saúde, tanto do âmbito regional quanto nacional (GUTIÉRREZ *et al.*, 2010).

Acidentes envolvendo serpentes peçonhentas caracterizam-se pelo envenenamento produzido pela ação das toxinas inoculadas pelas presas do animal podendo desencadear manifestações locais a alterações sistêmicas que muitas das vezes evoluem para um quadro mais grave, necessitando de rápidas intervenções e acompanhamento posterior (GUTIÉRREZ *et al.*, 2017).

Considerado como uma doença ambiental e ocupacional que afeta cerca de 2.7 milhões de pessoas a cada ano, principalmente trabalhadores rurais e seus familiares, o ofidismo ocorre em maior parte nas comunidades mais remotas, pobremente desenvolvidas e politicamente marginalizadas de países em desenvolvimento como África, Ásia e América Latina (OMS, 2007).

Afetando, quase que exclusivamente, uma população pobre, de áreas rurais, baixa renda, sem voz e poder político, o ofidismo se emoldurou em um cenário negligenciado, a partir disso a Organização Mundial da Saúde (OMS) incorporou o envenenamento por picadas de cobras na lista de doenças tropicais negligenciadas (CHIPPAUX, 2017). No entanto, o acervo de dados disponível possui escassas e imprecisas informações implicando diretamente na real incidência de casos (WARRELL & WILLIAMS, 2023).

A exata ocorrência de casos de envenenamento é evidentemente difícil de avaliar seja pelos dados insuficientes ou não representativos de prevalência para uma determinada região. Poucos são os dados confiáveis disponíveis que retratam a situação das zonas rurais, onde os acidentes com serpentes ocorrem comumente, já os dados de fonte mais segura e melhores fundamentados são limitados a países

desenvolvidos principalmente, onde os casos são mais raros (KASTURIRATNE *et al.*, 2008).

Particularmente nos países da América Central e do Sul essa falta de informações está relacionada principalmente por serem oriundas da literatura desses países, tornando-os incompletos e parciais (CHIPPAUX, 2017; KNUDSEN *et al.*, 2021).

1.2 Epidemiologia

Amplamente citadas, as estimativas anunciadas pela OMS demonstram que ocorrem aproximadamente 5.4 milhões de acidentes com serpentes anualmente. Destes, 1.8 – 2.7 milhões são casos de envenenamento, enquanto cerca de 400.000 pessoas sofrem com sequelas permanentes 81.000 a 138.000 vão a óbito devido complicações clínicas (HUANG & HSIEH, 2020; KNUDSEN *et al.*, 2021).

Figura 2 - Distribuição geográfica dos índices de envenenamento e óbito por acidente ofídico



Fonte: A autora (2024).

Somente na África Subsaariana estima-se que ocorram, anualmente, cerca de 435.000 a 580.000 envenenamentos, levando a óbito 20.000-32.000 indivíduos

(CHIPPAUX, 2011). Na Ásia concentra-se o maior índice de envenenamentos, 1,2-2,0 milhões de casos, com aproximadamente 100.000 mortes e a América Latina com 137.000-150.000, registrando 3.400-5.000 óbitos a cada ano (Figura 2) (GUTIÉRREZ *et al.*, 2017; KASTURIRATNE *et al.*, 2008).

Do levantamento mundial de óbitos ao menos 46.000 dos casos ocorreram apenas na Índia (MOHAPATRA *et al.*, 2011). A estimativa de mortalidade na África Subsaariana é de 7.000 a 32.000 mortes por ano, porém os dados tendem a ser subestimados dado que só na África Ocidental a mesma taxa foi estimada em 3.557 a 5.450 mortes (CHIPPAUX, 2011; GUTIÉRREZ *et al.*, 2017; HABIB *et al.*, 2015). No continente asiático a taxa de mortalidade anual ultrapassa 66.000 casos, incluindo 58.000 mortes na Índia, 6.000 em Bangladesh e mais de 400 no Sri Lanka (WARRELL & WILLIAMS, 2023).

Chippaux (2011) e Kasturiratne (2008) afirmam que o acidente envolvendo serpentes peçonhentas é uma questão de saúde pública relevante principalmente na América Intertropical, onde notava-se escassez de dados particularmente nos países da América Central e Sul. Como consequência, organizações de saúde passaram a implementar estratégias para melhoria do sistema de vigilância epidemiológica a níveis regionais e nacionais, com o intuito de obter um cenário real do impacto deste problema de saúde na população. Desta forma, somente a partir dos anos 2000 a maioria dos países Latino-Americanos tornaram obrigatória a notificação de acidentes ofídicos (GUTIÉRREZ *et al.*, 2007, 2009).

Na perspectiva global, o Brasil é o terceiro país com a maior incidência de ofidismo já registrado ficando atrás de países como Índia e Sri Lanka, apenas (KASTURIRATNE *et al.*, 2008).

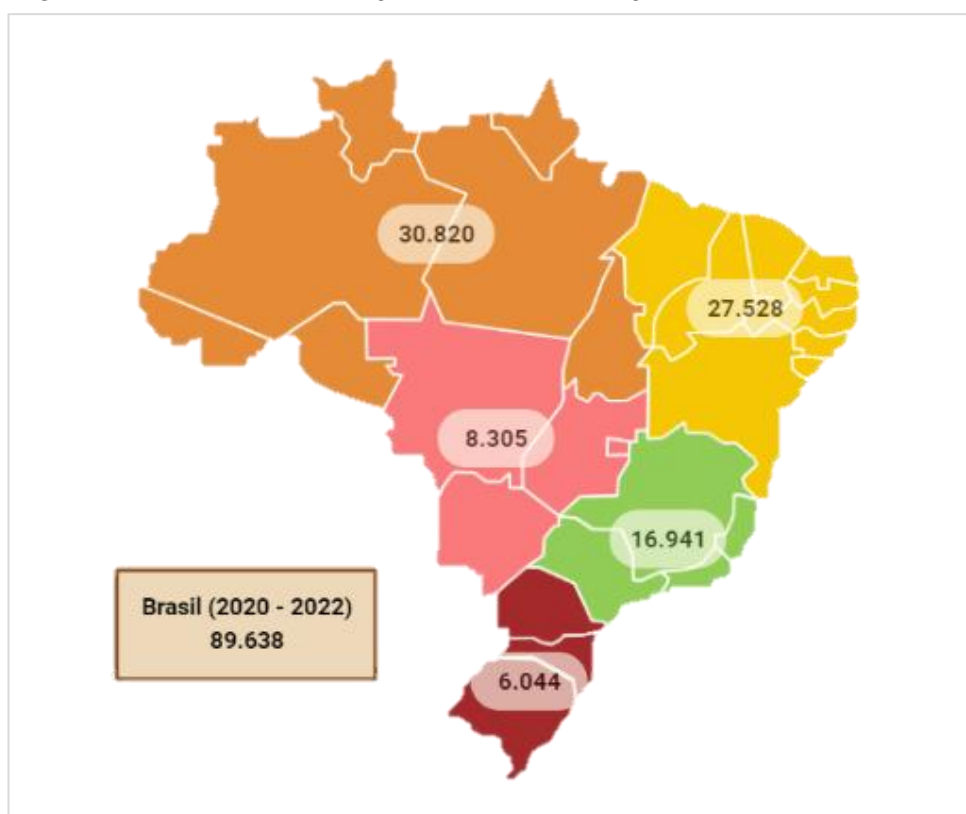
De acordo com o levantamento epidemiológico realizado no bioma brasileiro, no ano de 2001 foram notificados 18.743 casos de envenenamentos por serpentes, correspondendo a uma incidência de 10,7 casos por 100.000 habitantes, enquanto em 2013 com 28.000 casos registrados, a incidência foi de 14,3 (CHIPPAUX, 2015).

Dados disponíveis no Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN) apontam que no Brasil, de 2020 a 2022 ocorreram 89.638 acidentes envolvendo serpentes, com a média anual de aproximadamente 30.000 notificação ao ano. No entanto, há uma expressiva variação de dados entre as regiões.

O norte do país apresenta a maior ocorrência de casos em relação às demais regiões e esse cenário é agravado pelas dificuldades de comunicação e acesso aos serviços de atendimento hospitalar devido a configuração geográfica do estado e, muitas das vezes, pela necessidade de mais um tipo de meio de transporte para locomoção da vítima (BORGES; SADAHIRO; SANTOS, 1999).

Em conjunto, os estados da região norte reportam o maior número de casos com cerca de 31.000 notificações, em seguida o nordeste com 27.528 casos, sudeste registrando 16.941 e regiões do centro-oeste e sul com 8.305 e 6.044, respectivamente (Figura 3) (BRASIL, 2023).

Figura 3 - Acidentes com serpentes no Brasil no período de 2020 a 2022



Fonte: Ministério da Saúde (2024).

No período de 2020 a 2022, o Pará ocupou a primeira posição dentre as demais unidades federativas com o maior número de notificações de acidentes ofídicos, contabilizando 16.540 acidentes com serpentes peçonhentas. Em seguida, o estado do Amazonas com 9.260 acidentes por animais peçonhentos, destes, 6.144 com serpentes. O estado com menor incidência de casos foi o Amapá, com 1.333 casos documentados (Tabela 1) (SINAN, 2023).

Tabela 1- Acidentes ofídicos nos estados da região Norte entre 2020 e 2022

Ano	Acre	Amapá	Amazonas	Pará	Rondônia	Roraima	Tocantins
2020	445	459	2.140	5.431	656	407	909
2021	451	468	2.110	5.693	555	445	682
2022	444	406	1.894	5.416	466	497	637
Total	1.340	1.333	6.144	16.540	1.677	1.349	2.228

Fonte: Ministério da Saúde/SINAN – Sistema de Informação de Agravos de Notificações (2024).

Nestas regiões, as áreas rurais são as mais afetadas. Os acidentes ocorrem de forma sazonal variável, o pico de incidência se relaciona com épocas de colheita e de chuvas, pois com o aumento do nível do rio, as serpentes são impelidas a buscar abrigos mais próximos das áreas habitadas por seres humanos ((CHIPPAUX, 2015; SÉRGIO *et al.*, 2012).

Os indivíduos que fazem parte dos grupos de risco para acidentes ofídicos são principalmente adultos, do sexo masculino, com idade entre 15 e 49 anos, que vivem em zonas rurais ou que trabalham com atividade florestais, como agricultura, pesca, caça, atividades extrativas, dentre outros. São populações de risco também, indígenas e indivíduos que não possuem acesso adequado aos sistemas de educação e saúde (FEITOSA *et al.*, 2015; HARRISON *et al.*, 2009).

No Brasil, as notificações são de caráter obrigatório e encaminhadas pelas secretarias estaduais ao Ministério da saúde. O registro e o processamentos desses dados são feitos pelo Sistema de Informações de Agravos de Notificação (SINAN), sua base dispõe de múltiplas informações que possibilitam a elaboração do perfil epidemiológico de uma dada região, seja em escala municipal, estadual e federal (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2008).

Apesar do SINAN ser a melhor fonte de dados para o levantamento epidemiológico do panorama ofídico do país, existem algumas falhas no sistema que levam a subnotificações de casos, da parte do setor público de atendimento (gerando registros com informações insuficientes) resultando na perda de informações cruciais para melhor conhecimento do cenário mundial do ofidismo como um expressivo

problema de saúde pública (BERNARDE, 2014). Além disso, alguns casos são desconhecidos e não notificados pela sua ocorrência em áreas remotas que não possuem atendimento hospitalar e a comunidade acaba adotando medidas domésticas (CÂMARA et al., 2020).

Existem duas grandes famílias de serpentes responsáveis pelos envenenamentos nas Américas: Viperidae, que compreende gêneros como *Crotalus spp.* e *Bothrops sp.*; e Elapidae, tendo *Micrurus spp.* como principal gênero deste grupo (CAMPBELL, 2004).

Os gêneros de serpentes peçonhentas de interesse médico no Brasil são: *Bothrops spp.*, *Crotalus spp.*, *Lachesis spp.*, *Micrurus spp.* e *Leptomicrurus spp.* *Bothrops spp.* é responsável por 86,9% dos envenenamentos no país, seguido por *Crotalus spp.* (8,7%), *Lachesis spp.* (3,6%) e 0,8% dos acidentes são causados pelo gênero *Micrurus spp.* e *Leptomicrurus spp.* (DE OLIVEIRA et al., 2013; MAGALHÃES; BALTAR; RANDAU, 2020).

Estudos relatam que a maioria dos casos registrados na Amazônia está relacionada a acidentes botrópicos, sendo a serpente *Bothrops atrox* a mais envolvida representando cerca de 90% dos acidentes ofídicos na região (FEITOSA et al., 2015). Dados contidos no SINAN revelam que, entre 2010 e 2020, foram notificados 16.868 casos de acidente ofídico no Amazonas, sendo 13.501 causados por *Bothrops atrox* (Tabela 2).

Tabela 2- Frequência de acidentes ofídicos no Amazonas por gênero de serpente, entre 2010 e 2020

Gênero	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020
<i>Bothrops</i>	983	942	1.043	1.178	1.147	1.014	1.087	1.275	1.460	1.668	1.704
<i>Crotalus</i>	3	2	12	7	6	2	13	1	8	6	9
<i>Micrurus</i>	9	7	4	10	8	10	9	6	7	9	3
<i>Lachesis</i>	339	303	316	374	334	332	234	209	256	282	237

Fonte: Ministério da Saúde/SINAN – Sistema de Informação de Agravos de Notificações (2024).

Segundo a mesma base de dados, nos últimos dois anos o cenário se mantém, com predominância do gênero *Bothrops* sp. entre os acidentes notificados, com registros de 1.862 casos em 2021 e 1.609, 2022 (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2023).

1.3 *Bothrops atrox*

Atualmente, cerca de 4.000 espécies de serpentes peçonhentas são reconhecidamente catalogadas, sendo 389 da família Elapidae e 374, Viperidae. No Brasil, existem aproximadamente 430 serpentes, distribuídas em mais de 70 espécies (NOGUEIRA, 2019). Estas são as duas famílias responsáveis pela maioria dos envenenamentos por picada de cobra, sendo consideradas de importância médica por provocarem acidentes graves (WARRELL & WILLIAMS, 2023; MELGAREJO, 2003).

É significativa a diversidade de serpentes do gênero *Bothrops* São mais de 30 espécies distribuídas do sul do México até o Brasil (WHO, 2017). Abundantes em todo bioma brasileiro, com ampla distribuição geográfica, exibem uma notável colonização da maior parte do território sul-americano ((DIAS DA SILVA *et al.*, 2022; SCHOCH *et al.*, 2020).

De acordo com Nogueira (2019) com base em sua atual taxonomia, *B. atrox* é principalmente endêmica na região Amazônica. Mas também é encontrada em algumas regiões da Colômbia, Venezuela, Equador e demais territórios adjacentes.

Conhecida popularmente como jararaca, boca-podre ou surucucu-do-barranco, *B. atrox* possui facilidade de adaptação. A espécie habita predominantemente áreas de florestas, porém, podem ser encontradas em habitats perturbados pelo homem, ambientes de pastagens, cultivos e áreas urbanas (BERNARDE, 2014; CAMPBELL, 2004).

São serpentes que possuem fosseta loreal e a cauda lisa, de cores variadas e suas escamas foram triângulos invertidos em diferentes padrões, característico da espécie (PAIVA, 2020). O tamanho de uma serpente adulta pode variar entre 537 mm a 1532 mm, sendo que os machos atingem sua maturidade com tamanho menor comparado às fêmeas (OLIVEIRA *et al.*, 2019).

As espécies são ativas durante o período noturno, momento em que caçam suas presas. No entanto, por serem ectodérmicos, com temperaturas mais elevadas

durante o dia, os processos biológicos das serpentes (locomoção, digestão, produção de células reprodutivas) são mais eficientes (RODRIGUES SGRIGNOLLI *et al.*, 2011).

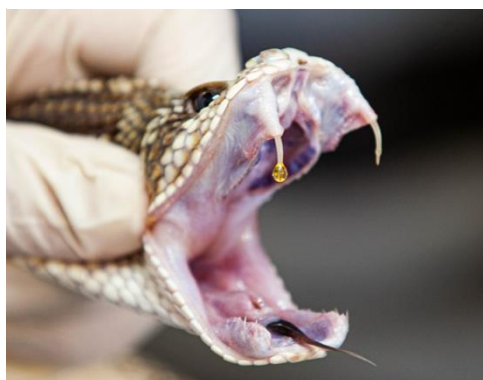
As espécies são ativas durante o período noturno, momento em que caçam suas presas. No entanto, por serem ectodérmicos, com temperaturas mais elevadas durante o dia, os processos biológicos das serpentes (locomoção, digestão, produção de células reprodutivas) são mais eficientes (RODRIGUES SGRIGNOLLI *et al.*, 2011).

Figura 4 - Serpente Bothrops atrox



Fonte: Paulo Bernarde (2024).

Figura 5 - Dentição solenóglifa



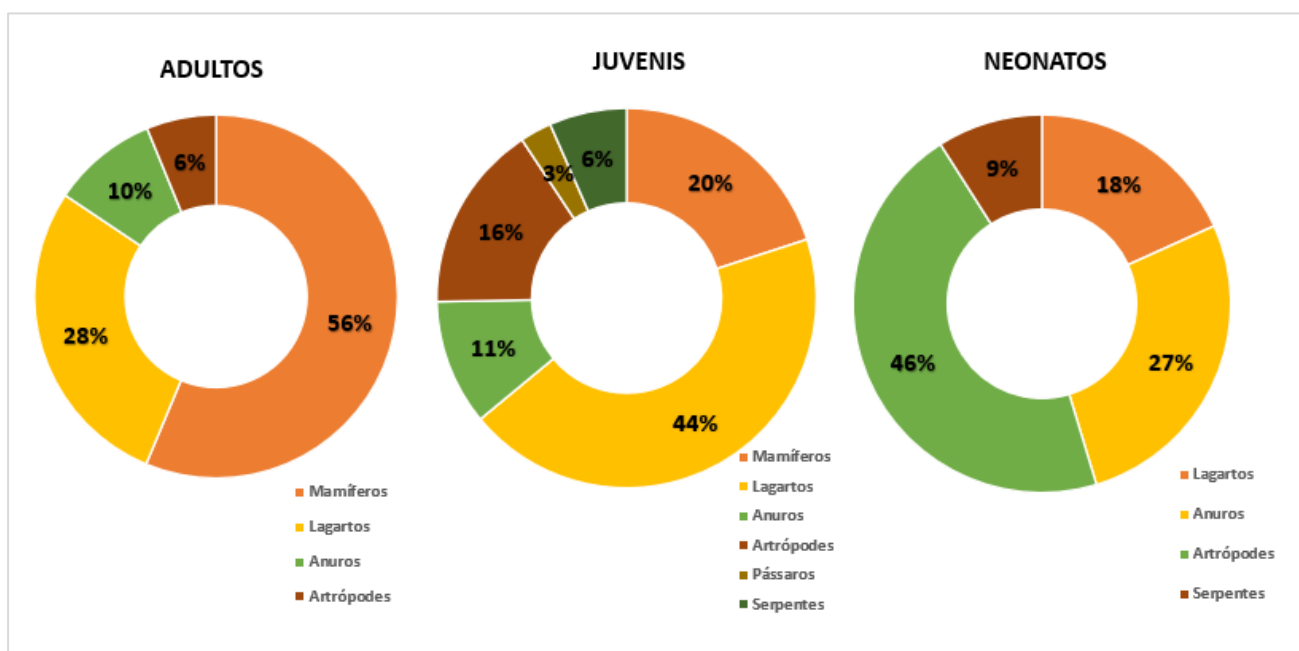
Fonte: Instituto Butantan.

São animais que possuem dentição do tipo solenóglifa (Figura 5), o mais especializado aparato inoculador da peçonha (PAIVA, 2020). Em sua dieta, ocorre uma mudança ontogenética, onde serpentes juvenis consomem, quase que exclusivamente, presas ectodérmicas, enquanto os adultos se alimentam principalmente de animais vertebrados como, répteis, anfíbios e aves (MONTEIRO *et al.*, 2020).

A alteração da composição dietética das serpentes foi observada em um trabalho realizado por Monteiro e colaboradores (2020), onde analisaram o conteúdo estomacal de 612 espécimes de *B. atrox* envolvidos em acidentes com humanos em Manaus. A dieta dos adultos era composta, principalmente, por mamíferos (56,3%) e os juvenis, apresentando maior variabilidade de presas consomem comumente lagartos (44%). Os recém-nascidos se alimentam em sua maioria, de anuros (72,8%) e lagartos (18,2%) (Figura 6).

Assim como em outros animais venenosos, a variação de veneno em serpentes *B. atrox* é compreendida como uma modificação de curso natural para facilitar a captura e digestão da presa (MONTEIRO *et al.*, 2020).

Figura 6 - Proporção de presas encontradas na dieta de espécimes de *B. atrox* da região de Manaus



Fonte: adaptado de MONTEIRO (2020).

Diversos autores argumentam que a composição do veneno das serpentes está sujeita a forte seleção natural e que a alteração da propriedade do veneno, assim como a variedade de seus componentes, é consequência da adaptação a diferentes hábitos alimentares entre espécies jovens e adultas (BARLOW *et al.*, 2009; KORDIŠ; GUBENŠEK, 2000).

1.4 Composição do veneno botrópico

Primariamente, as serpentes usam seu veneno como ferramenta para incapacitar e imobilizar suas presas, mas também utilizam como arma de defesa contra predadores (KANG *et al.*, 2011).

O veneno é uma mistura complexa de diferentes componentes com inúmeras funções, codificado geneticamente por expressarem, originalmente, proteínas relacionadas a várias funções fisiológicas (REYES-VELASCO *et al.*, 2015). O veneno atua em diversos aspectos adaptativos com intuito de imobilizar, paralisar, matar e digerir a presa. Os componentes presentes na secreção atuam de forma sinérgica, potencializando sua toxicidade (KORDIŠ; GUBENŠEK, 2000).

Como estabelecido, um dos mecanismos evolutivos para obtenção de uma secreção tóxica em serpentes é o recrutamento de genes codificantes de enzimas digestivas endógenas que, de certa forma, evoluíram para toxinas (FRY *et al.*, 2009; KORDIŠ; GUBENŠEK, 2000). Neste sentido, o veneno de *B. atrox* pode ter se originado a partir destas enzimas.

Sua matriz pode sofrer variações entre espécies do mesmo gênero de diferentes localizações geográficas devido à fatores externos, como o perfil dietético, que influencia diretamente na expressão de toxinas e na composição do veneno (BARLOW *et al.*, 2009; MASON *et al.*, 2022).

No geral, a peçonha é composta por mais de 20 elementos com funções e interações ainda não totalmente conhecidas. De 90 a 95% do peso líquido do veneno botrópico é formado por proteínas incluindo enzimas, toxinas não-enzimáticas e proteínas não tóxicas. A porção não proteica conta com carboidratos, lipídeos, metais, aminas biogênicas, aminoácidos livres e nucleotídeos (CARDOSO *et al.*, 2003; PINHO *et al.*, 2008).

De peso molecular variável, as toxinas possuem a capacidade de se ligar a receptores específicos em diferentes locais anatômicos, agindo em vários sistemas fisiológicos, como sistema nervoso, cardiovascular e nos músculos. (KULARATNE; SENANAYAKE, 2014) Quando não fatais podem cursar para sequelas físicas debilitantes como necrose e dano tecidual local severo, até mesmo amputação de membros afetados (WAIDDYANATHA *et al.*, 2019).

A toxicidade do veneno leva a manifestações clínicas de diferentes níveis de complexidade, essa variação se deve não apenas às propriedades de seus componentes, mas também a velocidade de absorção por membranas e tecidos. A idade, tamanho e hábito alimentar das serpentes são alguns dos fatores que explicam essas modificações. (GUTIÉRREZ, 2016)

A partir da caracterização e purificação do veneno de serpentes sabe-se que a peçonha contém cerca de 30 a 100 proteínas tóxicas, algumas delas apresentando atividade enzimática. (KORDIŠ; GUBENŠEK, 2000; MÉNEZ, 1998)

São exemplos de toxinas enzimáticas: fosfolipases A₂, metaloproteinases e serinoproteases. Estas são as mais abundantes e frequentemente relacionadas com a sintomatologia, responsáveis pelo potencial de morbidade e mortalidade do envenenamento botrópico, junto também à ação de diferentes componentes não-enzimáticos como desintegrinas, toxinas de três dedos, inibidores de proteases e demais constituintes (KANG *et al.*, 2011; MCCLEARY & KINI, 2013).

1.4.1 Fosfolipases A₂

As fosfolipases A₂ pertencem ao grupo de proteínas amplamente estudado. Desempenham um papel essencial em diversas atividades biológicas (como digestão de presas), comumente presentes nos venenos de outros gêneros de serpentes (EL-AZIZ *et al.*, 2019).

São enzimas capazes de hidrolisar substratos específicos, como glicerofosfolipídios. Atuam na catálise da hidrólise de ácidos graxos da membrana de fosfolipídios na posição sn-2, liberando lisofosfolipídios e ácidos graxos livres, como o ácido araquidônico, produzindo alterações na permeabilidade das membranas celulares (EL-AZIZ *et al.*, 2019; CEDRO *et al.*, 2018).

Sua classificação se categoriza nas famílias A1, A2, B, C e D, que varia de acordo com o local de hidrólise nos substratos (TERRA *et al.*, 2015). Fosfolipases de venenos de serpentes são classificadas como fosfolipases A₂ secretadas (PLA_{2s}), do grupo I para família *Elapidae* e *Hydrophiidae* e grupo II, *Viperidae* e *Crotalidae* (MURAKAMI *et al.*, 2011; SIX; DENNIS, 2000).

Além de possuírem um amplo espectro tóxico e farmacológico com mecanismos ainda não completamente elucidados, exercendo atividade neurotóxica, miotóxica, hemolítica e citotóxica, as fosfolipases A₂ apresentam também efeitos anticoagulantes, pró-inflamatórios, de agregação plaquetária e ainda, desencadeiam hemorragia interna, induzem edemas e danos nos órgãos ou tecidos (GUTIÉRREZ & LOMONTE, 2013).

Em sua atividade citotóxica, as fosfolipases A₂ ativam mecanismos pró-inflamatórios causando edema, formação de bolhas e necrose tecidual no local afetado. E juntamente às demais enzimas tóxicas, causam danos teciduais locais devido também à sua atividade miotóxica, onde ocorre a hidrólise das células musculares, liberando componentes intracelulares que potencializam o estado inflamatório tecidual próximo ao local da picada. (DEL BRUTTO, 2013) Envolvidas no mecanismo da dor, essas enzimas favorecem a liberação de bradicinina, prostaglandinas, citocinas e aminas simpatomiméticas (TEIXEIRA *et al.*, 2009).

As Fosfolipases A₂ isoladas do veneno de *B. atrox* com seus receptivos efeitos estão listadas na tabela abaixo:

Tabela 3 - Fosfolipases A₂ isoladas e caracterizadas do veneno de *Bothrops atrox*

TOXINA		EFEITO
Fosfolipases A₂	BaPLA2-I	Miotóxico; Pró-inflamatório
	BaPLA2-III	Miotóxico; Pró-inflamatório
	B. Atrox PLA2	Neutro-enzimaticamente ativo
	BaTX-I	Pró-inflamatório
	BaTX-II	Pró-inflamatório
	Ba PLA2	Pró-inflamatório
	Mytoxin I	Miotóxico; Pró-inflamatório; bactericida
	B. atrox LAAO	Apoptose; Necrose; Citotóxico para células cancerígenas;
	Hyal-Ba	Potenciação do efeito hemorrágico
	BPP-BAX12	Peptídeo potencializador de bradicinina
	Nucleotidase	Liberação de purinas; Potenciação da hipotensão
	Fosfodiesterases	Liberação de purinas; Potenciação da hipotensão

Fonte: Adaptado de Monteiro (2020).

1.4.2 Metaloproteinasas

Representando o maior grupo dentre os demais componentes do veneno, as metaloproteinasas são uma das principais enzimas proteolíticas que desempenham um papel significativo na toxicidade do veneno de serpentes da família Viperidae. Pertencem à família das metzincinas, são enzimas dependentes de zinco para manifestação de suas atividades e chegam a constituir cerca de 11% a 65% do total de proteínas (MATSUI; FUJIMURA; TITANI, 2000; PRECIADO; PEREAÑEZ, 2018).

A classificação das metaloproteinasas tem passado por alguns obstáculos no enquadramento de novas moléculas identificadas devido suas características como, variação na composição dos domínios, diferentes funções e possibilidade de recombinações. Anteriormente, sua classificação se baseava em nucleotídeos (classificação N) e as dividia em quatro classes, atualmente utiliza-se a categorização com base no tamanho das proteínas maduras purificadas a partir dos venenos de serpente (classificação P). (BJARNASON; FOX, 1994)

De acordo com a estrutura de domínio estão divididas em quatro grupos, P-I à P-IV. (MATSUI; FUJIMURA; TITANI, 2000) A classe N-I resultou na classe P-I possuindo apenas o domínio metaloproteinasas, P-II_a a P-II_e com domínios metaloproteinasas e desintegrinas, já no terceiro grupo a classe N-III codificava não mais um domínio desintegrina, mas sim semelhante a ele, além de um domínio rico em cisteína. Em consequência, as sequências de nucleotídeos N-III passaram a ser classificadas como proteínas maduras da classe P-III_a a P-III_c. (OLAIBA ET AL., 2020) A classe P-IV já não é mais utilizada pois os transcritos de N-IV, possuindo um domínio semelhante a lectina, não foram encontrados nos transcriptomas das glândulas de veneno das serpentes. (MOURA-DA-SILVA et al., 2011)

Consideradas altamente tóxicas, as metaloproteinasas estão relacionadas a quadros hemorrágicos locais e sistêmicos ao interferir no sistema hemostático ou ao degradar os principais componentes da membrana basal capilar dos vasos, causando a desestruturação das redes capilares. (MATSUI; FUJIMURA; TITANI, 2000; WANG; SHIH; HUANG, 2005)

De acordo com Gutiérrez e colaboradores (2005), as metaloproteinasas de peçonha de serpentes atuam na proteólise de componentes da matriz extracelular,

proteínas plasmáticas e de membrana celular. Relacionam-se também com receptores específicos, como integrinas, presentes na superfície de plaquetas. (RODRIGUES et al., 2001)

Dentre os principais mecanismos da ação das metaloproteinases sob o sistema hemostático, destacam-se a degradação do fibrinogênio e fibrina (enzimas fibr(ogen)olíticas), ativação dos fatores V, X, proteína C, antitrombina e plasminogênio, e ainda, inibição/ativação da agregação plaquetária. (PRECIADO & PEREAÑEZ, 2018)

A ação hemorrágica das metaloproteinases envolve também a hidrólise de proteínas de membranas de células endoteliais, como colágeno, fibronectina, laminina, que participam do processo de adesão celular e de componentes da matriz extracelular que fazem parte da manutenção da estrutura e integridade capilar. (DÍAZ ET AL., 2005; ESCALANTE ET AL., 2006)

O isolamento e caracterização feito por Patiño (2010) demonstra a presença da metaloproteinase batx-1 no veneno de *B. atrox*. Representante da classe P-I, a batx-1 desencadeia alterações hemorrágicas e fibrinogenolíticas nas vítimas de envenenamento botrópico. (PRECIADO ET AL., 2019; PATIÑO ET AL., 2010).

Tabela 4- Metaloproteinases isoladas do veneno de *B. atrox*.

TOXINA		EFEITO
Metaloproteinases (SVMPs)	Metaloenzima	Ativador da protrombina
	Metaloenzima	Ativador do Fator X da coagulação
	Batroxhagin	Hemorrágico; fibrinolítico; Inibidor da agregação plaquetária
	Atroxlysin III	Hidrólise do fibrinogênio e proteínas da membrana extracelular; inibidor da agregação plaquetária
	HI-5	Hemorrágico (leve)
	Batx-I	Hemorrágico (leve); Miotóxico (leve); Fibrin(ogen)olítico
	Atroxlysin I	Fibrin(ogen)olítico; Hemorrágico; Inibidor da agregação plaquetária
	Atroxlysin Ia	Hemorrágico; Dermonecrótico; Hidrólise do fibrinogênio e de proteínas da matriz extracelular; Pró-inflamatório

	Batroxase	Hemorrágico; Fibrin(ogen)olítico; Pró-inflamatório; Antitrombótico; Ativador do sistema complemento
--	-----------	---

Fonte: Adaptado de Monteiro (2020). Legenda: SVMPs - *Snake venom metalloproteinases*.

1.4.3 Serinoproteases

Um dos aspectos mais relevantes nos casos de acidentes ofídicos está relacionado à capacidade do veneno afetar a coagulação sanguínea, na qual as proteases participam de forma significativa através da ativação da cascata de coagulação ou pela conversão do fibrinogênio em fibrina causando incoagulabilidade sanguínea.(MIRAKABADI, 2009)

Essas proteases são conhecidas como enzimas semelhantes à trombina pela sua função similar a trombina, sendo o veneno de *B. atrox* considerado fonte rica das chamadas serinoproteases. (MONTEIRO ET AL., 2020; ZAQUEO ET AL., 2016)

Serinoproteases são enzimas que afetam o sistema hemostático, hidrolisando diretamente o fibrinogênio em fibrina. Atuando de forma isolada não são consideradas letais, porém potencializam a toxicidade do envenenamento quando combinadas com outras proteínas presentes na peçonha.(ZAQUEO ET AL., 2016)

Dentre as toxinas deste grupo destaca-se a batroxobina (do inglês “Batroxobin”), uma serinoprotease com atividade anticoagulante atuando por meio da clivagem específica da cadeia α do fibrinogênio que se transforma em coágulos frouxos de fibrina. (MONTEIRO, 2020) Tendo em vista sua ação, inúmeras aplicações terapêuticas estão sendo estudadas e desenvolvidas com base nos efeitos secundários da batroxobina, ferramentas como Reptilase® e Plateltex® são exemplos da utilização médica desta enzima.(FUNK et al., 1971) Empregado como agente anticoagulante e como instrumento para diagnóstico de disfibrinogenemias, Reptilase® é aplicado em casos de sangramento pulmonar, oral e traumático, quando necessário, em pós-operatórios e em casos de hemorragia interna/externa. Enquanto que o Plateltex® destina-se, principalmente, ao tratamento de feridas crônicas através da otimização do processo de cicatrização (MAZZUCCO et al., 2008; MELCHIOR et al., 2021).

Abaixo, estão listadas as principais serinoproteases isoladas e caracterizadas do veneno de *B. atrox* (Tabela 5).

Tabela 5- Serinoproteases presentes no veneno de *Bothrops atrox*.

TOXINA		EFEITO
Serinoproteínases (SVSPs)	Batroxobin	Atividade semelhante à trombina; Reptilase (ação anticoagulante); Plateltex (formação de filmes de fibrina)
	BA III-4	Atividade semelhante à trombina
	SVSPs	Atividade semelhante à trombina
	Thrombocytin	Atividade semelhante à trombina (leve); ativador da agregação plaquetária; ativador do F-XIII e F-VIII

Fonte: Adaptado de Monteiro (2020). Legenda: SVSPs - *Snake Venom Serine Proteinases*.

1.5. Ações do veneno: efeitos locais e sistêmicos

Conhecido por sua atividade proteolítica, miotóxica, coagulante e hemorrágica, o veneno de *B. atrox* induz quadros graves de coagulopatia e extensos danos teciduais, além de apresentar ação nefrotóxica direta. (MONTEIRO ET AL., 2020; RODRIGUES SGRIGNOLLI ET AL., 2011)

Os aspectos clínicos do envenenamento botrópico incluem manifestações locais significativas atribuídas à ação proteolítica do veneno. Caracterizados pela dor e edema no local da picada, e de caráter progressivo, o quadro local tende a evoluir para o surgimento de equimoses, lesões bolhosas e sangramento intenso no local acometido até mesmo necrose dos tecidos e desenvolvimento de síndrome compartimental, deixando sequelas debilitantes. (BORGES; SADAHIRO; SANTOS, 1999; MOREIRA et al., 2021; WAIDDYANATHA et al., 2019) De patogenicidade complexa, a atividade proteolítica decorre da atuação de proteases, hialuronidasas e fosfolipases, envolvidas na liberação de mediadores da resposta inflamatória (MINISTÉRIO DA SAUDE, 2021).

Figura 7 - Manifestações locais e complicações após acidente botrópico. A. Marca da presa, edema já evidente. B. Sangramento no local da picada e edema. C. Edema no local afetado. D. Bolhas no membro picado. E. Necrose com infecção instalada. F. Necrose



Fonte: Malaque (2014).

Manifestações sistêmicas são desencadeadas pela atividade coagulante e hemorrágica da peçonha. Distúrbios da coagulação são originados da ativação da cascata de coagulação (fator X e a protrombina) e da conversão do fibrinogênio em fibrina que induz incoagulabilidade sanguínea juntamente com alterações da função plaquetária (FUNASA, 2001).

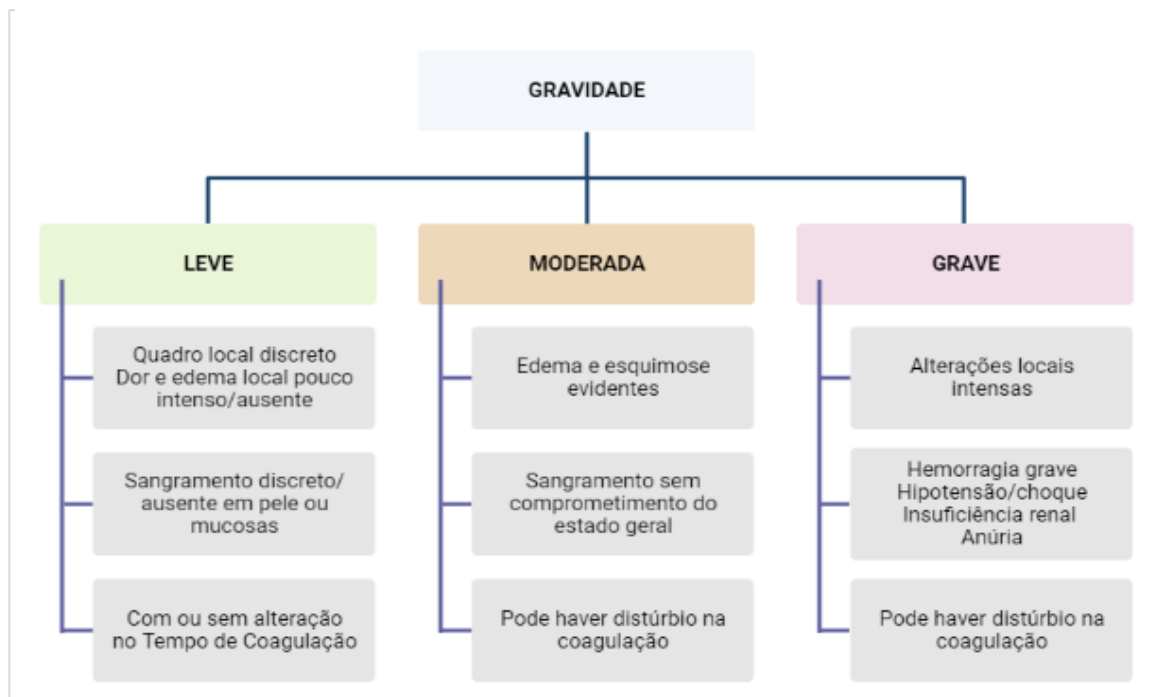
No âmbito sistêmico, atividade hemorrágica deve-se à ação das hemorraginas, que provocam lesões na membrana basal dos capilares sanguíneos, promovendo episódios marcados por sangramentos em ferimentos preexistentes, hemorragias nas mucosas (gengivorragia, epistaxe) e hematúria. Além de náuseas, vômitos, sudorese, hipotensão arterial, podendo ocorrer também choque (PINHO; PEREIRA, 2001).

A complicação clínica que leva o paciente a óbito é o choque, este tem sido atribuído à letalidade do envenenamento botrópico devido aos distúrbios hemostáticos desencadeados pelo veneno, observando-se também incoagulabilidade sanguínea, baixos níveis de fibrinogênio e alfa 2-antiplasmina, altas concentrações de produtos de degradação de fibrina/fibrinogênio e D-dímero. (MONTEIRO et al., 2020) Além da insuficiência renal aguda, septicemia e coagulação intravascular disseminada (PINHO; PEREIRA, 2001).

Sendo assim, acidentes botrópicos são classificados de acordo com as manifestações clínicas em: leve, moderado e grave (Figura 8). O aparecimento de manifestações sistêmicas como hipotensão arterial, choque, oligoanúria ou hemorragias intensas configura como estado grave, independentemente do quadro local (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2022).

O tratamento pode variar mediante a gravidade do quadro apresentado. No Brasil, para o tratamento específico de acidentes botrópicos é feita a administração dos antivenenos *Bothrops*, *Bothrops-Lachesis* ou *Bothrops-Crotalus*. (PARDAL et al., 2004; SOUSA et al., 2013) De acordo com a Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado (FMT-HVD) do Amazonas, em casos leves é feita a administração de 5 ampolas de soro antiofídico específico, nos casos moderados 8 ampolas e para os quadros mais graves 10 ampolas de soro. (FMT, 2016) Complicações podem surgir em até 72 horas após o acidente, portanto, os pacientes devem permanecer em monitoramento, em ambiente hospitalar, por ao menos três dias. (SILVA et al., 2022)

Figura 8 - Sintomatologia do envenenamento



Fonte: adaptado de BRASIL (2022)

Um grande número de vítimas convive com sequelas físicas permanentes devido a amputações decorrentes de intensa necrose tecidual nos membros afetados

e, sem dúvidas, sequelas psicológicas. (GUTIÉRREZ ET AL., 2017). Além disso, indivíduos que sobrevivem aos quadros mais graves associados ao AVEH apresentam tendência a desenvolver consequências neurológicas debilitantes (PÉREZ-GÓMEZ et al., 2019).

Alterações secundárias neurológicas, cognitivas e comportamentais podem ser desencadeadas quando ocorrem quaisquer prejuízos, de modo irreversível, aos neurônios e à configuração cerebral como um todo (MACDONALD; SCHWEIZER, 2017). De acordo com Wu (2018), após o episódio de AVEH, a condição psiquiátrica mais frequentemente associada é a depressão, que se correlaciona com a dificuldade na recuperação física e cognitiva da vítima.

1.6 Dano neurológico

1.6.1 Acidente vascular encefálico

Normalmente, o envenenamento botrópico resulta em manifestações clínicas locais (dor, edema, esquimose) e sistêmicas (desordens de coagulação e hemorragias) em virtude, principalmente, da ação enzimática de metaloproteinases, serinoproteases e fosfolipases A₂ (CALVETE et al., 2011; OLIVEIRA et al., 2019b; SOUSA et al., 2013).

Complicações secundárias como necrose, infecções bacterianas, síndrome compartimental e insuficiência renal aguda podem levar o paciente a óbito por falência renal e/ou respiratória, choque, sepse e, em específicos casos, por hemorragia no sistema nervoso central (RIBEIRO et al., 1998).

Mundialmente, a ocorrência de hemorragia intracranial após acidentes ofídicos tem sido esporadicamente reportada. Muito do que se sabe a respeito da ocorrência do acidente vascular cerebral após envenenamento por serpentes deve-se aos relatos de caso disponíveis na literatura, o que fomenta o desconhecimento a respeito da frequência dessas complicações (DEL BRUTTO; DEL BRUTTO, 2012; MOSQUERA et al., 2003).

No Equador, a incidência é de 2,6% casos de AVEH em vítimas de *Bothrops spp.*, enquanto em Martinica 7 de 109 pacientes tiveram distúrbios cerebrais (6,4%)

(MOSQUERA et al., 2003; THOMAS et al., 2006). No Brasil, alguns relatos de caso descritos na literatura identificaram a hemorragia cerebral como causa de óbito das vítimas afetadas por serpentes do gênero *Bothrops* (KOUYOUMDJIAN et al., 1991).

Em São Paulo, um paciente de 13 anos com sinais de rigidez generalizada, anisocoria, nível de consciência alterado e sem sangramento sistêmico aparente, veio a óbito por extenso hematoma extradural na porção frontal do cérebro 4 dias após a picada (KOUYOUMDJIAN et al., 1991). No Pará, uma vítima de 62 anos apresentou lesões hemorrágicas com edema no lobo frontal esquerdo, recebendo alta hospitalar mediante fisioterapia (MACHADO et al., 2010). Outros relatos de AVEH associados ao envenenamento por *Bothrops* reafirmam a fatalidade desta complicação (BASHIR; JINKINS, 1985; MOSQUERA et al., 2003; PINHO; DE ALMEIDA BURDMANN, 2001; RIBEIRO et al., 1998).

No Acre, uma vítima de 27 anos, do sexo masculino, permaneceu internada por 74 dias devido ao severo quadro clínico ocasionado pela picada de *B. atrox*. Relatou tontura, náuseas e visão turva após o acidente e em 1 hora apresentou confusão mental. Depois de dois dias o paciente foi levado ao hospital e houve perda da consciência. O paciente recebeu alta e após quatro meses foi feita a avaliação de incapacidade (WHODAS) que revelou o comprometimento do domínio cognitivo (33%) e de participação na sociedade (63%). Com base na avaliação clínica o diagnóstico foi de síndrome compartimental, porém no relato de caso não menciona se foram realizados exames complementares para descartar o comprometimento cerebral, dado que o paciente apresentou sintomas relacionados (SACHETT et al., 2020b).

Um estudo conduzido por Mosquera (2003), onde analisou a prevalência e os tipos de complicações cerebrovasculares decorrentes do envenenamento botrópico em 309 pacientes, constatou que 8 (2,6%) vítimas apresentaram eventos cerebrovasculares (87,5% hemorrágico e 12,5% isquêmico), destas apenas 3 (37,5%) sobreviveram, e apesar da terapia, permaneceram com sequelas irreversíveis.

Portador de uma ampla gama de ações, o veneno de serpentes gera efeitos anticoagulantes/procoagulantes, fibrinolíticos e hemorrágicos, provocando desordens hemorrágicas cerebrais que favorecem o desenvolvimento de agravos neurológicos (DEL BRUTTO, 2013; MOSQUERA et al., 2003). Tendo em vista que as enzimas de *Bothrops atrox* não possuem atividade neurotóxica direta, o comprometimento

neuronal após o envenenamento associa-se às complicações cerebrovasculares oriundas da ação de enzimas hemotóxicas. Metaloproteinases e hemorraginas estão comumente presentes nestes mecanismos hemorrágicos (BASHIR; JINKINS, 1985; PINHO; DE ALMEIDA BURDMANN, 2001).

O distúrbio hemostático cerebral é produzido através do bloqueio dos vasos sanguíneos (pela formação local ou deslocamento de coágulos) reduzindo significativamente ou até mesmo interrompendo o fluxo sanguíneo para o cérebro, acarretando na diminuição de oxigênio e de nutrientes na estrutura cerebral resultando em dano e morte celular. Por outro lado, enzimas que interagem com os componentes de membrana são responsáveis pelo rompimento dos capilares sanguíneos cerebrais e ocasionam o extravasamento de constituintes intracelulares, conseqüentemente, levando a um estado inflamatório e hemorrágico que cria uma pressão adicional no compartimento cerebral danificando suas células (KAMIGUTI; CARDOSO, 1989; LARRÉCHÉ et al., 2021).

O episódio hemorrágico envolve mecanismos patológicos como: toxicidade sanguínea, excitotoxicidade, hipermetabolismo e depressão propagante, que incluem vias inflamatórias, oxidativas, autofágicas e apoptóticas (ARONOWSKI; WU et al., 2018b; ZHAO, 2011).

1.6.2 Resposta inflamatória após AVE

O processo inflamatório é a principal ferramenta de defesa em resposta ao dano cerebral seguido do AVEH. As citocinas possuem uma participação relevante na patogênese dos distúrbios neurológicos, principalmente as citocinas pró-inflamatórias como, IL-1 β , TNF- α e IL-6 (SUBLETTE; POSTOLACHE, 2012). Na depressão, por exemplo, esses componentes inflamatórios interferem na síntese de triptofano pela ativação da indoleamina 2,3-dioxigenase (IDO), causando a diminuição de 5-hidroxitriptamina (5-HT) (MINÁ et al., 2015; RAISON; CAPURON; MILLER, 2006).

Constituintes não-neuronais do sistema nervoso central também estão presentes na resposta inflamatória. As microglias mostram grande sensibilidade ao dano neuronal, e sob condições de estresse, essas células em estado de repouso se convertem à suas formas reativas para síntese e secreção de citocinas (TAN et al., 2017). A ativação da microglia foi detectada em estruturas cerebrais como córtex pré-

frontal, córtex cingulado anterior e hipocampo (SCHNIEDER et al., 2014; STEINER et al., 2008).

Tan et al. (2017) reafirmam que os níveis aumentados de citocinas pró-inflamatórias foram diretamente proporcionais ao aumento do número de células microgлияis reativas no cérebro. Deduzindo que este grupo de células é ativado pelo estresse induzido pelo AVEH.

Receptores toll-like (TLRs) participam de forma importante nas respostas inflamatórias e desempenham um papel crítico no sistema nervoso central. Dentre os TLRs identificados, os do tipo 4 (TLR4) são expressos em células da microglia e induzem sua ativação em circunstâncias cerebrais estressantes (YAO et al., 2013).

Estudos clínicos apontam que o aumento dos níveis de receptores toll-like do tipo 4 (TLR4) estão relacionados a um mau prognóstico em pacientes com AVEH, e quando esses receptores foram desativados, em modelo animal, observou-se a melhora da função neurológica, presumindo que a sinalização de TLR4 é específica para danos inflamatórios após AVEH (RODRÍGUEZ-YÁÑEZ et al., 2012; SANSING et al., 2011; YAO et al., 2013). O aumento da expressão de TLR4 está diretamente associado ao risco do desenvolvimento da depressão (ARONOWSKI; ZHAO, 2011; RODRÍGUEZ-YÁÑEZ et al., 2012; WU et al., 2018). Em modelos animais semelhantes à depressão, foram observadas respostas inflamatórias no hipocampo por esta via (TAN et al., 2017).

Adicionalmente, os TLR4s podem ser ativados pelas citocinas agravando o quadro inflamatório ao aumentar a fosforilação de proteínas quinases ativadas por mitógeno (MAPK) onde a via de sinalização TLR4/p38 MPK potencializa a síntese de citocinas pró-inflamatórias (SWAROOP et al., 2016).

Como resposta inicial ao evento hemorrágico ocorre a migração de leucócitos para o parênquima cerebral sendo os neutrófilos as primeiras células a serem recrutadas para a região acometida. O acúmulo local dessas células leva a um segundo processo lesional promovendo a liberação de enzimas proteolíticas e mediadores pró-inflamatórios. Assim, o aumento da concentração leucocitária no local das lesões reflete na gravidade do dano neuronal e consequentemente, na piora do prognóstico neurológico (LUX et al., 2020).

Em síntese, acidentes envolvendo serpentes do gênero *Bothrops* têm incisiva capacidade de provocar AVE, caracterizado por induzir déficits neurológicos focais em razão das lesões secundárias originadas (PÉREZ-GÓMEZ et al., 2019). Dentre as consequências neurológicas relacionadas, a depressão é a mais comumente relatada na literatura (MISHRA et al., 2018). Transtornos neurológicos como estresse pós-traumático (TEPT), déficits cognitivos e outras manifestações clínicas incluindo fraqueza motora em vários níveis, déficit do campo visual, cegueira, tontura e a perda da capacidade de formular palavras (disartria) têm sido reportados na literatura (GUPTA; TEWARI; NAIR, 2012; VALE et al., 2013).

O diagnóstico de hemorragia cerebral deve ser considerado em situações onde há suspeita de envenenamento botrópico que envolva sinais de confusão mental, níveis anormais de consciência e demais manifestações neurológicas (KOUYOUMDJIAN et al., 1991).

Apesar do amplo conhecimento sobre os impactos físicos e sistêmicos do envenenamento por serpentes, os efeitos a longo prazo e sequelas ainda são pouco investigados.

1.7 Alteração comportamental

A regressão da mortalidade e de comprometimento físico dos pacientes deve-se ao aprimoramento das estratégias de controle e combate aos envenenamentos como: otimização no atendimento hospitalar, disponibilidade do antiveneno e campanhas de conscientização que levam ao aumento do número de vítimas que procuram uma unidade de saúde. No entanto, impactos psicológicos tardios não são reconhecidos e as vítimas não recebem devido suporte terapêutico, apesar da recomendação de inclusão do acompanhamento psicológico nos protocolos de manejo (CHIPPAUX, 1998; WARRELL, 2010).

A incidência de transtornos psicológicos pode ocorrer de forma tardia e significativa em vítimas de acidente ofídico, podendo provocar doenças psicológicas como depressão, ansiedade e transtorno de estresse pós-traumático (WILLIAMS et al., 2011). A depressão e transtorno de estresse pós-traumático são importantes condições, e as principais, associadas ao envenenamento por serpentes, com prevalência de 53% e 43% respectivamente (BHAUMIK et al., 2020).

Diante de uma literatura limitada a respeito da condição de saúde mental da vítima após o acidente ofídico, alguns autores investigaram e identificaram casos de depressão após envenenamento em países como Bangladesh, Nigéria e Sri Lanka (ISLAM et al., 2018; MUHAMMED et al., 2017; WIJESINGHE et al., 2015; WILLIAMS et al., 2011). Na pesquisa feita por Islam e colaboradores (2018), em Bangladesh, a análise psiquiátrica relevou também casos de ansiedade após acidente ofídico em 64 (52,9%) de 121 pacientes, destes 9 (7,4%) desenvolveram um quadro crônico. Transtorno de estresse pós-traumático (TEPT) foi a condição de saúde mais associada a picada de cobra (HABIB et al., 2021; HALILU et al., 2019; ISLAM et al., 2018; KHOSROJERDI; AMINI, 2013; WIJESINGHE et al., 2015; WILLIAMS et al., 2011).

As pesquisas disponíveis apontam que de 8 a 43% dos indivíduos que sobrevivem ao envenenamento por serpentes apresentam TEPT. Um estudo realizado em Sri Lanka demonstra a prevalência de TEPT em 43% dos pacientes envolvidos, sugerindo que esse distúrbio se apresenta em todas as vítimas, independentemente da espécie da serpente (HABIB et al., 2021). Khosrojerdi e Amini (2013) reportam que o transtorno atinge menos de 10% dos pacientes e que 4% deles podem desenvolver sua forma crônica. Williams et al. (2011) mostraram que 21,6% pacientes tinham TEPT crônico.

Uma investigação feita na Nigéria no ano de 2015 relevou o diagnóstico depressivo em 25% dos pacientes, onde 13,4% apresentaram depressão do tipo leve, 7,5% moderada e 4,3% com depressão grave (MUHAMMED et al., 2017). De forma semelhante, Islam e colaboradores (2018) observaram que o transtorno mental depressivo estava presente em 33,9% das vítimas.

Transtornos neurológicos são complicações psiquiátricas decorrentes de lesões cerebrovasculares, em outras palavras, são manifestações clínicas de um acidente vascular cerebral. Depressão, desordens de ansiedade, TEPT e danos cognitivos induzidos são condições médicas observadas em pacientes que sobrevivem ao AVE, prejudicando não somente a recuperação motora, mas também a qualidade de vida das vítimas (CHEMERINSKI; ROBINSON, 2000).

1.7.1 Estruturas cerebrais envolvidas

Acidentes ofídicos podem causar ambos os eventos vasculares cerebrais, isquêmico ou hemorrágico (MOSQUERA et al., 2003). Sendo considerada a mais grave dentre as complicações sistêmicas, a ocorrência do AVEH pode acometer a região intracerebral, intraventricular, intramedular, subaracnóidea, cerebelar ou extradural (OTERO-PATÍÑO, 2009). As manifestações clínicas dependem da localização acometida e da intensidade (volume) da hemorragia (MACHADO et al., 2010).

O dano neuronal causado pela hemorragia cerebral ocorre principalmente no lobo frontal e gânglios basais, estruturas que desempenham um papel fundamental no processamento emocional e cognitivo (HORNAK; ROLLS; WADE, 1996; PELL; LEONARD, 2003). Ainda, por meio da estimulação magnética transcraniana realizada em pacientes depressivos, verificou-se o envolvimento do córtex pré-frontal na depressão (ROBINSON; JORGE, 2016).

Diversos autores buscam elucidar a relação entre a região do cérebro afetada e as consequências neurológicas, alguns apontam diferenças no aspecto depressivo entre as lesões ocasionadas nos hemisférios esquerdos e direitos do cérebro, já outros relatam que localização das lesões não se associam à depressão (SHI et al., 2017; SINYOR et al., 1986).

Alguns trabalhos contestam a hipótese de que a localização das lesões influencia no mecanismo da depressão ao afirmar que não há associação entre os fatores (GAINOTTI; MARRA, 2002; KUTLUBAEV; HACKETT, 2014; WEI et al., 2015). Porém, Robinson et al. (1986) expõe que a região cortical do hemisfério cerebral esquerdo, principalmente lesões frontais, foi associada a um maior risco de depressão do que lesões após AVEH no lado direito. Por outro lado, foi descrita uma correlação entre depressão e lesões no hemisfério direito em pacientes com AVE após 6 meses (SUN et al., 2014).

Em uma meta-análise, envolvendo 36 artigos, foi observado que o impacto causado no hemisfério esquerdo estava frequentemente associado ao quadro depressivo pós-AVE, tanto no estágio agudo como crônico. Lesões no lobo frontal esquerdo foram associadas ao transtorno (SHI et al., 2017). Estudos semelhantes

também confirmam a relação da região afetada com o transtorno (RAJASHEKARAN et al., 2013; VATAJA et al., 2001).

Pacientes ansiosos-deprimidos apresentam maior ocorrência de lesões corticais no hemisfério esquerdo quando comparados com os que possuem somente depressão. Estes últimos, possuem lesões em maior parte na porção subcortical do cérebro. Já os que apresentam apenas ansiedade, estão associados a lesões no hemisfério direito do cérebro (CHEMERINSKI; ROBINSON, 2000).

Esta relação pode ser explicada pela atuação dominante do hemisfério cerebral esquerdo no controle das emoções e linguagem, portanto, pacientes que sofreram AVEH com lesões cerebrais na porção esquerda apresentam maior susceptibilidade a depressão e um grau de déficit neurológico mais grave (DAVIDSON; IRWIN, 1999).

1.7.2 Depressão, ansiedade e déficits cognitivos

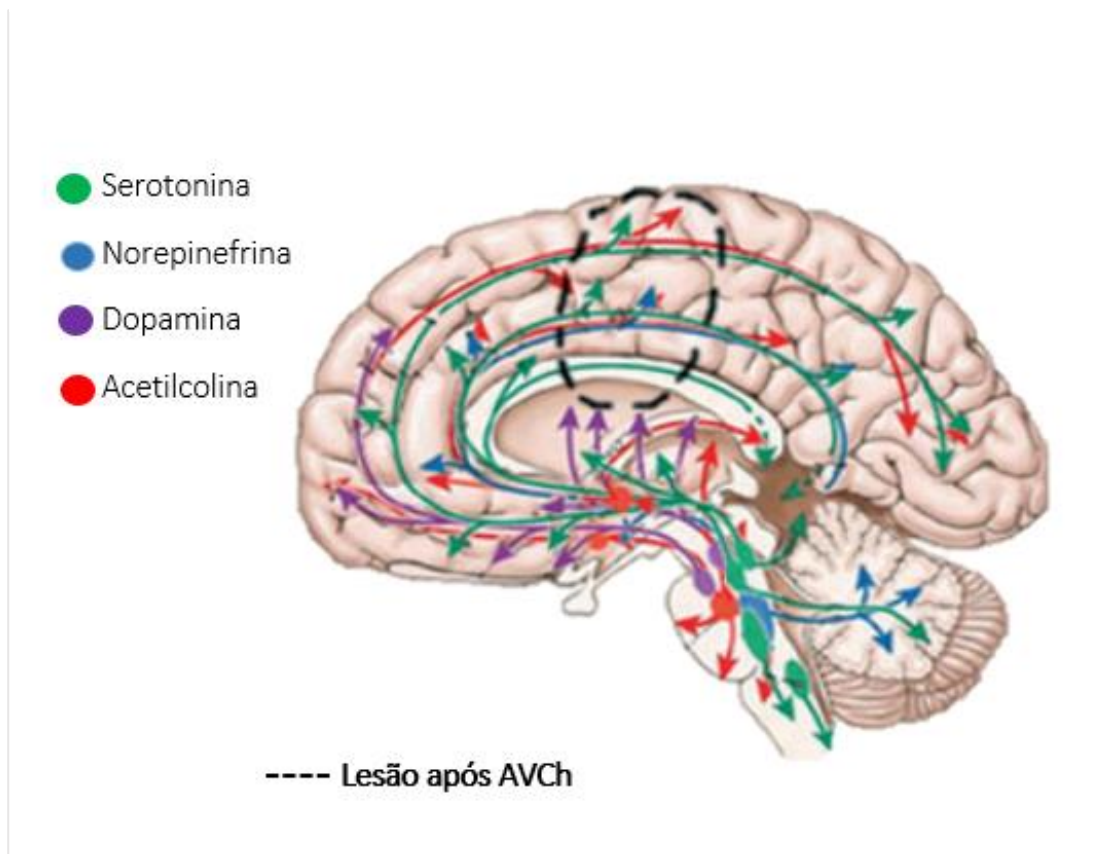
A depressão é forma mais comum de desordens neurológicas após AVE, fortemente relacionada à diminuição da recuperação funcional, no agravamento dos resultados físicos e cognitivos e à própria qualidade de vida (GILSANZ et al., 2015; KIM et al., 2015). Na literatura, autores apontam que 20% dos pacientes que sofreram AVEH desenvolveram sinais de depressão (KOIVUNEN et al., 2015).

A clínica da depressão envolve uma extensa e complexa variedade de sintomas, pode-se destacar alguns como: alterações de humor, como a perda de interesse ou apatia, alterações psicomotoras que envolvem astenia, agitação ou retardo, alterações cognitivas também fazem parte, por exemplo, baixa autoestima, culpa, retração social, além de distúrbios de apetite/alimentação (LENZI; ALTIERI; MAESTRINI, 2008).

Apesar do restrito conhecimento etiológico da doença, os casos de depressão após acidente ofídico são frequentemente associados à ativação da reação inflamatória após hemorragia intracerebral (LOUBINOUX et al., 2012). O evento, que provoca o extravasamento sanguíneo, lança uma série de componentes intravasculares, como leucócitos, macrófagos, glóbulos vermelhos e proteínas plasmáticas no parênquima cerebral, sendo responsável pelas lesões neurológicas (WU et al., 2018).

Chemerinski e Robinson (2000) levantam a hipótese de que as lesões isquêmicas podem comprometer os axônios que ascendem do tronco cerebral até o córtex, causando uma depleção de aminas biogênicas (dopamina, noradrenalina, serotonina) após lesões no lobo frontal e temporal do cérebro, afetando diversas vias de sinalização (Figura 9).

Figura 9 - Teoria das vias aminérgicas na depressão pós-AVEH.



Fonte: adaptado de Loubinoux et al. (2012).

Com ocorrência semelhantemente frequente a depressão, a ansiedade se manifesta principalmente em pacientes jovens com hemorragia intracerebral (KOIVUNEN et al., 2015). Um estudo retrospectivo mostrou que 19% dos pacientes jovens que tiveram episódios de AVE isquêmico apresentaram ansiedade após um acompanhamento de 12 anos (WAJE-ANDREASSEN et al., 2013).

O diagnóstico de desordens de ansiedade generalizada após-AVE requer a presença de um estado de preocupação contínuo (ao menos 6 meses) associado a inquietação, falta de energia, dificuldade de concentração, irritabilidade, dentre outros sintomas (CHEMERINSKI; ROBINSON, 2000).

Déficits cognitivos funcionais são complicações secundárias frequentemente relacionadas aos eventos hemorrágicos cerebrais. Ao analisar pacientes que tiveram AVE no hemisfério esquerdo do cérebro observou-se que o comprometimento cognitivo está associado a depressão pós-AVE grave (ROBINSON et al., 1986). Em seguida foram identificados déficits significativos em atividades que envolvam linguagem, orientação temporal e execução motora (CHEMERINSKI; ROBINSON, 2000).

1.8 Modelos Animais em Neuropsicopatologia

Os estudos com seres humanos, particularmente em neurociências, apresentam frequentemente sérias limitações éticas e de viabilidade experimental, o que acaba favorecendo a realização de testes em modelos animais. Tais modelos permitem investigar os mecanismos envolvidos nas respostas fisiológicas e comportamentais/emocionais frente a diferentes desafios, sejam eles ambientais e/ou farmacológicos (VAN DER STAAY, 2006). Sabendo-se que a transposição de comportamentos observados em roedores para humanos é limitada, faz-se necessária a padronização de critérios para validação de cada modelo animal.

Além de fatores neuroquímicos, os transtornos neurológicos abrangem também componentes comportamentais ou psicológicos. A obtenção de modelos animais que apresentem boa validade representa um desafio constante, especialmente devido ao caráter subjetivo do comportamento e à dificuldade de avaliar se o comportamento analisado reflete algum aspecto da patologia observada em humanos. Modelos animais padronizados, com claro conhecimento de suas vantagens e limitações, favorece a aquisição de novos conhecimentos que seriam inviáveis de serem analisados em humanos (VAN DER STAAY, 2006).

A compreensão dos mecanismos envolvidos em transtornos psiquiátricos é facilitada pela utilização de modelos animais validados associados a ferramentas farmacológicas (POLLAK; MONJE; LUBEC, 2010). Sendo o modelo animal capaz de reproduzir, mesmo que em escala reduzida, alguns aspectos centrais do transtorno psiquiátrico, torna-se uma ferramenta valiosa na análise da multiplicidade de causas, fatores genéticos, ambientais ou farmacológicos, além do estudo dos mecanismos de comportamentos específicos, da sua fisiopatologia e auxiliam no desenvolvimento e

predição de respostas terapêuticas para novos agentes farmacológicos (POLLAK; MONJE; LUBEC, 2010).

Diversos testes comportamentais vêm sendo aplicados para analisar os componentes envolvidos e as características dos transtornos neurológicos humanos em roedores, testes como, suspensão pela cauda para avaliar o perfil depressivo, teste do labirinto em cruz elevado e *marble burying* para comportamento relacionado à ansiedade. Tais testes já foram amplamente caracterizados e farmacologicamente validados (STERU et al., 1985; THOMAS et al., 2009).

A avaliação das manifestações neurológicas e psiquiátricas feitas o quanto antes contribuem para a obtenção de um diagnóstico preciso, incrementando as chances de recuperação física, psicológica e cognitiva entre as vítimas de acidentes ofídicos, conseqüentemente, diminuindo as taxas de morbidade. (ISLAM et al., 2018)

3 JUSTIFICATIVA

Identificar as alterações e os danos neurológicos causados pelo ofidismo, especialmente no contexto do envenenamento por *Bothrops atrox*, é de grande importância para diversas áreas do conhecimento científico, particularmente para a saúde pública, devido ao impacto significativo que esse tipo de acidente gera. O estudo dessas alterações pode fornecer dados importantes para o desenvolvimento de tratamentos mais eficazes e específicos, além de ajudar a melhorar os protocolos de manejo clínico dos pacientes vítimas de envenenamento, que ocorrem principalmente em regiões tropicais e subtropicais, como a Amazônia.

Danos e alterações no sistema nervoso central são eventos considerados pouco frequentes, porém de alta gravidade nos envenenamentos ofídicos no mundo inteiro. Apesar de existirem estudos sobre os efeitos bioquímicos do veneno, há uma lacuna na pesquisa sobre as consequências neurológicas e comportamentais a longo prazo. Mesmo diante da significativa associação entre acidente ofídico e alterações neurológicas e comportamentais decorrentes, os mecanismos envolvidos nesse processo permanecem insuficientemente esclarecidos. Os modelos animais apresentam uma grande relevância nos estudos de patologias, pois são ferramentas que podem melhor elucidar diferentes tipos de mecanismo e com boa associação clínica. Porém, estudos em modelos animais a respeito dos efeitos de venenos de

serpentes sobre danos no sistema nervoso central e suas repercussões cognitivas e comportamentais ainda não foram relatados na literatura. Sendo assim, estudos pré-clínicos sobre a temática são de elevado interesse clínico e de saúde pública, uma vez que favorecerão a melhor compreensão da patofisiologia de acidentes ofídicos, e a ocorrência de patologias neurológicas secundárias.

Assim, a pesquisa sobre o envenenamento por *Bothrops atrox* é essencial não só para melhorar o tratamento dos pacientes envenenados, mas também para avançar no conhecimento sobre as interações entre venenos e o sistema nervoso, com potencial impacto em outras áreas da neurociência.

4 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar alterações neurológicas induzidas pela administração da peçonha de *Bothrops atrox* em camundongos.

4.2 Objetivos específicos

- Avaliar se o veneno de *B. atrox* induz alterações comportamentais em camundongos;
- Avaliar se o veneno de *B. atrox* provoca alterações histopatológicas no hipocampo em camundongos.

5 METODOLOGIA

4.1 Animais

Todos os procedimentos realizados neste estudo passaram pela avaliação e aprovação da Comissão de Ética para o Uso de Animais (CEUA), sob protocolo LTBC de número 9889663.

Foram utilizados 56 camundongos Balb/C, machos e fêmeas, com idade entre 8 e 10 semanas, pesando entre 25 e 30g, provenientes do biotério do Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia (INPA). Os camundongos foram mantidos em caixas de acrílico (570 cm²), em condições controladas: de temperatura ($24 \pm 1^\circ\text{C}$), ciclo de luz claro-escuro de 12 horas, sem privação de alimento e água, exceto durante a realização do experimento. A manipulação e tratamento dos animais foram realizados de acordo com protocolos experimentais adotando as normas e aprovação das CEUAs do INPA.

Figura 10 - Condições de alojamento de animais.



Fonte: Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônica (INPA).

5.2 Veneno de *Bothrops atrox*

O veneno de *B. atrox* foi obtido de serpentes adultas (machos e fêmeas) mantidas no Museu da Amazônia (MUSA) em Manaus, AM (mesma localidade de

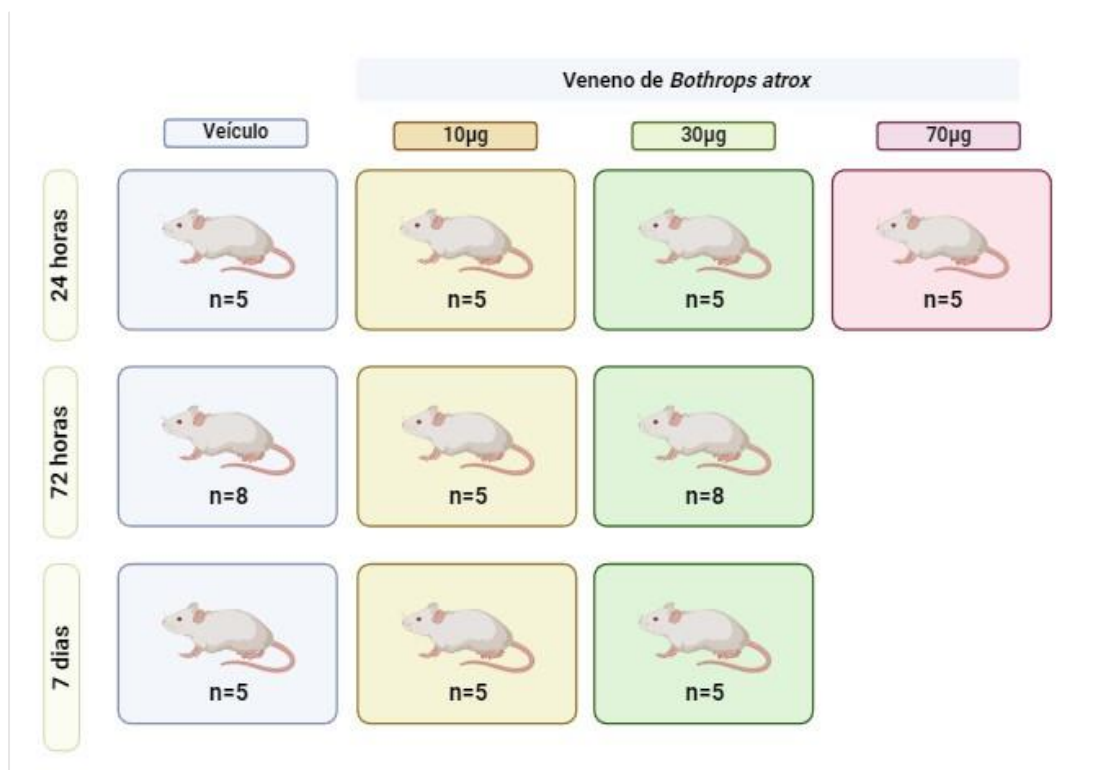
onde foram capturadas), onde se encontra instalado o Biotério Serpentário da Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado (FMT-HVD), catalogado no Cadastro de Instituições de Uso Científico de Animais junto Conselho Nacional de Experimentação Animal (CONCEA) e IBAMA (nº 2065059). Apresenta aprovações junto ao SISBIO (SISBIO-81181-1) e Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) (parecer no 001267/2022.018/FMT-HVD/CEUA).

5.3 Procedimentos experimentais

Para a realização dos procedimentos experimentais, os animais foram organizados em diferentes grupos, com o objetivo de avaliar os efeitos do veneno de *B. atrox* em diferentes concentrações e tempos.

Cada grupo recebeu uma dose específica de veneno (10µg, 30 µg e 70 µg) via intraperitoneal (IP) (BARROS et al., 1998), além do grupo controle que não recebeu a substância. Após a administração do veneno, os grupos se mantiveram expostos ao veneno por períodos distintos: 24 horas, 72 horas e 7 dias, e então submetidos ao teste de score de severidade neurológica. Essa abordagem permitiu observar não apenas a resposta imediata dos animais ao veneno, mas também os efeitos a longo prazo da exposição. A distribuição dos grupos e a dosagem aplicada estão ilustradas na figura 11, proporcionando uma visualização clara do desenho experimental adotado.

Figura 11 - Distribuição de doses de veneno x tempo.



Fonte: próprio autor.

4.3.1 Score de severidade neurológica (SSN)

Desenvolvido para avaliar o impacto funcional pós-operatório em camundongos, sendo uma ferramenta de grande utilidade para avaliar o perfil de perda funcional cerebral e, posteriormente, a recuperação por livre estímulo ou por indução de drogas. (FLIERL et al., 2009; JI et al., 2017) De acordo com Flierl e colaboradores, no ano de 2010 foi padronizado o protocolo que se aplica a testes experimentais em camundongos que contempla 10 tarefas distintas para análise da habilidade motora, equilíbrio e alerta. As tarefas foram realizadas nas dependências do biotério central do INPA seguindo a sequência descrita na tabela 6. Atividades como equilíbrio e caminhada em viga foram realizadas com o auxílio do Beam Walking Test (Figura 12).

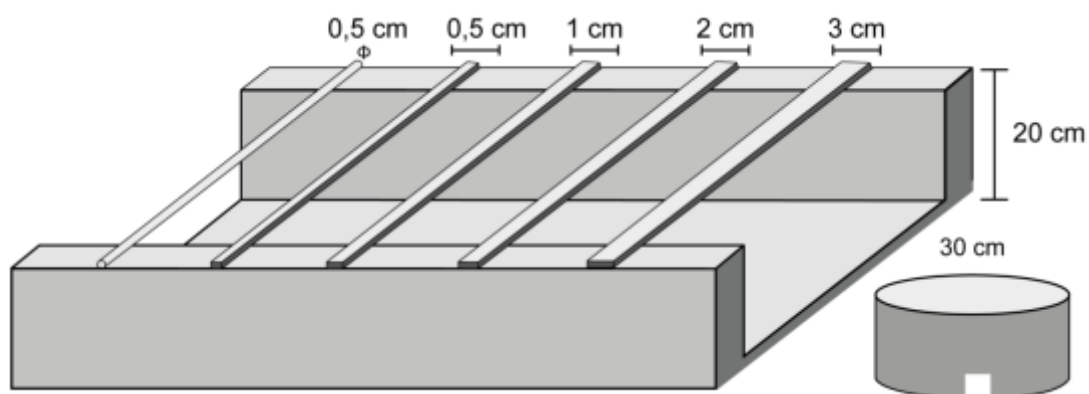
Para cada tarefa foi atribuída uma nota 1 ou 0 (1 para falha de execução da tarefa e 0 para sucesso). Desse modo, o score varia entre 0 para animais saudáveis ou sem injúria cerebral e 10 para animais severamente impactados (Tabela 6).

Tabela 6. Score de severidade neurológica após a administração do veneno de *B. atrox* em camundongos.

Tarefa	Descrição	Pontuação
Sair de um círculo	Habilidade e iniciativa de sair de uma arena circular em 3 min	0/1
Monoparesia/hemiparesia	Paresia de membro inferior ou superior	0/1
Caminhada reta	Iniciativa e habilidade motora de caminhar em linha reta	0/1
Reflexo de susto	Reflexo inato: o camundongo irá pular em resposta a uma palma forte	0/1
Comportamento exploratório	Comportamento fisiológico com sinal de interesse pelo ambiente	0/1
Equilíbrio em viga	Habilidade de se equilibrar em uma viga de 7mm por 10 seg.	0/1
Equilíbrio em viga redonda	Habilidade de se equilibrar em uma via redonda de 5mm de diâmetro por 10 seg.	0/1
Caminhar em viga de 3cm	Habilidade de atravessar uma viga de 30cm de comprimento e 3cm de largura	0/1
Caminhar em viga de 2cm	Mesma tarefa anterior com largura de 2 cm	0/1
Caminhar em viga de 1cm	Mesma tarefa anterior com largura de 1 cm	0/1
TOTAL		0 a 10

Fonte: Flierl et al., 2009.

Figura 12 - Beam Walking Test. Aparato de avaliação do comportamento motor em lesões neurológicas.



Fonte: Peres (2021).

4.3.2 Processamento Histológico

Finalizadas as atividades descritas anteriormente, os animais foram submetidos à eutanásia sendo anestesiados com tribromoetanol (0,1ml para cada 10g /peso animal) e tendo o tórax aberto para realização de perfusão trans cardíaca através do ventrículo esquerdo. Em seguida, foram decapitados e seus cérebros retirados, mantidos em formol tamponado a 10%.

Todas as amostras foram processadas no Laboratório de Histologia Funcional do Instituto de Ciências Biológicas na Universidade Federal do Amazonas (Figura 13).

Figura 13 - Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da Universidade Federal do Amazonas (UFAM).



Fonte: próprio autor.

Para o processamento histológico, os encéfalos foram retirados da solução de formol, cortou-se a porção posterior e aproximadamente 2mm da parte rostral com o auxílio de um bisturi. Posteriormente, foram colocados em cassetes histológicos e identificados para continuidade do processo (Figura 14).

Figura 14 - Processamento das amostras para análise histológica.



Fonte: próprio autor.

Iniciou-se a etapa de desidratação e clarificação, adaptada de acordo com o tipo de material processado, com banhos periodizados e em diferentes concentrações de álcool e xilol. As amostras passaram pela bateria de desidratação na seguinte sequência: álcool 70%, álcool 80%, álcool 96%, álcool absoluto e xilol, permanecendo cerca de 30 minutos em cada.

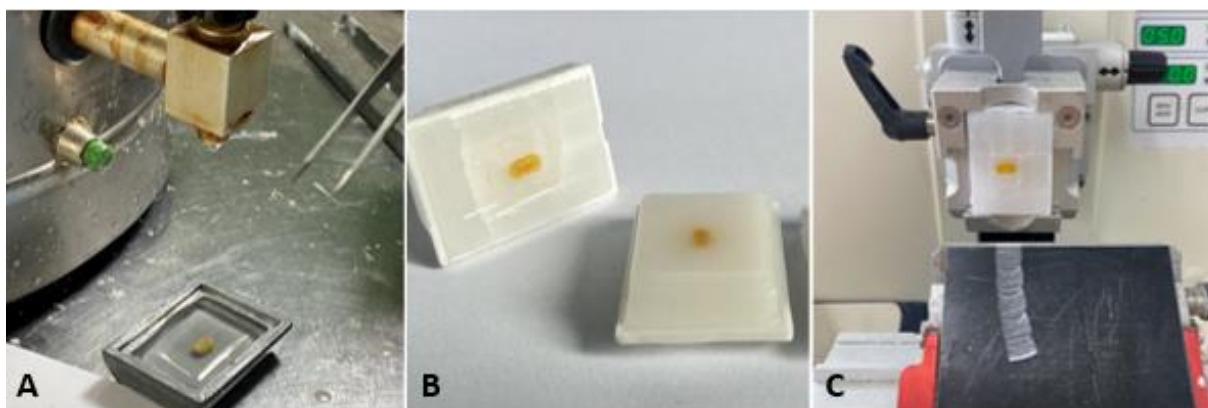
Figura 15 - Bateria de desidratação.



Fonte: próprio autor.

Seguiu-se para a etapa de impregnação, onde as amostras passaram por dois banhos de parafina líquida na estufa a 60°C por 60 min/cada e após, foram emblocadas. Foram realizados cortes coronais 5 micrômetros em micrótomo RM-2245 (Leica—Wetzlar, Germany). Os cortes foram colocados em banho maria, com temperatura entre 30°C e 40°C, para o estiramento das fitas com tecido cerebral e fixação das lâminas.

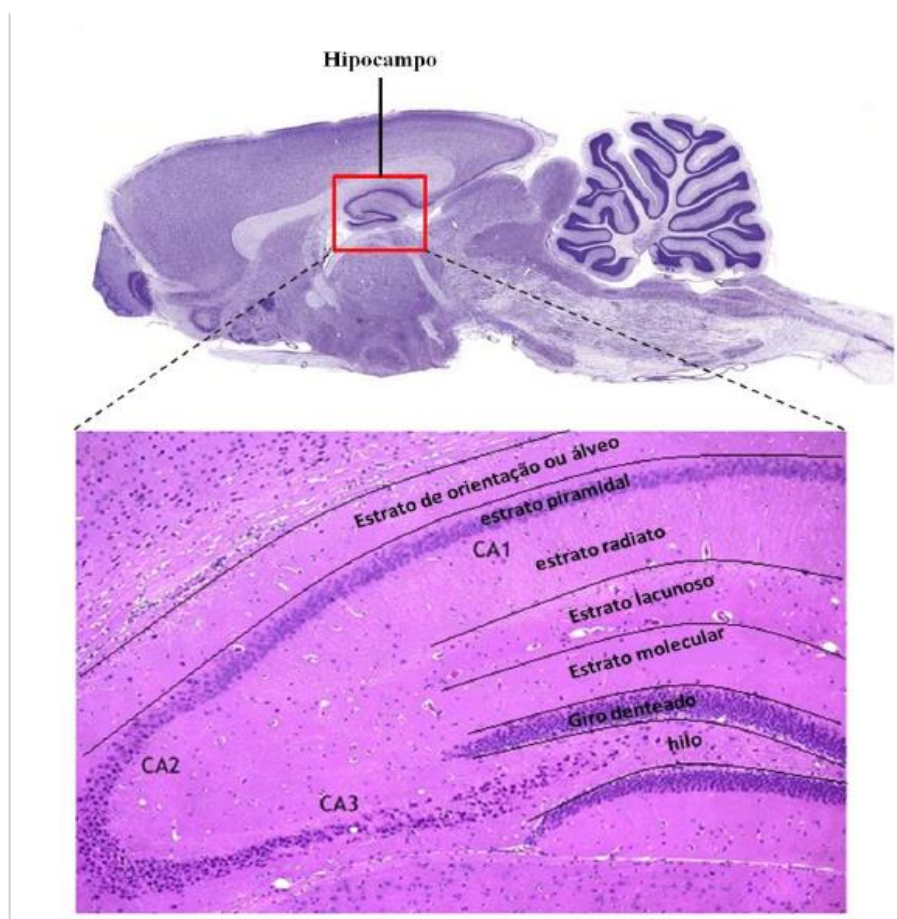
Figura 16 - Procedimento histológico. A. Amostra sendo emblocada. B. Amostras em blocos de parafina prontas para corte. C. Corte de amostra no micrótomo.



Fonte: próprio autor.

Após estes procedimentos histológicos, as lâminas obtidas do tecido neuronal foram coradas com hematoxilina e eosina (HE) e analisadas em microscópio DM500 (Leica) acoplado a um sistema de câmera wi-fi Leica ICC50, utilizando o software LAS EZ versão 3.4.0. Os cortes foram analisados na região do hipocampo, compreendendo a área do corno de Ammon e estrato hipocampal.

Figura 17 - Representação do hipocampo. As regiões CA1, CA2 e CA3 compreendem a área do corno de Ammon.



Fonte: Adaptado de Deltagen; Mikula et al. (2007).

A análise histopatológica foi realizada baseada nos seguintes achados: vacuolização tissular, degeneração neuronal com halo perinuclear e edema. Cada critério foi categorizado em: ausente; brando; moderado e severo. O patologista responsável pelas análises não teve acesso prévio ao tratamento dos animais.

5.3.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os resultados serão representados pela média $\pm$ o erro padrão e serão analisados usando o GraphPadPrism. As análises foram feitas, de acordo com o grupo experimental, por ANOVA de uma ou duas vias seguido do pós-teste de Dunnett. Em todos os casos, diferenças com $p < 0,05$ foram consideradas significativas.

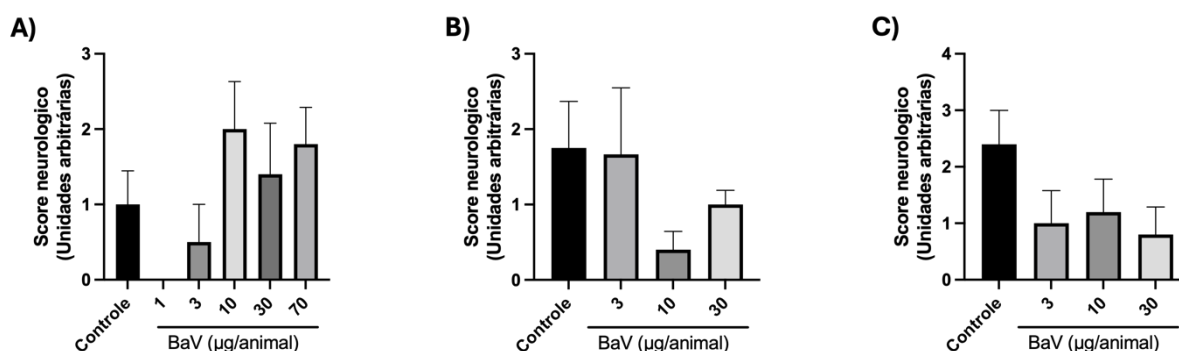
6 RESULTADOS

Os camundongos Balb/C foram inoculados via IP com diferentes doses de Vba e solução salina para o grupo controle. Os animais que receberam a dose de 70 µg do veneno não sobreviveram após 24 horas, dessa forma esta dosagem não foi mais utilizada nos tempos seguintes. Os que sobreviveram à exposição o veneno, não apresentaram sinais clínicos aparentemente significativos. No entanto, seus cérebros foram submetidos a análises histopatológicas com intuito de rastrear e identificar possíveis alterações desencadeadas.

5.1 Score de Severidade Neurológica

Após análise dos dados coletados nos grupos, constatou-se que não foram encontradas significâncias estatísticas entre as variáveis estudadas. Os resultados da pesquisa revelaram que as diferenças observadas nos comportamentos dos grupos não alcançaram níveis de relevância estatística, indicando que as variações encontradas podem ter ocorrido por mero acaso ou devido a fatores não identificados nesta investigação (Figura 18). Essa constatação ressalta a importância de investigações futuras a fim de obter uma compreensão mais completa e precisa do fenômeno em questão.

Figura 18 - Score de alterações neurológicas. Animais administrados com veículo ou BaVVba em diferentes concentrações foram avaliados quanto a alterações neurológicas (mouse closed head injury model) em 24h (A), 72h (B) e 7 dias (C). Os resultados foram expressos

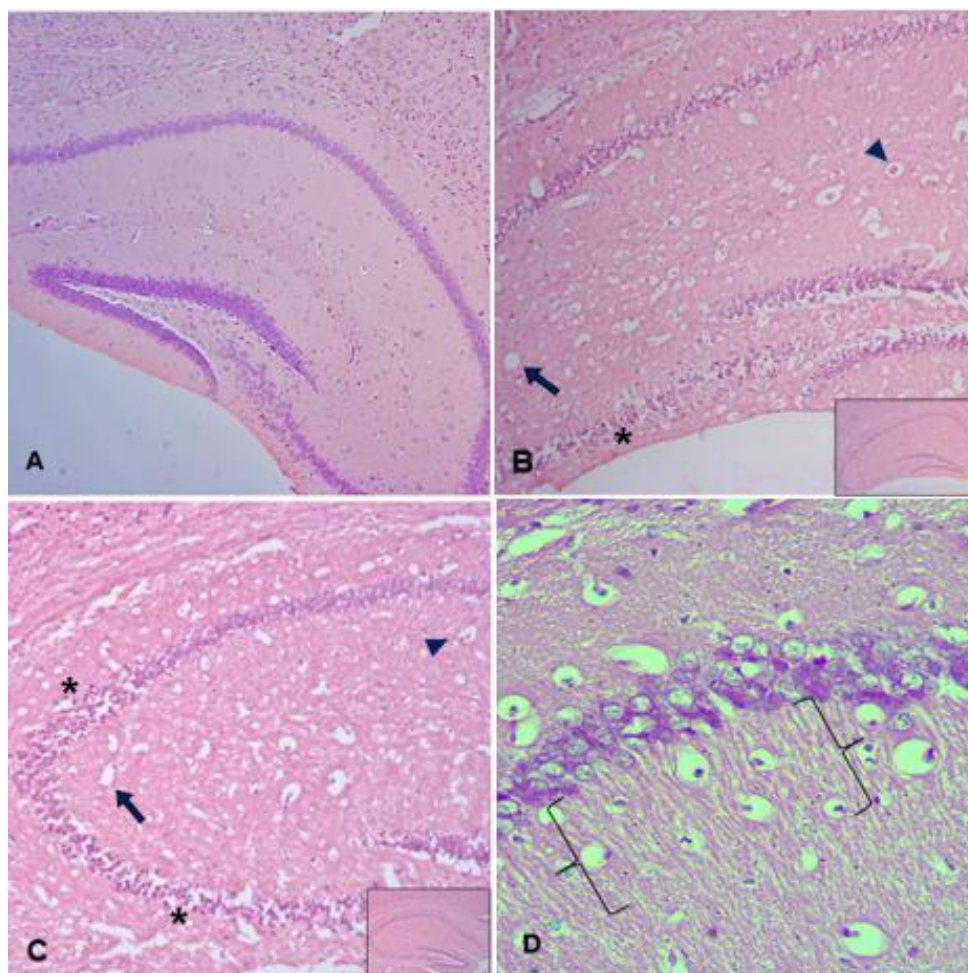


Fonte: *próprio autor.*

6.2 Avaliação histopatológica do cérebro de camundongos

A leitura das lâminas foi realizada com a colaboração de um patologista, em um procedimento às cegas, com o objetivo de identificar quaisquer alterações histológicas presentes. Essa abordagem garantiu a imparcialidade na avaliação, permitindo um levantamento minucioso das alterações observadas. Ao avaliar a região do hipocampo foi observado que os camundongos envenenados apresentaram algumas alterações perceptíveis, como a presença de vacúolos tissulares pela extensão dos estratos, que tendem a aumentar em resposta a estímulos externos ou lesões; degeneração neuronal com halo perinuclear, representada pela cabeça de seta nas figuras 19B e 19C e edema.

Figura 19. Seções representativas cortes histológicos de cérebros de camundongos tratados com solução salina (Cont) ou Vba (10, 30 ou 70µg/animal i.p.) avaliados 24 e 72h. As figuras A-D são representativas de cortes aleatórios entre os grupos, ilustrando cortes considerados sem alterações (A), alterações leves (B), moderadas (C) e intensa (D). Setas representam vacuolização tissular, cabeça da seta representa degeneração neuronal com halo perinuclear, asterisco representa neurônios irregulares e área entre chaves representa edema.



Fonte: próprio autor.

7 DISCUSSÃO

Os presentes resultados preliminares sugerem que a administração sistêmica do veneno de *B. atrox* em camundongos pode prejudicar o perfil funcional cerebral desses animais, incluindo tarefas motoras, de equilíbrio e de alerta. Tais alterações parecem ser transitórias, uma vez que o desempenho dos animais no teste do SSN foi pior 24 horas após a administração, em comparação aos testes realizados 72 horas ou 7 dias após a administração do veneno.

O teste de Score de Severidade Neuronal é usualmente realizado para avaliar a gravidade da injúria cerebral traumática em modelos animais, como uma forma de mensurar as perdas das funções cerebrais relacionadas a diferentes fatores causais (FLIERL, 2009; TSETER, 2007), assim como para avaliar os efeitos de intervenções terapêuticas (BENI-ADANI *et al.*, 2001; PANIKASHVILI *et al.*, 2001; BENI *et al.*, 2004; BIEGON *et al.*, 2004; YATSIV *et al.*, 2005). O SSN é baseado na habilidade dos camundongos em realizar 10 diferentes tarefas que avaliam a função motora e neurocomportamental em roedores. O SSN é de interpretação objetiva e relativamente independente da avaliação subjetiva do investigador individual, o que evita o surgimento de viés.

Trabalhos da literatura descrevem que o grau de comprometimento neurológico após trauma, avaliado através do Score de Severidade Neuronal, já apresenta alterações perceptíveis nas primeiras 24 horas após o trauma, sendo que, posteriormente, observa-se uma recuperação espontânea parcial dentro do período de uma semana (STAHEL *et al.*, 2000; BENI-ADANI *et al.*, 2001; LEINHASE *et al.*, 2007). Os dados do presente trabalho corroboram tais achados, uma vez que o desempenho dos animais mensurado pelo SSN representa maior comprometimento exatamente no grupo testado 24 horas após a administração do veneno. Já os grupos testados 72 horas e 7 dias após a administração apresentam uma recuperação progressiva da performance no teste. Se faz importante destacar que a comparação do desempenho do grupo controle entre esses mesmos tempos de teste apresentou um perfil de desempenho oposto, sendo que os animais testados 7 dias após a administração do veículo apresentaram um prejuízo de performance no teste em comparação ao grupo também tratado com veículo e testado após 24 horas.

Dados da literatura mostram que a perda de memória (especialmente memória

anterógrada, que representa uma dificuldade em armazenar ou recuperar novas informações) e disfunções neurocomportamentais estão entre as sequelas decorrentes de injúrias cerebrais, tanto em modelos animais quanto em humanos (TSETER, 2007; SALMOND *et al.*, 2005). Nesse sentido, considerando a administração de Vba como um fator causal de injúria cerebral, pode-se considerar que a possível perda de memória no grupo tratado potencializou a melhora no desempenho dos animais ao longo dos dias.

Desse modo, o grupo testado 72 horas ou 7 dias após a administração do veneno não teria consolidado a memória estressante relacionada à administração e manipulação, além do estresse do próprio adoecimento e do convívio em homecage com outros animais agudamente adoecidos. Nesse mesmo sentido, podemos sugerir que os animais do grupo controle, que não tiveram a perda de memória anterógrada vivenciaram o estresse e o adoecimento de maneira mais intensa, o que pode ter contribuído para a perceptível piora no desempenho do grupo controle quanto maior o tempo percorrido entre a administração e o teste.

Apesar de o estresse não ser considerado diretamente uma causa de lesão ou injúria cerebral, sabe-se que este aumenta níveis de glutamato em estruturas cerebrais como córtex pré-frontal e hipocampo (POPOLI *et al.*, 2011; SEARS, S.M, HEWETT, S. J, 2021; MUSAZZI *et al.*, 2011). Adicionalmente, dados consistentes da literatura relacionam excesso de glutamato com dano neuronal (NEVES *et al.*, 2023; LAU A, TYMIANSKI M., 2010). Portanto, pode-se especular que o estresse foi um fator responsável, pelo menos em parte, pela alteração no Score dos grupos controle quando comparados entre si, nos 3 tempos de intervalo entre a administração e o teste.

Sabe-se que modelos animais de injúria cerebral não são desenvolvidos com base na exposição dos animais a fatores estressantes, porém, estes últimos tem clara relação com as consequências neurológicas do dano neuronal (HOWLETT *et al.*, 2022). Não podemos deixar de considerar que outros fatores podem ter influenciado no fato de o resultado do SSN ter sido diferente nos grupos controle quando testados 24h, 72h ou 7 dias após a administração do veneno. Tal alteração pode estar influenciando nossos resultados.

Vale destacar que foi observada uma ampla variação individual no score entre os animais do mesmo grupo (tanto no controle quanto nos administrados com o veneno). Essa alteração pode ser explicada por vários fatores, dos quais podemos citar a escolha da linhagem usada e fatores ambientais. Além do fato de o número de animais usados ter sido relativamente reduzido. Flierl e colaboradores (2008) realizaram a padronização de um modelo de injúria cerebral em camundongos na linhagem C57BL6, discutindo que o impacto neurológico da injúria pode ser variável entre linhagens e até mesmo entre animais knockouts.

Após a análise do SSN, que fornece uma avaliação quantitativa das deficiências motoras e comportamentais em camundongos, torna-se imprescindível investigar as alterações subjacentes que podem estar contribuindo para essas manifestações. Nesse contexto, a investigação histológica desempenha um papel crucial na compreensão dos mecanismos patológicos envolvidos. Por meio desta, é possível identificar as alterações morfológicas em neurônios e outros tipos celulares, como a presença de vacuolização, degeneração e inflamação, assim como a avaliação da integridade das redes neuronais, crucial para a plasticidade sináptica e a manutenção das funções cognitivas. Essas alterações podem ser indicativas de processos de neurotoxicidade ou neurodegeneração, que são frequentemente associados à diversos distúrbios, incluindo à depressão (TOGHYANI *et al.*, 2021). Adicionalmente, possibilita avaliar também as alterações na arquitetura cerebral em resposta a intervenções de interesse científico, permitindo identificar regiões cerebrais alvo específicas. O mapeamento de áreas como o hipocampo, córtex pré-frontal e amígdala fornece dados valiosos sobre como as disfunções em diferentes circuitos neuronais se correlacionam com comportamentos alterados, como ansiedade e déficits de memória (DUMONT *et al.*, 2018).

Como resultado da análise histológica, observaram-se alterações degenerativas relevantes em neurônios hipocampais. A presença de vacuolização tissular, edema e degeneração neuronal nas camadas CA2 e CA3 do hipocampo sugere um comprometimento funcional dessas regiões, que são cruciais para processos de memória e aprendizado.

Estudos já demonstraram a importância do hipocampo para o aprendizado e memória (PEROSA *et al.*, 2020; WALL, P.M.; MESSIER, C., 2001), além de estar envolvido na modulação da habilidade motora por meio da integração de informações

sensoriais e motoras. A ativação hipocampal pode influenciar na execução de tarefas motoras complexas, como a coordenação motora fina e o controle do movimento (GHEYSEN *et al.*, 2010). Do mesmo modo, a sua disfunção tem sido associada a dificuldades no equilíbrio e na coordenação, especialmente em condições que afetam a neuroplasticidade, como a idade avançada ou lesões cerebrais (RAMANOËL *et al.*, 2019). A importância do hipocampo no perfil funcional cerebral é inegável, pois ele integra e modula habilidades motoras, de equilíbrio e de alerta.

Algumas regiões do encéfalo são mais suscetíveis ao dano neuronal quando comparadas a outras regiões, sendo o hipocampo a região mais vulnerável e mesmo dentro de sua estrutura as alterações celulares não são uniformes (SCHREIBER e BAUDRY, 1995). Trabalhos anteriores com roedores (KIRINO, 1982; PULSINELI *et al.*, 1982) e com humanos (PETITO *et al.*, 1987; HORN e SCHLOTE, 1992) mostraram que um quadro isquêmico causou a morte seletiva de neurônios no hipocampo entre 24 a 72 horas após o evento, principalmente nas regiões CA1 e CA2. Apesar da morte neuronal, as demais células astrogliais e vasculares sobreviveram.

Outros autores já demonstraram que a vacuolização neuronal é frequentemente associada à morte celular programada (apoptose) e à neurodegeneração (PESTANA, 2010; CASTAGNA *et al.*, 2016). O edema cerebral, por sua vez, é um indicativo de disfunção da barreira hematoencefálica, que pode resultar em alterações homeostáticas que favorecem a excitotoxicidade, especialmente em resposta a insultos neurotóxicos como a administração de veneno de cobra (VBa) (ARCHIE *et al.*, 2021).

O presente trabalho foi realizado utilizando técnica histológica convencional, com coloração em hematoxilina-eosina (HE), amplamente empregada para uma avaliação abrangente das alterações morfológicas teciduais. Embora a coloração HE forneça informações valiosas sobre a arquitetura celular e a presença de lesões, uma análise mais robusta dos processos patológicos seria alcançada com a aplicação da imunohistoquímica. Esta técnica permitiria a identificação específica de proteínas e marcadores moleculares relevantes, complementando os dados existentes e validando de forma mais precisa as alterações neuronais observadas.

8 CONCLUSÃO

A análise dos acidentes ofídicos envolvendo *Bothrops atrox* revela a complexidade das ações locais e sistêmicas do veneno, que podem provocar danos neuronais significativos e, conseqüentemente, alterações comportamentais nos indivíduos afetados. Embora os resultados do teste de severidade neurológica tenham se mostrado ambíguos, indicam um possível comprometimento do perfil funcional cerebral, sugerindo que a exposição ao veneno pode afetar negativamente funções cognitivas e motoras. As análises histológicas corroboram essa hipótese, evidenciando a presença de edema, vacuolização tissular e degeneração neuronal. Tais achados reforçam a necessidade de uma investigação mais detalhada sobre os efeitos diretos ou indiretos do veneno de *B. atrox* no SNC, em relação aos mecanismos fisiopatológicos envolvidos e impactos clínicos dos mesmos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AL-MAMUN, M. A. et al. Histopathological alterations induced by *Naja naja* crude venom on renal, pulmonary and intestinal tissues of mice model. **British Biotechnology Journal**, v. 6, n. 3, p. 119-125, 2015.
- 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 2019.
- ARCHIE, Sabrina Rahman; AL SHOYAIB, Abdullah; CUCULLO, Luca. Blood-brain barrier dysfunction in CNS disorders and putative therapeutic targets: an overview. *Pharmaceutics*, v. 13, n. 11, p. 1779, 2021.
- ARIS KOUYOUMDJIAN, J. et al. Fatal extradural haematoma after snake bite (*Bothrops moojeni*). São Paulo: [s.n.].
- ARONOWSKI, J.; ZHAO, X. Molecular pathophysiology of cerebral hemorrhage: Secondary brain injury. *Stroke*, 2011.
- BARLOW, A. et al. Coevolution of diet and prey-specific venom activity supports the role of selection in snake venom evolution. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, v. 276, n. 1666, p. 2443–2449, 7 2009.
- BARROS, S. F. et al. Local inflammation, lethality and cytokine release in mice injected with *Bothrops atrox* venom. *Mediators of Inflammation*, v. 7, n. 5, p. 339–346, 1998.
- BASHIR, R.; JINKINS, J. Cerebral infarction in a young female following snake bite. *Stroke*, v. 16, n. 2, p. 328–330, 1985.
- BENI, S. M. et al. Melatonin-induced neuroprotection after closed head injury is associated with increased brain antioxidants and attenuated late-phase activation of NF- κ B and AP-1. **The FASEB Journal**, v. 18, n. 1, p. 149-151, 2004.
- BENI-ADANI, L.; GOZES, I.; COHEN, Y.; et al. A peptide derived from activity-dependent neuroprotective protein (ADNP) ameliorates injury response in closed head injury in mice. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 296, n. 1, p. 57-63, 2001.
- BHAUMIK, S. et al. Mental health conditions after snakebite: A scoping review. **BMJ Global Health**, 30 nov. 2020.
- BHAUMIK, S.; JAGADESH, S.; LASSI, Z. Quality of WHO guidelines on snakebite: The neglect continues. **BMJ Global Health**, 1 mar. 2018.
- BIEGON, A. et al. Dynamic changes in N-methyl-D-aspartate receptors after closed head injury in mice: implications for treatment of neurological and cognitive deficits. **PNAS**, v. 101, n. 14, p. 5117-5122, 2004.

BJARNASON, J. B.; FOX, J. W. Hemorrhagic metalloproteinases from snake venoms. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 62, n. 3, p. 325–372, jan. 1994.

BORGES, C. C.; SADAHIRO, M.; SANTOS, M. C. DOS. Aspectos epidemiológicos e clínicos dos acidentes ofídicos ocorridos nos municípios do Estado do Amazonas. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 32, n. 6, p. 637–646, dez. 1999.

BURKI, T. Resolution on snakebite envenoming adopted at the WHA. **The Lancet**, v. 391, p. 2311, 2018.

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, 1 abr. 2011.

CÂMARA, O. F. et al. Ophidian envenomings in a region of Brazilian western Amazon. **Journal of Human Growth and Development**, v. 30, n. 1, p. 120–128, 2020.

CAMPOS, A. C. et al. Animal models of anxiety disorders and stress. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 35, n. SUPPL.2, 2013.

CASTAGNA, C.; MERIGHI, A.; LOSSI, L. Cell death and neurodegeneration in the postnatal development of cerebellar vermis in normal and Reeler mice. **Annals of Anatomy**, v. 207, p. 76–90, 2016. DOI: 10.1016/j.aanat.2016.01.010.

CHEMERINSKI, E.; ROBINSON, R. G. The neuropsychiatry of stroke. **Psychosomatics**, v. 41, n. 1, p. 5–14, 2000.

CHIPPAUX, J. P. Snake-bites: appraisal of the global situation. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 76, n. 5, p. 515–24, 1998.

CHIPPAUX, J. P. Estimate of the burden of snakebites in sub-Saharan Africa: A meta-analytic approach. **Toxicon**, v. 57, n. 4, p. 586–599, 15 mar. 2011.

CHIPPAUX, J. P. Epidemiology of envenomations by terrestrial venomous animals in Brazil based on case reporting: From obvious facts to contingencies. **Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases**, v. 21, n. 1, 2015.

CHIPPAUX, J. P. Incidence and mortality due to snakebite in the Americas. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 11, n. 6, 21 jun. 2017.

DAVIDSON, R. J.; IRWIN, W. The functional neuroanatomy of emotion and affective style. **Trends in Cognitive Sciences**, v. 3, n. 1, p. 11–21, jan. 1999.

DE OLIVEIRA, H. F. A. et al. Snakebite cases in the municipalities of the State of Paraíba, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 46, n. 5, p. 617–624, set. 2013.

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.

Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, v. 98, n. 1, p. 28–42, 2004.

DEL BRUTTO, O. H. Neurological effects of venomous bites and stings. Snakes, spiders, and scorpions. Em: **Handbook of Clinical Neurology**. [s.l.] Elsevier B.V., 2013. v. 114p. 349–368.

DEL BRUTTO, O. H.; DEL BRUTTO, V. J. Neurological complications of venomous snake bites: A review. **Acta Neurologica Scandinavica**, jun. 2012.

DELGADO, A. B. T. et al. Hemorrhagic stroke secondary to *Bothrops* spp. venom: A case report. **Toxicon**, 2017.

DIAS DA SILVA, W. et al. **Antibodies as Snakebite Antivenoms: Past and Future**. **ToxinsMDPI**, , 1 set. 2022.

DÍAZ, C. et al. Characterization of events associated with apoptosis/anoikis induced by snake venom metalloproteinase BaP1 on human endothelial cells. **Journal of Cellular Biochemistry**, v. 94, n. 3, p. 520–528, 15 fev. 2005.

DUMONT, J. et al. Mechanisms of neurodegeneration. **Journal of Neuroscience Research**, 2018.

EL-AZIZ, T. M. A.; SOARES, A. G.; STOCKAND, J. D. **Snake venoms in drug discovery: Valuable therapeutic tools for life saving**. **Toxins**, 25 set. 2019.

ESCALANTE, T. et al. Novel insights into capillary vessel basement membrane damage by snake venom hemorrhagic metalloproteinases: A biochemical and immunohistochemical study. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 455, n. 2, p. 144–153, 15 nov. 2006.

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.

FILE, S. E. Factors controlling measures of anxiety and responses to novelty in the mouse. **Behavioural Brain Research**, v. 125, n. 1–2, p. 151–157, nov. 2001.

FLIERL, M. A. et al. Mouse closed head injury model induced by a weight-drop device. **Nature Protocols**, v. 4, n. 9, p. 1328–1337, 2009.

FRIEDRICH, M. J. Efforts to Address Snakebite. **JAMA**, v. 320, n. 3, p. 227, 17 jul. 2018.

FRY, B. G. et al. **Evolution and diversification of the Toxicofera reptile venom system**. **Journal of Proteomics**, 6 mar. 2009.

FUNK, C. et al. Reptilase®-R - A New Reagent in Blood Coagulation. **British Journal of Haematology**, v. 21, n. 1, p. 43–52, jul. 1971.

GAINOTTI, G.; MARRA, C. Determinants and consequences of post-stroke depression. **Current Opinion in Neurology**, v. 15, n. 1, p. 85–89, fev. 2002.

GHEYSEN, Freja et al. Hippocampal contribution to early and later stages of implicit motor sequence learning. **Experimental brain research**, v. 202, p. 795-807, 2010.

GILSANZ, P. et al. Changes in Depressive Symptoms and Incidence of First Stroke Among Middle-Aged and Older US Adults. **Journal of the American Heart Association**, v. 4, n. 5, 1 maio 2015.

GUPTA, S.; TEWARI, A.; NAIR, V. Cerebellar infarct with neurogenic pulmonary edema following viper bite. **Journal of Neurosciences in Rural Practice**, v. 3, n. 1, p. 74–76, jan. 2012.

GUTIÉRREZ, J. M. et al. Strengthening antivenom production in Central and South American public laboratories: Report of a workshop. **Toxicon**, v. 49, n. 1, p. 30–35, jan. 2007.

GUTIÉRREZ, J. M. et al. Stability, distribution and use of antivenoms for snakebite envenomation in Latin America: Report of a workshop. **Toxicon**, v. 53, n. 6, p. 625–630, maio 2009.

GUTIÉRREZ, J. M. et al. **Snakebite envenoming from a global perspective: Towards an integrated approach**. **Toxicon**, 15 dez. 2010.

GUTIÉRREZ, J. M. **Understanding and confronting snakebite envenoming: The harvest of cooperation**. **Toxicon**, 1 jan. 2016.

GUTIÉRREZ, J. M. et al. Snakebite envenoming. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 3, n. 1, 14 set. 2017.

GUTIÉRREZ, J. M.; LOMONTE, B. **Phospholipases A2: Unveiling the secrets of a functionally versatile group of snake venom toxins**. **Toxicon**, fev. 2013.

HABIB, A. G. et al. Snakebite is Under Appreciated: Appraisal of Burden from West Africa. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 9, n. 9, 23 set. 2015.

HABIB, Z. G. et al. Posttraumatic stress disorder and psycho-social impairment following snakebite in Northeastern Nigeria. **International Journal of Psychiatry in Medicine**, v. 56, n. 2, p. 97–115, 1 mar. 2021.

HALILU, S. et al. Snakebite burden in Sub-Saharan Africa: estimates from 41 countries. **Toxicon**, v. 159, p. 1–4, 1 mar. 2019.

HARRISON, R. A. et al. Snake envenoming: A disease of poverty. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 3, n. 12, dez. 2009.

HORN, M; SCHLOTE, W. Delayed neuronal death and delayed neuronal recovery in the human brain following global ischemia. **Acta Neuropathol.**, v. 85, p. 79-87, 1992.

HORNAK, J.; ROLLS, E. T.; WADE, D. Face and voice expression identification in patients with emotional and behavioural changes following ventral frontal lobe damage. **Neuropsychologia**, v. 34, n. 4, p. 247–261, abr. 1996.

HOWLETT, Jonathon R.; NELSON, Lindsay D.; STEIN, Murray B. Mental health consequences of traumatic brain injury. **Biological psychiatry**, v. 91, n. 5, p. 413-420, 2022.

HUANG, T. I.; HSIEH, C. L. Effect of traditional Chinese medicine on long-term outcomes of snakebite in Taiwan. **Toxins**, 2020.

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, 21 maio 2015.

ISLAM, A. T. et al. Snake bites with Neuropsychiatric Presentation — A Study in Hill Tracts of Bangladesh. **Journal of Enam Medical College**, v. 8, n. 1, p. 20–24, 7 fev. 2018.

JACOB-FERREIRA, A. L. et al. Evaluation of the in vivo thrombolytic activity of a metalloprotease from *Bothrops atrox* venom using a model of venous thrombosis. **Toxicon**, v. 109, p. 18–25, 1 jan. 2016.

JI, X. et al. Astaxanthin improves cognitive performance in mice following mild traumatic brain injury. **Brain Research**, v. 1659, p. 88–95, 15 mar. 2017.

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, jan. 1989.

KANG, T. S. et al. Enzymatic toxins from snake venom: Structural characterization and mechanism of catalysis. **FEBS Journal**, dez. 2011.

KASTURIRATNE, A. et al. The global burden of snakebite: A literature analysis and modelling based on regional estimates of envenoming and deaths. **PLoS Medicine**, nov. 2008.

KEEP, R. F.; HUA, Y.; XI, G. Intracerebral haemorrhage: Mechanisms of injury and therapeutic targets. **The Lancet Neurology**, 2012.

KHOSROJERDI, H.; AMINI, M. Acute and Delayed Stress Symptoms Following Snakebite. **Asia Pac J Med Toxicol**, v. 2, p. 104–144, 2013.

KIM, Y. R. et al. Studies on the animal model of post-stroke depression and application of antipsychotic aripiprazole. **Behavioural Brain Research**, v. 287, p. 294–303, 1 jul. 2015.

KIRINO, T; SANO, K. Selective vulnerability in the gerbil hippocampus following transient ischemia. **Acta Neuropathol**. v. 62, p. 201-8, 1984a.

KNUDSEN, C. et al. Snakebite Envenoming Diagnosis and Diagnostics. **Frontiers in Immunology**, 28 abr. 2021.

KOIVUNEN, R. J. et al. Depression, anxiety, and cognitive functioning after intracerebral hemorrhage. **Acta Neurologica Scandinavica**, v. 132, n. 3, p. 179–184, 2015.

KORDIŠ, D.; GUBENŠEK, F. Adaptive evolution of animal toxin multigene families. **Gene**, v. 261, n. 1, p. 43–52, dez. 2000.

KOUYOUMDJIAN, J. A. et al. Fatal extradural haematoma after snake bite (*Bothrops moojeni*). **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 85, n. 4, p. 552, jul. 1991.

KULARATNE, S. A. M.; SENANAYAKE, N. Venomous snake bites, scorpions, and spiders. Em: [s.l: s.n.]. p. 987–1001.

KUTLUBAEV, M. A.; HACKETT, M. L. Part II: Predictors of depression after stroke and impact of depression on stroke outcome: An updated systematic review of observational studies. **International Journal of Stroke**, v. 9, n. 8, p. 1026–1036, 1 dez. 2014.

LARRÉCHÉ, S. et al. Bleeding and thrombosis: Insights into pathophysiology of bothrops venom-related hemostasis disorders. **International Journal of Molecular Sciences** 1 set. 2021.

LAU, Anthony; TYMIANSKI, Michael. Glutamate receptors, neurotoxicity and neurodegeneration. **Pflügers Archiv-European Journal of Physiology**, v. 460, p. 525–542, 2010.

LEINHASE, I. et al. Inhibition of the alternative complement activation pathway in traumatic brain injury by a monoclonal anti-factor B antibody: a randomized placebo-controlled study in mice. *Journal of Neuroinflammation*, v. 4, p. 13, 2007.

LENZI, G. L.; ALTIERI, M.; MAESTRINI, I. **Post-stroke depression**. **Revue Neurologique**, out. 2008.

LOPES, F. et al. Brain TNF drives post-inflammation depression-like behavior and persistent pain in experimental arthritis. **Brain, Behavior, and Immunity**, 2020.

LÓPEZ-LOZANO, J. L. et al. Ontogenetic variation of metalloproteinases and plasma coagulant activity in venoms of wild *Bothrops atrox* specimens from Amazonian rain forest. **Toxicon**, v. 40, n. 7, p. 997–1006, jul. 2002.

LOUBINOX, I. et al. Post-stroke depression: Mechanisms, translation and therapy. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, set. 2012.

LUX, D. et al. The association of neutrophil-lymphocyte ratio and lymphocyte-monocyte ratio with 3-month clinical outcome after mechanical thrombectomy following stroke. **Journal of Neuroinflammation**, v. 17, n. 1, 18 fev. 2020.

MACDONALD, R. L.; SCHWEIZER, T. A. **Spontaneous subarachnoid haemorrhage**. **The Lancet**, 2017.

MACHADO, A. S. et al. Acidente vascular cerebral hemorrágico associado à acidente ofídico por serpente do gênero *Bothrops*: relato de caso. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 43, n. 5, p. 602–604, out. 2010.

MAGALHÃES, C. DOS S.; BALTAR, S. L. S. M. DE A.; RANDAU, K. P. Aspectos Epidemiológicos e Clínicos dos Acidentes Ofídico Ocorridos nos Estados de Alagoas e de Pernambuco. **Revista Saúde e Meio Ambiente-RESMA**, v. 10, n. 1, p. 119–132, jan. 2020.

MARTINS, M. R. C.; MARQUES, O. A. V.; SAZIMA, I. ECOLOGICAL AND PHYLOGENETIC CORRELATES. **Biology of the vipers**, 2022.

MASON, A. J. et al. Venom Gene Sequence Diversity and Expression Jointly Shape Diet Adaptation in Pitvipers. **Molecular Biology and Evolution**, v. 39, n. 4, 2022.

MATSUI, T.; FUJIMURA, Y.; TITANI, K. Snake venom proteases affecting hemostasis and thrombosis. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Protein Structure and Molecular Enzymology**, v. 1477, n. 1–2, p. 146–156, mar. 2000.

MAZZUCCO, L. et al. Platelet-rich plasma and platelet gel preparation using Plateltext®. **Vox Sanguinis**, v. 94, n. 3, p. 202–208, abr. 2008.

MCCLEARY, R. J. R.; KINI, R. M. Non-enzymatic proteins from snake venoms: A gold mine of pharmacological tools and drug leads. **Toxicon**, fev. 2013.

MELCHIOR, L. A. K. et al. **Atualidades em Medicina Tropical na América do Sul: Veterinária**. [s.l.] Stricto Sensus Editora, 2021.

MÉNEZ, A. Functional architectures of animal toxins: a clue to drug design? **Toxicon**, v. 36, n. 11, p. 1557–1572, nov. 1998.

MINÁ, V. A. L. et al. The influence of inflammatory cytokines in physiopathology of suicidal behavior. **Journal of Affective Disorders**, 1 fev. 2015.

MIRAKABADI, Z. A. Purification and partial characterization of a coagulant serine protease from the venom of the Iranian snake *Agkistrodon halys*. 2009.

MISHRA, A. et al. Cerebrovascular Injury Following Scorpion Sting and Snake Envenomation: A Case Series. **Canadian Journal of Neurological Sciences**, v. 45, n. 6, p. 669–674, 1 nov. 2018.

MOHAPATRA, B. et al. Snakebite mortality in India: A nationally representative mortality survey. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 5, n. 4, abr. 2011.

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.

MOREIRA, V. et al. **Inflammatory Effects of Bothrops Phospholipases A2: Mechanisms Involved in Biosynthesis of Lipid Mediators and Lipid Accumulation**. **Toxins** 1 dez. 2021.

MOSQUERA, A. et al. Stroke following Bothrops spp. snakebite. **Neurology**, v. 60, n. 10, p. 1577–1580, 27 maio 2003.

MOURA-DA-SILVA, A. M. et al. Diversity of metalloproteinases in *Bothrops neuwiedi* snake venom transcripts: evidences for recombination between different classes of SVMPs. **BMC Genetics**, v. 12, n. 1, p. 94, 2011.

MUHAMMED, A. et al. Predictors of depression among patients receiving treatment for snakebite in General Hospital, Kaltungo, Gombe State, Nigeria: August 2015. **International Journal of Mental Health Systems**, v. 11, n. 1, 13 abr. 2017.

MURAKAMI, M. et al. Recent progress in phospholipase A2 research: From cells to animals to humans. **Progress in Lipid Research**, abr. 2011.

MUZAZZI, L.; RACAGNI, G.; POPOLI, M. Stress, glucocorticoids and glutamate release: effects of antidepressant drugs. **Neurochemistry International**, v. 59, n. 2, p. 138-149, ago. 2011.

NEVES, D et al. Molecular mechanisms of ischemia and glutamate excitotoxicity. **Life sciences**, v. 328, p. 121814, 2023.

OLAoba, O. T. et al. Snake Venom Metalloproteinases (SVMPs): A structure-function update. **Toxicon: X**, 1 set. 2020.

OLIVEIRA, L. S. et al. Atroxlysin-III, A Metalloproteinase from the Venom of the Peruvian Pit Viper Snake *Bothrops atrox* (Jergón) Induces Glycoprotein VI Shedding and Impairs Platelet Function. **Molecules**, v. 24, n. 19, 26 set. 2019a.

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, 1 jan. 2019b.

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

PANIKASHVILI, D.; SIMEONIDOU, C.; BEN-SHABAT, S.; et al. An endogenous cannabinoid (2-AG) is neuroprotective after brain injury. **Nature**, v. 413, n. 6855, p. 527-531.

PATÍÑO, A. C. et al. Isolation and biological characterization of Batx-I, a weak hemorrhagic and fibrinogenolytic PI metalloproteinase from Colombian Bothrops atrox venom. **Toxicon**, v. 56, n. 6, p. 936–943, nov. 2010.

PELL, M. D.; LEONARD, C. L. Processing emotional tone from speech. **Cognitive, Affective, & Behavioral Neuroscience**, v. 3, p. 275–288, 2003.

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.

PEROSA, Valentina et al. Hippocampal vascular reserve associated with cognitive performance and hippocampal volume. **Brain**, v. 143, n. 2, p. 622-634, 2020.

PESTANA, Rafaela do Rosário Florindo. *Geração de espécies reativas de oxigênio e morte neuronal no modelo de epilepsia do lobo temporal induzido por pilocarpina em ratos*. 2010. Tese de Doutorado (Doutorado em Neurociências) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

PETITO, C.K.; FELDMANN, E.; PULSINELL, W.A.; PLUM, F.A. Delayed hippocampal damage in humans following cardiorespiratory arrest. **Neurology**, v. 37, p. 1281-86, 1987.

PINHO, F. M. O.; DE ALMEIDA BURDMANN, E. Fatal cerebral hemorrhage and acute renal failure after young *Bothrops jararacussu* snake bite. **Renal Failure**, v. 23, n. 2, p. 269–277, 7 jan. 2001.

PINHO, F. M. O.; PEREIRA, I. D. Ofidismo. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 47, n. 1, p. 24–29, mar. 2001.

PINHO, F. M. O.; YU, L.; BURDMANN, E. A. Snakebite-Induced Acute Kidney Injury in Latin America. **Seminars in Nephrology**, v. 28, n. 4, p. 354–362, jul. 2008.

POLLAK, D. D.; MONJE, F. J.; LUBEC, G. The learned safety paradigm as a mouse model for neuropsychiatric research. **Nature Protocols**, v. 5, n. 5, p. 954–962, 29 maio 2010.

POPOLI, M.; YAN, Z.; McEWEN, B. S.; SANACORA, G. The stressed synapse: the impact of stress and glucocorticoids on glutamate transmission. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 13, n. 1, p. 22-37, 30 nov. 2011.

PRECIADO, L. M.; PEREAÑEZ, J. A. **Low molecular mass natural and synthetic inhibitors of snake venom metalloproteinases**. **Toxin Reviews**, 2 jan. 2018.

PULSINELLI, W A.; BRIERLEY, J.B.; PLUM, F. Temporal profile of neuronal damage in a model of transient forebrain ischemia. **Ann. Neurol.**, v.II, n.5, p. 491-8, 1982.

RAHMAN, M. S. et al. Attenuation of Acute Intracerebral Hemorrhage-Induced Microglial Activation and Neuronal Death Mediated by the Blockade of Metabotropic Glutamate Receptor 5 In Vivo. **Neurochemical Research**, 2020.

RAISON, C. L.; CAPURON, L.; MILLER, A. H. Cytokines sing the blues: Inflammation and the pathogenesis of depression. **Trends in Immunology**, jan. 2006.

RAJASHEKARAN, P. et al. Post-stroke depression and lesion location: A hospital based cross-sectional study. **Indian Journal of Psychiatry**, v. 55, n. 4, p. 343–348, out. 2013.

RAMANOËL, Stephen et al. Age-related differences in functional and structural connectivity in the spatial navigation brain network. **Frontiers in neural circuits**, v. 13, p. 69, 2019.

REYES-VELASCO, J. et al. Expression of Venom Gene Homologs in Diverse Python Tissues Suggests a New Model for the Evolution of Snake Venom. **Molecular Biology and Evolution**, v. 32, n. 1, p. 173–183, 1 jan. 2015.

RIBEIRO, D. E. et al. Activation of the TRKB receptor mediates the panicolytic-like effect of the NOS inhibitor aminoguanidine. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, 2019.

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.

ROBINSON, R. G. et al. Depression Influences Intellectual Impairment in Stroke Patients. **British Journal of Psychiatry**, v. 148, n. 5, p. 541–547, 29 maio 1986.

ROBINSON, R. G.; JORGE, R. E. Post-stroke depression: A review. **American Journal of Psychiatry**, 1 mar. 2016.

RODRIGUES SGRIGNOLLI, L. et al. Acute kidney injury caused by bothrops snake venom. **Nephron - Clinical Practice**, set. 2011.

RODRIGUES, V. M. et al. Pathological alterations induced by neuwiedase, a metalloproteinase isolated from *Bothrops neuwiedi* snake venom. **Biochimie**, v. 83, n. 6, p. 471–479, jun. 2001.

RODRÍGUEZ-YÁÑEZ, M. et al. Increased expression of Toll-like receptors 2 and 4 is associated with poor outcome in intracerebral hemorrhage. **Journal of Neuroimmunology**, v. 247, n. 1–2, p. 75–80, 15 jun. 2012.

SACHETT, J. DE A. G. et al. Cerebrovascular Accidents Related to Snakebites in the Amazon-Two Case Reports. **Wilderness and Environmental Medicine**, 2020a.

SACHETT, J. DE A. G. et al. Bothrops atrox Snakebite: How a Bad Decision May Lead to a Chronic Disability: A Case Report. **Wilderness and Environmental Medicine**, v. 31, n. 3, p. 317–323, 1 set. 2020b.

SALMOND, C. H.; CHATFIELD, D. A.; MENON, D. K.; PICKARD, J. D.; SAHAKIAN, B. J. Cognitive sequelae of head injury: involvement of basal forebrain and associated structures. **Brain**, v. 128, n. 1, p. 189–200, 2005.

SANSING, L. H. et al. Toll-like receptor 4 contributes to poor outcome after intracerebral hemorrhage. **Annals of Neurology**, v. 70, n. 4, p. 646–656, out. 2011.

SEARS, S. M.; HEWETT, S. J. Influence of glutamate and GABA transport on brain excitatory/inhibitory balance. **Experimental Biology and Medicine (Maywood)**, v. 246, n. 9, p. 1069–1083, mai. 2021.

SCHNIEDER, T. P. et al. Microglia of Prefrontal White Matter in Suicide. **Journal of Neuropathology & Experimental Neurology**, v. 73, n. 9, p. 880–890, 1 set. 2014.

SCHREIBER, S.S; BAUDRY, M. Selective neuronal vulnerability in the hippocampus: a role for genes expression. **TINS**, v.18, p. 446-51, 1995.

SÉRGIO, P.; DE OLIVEIRA, J.; RESUMO, G. Serpentes peçonhentas e ofidismo em Cruzeiro do Sul, Alto Juruá, Estado do Acre, Brasil. [s.l: s.n.].

SHI, Y. et al. Risk factors for post-stroke depression: A meta-analysis. **Frontiers in Aging Neuroscience**, 11 jul. 2017.

SILVA, T. M. DA et al. Perfil epidemiológico dos acidentes ofídicos do estado brasileiro de Minas Gerais. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 13, p. e598111336172, 14 out. 2022.

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, 1 nov. 2017.

SIMPSON, I. D.; NORRIS, R. L. The global snakebite crisis-a public health issue misunderstood, not neglected. **Wilderness and Environmental Medicine**, v. 20, n. 1, p. 43–56, 2009.

SINYOR, D. et al. Post-stroke depression: relationships to functional impairment, coping strategies, and rehabilitation outcome. **Stroke**, v. 17, n. 6, p. 1102–1107, nov. 1986.

SIX, D. A.; DENNIS, E. A. The expanding superfamily of phospholipase A2 enzymes: classification and characterization. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids**, v. 1488, n. 1–2, p. 1–19, out. 2000.

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

STAHEL, P. F. et al. Experimental closed head injury: analysis of neurological outcome, blood-brain barrier dysfunction, intracranial neutrophil infiltration, and neuronal cell death in mice deficient in genes for pro-inflammatory cytokines. **Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism**, v. 20, n. 2, p. 369-380, 2000.

STEINER, J. et al. Immunological aspects in the neurobiology of suicide: Elevated microglial density in schizophrenia and depression is associated with suicide. **Journal of Psychiatric Research**, v. 42, n. 2, p. 151–157, jan. 2008.

STERU, L. et al. The tail suspension test: A new method for screening antidepressants in mice. **Psychopharmacology**, v. 85, n. 3, p. 367–370, mar. 1985.

SUBLETTE, M. E.; POSTOLACHE, T. T. Neuroinflammation and Depression. **Psychosomatic Medicine**, v. 74, n. 7, p. 668–672, set. 2012.

SUN, N. et al. A Survey on 465 Patients with Post-Stroke Depression in China. **Archives of Psychiatric Nursing**, v. 28, n. 6, p. 368–371, 1 dez. 2014.

SWAROOP, S. et al. HSP60 plays a regulatory role in IL-1 β -induced microglial inflammation via TLR4-p38 MAPK axis. **Journal of Neuroinflammation**, v. 13, n. 1, 2 fev. 2016.

TAN, S. et al. Ketamine Alleviates Depressive-Like Behaviors &via Down-Regulating Inflammatory Cytokines Induced by Chronic Restraint Stress in Mice. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v. 40, n. 8, p. 1260–1267, 2017.

TEIXEIRA, C. et al. Inflammation induced by *Bothrops asper* venom. **Toxicon**, v. 54, n. 1, p. 67–76, 2009.

TERRA, A. L. C. et al. Biological characterization of the Amazon coral *Micrurus spixii* snake venom: Isolation of a new neurotoxic phospholipase A2. **Toxicon**, v. 103, p. 1–11, 26 jun. 2015.

THE LANCET. **Snake-bite envenoming: a priority neglected tropical disease.** **The Lancet**Lancet Publishing Group, 1 jul. 2017.

THOMAS, A. et al. Marble burying reflects a repetitive and perseverative behavior more than novelty-induced anxiety. **Psychopharmacology**, v. 204, n. 2, p. 361–373, jun. 2009.

THOMAS, L. et al. Thrombotic stroke following snake bites by the “Fer-de-Lance” *Bothrops lanceolatus* in Martinique despite antivenom treatment: A report of three recent cases. **Toxicon**, v. 48, n. 1, p. 23–28, jul. 2006.

TOGHYANI, M. et al. Vulnerability of CA2 and CA3 neurons in hippocampal injury. **Neuroscience Letters**, 2021.

TOSTA, C. L. et al. S-ketamine reduces marble burying behaviour: Involvement of ventromedial orbitofrontal cortex and AMPA receptors. **Neuropharmacology**, v. 144, 2019.

SCHWARTZ, I.; TSETER, J.; SHOCHINA, M.; SHIRI, S.; KEDARY, M.; KATZ-LEURER, M.; MEINER, Z. Rehabilitation outcomes of terror victims with multiple traumas. **Archives of Physical Medicine and Rehabilitation**, v. 88, p. 440-448, 2007.

VALE, T. C. et al. Bilateral posterior circulation stroke secondary to a crotalid envenomation: Case report. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 46, n. 2, p. 255–256, mar. 2013.

VAN DER STAAY, F. J. Animal models of behavioral dysfunctions: Basic concepts and classifications, and an evaluation strategy. **Brain Research Reviews**, v. 52, n. 1, p. 131–159, ago. 2006.

VATAJA, R. et al. Magnetic Resonance Imaging Correlates of Depression After Ischemic Stroke. **Archives of General Psychiatry**, v. 58, n. 10, p. 925, 1 out. 2001.

WAIDDYANATHA, S. et al. Long-term effects of snake envenoming. **Toxins**, v. 11, n. 4, 1 abr. 2019.

WAJE-ANDREASSEN, U. et al. Ischaemic stroke at a young age is a serious event - final results of a population-based long-term follow-up in Western Norway. **European Journal of Neurology**, v. 20, n. 5, p. 818–823, maio 2013.

WALL, Philip M.; MESSIER, Claude. The hippocampal formation—orbitomedial prefrontal cortex circuit in the attentional control of active memory. **Behavioural brain research**, v. 127, n. 1-2, p. 99-117, 2001.

WANG, J. Preclinical and clinical research on inflammation after intracerebral hemorrhage. **Progress in Neurobiology**, 2010.

WANG, W. J.; SHIH, C. H.; HUANG, T. F. Primary structure and antiplatelet mechanism of a snake venom metalloproteinase, acurhagin, from *Agkistrodon acutus* venom. **Biochimie**, v. 87, n. 12, p. 1065–1077, dez. 2005.

WARRELL, D. A. **Snake bite. The Lancet**, 2010.

WARRELL, D. A.; WILLIAMS, D. J. Clinical aspects of snakebite envenoming and its treatment in low-resource settings. **The Lancet**, abr. 2023.

WEI, N. et al. Post-stroke depression and lesion location: A systematic review. **Journal of Neurology**, v. 262, n. 1, p. 81–90, 1 jan. 2015.

WIJESINGHE, C. A. et al. A randomized controlled trial of a brief intervention for delayed psychological effects in snakebite victims. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 9, n. 8, 2015.

WILLIAMS, S. S. et al. Delayed psychological morbidity associated with snakebite envenoming. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 5, n. 8, ago. 2011.

WU, Y. et al. Mechanisms and therapeutic targets of depression after intracerebral hemorrhage. **Frontiers in Psychiatry**, 2018.

YAO, L. et al. Toll-like receptor 4 mediates microglial activation and production of inflammatory mediators in neonatal rat brain following hypoxia: Role of TLR4 in hypoxic microglia. **Journal of Neuroinflammation**, v. 10, 6 fev. 2013.

YATSIV, I. et al. Erythropoietin is neuroprotective, improves functional recovery, and reduces neuronal apoptosis and inflammation in a rodent model of experimental closed head injury. **FASEB Journal**, v. 19, n. 12, p. 1701-1703, 2005.

ZAQUEO, K. D. et al. BbrzSP-32, the first serine protease isolated from *Bothrops brazili* venom: Purification and characterization. **Comparative Biochemistry and Physiology -Part A: Molecular and Integrative Physiology**, v. 195, p. 15–25, 1 maio 2016.