



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA E FARMACOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA

RENATA DE SOUSA ALVES

**EFEITOS BIOLÓGICOS INDUZIDOS PELO VENENO TOTAL DE
Tityus serrulatus E SUAS FRAÇÕES TsTx-V, TOXINA GAMA E
PEPTÍDEO NATRIURÉTICO.**

FORTALEZA

2008

RENATA DE SOUSA ALVES

**EFEITOS BIOLÓGICOS INDUZIDOS PELO VENENO TOTAL DE
Tityus serrulatus E SUAS FRAÇÕES TsTx-V, TOXINA GAMA E
PEPTÍDEO NATRIURÉTICO.**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Farmacologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará para obtenção do título de Doutor em Farmacologia.

Área de concentração: Farmacologia

Orientadora: Prof^a Dr^a. Helena Serra Azul Monteiro

FORTALEZA

2008

A482e Alves, Renata de Sousa.

Efeitos biológicos induzidos pelo veneno total de *Tityus serrulatus* e suas frações TsTx-V, Toxina gama e Peptídeo Natriurético / Renata de Sousa Alves. – Fortaleza, 2008.
187 f.: il.

Orientadora: Profa. Dra. Helena Serra Azul Monteiro.
Tese (Doutorado) / Universidade Federal do Ceará.
Faculdade de Medicina.

1. Venenos de escorpião. 2. Testes de função renal. 3. Antagonistas adrenérgicos. 4. Mesentério. 5. Ducto Deferente. 6. Pressão arterial. 7. Inulina. I. Monteiro, Helena Serra Azul (orientadora) II. Título.

CDD 615.942

RENATA DE SOUSA ALVES

**EFEITOS BIOLÓGICOS INDUZIDOS PELO VENENO TOTAL DE
Tityus serrulatus E SUAS FRAÇÕES TsTx-V, TOXINA GAMA E
PEPTÍDEO NATRIURÉTICO.**

Aprovada em 28 de Novembro de 2008

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Farmacologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará para obtenção do título de Doutor em Farmacologia.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dra. Helena Serra Azul Monteiro (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará – UFC

Prof^a. Dra. Alice Maria Costa Martins (Co-orientadora)
Universidade Federal do Ceará – UFC

Prof^a. Dra. Ana Durce Oliveira da Paixão
Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

Prof. Dr. Nilberto Robson Falcão do Nascimento
Universidade Estadual do Ceará – UECE

Prof. Dr. Marcus Davis Machado Braga
Universidade Federal do Ceará – UFC

À *Ambrosio e Francisca*, meus pais.

AGRADECIMENTOS

A *Deus*, presente em cada pequeno gesto.

À minha família, *Ambrosio, Francisca e Daniele*, importantes e imprescindíveis em todos os momentos.

À minha orientadora, Dra. *Helena Serra Azul Monteiro*, que me orientou desde o mestrado e com quem aprendi algo muito importante: perseverança.

A Dra. *Alice Maria C. Martins*, que muito me auxiliou e que, em um momento muito especial de sua vida me possibilitou a grata satisfação de lecionar.

A Dra. *Ana Durce O. da Paixão*, por me receber em seu laboratório em Recife e contribuir de forma tão generosa às correções desta tese.

Ao Dr. *Nilberto Robson Falcão do Nascimento*, com quem tive a satisfação de realizar alguns experimentos deste trabalho, adquirindo de forma valiosa conhecimentos e uma boa amizade.

Ao Dr. *Marcus Davis M. Braga*, amigo conquistado durante o doutorado, que contribuiu de forma inestimável para os resultados da avaliação histopatológica, sempre disposto a ajudar.

A professora *Maria Goretti R. de Queiroz*, que acreditou em minhas capacidades e a quem sou grata por ensinamentos que levarei por toda a vida.

Ao Dr. e grande amigo *René Duarte Martins*, de toda a vida, que me conhece como a palma da própria mão e a quem devo muito... Muito obrigada por existir em minha vida!

Ao Dr. *Paulo Sérgio F. Barbosa*, por todo o carinho que sempre teve comigo.

Ao Dr. *Marcus Hikari Toyama*, por todas as contribuições e pelo fracionamento do veneno de *Tityus serrulatus*.

Ao professor *Dalgimar B. Menezes* pela análise histológica e atenção com que me tratou durante toda a pós-graduação.

As amigas de jornada *Fabírcia Martins, Ila Fernanda e Rosemeire Freire*, que dividiram comigo muitas e divertidas histórias.

Ao amigo *Roberto Falcão*, que encontrei no começo da faculdade e que, mesmo com ausências, faz parte da minha vida.

A todos de minha imensa família, de verdade e do coração, especialmente *Gaudino Neto, Everaldo, Joelma, Cleve e Nalvinha* pelas “fugas” nos fins de semana.

Aos professores e funcionários do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas que me viram crescer pessoal e profissionalmente.

As recém doutoras do Laboratório de Farmacologia Renal Dra. *Daniela N. Amora*, Dra. *Janaína Serra Azul M. Evangelista* e a pós-graduanda *Inês L. Evangelista*, pela força e incentivo.

Aos pós-graduandos novatos do Laboratório de Farmacologia Renal *Daniel Freire, Paulo César P. de Sousa, Isabela Cavalcante, Claudênio Diógenes Alves, Antônio Rafael C. Jorge, Rafael M. Ximenes* e *Terentia Batista Norões*, pelas risadas, cinemas e aventuras nesse período que foi estressante, mas sem dúvida, recompensante.

Ao Dr. *Alexandre Havt*, pessoa de extrema competência e sensibilidade, um exemplo de verdadeiro doutor.

Aos bolsistas do laboratório de Farmacologia Renal *Diego Germano Maia, Isadora Maria Oliveira, Antônio G. Silva Neto, Ana Luiza G. C. A. Lima, João Victor de A. Santos* e *Caio Abner V. Leite*, pela ajuda com as planilhas e nos experimentos de perfusão renal.

Aos funcionários do IBIMED *Sílvia Helena, Tereza França, Juciê, Bento, José Amadeus* e *Kátia N. Lima*, por todo o carinho e respeito com que sempre me trataram.

Aos amigos do laboratório do professor *Manassés C. Fonteles*, na Universidade Estadual, Dra. *Cláudia Ferreira Santos* e Dra. *Karina Moreira de A. Cunha* que me auxiliaram com os experimentos de pressão arterial, hemodinâmica e dosagem de GMPc.

A secretária do Programa de Pós-graduação em Farmacologia *Aura Rhanes*, pelas vezes que me *socorreu* sempre com muito carinho.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa e desenvolvimento (CNPq) pela bolsa auxílio para execução deste projeto.

A cada um que me acompanhou de perto (ou mesmo de longe), deixando uma marca neste trabalho, com todo meu carinho, obrigada!

Monge e discípulos iam por uma estrada e, quando passavam por uma ponte, viram um escorpião sendo arrastado pelas águas. O monge correu pela margem do rio, meteu-se na água e tomou o bichinho na mão. Quando o trazia para fora, o bichinho o picou e, devido à dor, o homem deixou-o cair novamente no rio.

Foi então a margem tomou um ramo de árvore, adiantou-se outra vez a correr pela margem, entrou no rio, colheu o escorpião e o salvou. Voltou o monge e juntou-se aos discípulos na estrada. Eles haviam assistido à cena e o receberam perplexos e penalizados.

- Mestre, deve estar doendo muito! Porque foi salvar esse bicho ruim e venenoso? Que se afogasse! Seria um a menos! Veja como ele respondeu à sua ajuda! Picou a mão que o salvara! Não merecia sua compaixão!

O monge ouviu tranqüilamente os comentários e respondeu:

- Ele agiu conforme sua natureza, e eu de acordo com a minha.

O monge e o escorpião
Parábola Chinesa

RESUMO

EFEITOS BIOLÓGICOS INDUZIDOS PELO VENENO TOTAL de *Tityus serrulatus* E SUAS FRAÇÕES TsTx-V, TOXINA GAMA E PEPTÍDEO NATRIURÉTICO.

Doutoranda: Renata de Sousa Alves. Orientadora: Dra. Helena Serra Azul Monteiro. Universidade Federal do Ceará. Programa de Pós-Graduação em Farmacologia. 2008.

O veneno do escorpião *Tityus serrulatus* é uma mistura de peptídeos tóxicos e não tóxicos com diversas ações locais e sistêmicas. O objetivo deste trabalho foi estudar os efeitos cardiovasculares e renais induzidos pelo veneno total do escorpião *T. serrulatus* e de suas frações TsTx-V, Toxina γ e Natriurética. Foram utilizados ratos Wistar machos (250-300g) para os experimentos de perfusão de rim isolado, leito mesentérico, pressão arterial e perfusão *in vivo*. Para os ensaios de canal deferente foram utilizados camundongos Swiss (30-40g). O veneno de *T. serrulatus* apresentou efeito sobre o sistema nervoso autônomo observado através da contração do vaso deferente. O veneno total mostrou efeito adrenérgico demonstrado pela reversão dos seus efeitos renais após pré-tratamento dos rins com antagonista α -adrenérgico prazosin, especialmente sobre a resistência vascular renal ($RVR_{VTs} = 7,51 \pm 0,96$ vs $RVR_{Pz} = 5,51 \pm 0,43$ mmHg/mL.g⁻¹.min⁻¹, *p<0,05) e pressão de perfusão ($PP_{VTs} = 150,1 \pm 18,40$ vs $PP_{Pz} = 118,1 \pm 4,00$ mmHg*, *p<0,05). As frações isoladas mostraram efeitos renais somatórios, haja visto que TsTx-V promoveu aumento da diurese e a Toxina γ causou efeitos pressóricos. Após avaliação histopatológica dos efeitos renais das frações isolados do veneno de *T. serrulatus*, observamos a presença de material protéico nos espaços urinários glomerulares e nos túbulos. Entretanto, no leito vascular mesentérico, somente a toxina γ mostrou-se ativa. Os efeitos renais induzidos pela fração natriurética (0,03 e 0,1 μ g/mL) revelaram aumento da pressão e, de maneira concentração-dependente, diminuição da reabsorção de eletrólitos e aumento da excreção urinária de guanosina monofosfato cíclico (GMPc). Nos experimentos *in vivo*, tanto o veneno total quanto a fração natriurética causaram aumento da pressão arterial média (PAM) e diminuição do hematócrito. Em adição, a fração natriurética causou ainda a elevação do fluxo urinário e da frequência cardíaca. O clearance de inulina foi utilizado para a avaliação da função renal *in vivo*. O veneno total diminuiu significativamente o clearance da inulina, enquanto a fração natriurética causou elevação. O fluxo plasmático renal cortical, avaliado através do clearance de p-aminohipurato, foi reduzido por ação do veneno total de *T. serrulatus*. Em conclusão, o veneno de *Tityus serrulatus* promoveu efeitos hemodinâmicos renais que foram prontamente revertidos *in vitro* pelo prazosin. Os experimentos *in vivo* mostraram que o veneno de *Tityus serrulatus* induziu a elevação da pressão arterial média, taquicardia e alteração da função renal.

Palavras-chave: Venenos de escorpião. Testes de função renal. Antagonistas adrenérgicos. Mesentério. Ducto deferente. Pressão Arterial. Inulina.

ABSTRACT

BIOLOGICAL EFFECTS INDUCED BY *Tityus serrulatus* CRUDE VENOM AND ITS TOXINS TsTx-V, GAMMA TOXIN AND NATRIURETIC PEPTIDE. Renata de Sousa Alves, Doctor of Sciences. Advisor: Dr. Helena Serra Azul Monteiro. Federal University of Ceara. Post-Graduation Program in Pharmacology. 2008.

The venom of *Tityus serrulatus* has a mixture of toxic and non toxic peptides presenting diverse systemic and local effects. The aim of this work was to investigate the cardiovascular and renal effects promoted by the crude venom of the scorpion *Tityus serrulatus* and its isolated components such as *Tityus serrulatus* toxin V (TsTx-V), Gamma Toxin and the newly isolated Natriuretic Peptide. The experiments of isolated perfused rat kidney, isolated mesenteric bed, arterial pressure and *in vivo* perfusion were performed using male Wistar rats weighing 250-300g. The assays with vas deferens were done using Swiss mice weighing 30-40g. The crude venom presented autonomic nervous system effects showed by the contraction of vas deferens. Adrenergic effects were demonstrated specially with the decrease of renal vascular resistance ($RVR_{VTs} = 7.51 \pm 0.96$ vs $RVR_{Pz} = 5.51 \pm 0.43$ mmHg/mL.g⁻¹.min⁻¹; *p<0.05) and renal perfusion pressure ($PP_{VTs} = 150.1 \pm 18.40$ vs $PP_{Pz} = 118.1 \pm 4.00$ mmHg*; *p<0.05) induced by the crude venom after kidneys pre-treatment with prazosin. The venoms isolated components showed kidney additional effects, where TsTx-V caused diuresis while Gamma Toxin increased perfusion pressure. We could also observe the presence of protein inside the tubules and in glomerular spaces after renal histopathologic evaluation in the groups treated with the isolated components. However, only Gamma Toxin promoted an increase of the mesenteric bed perfusion pressure. The Natriuretic Peptide (0.03 and 0.1µg/mL) increased renal perfusion pressure. In addition, the natriuretic peptide increased cyclic guanosine monophosphate (cGMP) urinary excretion, but reduced electrolytes reabsorption in a dependent-concentration manner. The crude venom and the natriuretic peptide increased the arterial blood pressure, but decreased the hematocrit values, evaluated after *in vivo* experiments. However, the natriuretic peptide increased urinary flow and heartbeat frequency. *In vivo* renal function was evaluated by the clearance of inulin. The scorpion crude venom decreased the clearance of inulin, but this parameter was increased after natriuretic peptide treatment. The renal cortex blood flux, estimated by the clearance of p-aminohippurate, was reduced after the crude venom treatment. In conclusion, we demonstrated that *Tityus serrulatus* venom induced renal hemodynamic effects that were blocked *in vitro* by prazosin. *In vivo* experiments showed how the crude venom and its isolated components act increasing arterial blood pressure, heartbeat frequency and altered renal function.

Keywords: Scorpion venoms. Renal function assays. Adrenergic blockers. Mesenteric bed, Deferent Vas, Blood Pressure. Inulin.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. A. <i>Tityus serrulatus</i> e B. <i>Tityus stigmurus</i>.....	29
Figura 2. Figura esquemática dos receptores α1-adrenérgicos acoplados a proteína G.	40
Figura 3. Estrutura molecular dos peptídeos natriuréticos humanos.....	48
Figura 4. Foto do sistema de perfusão de rim isolado (LAFAVET-UFC).....	57
Figura 5. Valores de pressão de perfusão (PP) registrados durante a calibração do sistema.....	58
Figura 6. Valores registrados pelo Fluxômetro (L/h) durante a calibração do sistema.....	58
Figura 7. Valores de volume urinário (mL/min) registrados durante a calibração do sistema.....	58
Figura 8. Procedimento cirúrgico para retirada de rim isolado de rato. A: isolamento da artéria femoral para administração de manitol; B: isolamento e fixação da cânula ao ureter; C: isolamento das artérias mesentérica e renal; D: cânula fixada a artéria renal.....	60
Figura 9. Desenho esquemático do sistema de perfusão de leito vascular mesentérico.....	65
Figura 10. Foto do sistema de perfusão de leito vascular mesentérico.....	66
Figura 11. Desenho esquemático do sistema de perfusão de canal deferente de camundongo.....	67
Figura 12. A. Fisiógrafo Narco BioSystems para registro da pressão arterial. B. Eletrocardiógrafo Burdick para registro da frequência cardíaca.	68
Figura 13. Protocolo experimental para determinação da pressão arterial média e clearance <i>in vivo</i>.	70
Figura 14. Estrutura química da inulina.	71
Figura 15. Estrutura química do Ácido para-aminohipúrico.....	72
Figura 16. Pressão de Perfusão (PP) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs; 3 μg/mL), Prazosin (10 μg/mL) e Prazosin (10 μg/mL) + VTs (3 μg/mL).	76
Figura 17. Resistência Vascular Renal (RVR) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n=6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs; 3 μg/mL), Prazosin (10 μg/mL) e Prazosin (10 μg/mL) + VTs (3 μg/mL).....	77

Figura 18. Fluxo Urinário (FU) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs; 3 µg/mL), Prazosin (10 µg/mL) e Prazosin (10 µg/mL) + VTs (3 µg/mL).	77
Figura 19. Ritmo de Filtração Glomerular (RFG) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs; 3 µg/mL), Prazosin (10 µg/mL) e Prazosin (10 µg/mL) + VTs (3 µg/mL).....	78
Figura 20. Percentual de Transporte Tubular de Sódio (%TNa ⁺) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs; 3 µg/mL), Prazosin (10 µg/mL) e Prazosin (10 µg/mL) + VTs (3 µg/mL).....	78
Figura 21. Excreção de Sódio (ENa ⁺) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs; 3 µg/mL), Prazosin (10 µg/mL) e Prazosin (10 µg/mL) + VTs (3 µg/mL). Valores comparados ao controle nos mesmos períodos com *p<0,05.....	79
Figura 22. Excreção de Potássio (EK ⁺) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs; 3 µg/mL), Prazosin (10 µg/mL) e Prazosin (10 µg/mL) + VTs (3 µg/mL)	79
Figura 23. Pressão de Perfusão (PP) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs; 3 µg/mL), Prazosin (3 µg/mL) e Prazosin (3 µg/mL) + VTs (3 µg/mL)..	81
Figura 24. Resistência Vascular Renal (RVR) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n=6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs; 3 µg/mL), Prazosin (3 µg/mL) e Prazosin (3 µg/mL) + VTs (3 µg/mL)	82
Figura 25. Fluxo Urinário (FU) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs; 3 µg/mL), Prazosin (3 µg/mL) e Prazosin (3 µg/mL) + VTs (3 µg/mL)	82
Figura 26. Ritmo de Filtração Glomerular (RFG) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs; 3 µg/mL), Prazosin (3 µg/mL) e Prazosin (3 µg/mL) + VTs (3 µg/mL)	83
Figura 27. Percentual de Transporte Tubular de Sódio (%TNa ⁺) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs; 3 µg/mL), Prazosin (3 µg/mL) e Prazosin (3 µg/mL) + VTs (3 µg/mL).....	83
Figura 28. Excreção de Sódio (ENa ⁺) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs; 3 µg/mL), Prazosin (3 µg/mL) e Prazosin (3 µg/mL) + VTs (3 µg/mL).	84
Figura 29. Excreção de Potássio (EK ⁺) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs; 3 µg/mL), Prazosin (3 µg/mL) e Prazosin (3 µg/mL) + VTs (3 µg/mL).	84

Figura 30. Pressão de Perfusão (PP) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com a <i>Tityus</i> toxina V (TsTX V 3µg/mL) e toxina gama (Tsg 3µg/mL) do veneno de <i>Tityus serrulatus</i>	86
Figura 31. Resistência Vascular Renal (RVR) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com a <i>Tityus</i> toxina V (TsTX V 3µg/mL) e toxina gama (Tsg 3µg/mL) do veneno de <i>Tityus serrulatus</i>	86
Figura 32. Fluxo Urinário (FU) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com a <i>Tityus</i> toxina V (TsTX V 3µg/mL) e toxina gama (Tsg 3µg/mL) do veneno de <i>Tityus serrulatus</i>	87
Figura 33. Ritmo de Filtração Glomerular (RFG) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com a <i>Tityus</i> toxina V (TsTX V 3µg/mL) e toxina gama (Tsg 3µg/mL) do veneno de <i>Tityus serrulatus</i>	87
Figura 34. Percentual de Transporte Tubular de Sódio (%TNa ⁺) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com a <i>Tityus</i> toxina V (TsTX V 3µg/mL) e toxina gama (Tsg 3µg/mL) do veneno de <i>Tityus serrulatus</i>	88
Figura 35. Percentual de Transporte Tubular de Potássio (%TK ⁺) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com a <i>Tityus</i> toxina V (TsTX V 3µg/mL) e toxina gama (Tsg 3µg/mL) do veneno de <i>Tityus serrulatus</i>	88
Figura 36. Percentual de Transporte Tubular de Cloreto (%TCl ⁻) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com a <i>Tityus</i> toxina V (TsTX V 3µg/mL) e toxina gama (Tsg 3µg/mL) do veneno de <i>Tityus serrulatus</i>	89
Figura 37. Pressão de Perfusão (PP) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com o peptídeo natriurético do veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (PNVTs; 0,03 µg/mL e 0,1µg/mL)	91
Figura 38. Resistência Vascular Renal (RVR) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com o peptídeo natriurético do veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (PNVTs; 0,03 µg/mL e 0,1µg/mL).....	91
Figura 39. Fluxo Urinário (FU) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com o peptídeo natriurético do veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (PNVTs; 0,03 µg/mL e 0,1µg/mL)	92
Figura 40. Ritmo de Filtração Glomerular (RFG) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com o peptídeo natriurético do veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (PNVTs; 0,03 µg/mL e 0,1µg/mL).....	92
Figura 41. Percentual de Transporte Tubular de Sódio (%TNa ⁺) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com o peptídeo natriurético do veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (PNVTs; 0,03 µg/mL e 0,1µg/mL).	93
Figura 42. Percentual de Transporte Tubular de Potássio (%TK ⁺) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com o peptídeo natriurético do veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (PNVTs; 0,03 µg/mL e 0,1µg/mL)	93

Figura 43. Percentual de Transporte Tubular de Cloreto (%TCl ⁻) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com o peptídeo natriurético do veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (PNVTs; 0,03 µg/mL e 0,1µg/mL)	94
Figura 44. Percentual de Transporte Tubular Proximal de Sódio (%pTNa ⁺) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com o peptídeo natriurético do veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (PNVTs; 0,03 µg/mL e 0,1µg/mL).....	94
Figura 45. Percentual de Transporte Tubular Proximal de Potássio (%pTK ⁺) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com o peptídeo natriurético do veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (PNVTs; 0,03 µg/mL e 0,1µg/mL).....	95
Figura 46. Percentual de Transporte Tubular Proximal de Cloreto (%pTCl ⁻) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com o peptídeo natriurético do veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (PNVTs; 0,03 µg/mL e 0,1µg/mL).....	95
Figura 47. Corte histopatológico de rim perfundido somente com solução de Krebs-Hanseleit modificada (aumento 400x; n=6)	97
Figura 48. Corte histológico de rim perfundido com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs) na concentração de 3 µg/mL (aumento 400x; n=6).....	97
Figura 49. Corte histológico de rim perfundido com Prazosin (Pz) na concentração de 3 µg/mL (aumento 400x; n=6).....	98
Figura 50. Corte histológico de rim perfundido com Prazosin (Pz) na concentração de 10 µg/mL (aumento 400x; n=6).....	98
Figura 51. Corte histológico de rim perfundido tratado com prazosin (3 µg/mL) e com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs) na concentração de 3µg/mL (aumento 400x; n=6).	99
Figura 52. Corte histológico de rim perfundido tratado com prazosin (10 µg/mL) e com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs) na concentração de 3µg/mL (aumento 400x; n=6)..	99
Figura 53. Corte histológico de rim perfundido com a fração TsTx-V isolada do veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs) na concentração de 3µg/mL (aumento 400x; n=6).	100
Figura 54. Corte histológico de rim perfundido com a fração Toxina γ isolada do veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs) na concentração de 3µg/mL (aumento 400x; n=6).	100
Figura 55. Corte histológico de rim perfundido com a fração Natriurética isolada do veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs) na concentração de 0,03µg/mL (aumento 400x; n=6).	101
Figura 56. Corte histológico de rim perfundido com a fração Natriurética isolada do veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs) na concentração de 0,1µg/mL (aumento 400x; n=6).	101

Figura 57. Dosagem de GMPc em amostras de urina de rim isolado nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com Peptídeo Natriurético isolado do veneno de <i>Tityus serrulatus</i> nas concentrações de 0,03µg/mL e 0,1µg/mL.....	103
Figura 58. Pressão de Perfusão de leito mesentérico (PP) em ratos tratados com a Toxina γ do veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (3µg/mL; infundido a 0,1mL/min; n=6); Fenilefrina (10µg/mL; infundido a 0,1mL/min; n=6) e Fenilefrina + toxina γ (mesmas condições citadas anteriormente).	105
Figura 59. Pressão de Perfusão de leito mesentérico (PP) em ratos tratados com a TsTx-V do veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (3µg/mL; infundido a 0,1mL/min; n=6); Fenilefrina (10µg/mL; infundido a 0,1mL/min; n=6) e Fenilefrina + TsTx-V (mesmas condições citadas anteriormente).....	106
Figura 60. Traçado do percentual de contração de Canal deferente de camundongos Swiss tratados com o veneno de <i>Tityus serrulatus</i> em curva cumulativa de 1, 3, 10, 30, 100, 300 ng/mL, 1 e 3 µg/mL (<i>in bolus</i> ; n = 6) e Tetrodotoxina (TTX; 100 nM <i>in bolus</i> ; n = 6).....	107
Figura 61. Avaliação do percentual de contração de Canal deferente de camundongos Swiss tratados com o veneno de <i>Tityus serrulatus</i> em curva cumulativa de 1, 3, 10, 30, 100, 300 ng/mL, 1 e 3 µg/mL (<i>in bolus</i> ; n = 6) e Tetrodotoxina (TTX; 100 nM <i>in bolus</i> ; n = 6).....	108
Figura 62. Registro fisiográfico da Pressão Arterial dos primeiros 30 minutos (Tempo 1), de 30-60 minutos (Tempo 2) e de 60-90 minutos (Tempo 3) no grupo controle (n = 6).....	109
Figura 63. Pressão Arterial Média (PAM; mmHg) dos primeiros 30 minutos (Urina 1), de 30-60 minutos (Urina 2) e de 60-90 minutos (Urina 3), nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs; 120µg/Kg) e Fração Natriurética isolada do veneno (PNVTs 0,4µg/Kg).....	110
Figura 64. Registro fisiográfico da Pressão Arterial dos primeiros 30 minutos (Tempo 1), de 30-60 minutos (Tempo 2) e de 60-90 minutos (Tempo 3) no grupo tratado (n = 6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs; 120µg/Kg).....	111
Figura 65. Registro fisiográfico da Pressão Arterial dos primeiros 30 minutos (Tempo 1), de 30-60 minutos (Tempo 2) e de 60-90 minutos (Tempo 3) no grupo tratado (n = 6) com a Fração Natriurética isolada do veneno de <i>T. serrulatus</i> (PNVTs 0,4µg/Kg)	111
Figura 66. Registro eletrocardiográfico da Frequência cardíaca (bpm) dos primeiros 30 minutos (0-30'), de 30-60 minutos (30-60') e de 60-90 minutos (60-90'), no grupo controle (n = 6).....	112
Figura 67. Frequência cardíaca (bpm) dos primeiros 30 minutos (0-30'), de 30-60 minutos (30-60') e de 60-90 minutos (60-90'), nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs; 120µg/Kg) e Fração Natriurética isolada do veneno (PNVTs 0,4µg/Kg).....	113

Figura 68. Registro eletrocardiográfico da Frequência cardíaca (bpm) dos primeiros 30 minutos (0-30'), de 30-60 minutos (30-60') e de 60-90 minutos (60-90'), no grupo tratado (n = 6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs; 120µg/Kg).....	114
Figura 69. Registro eletrocardiográfico da Frequência cardíaca (bpm) dos primeiros 30 minutos (0-30'), de 30-60 minutos (30-60') e de 60-90 minutos (60-90'), no grupo tratado (n = 6) com a Fração Natriurética isolada do veneno de <i>T. serrulatus</i> (PNVTs 0,4µg/Kg).....	114
Figura 70. Hematócrito inicial (Ht0) e final (Ht3) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs; 120µg/Kg) e Fração Natriurética isolada do veneno (PNVTs 0,4µg/Kg).....	116
Figura 71. Fluxo urinário (µL/min) dos primeiros 30 minutos (Urina 1), de 30-60 minutos (Urina 2) e de 60-90 minutos (Urina 3), nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs; 120µg/Kg) e Fração Natriurética isolada do veneno (PNVTs 0,4µg/Kg).....	117
Figura 72. Clearance de inulina (µL/min/100g) dos primeiros 30 minutos (Urina 1), de 30-60 minutos (Urina 2) e de 60-90 minutos (Urina 3), nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs; 120µg/Kg) e Fração Natriurética isolada do veneno (PNVTs 0,4µg/Kg).....	118
Figura 73. Fluxo plasmático renal cortical (FPRc; mL/min/100g) dos primeiros 30 minutos (0-30), de 30-60 minutos (30-60) e de 60-90 minutos (60-90), nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs; 120µg/Kg) e Fração Natriurética isolada do veneno (PNVTs 0,4µg/Kg).....	119

LISTA DE QUADROS

- Quadro 1.** Seqüência de aminoácidos da toxina TsTx-V (SCXV_TITSE) de *Tityus serrulatus*, comparado a outras espécies. 45
- Quadro 2.** Seqüência de aminoácidos da toxina Ts- γ (SCX7_TITST) de *Tityus serrulatus*, comparado a outras espécies. 45
- Quadro 3.** Cálculos para determinação de parâmetros funcionais renais. 62

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Pressão de Perfusão (PP; mmHg) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs; 3 µg/mL), Prazosin (10 µg/mL) e Prazosin (10 µg/mL) + VTs (3 µg/mL).....	169
Tabela 2. Resistência Vascular Renal (RVR) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n=6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs; 3 µg/mL), Prazosin (10 µg/mL) e Prazosin (10 µg/mL) + VTs (3 µg/mL).....	169
Tabela 3. Fluxo Urinário (FU) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs; 3 µg/mL), Prazosin (10 µg/mL) e Prazosin (10 µg/mL) + VTs (3 µg/mL).	169
Tabela 4. Ritmo de Filtração Glomerular (RFG) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs; 3 µg/mL), Prazosin (10 µg/mL) e Prazosin (10 µg/mL) + VTs (3 µg/mL).....	170
Tabela 5. Percentual de Transporte Tubular de Sódio (%TNa ⁺) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs; 3 µg/mL), Prazosin (10 µg/mL) e Prazosin (10 µg/mL) + VTs (3 µg/mL).....	170
Tabela 6. Percentual de Transporte Tubular Proximal de Sódio (%pTNa ⁺) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs; 3 µg/mL), Prazosin (10 µg/mL) e Prazosin (10 µg/mL) + VTs (3 µg/mL).	170
Tabela 7. Excreção de Sódio (ENa ⁺) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs; 3 µg/mL), Prazosin (10 µg/mL) e Prazosin (10 µg/mL) + VTs (3 µg/mL).	171
Tabela 8. Percentual de Transporte Tubular de Potássio (%TK ⁺) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs; 3 µg/mL), Prazosin (10 µg/mL) e Prazosin (10 µg/mL) + VTs (3 µg/mL).....	171
Tabela 9. Percentual de Transporte Tubular Proximal de Potássio (%pTK ⁺) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs; 3 µg/mL), Prazosin (10 µg/mL) e Prazosin (10 µg/mL) + VTs (3 µg/mL).....	171
Tabela 10. Excreção de Potássio (EK ⁺) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs; 3 µg/mL), Prazosin (10 µg/mL) e Prazosin (10 µg/mL) + VTs (3 µg/mL).	172
Tabela 11. Percentual de Transporte Tubular de Cloreto (%TCl ⁻) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs; 3 µg/mL), Prazosin (10 µg/mL) e Prazosin (10 µg/mL) + VTs (3 µg/mL).....	172
Tabela 12. Percentual de Transporte Tubular Proximal de Cloreto (%pTCl ⁻) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de <i>Tityus</i>	

<i>serrulatus</i> (VTs; 3 µg/mL), Prazosin (10 µg/mL) e Prazosin (10 µg/mL) + VTs (3 µg/mL).....	172
Tabela 13. Excreção de Cloreto (Cl ⁻) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs; 3 µg/mL), Prazosin (10 µg/mL) e Prazosin (10 µg/mL) + VTs (3 µg/mL).	173
Tabela 14. Pressão de Perfusão (PP; mmHg) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs; 3 µg/mL), Prazosin (3 µg/mL) e Prazosin (3 µg/mL) + VTs (3 µg/mL).	173
Tabela 15. Resistência Vascular Renal (RVR) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n=6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs; 3 µg/mL), Prazosin (3 µg/mL) e Prazosin (3 µg/mL) + VTs (3 µg/mL).....	173
Tabela 16. Fluxo Urinário (FU) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs; 3 µg/mL), Prazosin (3 µg/mL) e Prazosin (3 µg/mL) + VTs (3 µg/mL)..	174
Tabela 17. Ritmo de Filtração Glomerular (RFG) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs; 3 µg/mL), Prazosin (3 µg/mL) e Prazosin (3 µg/mL) + VTs (3 µg/mL).....	174
Tabela 18. Percentual de Transporte Tubular de Sódio (%TNa ⁺) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs; 3 µg/mL), Prazosin (3 µg/mL) e Prazosin (3 µg/mL) + VTs (3 µg/mL).....	174
Tabela 19. Percentual de Transporte Tubular Proximal de Sódio (%pTNa ⁺) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs; 3 µg/mL), Prazosin (3 µg/mL) e Prazosin (3 µg/mL) + VTs (3 µg/mL).	175
Tabela 20. Excreção de Sódio (ENa ⁺) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs; 3 µg/mL), Prazosin (3 µg/mL) e Prazosin (3 µg/mL) + VTs (3 µg/mL).	175
Tabela 21. Percentual de Transporte Tubular de Potássio (%TK ⁺) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs; 3 µg/mL), Prazosin (3 µg/mL) e Prazosin (3 µg/mL) + VTs (3 µg/mL).....	175
Tabela 22. Percentual de Transporte Tubular Proximal de Potássio (%pTK ⁺) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs; 3 µg/mL), Prazosin (3 µg/mL) e Prazosin (3 µg/mL) + VTs (3 µg/mL).	176
Tabela 23. Excreção de Potássio (EK ⁺) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs; 3 µg/mL), Prazosin (3 µg/mL) e Prazosin (3 µg/mL) + VTs (3 µg/mL)..	176

Tabela 24. Percentual de Transporte Tubular de Cloreto (%TCl ⁻) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs; 3 µg/mL), Prazosin (3 µg/mL) e Prazosin (3 µg/mL) + VTs (3 µg/mL).....	176
Tabela 25. Percentual de Transporte Tubular Proximal de Cloreto (%pTCl ⁻) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs; 3 µg/mL), Prazosin (3 µg/mL) e Prazosin (3 µg/mL) + VTs (3 µg/mL).....	177
Tabela 26. Excreção de Cloreto (ECl ⁻) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs; 3 µg/mL), Prazosin (3 µg/mL) e Prazosin (3 µg/mL) + VTs (3 µg/mL).	177
Tabela 27. Pressão de Perfusão (PP; mmHg) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com a <i>Tityus</i> toxina V (TsTX V 3µg/mL) e toxina gama (Tsg 3µg/mL) do veneno de <i>Tityus serrulatus</i>	177
Tabela 28. Resistência Vascular Renal (RVR) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com a <i>Tityus</i> toxina V (TsTX V 3µg/mL) e toxina gama (Tsg 3µg/mL) do veneno de <i>Tityus serrulatus</i>	178
Tabela 29. Fluxo Urinário (FU) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com a <i>Tityus</i> toxina V (TsTX V 3µg/mL) e toxina gama (Tsg 3µg/mL) do veneno de <i>Tityus serrulatus</i>	178
Tabela 30. Ritmo de Filtração Glomerular (RFG) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com a <i>Tityus</i> toxina V (TsTX V 3µg/mL) e toxina gama (Tsg 3µg/mL) do veneno de <i>Tityus serrulatus</i>	178
Tabela 31. Percentual de Transporte Tubular de Sódio (%TNa ⁺) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com a <i>Tityus</i> toxina V (TsTX V 3µg/mL) e toxina gama (Tsg 3µg/mL) do veneno de <i>Tityus serrulatus</i>	179
Tabela 32. Percentual de Transporte Tubular de Potássio (%TK ⁺) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com a <i>Tityus</i> toxina V (TsTX V 3µg/mL) e toxina gama (Tsg 3µg/mL) do veneno de <i>Tityus serrulatus</i>	179
Tabela 33. Percentual de Transporte Tubular de Cloreto (%TCl ⁻) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com a <i>Tityus</i> toxina V (TsTX V 3µg/mL) e toxina gama (Tsg 3µg/mL) do veneno de <i>Tityus serrulatus</i>	179
Tabela 34. Pressão de Perfusão (PP; mmHg) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com o peptídeo natriurético do veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (PNVTs; 0,03 µg/mL e 0,1µg/mL).....	180
Tabela 35. Resistência Vascular Renal (RVR) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com o peptídeo natriurético do veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (PNVTs; 0,03 µg/mL e 0,1µg/mL).....	180

Tabela 36. Fluxo Urinário (FU) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com o peptídeo natriurético do veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (PNVTs; 0,03 µg/mL e 0,1µg/mL).....	180
Tabela 37. Ritmo de Filtração Glomerular (RFG) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com o peptídeo natriurético do veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (PNVTs; 0,03 µg/mL e 0,1µg/mL).....	181
Tabela 38. Percentual de Transporte Tubular de Sódio (%TNa ⁺) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com o peptídeo natriurético do veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (PNVTs; 0,03 µg/mL e 0,1µg/mL)	181
Tabela 39. Percentual de Transporte Tubular de Potássio (%TK ⁺) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com o peptídeo natriurético do veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (PNVTs; 0,03 µg/mL e 0,1µg/mL).....	181
Tabela 40. Percentual de Transporte Tubular de Cloreto (%TCl ⁻) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com o peptídeo natriurético do veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (PNVTs; 0,03 µg/mL e 0,1µg/mL).....	182
Tabela 41. Percentual de Transporte Tubular Proximal de Sódio (%pTNa ⁺) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com o peptídeo natriurético do veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (PNVTs; 0,03 µg/mL e 0,1µg/mL).....	182
Tabela 42. Percentual de Transporte Tubular Proximal de Potássio (%pTK ⁺) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com o peptídeo natriurético do veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (PNVTs; 0,03 µg/mL e 0,1µg/mL).....	182
Tabela 43. Percentual de Transporte Tubular de Cloreto (%TCl ⁻) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com a <i>Tityus</i> toxina V (TsTX V 3µg/mL) e toxina gama (Tsg 3µg/mL) do veneno de <i>Tityus serrulatus</i>	183
Tabela 44. Dosagem de GMPc em amostras de urina de rim isolado nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com Peptídeo Natriurético isolado do veneno de <i>Tityus serrulatus</i> nas concentrações de 0,03µg/mL e 0,1µg/mL.....	103
Tabela 45. Pressão de Perfusão de leito mesentérico em ratos tratados com a Toxina γ do veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (3µg/mL; infundido a 0,1mL/min; n=6); Fenilefrina (5 µM/mL; infundido a 0,1mL/min; n=6) e Fenilefrina + toxina γ (mesmas condições citadas anteriormente)..	105
Tabela 46. Pressão de Perfusão de leito mesentérico em ratos tratados com a TsTx-V do veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (3µg/mL; infundido a 0,1mL/min; n=6); Fenilefrina (5 µM/mL; infundido a 0,1mL/min; n=6) e Fenilefrina + TsTx-V (mesmas condições citadas anteriormente).....	106
Tabela 47. Avaliação do percentual de contração de Canal deferente de camundongos Swiss tratados com o veneno de <i>Tityus serrulatus</i> em curva cumulativa de 1, 3, 10, 30, 100, 300, 1000 e 3000 ng/mL (<i>in bolus</i> ; n = 6) e Tetrodotoxina (TTX; 100 nM <i>in bolus</i> ; n = 6).....	108

Tabela 48. Pressão Arterial Média (PAM; mmHg) dos primeiros 30 minutos (0-30'), de 30-60 minutos (30-60') e de 60-90 minutos (60-90'), nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs; 120µg/Kg) e Fração Natriurética isolada do veneno (PNVTs 0,4µg/Kg).	110
Tabela 49. Frequência cardíaca (bpm) dos primeiros 30 minutos (30'), de 30-60 minutos (60') e de 60-90 minutos (90'), nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs; 120µg/Kg) e Fração Natriurética isolada do veneno (PNVTs 0,4µg/Kg).	113
Tabela 50. Hematócrito inicial (Ht0) e final (Ht3) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs; 120µg/Kg) e Fração Natriurética isolada do veneno (PNVTs 0,4µg/Kg).	116
Tabela 51. Fluxo urinário (µL/min) dos primeiros 30 minutos (Urina 1), de 30-60 minutos (Urina 2) e de 60-90 minutos (Urina 3), nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs; 120µg/Kg) e Fração Natriurética isolada do veneno (PNVTs 0,4µg/Kg).	117
Tabela 52. Clearance de inulina (µL/min/100g) dos primeiros 30 minutos (Urina 1), de 30-60 minutos (Urina 2) e de 60-90 minutos (Urina 3), nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs; 120µg/Kg) e Fração Natriurética isolada do veneno (PNVTs 0,4µg/Kg).	118
Tabela 53. Fluxo Plasmático Renal Cortical (FPRc; mL/min/100g) dos primeiros 30 minutos (30), de 30-60 minutos (60) e de 60-90 minutos (90), nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs; 120µg/Kg) e Fração Natriurética isolada do veneno (PNVTs 0,4µg/Kg).	119

LISTA DE ABREVIATURAS

ANOVA	Análise de Variância
ANP	Peptídeo Natriurético Atrial
AST	Aspartato Transaminase
BNP	Peptídeo Natriurético Cerebral
Ca⁺⁺	Íon cálcio
CEPA	Comitê de Ética em Pesquisa com Animais
CK	Creatina quinase
Cl⁻	Íon cloreto
Da	Dalton
DAG	Diacilglicerol
DL₅₀	Dose Letal para 50% dos animais
ECI⁻	Excreção do íon cloreto
EK⁺	Excreção do íon potássio
ENa⁺	Excreção do íon sódio
FSR	Fluxo Sanguíneo Renal
FU	Fluxo Urinário
GMPc	Guanetidina 3'-5'-monofosfato cíclica
Hz	Hertz
IL-1	Interleucina 1
IL-6	Interleucina 6
IP₃	Trifosfatidil inositol
K⁺	Íon potássio
KDa	Kilodáltons
LDH	Lactato Desidrogenase
Na⁺	Íon sódio
ODQ	Fármaco inibidor da guanilato ciclase solúvel

p	Probabilidade de ocorrência da hipótese nula
PAF	Fator Ativador de Plaquetas
PAH	p-aminohipurato
PNA	Peptídeo Natriurético Atrial
PNB	Peptídeo Natriurético Cerebral
PNC	Peptídeo Natriurético tipo C
pl	Ponto isoelétrico
PP	Pressão de Perfusão
Pz	Prazosin (antagonista α 1-adrenérgico)
RPN-A	Receptor para Peptídeo Natriurético tipo A
RPN-B	Receptor para Peptídeo Natriurético tipo B
RPN-C	Receptor para Peptídeo Natriurético tipo C
RFG	Ritmo de Filtração Glomerular
RVR	Resistência Vascular renal
Toxina γ	Toxina gama isolada do veneno de <i>Tityus serrulatus</i>
Ts-γ	Toxina gama isolada do veneno de <i>Tityus serrulatus</i>
Tsg	Toxina gama isolada do veneno de <i>Tityus serrulatus</i>
TsTx-V	Toxina V isolada do veneno de <i>Tityus serrulatus</i>
TNF	Fator de Necrose Tumoral
VTs	Veneno de <i>Tityus serrulatus</i>
%TCI⁻	Percentual de transporte tubular de cloreto
%TK⁺	Percentual de transporte tubular de potássio
%TNa⁺	Percentual de transporte tubular de sódio
%pTCI⁻	Percentual de transporte tubular proximal de cloreto
%pTK⁺	Percentual de transporte tubular proximal de potássio
%pTNa⁺	Percentual de transporte tubular proximal de sódio

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	26
1.1	Considerações gerais.....	27
1.2	Epidemiologia dos acidentes escorpiônicos.....	32
1.3	Ações Renais do Veneno de <i>Tityus serrulatus</i>	34
1.4	Rim e Pressão Arterial	37
1.5	Receptores α 1-adrenérgicos.....	39
1.6	Frações isoladas do veneno de <i>Tityus serrulatus</i>	41
1.7	Peptídeos natriuréticos.....	46
2	JUSTIFICATIVA	51
3	OBJETIVOS	53
3.1	Geral	54
3.2	Específicos	54
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	55
4.1	Animais de experimentação	56
4.2	Veneno e drogas utilizadas	56
4.3	Perfusão de rim isolado.....	56
4.3.1	Sistema utilizado	56
4.3.2	Calibração do sistema.....	57
4.3.3	Solução perfusora	59
4.3.4	Técnica cirúrgica	59
4.3.5	Protocolo experimental.....	61

4.3.6	Análises bioquímicas.....	61
4.3.7	Cálculos de parâmetros funcionais renais.....	61
4.3.8	Análise histopatológica.....	63
4.4	Dosagem de GMPc.....	63
4.5	Perfusão de leito vascular isolado.....	64
4.6	Canal Deferente	66
4.7	Clearance <i>in vivo</i> e medida da Pressão Arterial Média	67
4.7.1	Técnica cirúrgica	67
4.7.2	Protocolo experimental.....	68
4.7.3	Análises bioquímicas e cálculos dos parâmetros renais.....	70
4.8	Análises estatísticas.....	73
4.9	Comitê de ética	73
5	RESULTADOS	74
5.1	Perfusão de Rim Isolado	75
5.1.1	Bloqueio Farmacológico dos Efeitos Renais induzidos pelo veneno de <i>Tityus serrulatus</i> utilizando Prazosin 10µg/mL	75
5.1.2	Bloqueio Farmacológico dos Efeitos Renais induzidos pelo veneno de <i>Tityus serrulatus</i> utilizando Prazosin 3µg/mL	80
5.1.3	Perfusão de Rim Isolado com as frações <i>TsTX V</i> e Toxina γ do veneno de <i>Tityus serrulatus</i>	85
5.1.4	Perfusão de Rim Isolado com a Fração Natriurética do veneno de <i>Tityus serrulatus</i>	89
5.2	ATnálise histopatológica dos rins perfundidos com prazosin, veneno total e frações (<i>TsTx-V</i> , toxina γ e natriurética) e pré-tratados com prazosin + veneno de <i>Tityus serrulatus</i>	96

5.3	Dosagem de GMPc.....	102
5.3.1	Efeitos da utilização da Fração Natriurética.....	102
5.4	Ações sobre a pressão de perfusão de Leito Vascular Mesentérico	104
5.4.1	Efeitos das frações Toxina γ e TsTx-V	104
5.5	Ações do veneno bruto de <i>T. serrulatus</i> em Canal Deferente	107
5.6	Pressão Arterial Média de ratos.....	109
5.6.1	Efeitos do Veneno Bruto de <i>T. serrulatus</i> e Fração Natriurética.....	109
5.7	Frequência Cardíaca de ratos	112
5.7.1	Efeitos do Veneno Bruto de <i>T. serrulatus</i> e Fração Natriurética.....	112
5.8	Perfusão Renal de ratos <i>in vivo</i>	115
5.8.1	Efeitos do Veneno Bruto de <i>T. serrulatus</i> e Fração Natriurética.....	115
6	DISCUSSÃO.....	120
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	140
8	CONCLUSÕES.....	143
9	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	145
	APÊNDICES	168
	ANEXOS	184

INTRODUÇÃO

Tem gente que sonha com realizações importantes, e há quem vai lá e realiza.

George Bernard Shaw

1 INTRODUÇÃO

1.1 Considerações gerais

Os escorpiões pertencem ao filo dos *Arthropodae*, classe *Arachnidea* e ordem *Scorpionidae*. Dentre as nove famílias existentes, apenas a família *Buthidae* provoca acidentes graves. Os principais gêneros e espécies envolvidas nestes acidentes são *Mesobuthus tamulus* (encontrados no oeste indiano); *Heterometrus bengalensis* (leste indiano); *Androctonus* sp. e *Leiurus* sp. (norte e leste da África e Israel); *Tityus* sp. (América do sul) e *Centruroides* sp., amplamente distribuídos nas Américas do Norte e Central (ANDRADE FILHO *et al.*, 2001).

Algumas espécies de escorpiões podem inocular veneno pelo ferrão, para capturar suas presas e como mecanismo de defesa (PLESSIS *et al.*, 2008), sendo considerados animais peçonhentos. A gravidade depende de fatores como a espécie e o tamanho do escorpião, a quantidade de veneno inoculado, a massa corporal e idade do acidentado (crianças menores que 7 anos são mais susceptíveis ao veneno), além da sensibilidade do paciente ao veneno (LIRA-DA-SILVA *et al.*, 2000; SOARES *et al.*, 2002).

As complicações mais comuns no envenenamento severo são alterações na pressão arterial, taquicardia, taquipnéia, desordens respiratórias (MOTA *et al.*, 1994; D'SUZE *et al.*, 1995; COELHO *et al.*, 2007; BARÃO *et al.*, 2008), pancreatite, danos cardíacos (cardiotoxicidade direta), desordens gastrintestinais (TRONCON *et al.*, 2000), alterações renais (ANDRADE FILHO *et al.*, 2001; NUNAN *et al.*, 2003; ALVES *et al.*, 2005), distúrbios na coagulação e falência múltipla de órgãos (DEVI *et al.*, 1970; REDDY *et al.*, 1972; ROBERT, 1991; SOFER *et al.*, 1996; D'SUZE *et al.*, 2003).

Os escorpiões de interesse médico no Brasil estão agrupados no gênero *Tityus* e as três espécies mais importantes são *T. serrulatus*, *T. bahiensis* e *T. stigmurus* (LUTZ e MELLO, 1922; BÜCHERL, 1971; EICKSTEDT, 1983/1984; LIRA-DA-SILVA *et al.*, 2000; BARÃO *et al.*, 2008). Estas espécies são consideradas as mais tóxicas do Brasil, sendo o veneno de *T. stigmurus* o que apresenta maior

toxicidade i.p. (DL50 = 0,773mg/Kg), seguido de *T. bahiensis* (DL50 = 1,062mg/Kg) e *T. serrulatus* (DL50 = 1,160mg/Kg) (LIRA-DA-SILVA *et al.*, 2000).

Mesmo apresentando a maior DL50, o maior número de casos, incluindo óbitos, são atribuídos à espécie *T. serrulatus* (LIRA-DA-SILVA *et al.*, 2000), pois este escorpião injeta o dobro do veneno em relação aos outros (os escorpiões expelem aproximadamente 5µL de veneno, segundo MITRE, 2001) e é, atualmente, o causador do maior número de mortes, principalmente em crianças com menos de sete anos (BÜCHERL, 1968; FIGUEROA e BARBOSA, 1983; ANDRADE FILHO *et al.*, 2001; FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE, 2001). Outro dado importante que contribui para isso é a alta DL50 desta espécie por via i.v., de aproximadamente 0,56mg/Kg para ratos (CRUTTENDEN *et al.*, 2008 *in press*), além da presença de neurotoxinas que interagem com canais iônicos levando a uma intensa descarga autonômica (BARÃO *et al.*, 2008), ou seja, ambos os sistemas simpático e parassimpático são afetados no acidente escorpiônico (PETRICEVICH *et al.*, 2007).

O gênero *Tityus*, embora primitivamente habitante do cerrado e de campos abertos, tornou-se bem adaptada à vida domiciliar urbana, possivelmente em decorrência da rápida e desorganizada colonização pelo homem das regiões ocupadas pelos aracnídeos (SOARES *et al.*, 2002).

Os venenos de *T. stigmurus*, *T. serrulatus* e *T. bahiensis* apresentam similaridade quanto aos seus componentes tóxicos, família de peptídeos e organização, processamento e expressão gênica, além de alto grau de reatividade cruzada entre os anti-soros específicos (BECERRIL *et al.*, 1996; BECERRIL *et al.*, 1997; BATISTA *et al.*, 2007; BORGES *et al.*, 2008; BORGES e ROJAS-RUNJAIC, 2007).

Tityus serrulatus e *Tityus bahiensis* são as espécies predominantes no sudeste do Brasil e a eles é atribuída a responsabilidade pela maioria dos acidentes ocorridos no país (BARÃO *et al.*, 2008; BORGES *et al.*, 2008; CRUTTENDEN *et al.*, 2008 *in press*).

Tityus serrulatus (figura 1A), conhecido como escorpião amarelo, tem ampla distribuição, estando presente em estados das regiões nordeste (BA, CE), sudeste

(MG, ES, RJ, SP), centro-oeste (DF, GO) e sul (PR, RS) (GUIA DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA, 2004; INSTITUTO BUTANTAN, s/d).

Outra espécie predominante na região nordeste é o *Tityus stigmurus* (figura 1B). Alguns trabalhos consideram que *Tityus serrulatus* e *Tityus stigmurus* fariam parte de um mesmo grupo, apresentando quatro formas morfológicas: confluenciata, unifasciata, confluenciata/maculata, e trifasciata (LOURENÇO, 1981). As formas confluenciata/maculata, e trifasciata se reproduzem sexualmente, ou seja, neste complexo formado por *T. serrulatus* e *T. stigmurus* existiriam populações sexuais e partenogênicas (LOURENÇO e CLOUDSLEY-THOMPSON, 1999).

A morfologia trifasciata apresenta três listras negras longitudinais sobre o dorso como observado na população de escorpiões do estado do Ceará. Provavelmente existem outros padrões ainda não documentados (LOURENÇO e CLOUDSLEY-THOMPSON, 1999).

Mello-Campos (1924) e Vellard (1932) consideram *T. serrulatus* e *T. stigmurus* variações de uma mesma espécie.



Figura 1: A. *Tityus serrulatus* e **B.** *Tityus stigmurus*

Fonte: Fundação Nacional de Saúde, 1998.

Os escorpiões são vivíparos, entretanto, o *T. serrulatus*, se reproduz por um processo no qual o óvulo se desenvolve sem a necessidade de fecundação, denominado partenogênese e, portanto, existem apenas espécimes do sexo feminino (ANDRADE FILHO *et al.*, 2001, LOURENÇO, 2008). A vida média dos

escorpiões é de três a cinco anos e apresentam apenas uma ninhada por ano, com número variável de filhotes dependendo da espécie.

O processo de expansão de *T. serrulatus* ocorre continuamente. Quando escorpiões são transportados, via estradas ou ferrovias, e chegam a regiões habitadas pelo homem, estabelecem novas colônias (LOURENÇO, 2008). Este processo é facilitado, pois esta espécie apresenta grande habilidade de dispersão, alto potencial de reprodução e abundância de alimentos (BLONDEL, 1976).

Este escorpião tem capacidade de sobreviver até dois anos sem se alimentar, encerrado num vidro de laboratório. Possui hábitos noturnos, é fluorescente à luz ultravioleta, refletindo o azul e, quando molestado, desfere intensa ferroadada. Pequenos animais e crianças não conseguem sobreviver ao ataque da maioria das espécies existentes no Brasil e mesmo para os adultos sua picada pode ser fatal (GUIA BUTANTAN, s/d).

O veneno do escorpião *Tityus serrulatus* é uma mistura de peptídeos tóxicos e não tóxicos além de serotonina, nucleotídeos, aminoácidos, enzimas (hialuronidase) e lípidos (POSSANI *et al.*, 1984; BATISTA *et al.*, 2007; PLESSIS *et al.*, 2008).

A atividade hialuronidásica do veneno de *Tityus serrulatus* favorece a quebra do ácido hialurônico da matriz celular e facilita a difusão da toxina pelos tecidos, pois catalisa a hidrólise de glicosaminoglicanos dos tecidos conectivos (POSSANI *et al.*, 1977; PESSINI *et al.*, 2001; BATISTA *et al.*, 2007). Vários outros patógenos como *streptococcus*, *pneumococcus* e *staphylococcus* também produzem enzimas com ação hialuronidásica. Estas enzimas também são encontradas em venenos de insetos e serpentes e em tecidos malignos (KREIL, 1995).

Nos acidentes moderados e graves, observados principalmente em crianças, podem surgir manifestações sistêmicas: gerais (hipo ou hipertermia e sudorese profusa); digestivas (náuseas, vômitos, sialorréia e, mais raramente, dor abdominal e diarreia); cardiovasculares (arritmias cardíacas, hipertensão ou hipotensão arterial, insuficiência cardíaca congestiva e choque); respiratórias (taquipnéia, dispnéia e edema pulmonar agudo) e neurológicas (agitação, sonolência, confusão mental, hipertonia e tremores) (FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE, 2005), além de

manifestações renais com elevação de parâmetros bioquímicos como uréia e creatinina (ANDRADE FILHO *et al.*, 2001; NUNAN *et al.*, 2003).

Os efeitos observados após um envenenamento são descritos como fenômenos de “tudo ou nada”, pois o veneno pode causar desde somente dor com efeitos menores sobre frequência cardíaca e aumento de secreções, como efeitos exacerbados que incluiriam convulsões e morte (CRUTTENDEN *et al.*, 2008 *in press*). As condições da vítima como idade, peso, debilidade anterior ou ainda uma possível reação de hipersensibilidade aos componentes do veneno, são decisivos na severidade do acidente.

Em pacientes acidentados, o tratamento primordial é a manutenção dos sinais vitais, atentando para variações na pressão arterial, edema agudo de pulmão e choques. O tratamento, então, passa a ser sintomático (alívio da dor) ou específico, com a administração de soro antiescorpiônico, que visa neutralizar o veneno circulante e, com isso, impedir o agravamento das manifestações clínicas.

O tratamento sintomático consiste no alívio da dor por infiltração de lidocaína a 2% sem vasoconstrictor no local da picada e uso de analgésicos a cada seis horas (GUIA DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA, 2005). Os distúrbios hidroeletrólíticos também devem ser corrigidos.

A bradicardia sinusal associada a baixo débito cardíaco e o bloqueio átrio-ventricular total devem ser tratados com atropina (0,01 a 0,02mg/kg). A hipertensão arterial persistente, associada ou não a edema pulmonar agudo, é tratada com o emprego de nifedipina (0,5mg/kg) sublingual. Nos pacientes com edema pulmonar agudo, além das medidas convencionais de tratamento deve ser considerada a necessidade de ventilação artificial mecânica, dependendo da evolução clínica. O tratamento da insuficiência cardíaca e do choque é complexo e geralmente necessita do emprego de infusão venosa contínua de dopamina e/ou dobutamina (2,5 a 20 µg/kg/min) (GUIA DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA, 2005).

A soroterapia específica, por via intravenosa, está formalmente indicada para todos os casos graves de envenenamento, independente da idade do paciente.

O soro antiescorpiônico, constituído de anticorpos protéicos de alto peso molecular que não passam pelos poros capilares, deve ser administrado em casos graves e moderados (mais freqüente em crianças) o mais precocemente possível e de acordo com a gravidade estimada do acidente com o objetivo de neutralizar a toxina circulante antes de sua impregnação nos tecidos (PETRICEVICH *et al.*, 2007).

O soro antiaracnídico é obtido de plasma de eqüinos hiperimunizados com uma mistura de venenos de escorpiões do gênero *Tityus* (*serrulatus* e *bahiensis*) – antiescorpiônico – ou de venenos de aranhas dos gêneros *Phoneutria* (aranha-armadeira) e *Loxosceles* (aranha-marrom) – antiaracnídico. Em geral, o prognóstico de sobrevivência é de 100% para pacientes tratados até duas horas após o acidente (PETRICEVICH *et al.*, 2007).

Um método para detecção da quantidade de veneno escorpiônico circulante, semelhante ao teste ELISA, foi desenvolvido pelo Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais. Com esta metodologia, consegue-se determinar a quantidade de toxina circulante (CHAVÉZ-OLÓRTEGUI *et al.*, 1994; FAGUNDES, 2003). Com isso, seria possível administrar o soro antiaracnídico em concentrações efetivas e minimizar os efeitos colaterais advindos do tratamento.

1.2 Epidemiologia dos acidentes escorpiônicos

Os acidentes escorpiônicos são menos notificados que os ofídicos (GUIA DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA, 2004).

O estudo sobre veneno de escorpiões começou, no Brasil, no início do século passado por Maurano (1915) e Vital Brazil (1918), seguidos de Magalhães e Tupinambá (1938) e Magalhães (1945), todos na região Sudeste (FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE, 1998).

Os acidentes escorpiônicos são comuns em países tropicais e subtropicais (PLESSIS *et al.*, 2008). No Brasil foram reportados mais de 30 mil casos de acidentes escorpiônicos em um intervalo de cinco anos, resultando em mais de cem mortes (CRUTTENDEN *et al.*, 2008 *in press*).

A presença de escorpiões em grandes áreas urbanas tem sido verificada em diversas regiões. O estado de Minas Gerais é o que apresenta o maior número de acidentes escorpiônicos, chegando a registrar mais de 1000 casos/ano (SILVA, 1992; LOURENÇO e CUELLAR, 1995). Na Bahia, foram observados 1208 casos em um período de 10 anos, 68% deles procedentes de Salvador (BARBOSA *et al.*, 2003).

De caráter predominantemente urbano, sua ocorrência tem se elevado nos últimos anos, particularmente nos estados do Nordeste, atingindo mais de 21.022 acidentes em 2003 e taxa de incidência de 12 casos por 100 mil habitantes. A maioria dos acidentes é classificada como leve e não requer soroterapia, podendo ser tratada na unidade de saúde mais próxima do local de ocorrência. Em que pese a baixa letalidade (0,2%), crianças abaixo de 14 anos têm risco mais elevado de evoluir para óbito (3,2%). Em 2003, foram registrados 48 óbitos, a quase totalidade em menores de 14 anos (GUIA DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA, 2005).

A distribuição do escorpionismo ao longo do ano não ocorre de maneira uniforme, verificando-se um incremento no número de casos nas épocas de calor e chuvas, que coincidem com o período de maior atividade biológica dos escorpiões.

Em regiões climáticas quentes como o Ceará, nos meses em que ocorre aumento da temperatura e da pluviosidade, os acidentes parecem ser bem mais freqüentes do que as estatísticas oficiais, podendo assumir um perfil epidemiológico grave em determinadas áreas (NETO *et al.*, 1994).

Os acidentes escorpiônicos têm uma alta incidência no Estado do Ceará. Durante os anos de 2003 e 2004 foram registrados 2083 acidentes por animais peçonhentos e destes, 1518 (72,9%) foram ocasionados por escorpiões (ALVES *et al.*, 2007).

Os resultados obtidos por Alves *et al.* (2007), ao contrário da literatura, mostraram que os acidentes por escorpiões são freqüentes o ano inteiro no estado do Ceará. Isto pode ter ocorrido, pois o Ceará é um estado com clima quente permanente, favorecendo a proliferação destes animais. Ocorreu predominância de acidentes no sexo feminino e a faixa etária mais acometida situava-se entre 15 a 29 anos. Embora a faixa etária abaixo de 14 anos também tenha registrado grande

número de acidentes neste período, o coeficiente de letalidade foi inexistente para a região estudada, possivelmente pela espécie predominante ser o *T. stigmurus*, escorpião que apresenta menor número de mortes associado.

A maioria dos acidentes escorpiônicos registrados não teve a etiologia de seu agente causador, demonstrando a falta de conscientização da população para a captura do animal agressor e sua identificação para pronto atendimento. Dos casos identificados, apenas um pôde ser atribuído a espécie *Tityus serrulatus*, espécie migratória, de fácil adaptação (reprodução partenogenética) e que também se encontra em nosso estado (INSTITUTO BUTANTAN, s/d).

1.3 Ações Renais do Veneno de *Tityus serrulatus*

Considerando as quantidades limitadas de veneno injetadas e os achados clínicos encontrados no paciente acidentado, fica claro a diversidade de componentes ativos presentes neste veneno. São encontrados polipeptídeos básicos de aproximadamente 7 KDa, com efeito principalmente, na modulação de canais iônicos (CRUTTENDEN *et al.*, 2008 *in press*).

O aumento dos níveis séricos de uréia e creatinina são descritos por alguns autores em pacientes picados por escorpião do gênero *Tityus* (FREIRE-MAIA e CAMPOS, 1988; ANDRADE FILHO *et al.*, 2001; NUNAN *et al.*, 2003), mostrando alterações nos parâmetros de função renal.

Estudos em animais mostraram que o veneno de escorpião distribui-se rapidamente do sangue para os tecidos. Os rins apresentam as concentrações mais altas, 15 minutos depois da injeção em ratos, seguidos pelo fígado, pulmões, e coração (ISMAIL e ELSALAM, 1988; BERTAZZI *et al.*, 2003). Portanto, acredita-se na hipótese de que a toxina liga-se ao rim induzindo falência renal aguda nos acidentes severos, apresentando elevação sérica de uréia e ácido úrico, congestão peritubular, volume urinário diminuído e baixa excreção de creatinina (NUNAN *et al.*, 2003).

A alta concentração de veneno nos rins talvez seja por este ser o local preferencial para a eliminação da toxina, que chega a 45% do total (ISMAIL *et al.*, 1974; 1978; 1980; REVELO *et al.*, 1996).

O pequeno tempo de meia-vida para distribuição do veneno sugere que o veneno circulante pode não ser detectado em pacientes acidentados com escorpiões, desde que eles não sejam atendidos imediatamente após o incidente (GUERON e OVSYSHCHER, 1987). Ninhadas de fêmeas de rato, expostas a altas concentrações do veneno no décimo dia de gestação, não apresentaram alterações histológicas renais significativas (nas mães ou nas crias), demonstrando realmente o efeito agudo do veneno no rim (CRUTTENDEN *et al.*, 2008 *in press*).

O veneno bruto de *T. serrulatus* promoveu alterações na função renal elevando a pressão de perfusão (PP) e resistência vascular renal (RVR), além de diminuir o ritmo de filtração glomerular (RFG) e o fluxo urinário (FU), ao final do experimento. Isto provavelmente ocorreu por ação vasoconstrictora direta, pois o mesmo resultado foi obtido no modelo de leito vascular mesentérico. Entretanto, em ambos os casos esse efeito foi transitório, cessando poucos minutos após o efeito máximo (ALVES *et al.*, 2005).

O aumento transitório na PP e RVR induzido pelo veneno de *Tityus serrulatus* pode ser devido a ativação renal de α 1-adrenoreceptores, secundária a ativação de canais de sódio, reduzindo a velocidade ou bloqueando mecanismos de inativação (CATTERALL, 1986; COURAUD *et al.*, 1982). As arteríolas aferentes e eferentes são ricas em α -adrenoreceptores com densidade mais alta em arteríolas aferentes (STRASSER *et al.*, 1992). Este efeito vascular direto foi confirmado pelo aumento de pressão de perfusão em arteríolas mesentéricas isoladas de rato. Este achado é consistente com os resultados de Teixeira *et al.*, 2003, que demonstraram que o veneno de *Tityus serrulatus* induz contrações tônicas do músculo anococcígeno mediado por ativação de pós-juncional de α -adrenoreceptores que aponta o envolvimento de ativação de canais de Na^+ neuronais.

Este raciocínio é fortalecido pelo efeito vasoconstrictor direto induzido por VTs no leito vascular mesentérico. Alternativamente, este efeito poderia ser secundário ao bloqueio de canais de potássio que conduzem a despolarização do músculo liso

vascular e contração. Por exemplo, vários "peptídeos curtos" presentes no veneno (30-40 resíduos de aminoácidos) apresentam especificidade para diferentes tipos de canais de K^+ (TYTGAT *et al.*, 1999).

Além disso, o tempo do efeito vasopressor de VTs no leito vascular renal e leito vascular mesentérico é semelhante (começo agudo e 5-10 min de duração). Isto pode representar inativação de canal iônico (i.e., canal de Na^+ neuronal voltagem-dependente) ou o fenômeno de escape vascular adrenérgico (FOLKOW *et al.*, 1964). Na hipótese anterior consideramos que o veneno pode agir estimulando neurônios adrenérgicos e, conseqüentemente, produzindo vasoconstricção.

Isto é consistente com a ação excitatória de VTs na membrana axonal dos neurônios através de modificações (i.e., condutância aumentada) em canais de Na^+ voltagem-dependentes (POSSANI *et al.*, 1999) e com dados que demonstram excitação de nervos periféricos como excitação adrenérgica por ativação de canais de Na^+ neuronais (FREIRE-MAIA, 1995; ISMAIL, 1995; TEIXEIRA *et al.*, 2003). A excitação contínua deste canal, por infusão contínua ou perfusão de tecidos com VTs levaria a inativação destes canais (BENOIT, 1998). A hipótese posterior considera que VTs libera grandes quantidades de noradrenalina de neurônios adrenérgicos, levando a uma ativação persistente de receptores adrenérgicos e a vasoconstricção diminui espontaneamente por um mecanismo de controle miogênico do fluxo, isto é, escape vascular (GREENWAY *et al.*, 1976).

A avaliação histopatológica revelou depósito de material protéico nos túbulos renais e espaços urinários de rins perfundidos com VTs (ALVES *et al.*, 2005). Isto pode revelar que o veneno induziu um aumento na pressão hidrostática levando, potencialmente, a um extravasamento de perfusato para o parênquima. Isto poderia explicar a diminuição do RFG e FU ao final do experimento.

O aumento na pressão de perfusão pode explicar o extravasamento de proteína observado. Alternativamente, pode haver, no veneno de *Tityus*, a presença de "peptídeos formadores de poros", que também se manifestam em outras espécies de escorpião (*Martensii* e *Buthus*, por exemplo). Estes peptídeos poderiam desestabilizar a membrana basal glomerular e contribuir para o extravasamento (VERDONCK *et al.*, 2000; TORRES-LARIOS *et al.*, 2000; DAI *et al.*, 2001; CORZO

et al., 2001; DAI *et al.*, 2002). Outra ação dos peptídeos seria aumentar a permeabilidade de íons e atividade de proteína-G, levando ao aumento de correntes de Na^+ e Ca^{2+} , que conduziriam ao aumento na pressão de perfusão secundário a liberação de noradrenalina (MOUSLI *et al.*, 1990; TOSSI *et al.*, 2000).

Finalmente, estes resultados também poderiam ser devidos a liberação de mediadores inflamatórios vasoativos por células mesangiais. Por exemplo, Barraviera *et al.* (1995), confirmaram que pacientes envenenados, podem liberar prostaglandinas, citocinas, bradicinina, frações de complemento e fator ativador de plaquetas (PAF) (COELHO *et al.*, 2007; PETRICEVICH *et al.*, 2007; BARÃO *et al.*, 2008; CRUTTENDEN *et al.*, 2008 *in press*). Todas essas substâncias também já foram descritas como sendo liberadas através de células renais (KOEPPEN *et al.*, 1997; HAVT *et al.*, 2001).

1.4 Rim e Pressão Arterial

Estima-se que a hipertensão arterial atinja aproximadamente 22% da população brasileira acima de vinte anos, sendo responsável por 80% dos casos de acidente vascular cerebral, 60% dos casos de infarto agudo do miocárdio e 40% das aposentadorias precoces, além de significar um custo de 475 milhões de reais gastos com 1,1 milhão de internações por ano (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2001).

O rim e a hipertensão arterial interagem de maneira íntima e complexa. O debate se a hipertensão é a causa ou a consequência da doença renal não tem apenas importância acadêmica. No exame de um caso isolado, muitas vezes é difícil determinar se o rim está originando ou sofrendo as consequências da hipertensão, evidenciando que etiologias diferentes podem estar clínica e laboratorialmente simultâneas (WENZEL, 2005). Não obstante, a hipertensão é agora citada como causa da insuficiência renal de 25% dos pacientes iniciando tratamento dialítico crônico nos EUA. Diálise e transplante são terapêuticas extremamente dispendiosas e a prevenção da lesão renal associada à hipertensão assume também grande importância econômica.

Há abundante inervação adrenérgica no rim, incluindo arteríolas aferente e eferente, túbulos proximal e distal, alça ascendente de Henle e aparelho justaglomerular. Ainda, o sistema nervoso simpático renal modula a liberação de renina via receptores beta-adrenérgicos e controla a hemodinâmica renal via receptores alfa-adrenérgicos. Aumento na atividade do simpático renal poderia contribuir para a gênese da hipertensão arterial através de vários mecanismos: aumentando a reabsorção tubular de água e sódio, aumentando a secreção de renina e a formação de angiotensina II, aumentando a resistência vascular renal e reduzindo o ritmo de filtração glomerular. Um aumento primário da atividade do simpático renal poderia produzir retenção de sódio por múltiplos mecanismos. Efetivamente, a atividade do simpático renal está aumentada em vários modelos de hipertensão experimental (KOPP e DIBONA, 1992).

O sistema renina-angiotensina clássico consiste da renina produzida pelo rim, do substrato da renina (angiotensinogênio) produzido pelo fígado, e da enzima conversora da angiotensina (ECA), localizada nos pulmões. Sabe-se agora que muitos tecidos contêm renina, angiotensinogênio e ECA e podem sintetizar angiotensina II, independentemente da renina e seu substrato circulantes. Eles agem localmente como fatores de crescimento, neurotransmissores e constritores do músculo liso. Genericamente, a secreção de renina pelo rim é estimulada quando ocorre diminuição da volemia, da pressão arterial sistêmica ou do líquido corpóreo total. Os mecanismos intrarrenais primários que regulam a liberação de renina, sob circunstâncias fisiológicas normais, são: 1) a carga de cloreto de sódio na mácula densa, e 2) o sensor barorreceptor da arteríola aferente. Ambos os mecanismos funcionam em cada néfron, regulando a liberação de renina do seu próprio aparelho justaglomerular. Baixa concentração de cloreto de sódio na macula densa e baixa pressão aferente estimulam a liberação de renina.

Os efeitos cardiovasculares encontrados no acidente escorpiónico são atribuídos a maciça liberação de catecolaminas que, aumentam o acúmulo de cálcio intracelular e este, por sua vez, aumenta a força cardíaca, a pressão sanguínea e o consumo de oxigênio cardíaco (VASCONCELOS *et al.*, 2005).

Ademais, os efeitos diretos das toxinas de VTs sobre as fibras cardíacas levariam ao desenvolvimento de arritmias por alteração na contratilidade, além de efeitos inotrópicos.

A possibilidade de existirem outras substâncias pressóricas, além de adrenalina e noradrenalina, foi sugerida para contribuir com a hipertensão. Estudos experimentais com *Centruroides sculpturatus*, *Leirius quinquestriatus* e *Mesobuthus tamulus*, demonstraram a elevação de renina plasmática, o que sugere a participação de angiotensina II na fisiopatologia da hipertensão nos acidentes escorpiônicos.

Vasconcelos *et al.* (2005) demonstraram o aumento da pressão arterial média de 125 para 212 mmHg em cães anestesiados, 5 minutos após a injeção de uma fração tóxica do veneno de *Androctonus australis*. Isto pode demonstrar a participação de mediadores adicionais potentes sobre o tônus vascular. Esses peptídeos poderiam ser neuropeptídeo Y, endotelina 1 ou aqueles secretados em resposta à disfunção cardíaca, os peptídeos natriuréticos atriais. Esses peptídeos são encontrados após o envenenamento escorpiônico e podem contribuir para os efeitos característicos da síndrome.

O veneno total de *Tityus serrulatus* (VTs) demonstrou efeitos hipertensores no sistema de rim isolado (ALVES *et al.*, 2005). Para investigar uma possível ação direta deste veneno foi investigada a participação do sistema adrenérgico nos efeitos observados.

1.5 Receptores α -adrenérgicos

Os receptores adrenérgicos são receptores trans-membrana que medeiam a resposta fisiológica por liberação endógena de epinefrina e norepinefrina (DOCHERTY, 1998). A resposta celular envolve o controle da pressão e fluxo sanguíneo, modulação da atividade neuronal, digestão, vias aéreas, reprodução, diâmetro da pupila, processos endócrinos e metabólicos, além do comportamento (SCHWINN *et al.*, 2004).

Estes receptores geralmente promovem sua ação com participação da proteína G e apresentam 7 domínios trans-membrana (Figura 2).

Pelas técnicas de biologia molecular atuais foi possível classificar os receptores adrenérgicos em subtipos que foram, por sua vez, subdivididos em mais de 6 classes: $\alpha 1a$; $\alpha 1b$; $\alpha 1d$; $\alpha 2a$; $\alpha 2b$ e $\alpha 2c$, formalmente aceitos como nomenclatura pela União Internacional de Farmacologia em 1995.

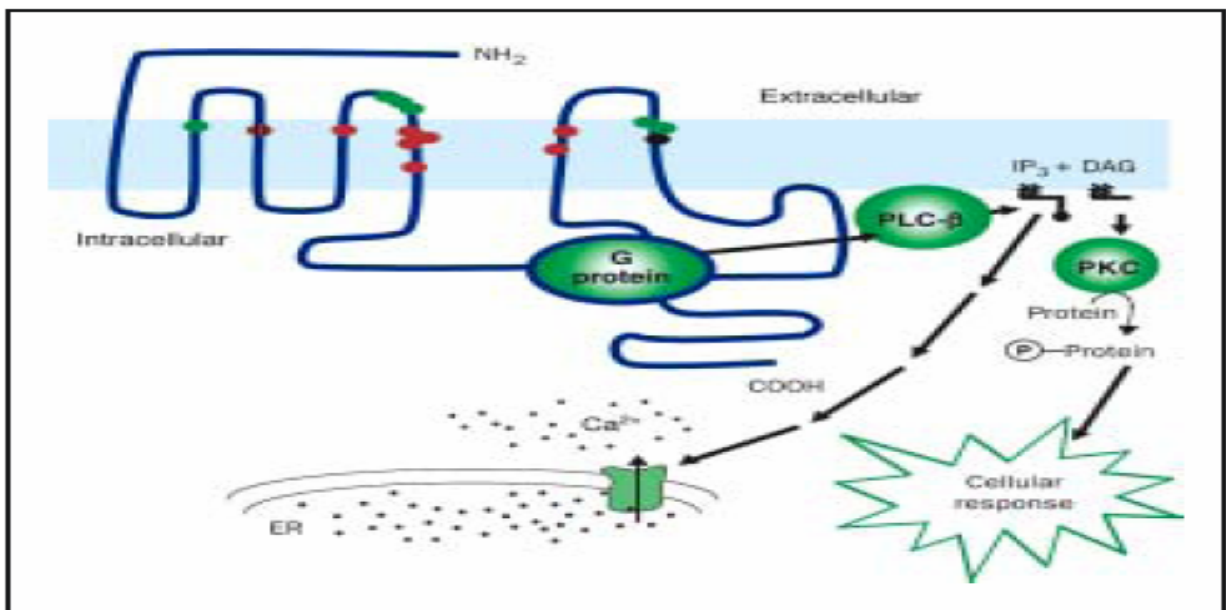


Figura 2: Figura esquemática dos receptores $\alpha 1$ -adrenérgicos acoplados a proteína G. em vermelho estão destacados os resíduos chave para a ligação com drogas agonistas e em verde, os locais de inibição por fármacos antagonistas.

Fonte: SCHWINN *et al.*, 2004.

A existência de mais de um subtipo de receptor $\alpha 1$ foi constatada inicialmente por métodos farmacológicos clássicos, com base na diferença de ligação dos antagonistas clássicos. Os subtipos apresentam ampla distribuição pelo corpo humano: o subtipo $\alpha 1d$ encontra-se em altos níveis no córtex cerebral e aorta; já o subtipo $\alpha 1a$ apresenta alta expressão no fígado, coração, cerebelo e córtex cerebral. Recentes estudos na vasculatura humana indicam que os receptores $\alpha 1a$ estão predominantemente presentes no sistema esplênico (fígado, baço e mesentério)

artérias de resistência e diversos outros sistemas de leito vascular (SCHWINN *et al.*, 2004).

No rim, assim como em outros leitos vasculares, existe uma ampla heterogeneidade no que diz respeito aos subtipos de receptores α -adrenérgicos. Estudos baseados em antagonistas de receptor sugerem que a artéria renal de ratos contenha primariamente o subtipo α 1a, entretanto Villalobos-Molina *et al.* (1997), mostraram que tanto o subtipo α 1a quanto α 1d mediavam a contração induzida por catecolaminas na artéria renal.

O antagonismo de receptores causa inicialmente diminuição da resistência de arteríolas e veias. Isso causa um reflexo simpático na frequência cardíaca e atividade plasmática de renina. Durante a terapia a longo prazo, a vasodilatação persiste, mas os outros efeitos normalizam. O bloqueio causa hipotensão postural variável dependendo do volume plasmático e a retenção de sal e água observada em alguns pacientes é corrigida com a adição de diuréticos a terapêutica.

Os fármacos hipotensores que atuam nestes receptores diminuem a pressão arterial por meio do bloqueio dos receptores α 1-adrenérgicos nas arteríolas e vênulas. Em consequência, espera-se maior redução pressórica quando na posição ortostática. A alta seletividade apresentada pelos receptores α 1-adrenérgicos parece explicar a menor taquicardia causada por esses agentes quando comparados à fentolamina, um alfa-bloqueador não-seletivo (TAVARES e PLAVNIK, 1998).

1.6 Frações isoladas do veneno de *Tityus serrulatus*

A peçonha escorpiônica é uma mistura complexa composta de muco insolúvel, mucopolissacarídeos, oligopeptídeos, nucleotídeos, moléculas de baixo peso molecular como serotonina ou histamina, inibidores de proteases, liberadores de histamina, aminoácidos, enzimas (hialuronidase), lípidos e diversas proteínas básicas de baixo peso molecular (neurotoxinas), que conferem as ações do veneno (POSSANI *et al.*, 1984; VASCONCELOS *et al.*, 2005). O veneno, entretanto, não

apresenta atividade hemolítica, proteolítica e fosfolipásica e não há consumo de fibrinogênio (CUPO *et al.*, 1992; CUPO *et al.*, 1994; HERING *et al.*, 1997).

As frações tóxicas do veneno de *T. serrulatus* começaram a ser purificadas em 1966 (GOMES e DINIZ), por processo posteriormente modificado por Sampaio e colaboradores (1991), utilizando-se cromatografia líquida de filtração molecular e troca iônica. Deste processo de separação são obtidas duas frações tóxicas principais: a Ts- γ (toxina gama) e a TsTx (tityustoxina).

Por 26 anos acreditou-se que a tityustoxina era uma fração homogênea, amplamente utilizada em ensaios biológicos (DINIZ, 1978; FREIRE-MAIA, 1995). Entretanto, descobriu-se que a tityustoxina compreende um pool de diversos peptídeos (ARANTES *et al.*, 1992).

Com avançados métodos de fracionamento, cromatografia e seqüenciamento de peptídeos, tem sido cada vez mais precisa a caracterização dos componentes do veneno escorpiônico (PLESSIS *et al.*, 2008). Estas novas toxinas isoladas podem ser classificadas em α e β toxinas.

As α -neurotoxinas retardam a inativação dos canais de sódio e induzem o prolongamento da fase de despolarização do potencial de ação. As β -neurotoxinas, por sua vez, alteram a ativação dos canais de sódio voltagem dependentes, deixando o potencial mais eletronegativo e propiciando o aumento da tendência da célula em responder espontânea e repetidamente, independente do potencial de membrana (CESTELE e CATTERALL, 2000).

Todas as α -toxinas escorpiônicas têm entre 6500 e 8500 Da e contém cerca de 58-76 resíduos de aminoácidos com uma estrutura tridimensional em α -hélice e β -pregueada antiparalela (RODRIGUEZ de LA VEJA e POSSANI, 2005).

Ao longo da literatura podemos encontrar várias denominações para as frações tóxicas do veneno do *T. serrulatus*, variando de acordo com a forma de purificação utilizada por cada grupo. Possani e colaboradores (1992) descreveram três frações tóxicas com ação em canais de sódio, denominando-as de toxinas gama (Ts-VII), III-8 e IV-5, sendo a primeira uma toxina do tipo β e a última do tipo α

(KIRSCH *et al.*, 1989; YATANI *et al.*, 1988). Outro peptídeo, TsTx-VI, mostrou-se não tóxico em ratos (POSSANI *et al.*, 1992).

Mais importante que a identificação/seqüenciamento peptídico das frações é a análise funcional de cada uma delas, ou seja, as relações entre estes componentes e seus sítios ou cinética de ação (PLESSIS *et al.*, 2008).

Seguindo esse raciocínio, Marangoni e colaboradores (1995) seqüenciaram uma toxina do tipo α , denominada TsTx-V, observando seu efeito na permeabilidade de canais de K^+ de células β de pâncreas de ratos.

Juhng e colaboradores (1999) estudaram os efeitos de injeções intracerebroventricular (ICV) da fração TsTX-Ka com ação em canais de K^+ , enquanto Carvalho e colaboradores (1998) estudaram micro-injeções hipocâmpais da fração Ts-8F com ação em canais de Na^+ .

A ação sobre canais iônicos, especificamente de sódio, levam a despolarização maciça de catecolaminas e a ação do veneno de *Tityus serrulatus* sobre receptores α -adrenérgicos pós-juncionais, levando a contração do músculo anococcígeno de ratos (TEIXEIRA *et al.*, 2003).

Kalapothakis e Chávez-Olórtegui (1997), estudando a expressão das frações tóxicas α e β do veneno de *T. serrulatus*, observaram uma grande variabilidade tanto entre escorpiões da mesma espécie quanto em um mesmo indivíduo, quando avaliado em momentos diferentes. O veneno dos escorpiões que apresentavam uma maior quantidade de toxina- α era mais letal. Estas observações entre outras, poderiam explicar a abundância de nomenclaturas e de perfis de purificação encontrados na literatura.

As neurotoxinas presentes no veneno de *Tityus serrulatus* podem alterar especificamente a função de canais de sódio, potássio, cloreto e cálcio (PLESSIS *et al.*, 2008). O conseqüente desarranjo destes canais leva a liberação maciça de neurotransmissores no sistema nervoso central ou autonômico (SANDOVAL e LEBRUN, 2003; PESSINI *et al.*, 2003).

A α -toxina denominada TsTx-V foi a primeira isolada e caracterizada por Arantes *et al.* (1994) como um pequeno polipeptídeo básico (7230 Da; pI = 8), tóxico ($DL_{50} = 94 \pm 7 \mu\text{g}/\text{kg}$ i.v. em ratos) e capaz de inativar canais de sódio. A toxicidade desta fração estaria relacionada com a liberação de catecolaminas e de outros neurotransmissores (CECCHINI *et al.*, 2006; VASCONCELOS *et al.*, 2005). Estudos com esta fração têm demonstrado a liberação de glutamato em sinapses corticais, além da diminuição de recaptção de dopamina marcada. Este efeito foi abolido na presença de tetrodotoxina, que inibe canais de sódio sem afetar canais de potássio voltagem dependentes ou canais de cálcio (CECCHINI *et al.*, 2006).

A Toxina gama (Ts- γ) foi a primeira estrutura do veneno quimicamente caracterizada e tem um importante papel no estudo dos canais de sódio sensíveis a voltagem. Esta toxina pertence a classe das β -toxinas e tem sido alvo de inúmeras investigações por apresentar toxicidade para mamíferos e também insetos (BECERRIL *et al.*, 1993).

As β -toxinas ligam-se a canais de sódio não dependentes de voltagem elevando o potencial eletronegativo e afetam a ativação dos canais, promovendo ativação espontânea e constante destes canais. Este pode ser o mecanismo responsável por uma série de efeitos observados no acidente escorpionicó como paralisia, aumento da salivacão, apnéia e taquicardia.

As toxinas também podem afetar especificamente canais de potássio. Estas são pequenos peptídeos com 23-64 resíduos de aminoácidos e três ou quatro pontes dissulfeto. A afinidade destas toxinas depende do aminoácido situado na extremidade de contato com o canal (PLESSIS *et al.*, 2008).

As seqüências de aminoácidos da TsTx-V (SCXV_TITSE) e Ts- γ (SCX7_TITST) foram descritas por Marangoni e colaboradores (1995) e comparadas a outros peptídeos quanto a sua homologia e posição dos aminoácidos (Quadros 1 e 2, respectivamente).

Entretanto, mesmo com o isolamento de diversas toxinas do veneno de *Tityus serrulatus*, menos de 1% do total de peptídeos presentes no veneno são conhecidos (POSSANI *et al.*, 1999), havendo a necessidade de mais estudos até a completa elucidação de seus constituintes.

Um peptídeo catiônico de 45 aminoácidos, purificado de *Parabuthus schlechteri* (escorpião africano) e contendo alta concentração de lisina, mostrou-se ativo contra bactérias gram-negativas, apresentando atividade hemolítica e antifúngica. Esse peptídeo também se demonstrou hábil na degranulação de neutrófilos não modulada por proteína G. Presume-se, então, que esta grande quantidade de resíduos de lisina seja responsável pela formação de poros na membrana bacteriana, causando despolarização celular e hiper-excitação neuronal, características do envenenamento escorpiônico (ELGAR *et al.*, 2006).

Outra fração estudada neste trabalho é um pequeno peptídeo, de aproximadamente 3 KDa, recentemente isolado do veneno e que se apresenta semelhante a frações natriuréticas isoladas de outros venenos animais. O seqüenciamento deste peptídeo ainda não foi completamente estabelecido.

1.7 Peptídeos natriuréticos

O conceito de peptídeos natriuréticos vem de fatores que, quando liberados, promovem natriurese por inibição da bomba sódio-potássioATPase nos túbulos renais, enquanto evidências experimentais sugerem que PNA ou GMPc podem estimular a bomba de sódio no sistema cardiovascular (FEDEROVA *et al.*, 2008).

Até meados de 1950, acreditava-se que a diurese era controlada por dois mecanismos neuro-hormonais: o sistema vasopressina (ADH) e o sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA). No entanto, ainda em relatos daquela década, acreditava-se existir um terceiro fator, ainda pouco elucidado. Com a descrição de aumento de diurese associado a episódios paroxísticos de taquicardia supraventricular, passou-se a suspeitar que o terceiro fator estivesse ligado ao

coração. Seguiu-se a clássica descrição do reflexo de Henry e Gauer, em que a dilatação atrial era capaz de aumentar a diurese (HENRY *et al.*, 1956; GAUER *et al.*, 1956).

Em 1981, De Bold e colaboradores, encontraram grânulos em células musculares cardíacas atriais que continham a resposta. Estava descoberto o fator natriurético atrial (FNA), um peptídeo circulante com propriedades natriuréticas, diuréticas e vasodilatadoras, posteriormente chamado peptídeo natriurético atrial (PNA) (SEIDMAN *et al.*, 1984; KANGAWA e MATSUO, 1984). Esta descoberta deu ao coração uma importância endócrina, ao invés de uma simples bomba propulsora de sangue.

Em 1988, Sudoh *et al.* identificaram no cérebro de porcos um novo peptídeo da família de peptídeos natriuréticos que, por esta razão, passou a se chamar peptídeo natriurético cerebral ou peptídeo natriurético tipo-B (PNB). E em 1990 o terceiro membro da família foi então identificado e nomeado peptídeo natriurético tipo-C (PNC) (SUDOH *et al.*, 1990; SILVA NETO e CLAUSELL, 2004). Destas, a principal forma biologicamente ativa é o PNA. As estruturas moleculares encontram-se ilustradas na figura 3.

Desde então, um imenso número de investigações multidisciplinares foi conduzido para esclarecer o real papel deste peptídeo na patogênese das doenças cardiovasculares, na regulação da pressão arterial e na excreção de sal e água (SILVA NETO e CLAUSELL, 2004).

O gene decodificador do PNA está localizado no cromossomo 1 em humanos. O hormônio é sintetizado com 151 aminoácidos, sendo chamado de pré-pró-PNA. Após a retirada de 25 aminoácidos, a cadeia passa a se chamar pró-PNA, que será levada ao complexo de Golgi. Antes de ser exocitada, o pró-PNA é novamente

clivado, provavelmente por proteínas de membrana, em uma cadeia funcional de PNA, com 28 aminoácidos, e um fragmento aminoterminal de 98 aminoácidos, o NT-pró-PNA. Esse hormônio, em fetos e neonatais, é produzido em grande parte pelos ventrículos, sendo essa atividade diminuída gradativamente após o nascimento, e os átrios assumindo este papel (YANG-FENG *et al.*, 1985).

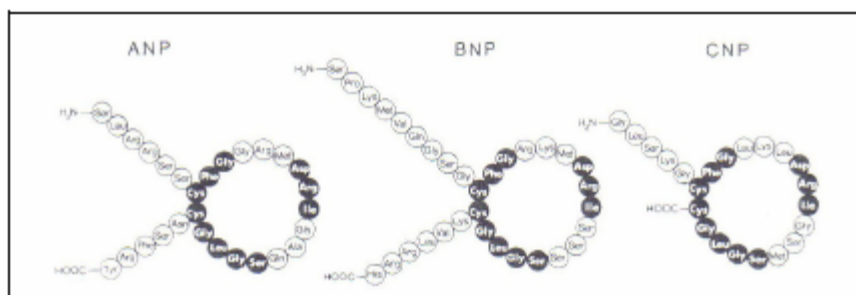


Figura 3: Estrutura molecular dos peptídeos natriuréticos humanos.

Fonte: Espiner *et al.*, 1995

O sinal para a liberação do PNA é a distensão das paredes dos átrios (VILLACORTA JR e MESQUITA, 2006; DOTSENKO *et al.*, 2008). Elevado débito cardíaco, estímulos simpáticos e fatores metabólicos e hipóxia também influenciam a liberação. O hormônio endotelina-1, um vasoconstritor que age nos músculos lisos das artérias, estimula a liberação de PNA agindo diretamente no coração ou por estimular um aumento de volume circulante dentro do órgão. Angiotensina, catecolaminas, acetilcolina, arginina, vasopressina, prostaglandinas, glicocorticóides e hormônios tireoidianos inibem a liberação de PNA (VILLACORTA e MESQUITA, 2006).

Para desempenhar sua função, o hormônio tem que se ligar a receptores específicos de membrana. Foram encontrados três desses receptores: RPN-A, RPN-B e RPN-C (KOOLER e GOEDEL, 1992). Os receptores dos tipos A e B possuem atividade de guanilato ciclase e estão ligados ao funcionamento normal dos peptídeos. O PNA e o PNB se ligam ao primeiro receptor, enquanto o PNC se liga

ao segundo. O receptor do tipo C (RPN-C) está relacionado à degradação dos três peptídeos natriuréticos, para que a concentração deles seja diminuída na corrente sanguínea em uma situação em que eles não sejam mais necessários. Portanto, a meia-vida do ANP é curta, aproximadamente 2 a 5 minutos, e sua taxa de degradação é cerca de 14 a 25 mL/min/Kg, pois o peptídeo é reconhecido pelo receptor RPN-C e internalizado nas células.

Assim como os hormônios maduros, uma forte homologia dos três receptores de peptídeos natriuréticos existe entre as espécies - mais de 95% na seqüência do RPN-C em humanos, ratos e bovinos (ESPINER *et al.*, 1995; NAKAO *et al.*, 1992b).

Os principais alvos do PNA são os músculos lisos dos vasos sanguíneos e os rins. Nos vasos, ele distende a musculatura lisa, aumenta a permeabilidade de capilares e conseqüentemente permite a saída de água e sódio dos vasos. O hormônio também inibe a função de vários outros hormônios, como aldosterona, angiotensina II, endotelina, renina e vasopressina. Nos rins, ele inibe a absorção de sódio nos ductos coletores dos néfrons, estimula a dilatação das arteríolas aferentes e constrição das eferentes, estimula a produção de GMPc nas células mesangiais, relaxando-as e aumentando a área efetiva de filtração, além de inibir a ação da aldosterona e neutralizar o sistema renina-angiotensina-aldosterona. Conseqüentemente ocorrerá maior excreção de sódio e, por conta da osmolalidade, da água (ESPINER, 1994; WOODS, 2004; PIECHOTA *et al.*, 2008).

PNA e PNB elevam a taxa de filtração gomerular e natriurese, além de diminuir a pressão arterial e a carga pré e pós cardíaca. Apesar destes efeitos renais e vasculares, exercem efeitos sobre o córtex medular diminuindo a secreção de mineralocorticóides e glicocorticóides (PIECHOTA *et al.*, 2008).

Uma ação parácrina importante do PNA é a inibição da proliferação celular, como, por exemplo, nas células endoteliais, mesangiais e da musculatura lisa vascular. Isso sugere que o PNA regula o crescimento celular do sistema vascular (APELL, 1992).

O rim produz um peptídeo por um processo diferenciado a partir do precursor de PNA. Essa diferença na proteólise gera um peptídeo de 32 resíduos com quatro

aminoácidos caluréticos na porção C-terminal (Thr-Ala-Pro-Arg), chamado de urodilatina (EICHELBaum *et al.*, 2008) e encontrado na urina humana pela primeira vez em 1988 (GOETZ, 1991; LEE e BURNETT JR., 2007; PIECHOTA *et al.*, 2008). Alguns autores o consideram um peptídeo natriurético renal (PIECHOTA *et al.*, 2008).

A urodilatina atua no glomérulo e ductos medulares funcionando como um regulador parácrino da excreção de renal de sódio (LEE e BURNETT JR., 2007) e regulação intra-renal do transporte de cloreto (GOETZ, 1991). Além destes efeitos, a urodilatina está sendo estudada por seus efeitos benéficos na inibição do crescimento de carcinoma de pequenas células de pulmão (EICHELBaum *et al.*, 2008).

Lee e Burnett Jr. (2007), demonstraram que baixas doses de urodilatina não alteram o sistema renina angiotensina aldosterona, mas em altas concentrações (40 ng/kg/min) causou diminuição da pressão de perfusão renal e aumento da atividade simpática renal.

Desta forma, a investigação dos peptídeos natriuréticos humanos ou de origem animal, como o peptídeo recentemente isolado do veneno de *Tityus serrulatus*, abre novas possibilidades de aprofundar o conhecimento do papel destes peptídeos. Isto é significativo para o estabelecimento dos mecanismos de inúmeras patologias e a determinação de novas direções em suas terapias (PIECHOTA *et al.*, 2008).

JUSTIFICATIVA

O ideal custa uma vida, mas vale a eternidade.

Gandhi

2 JUSTIFICATIVA

Atualmente, muitos estudos visam descobrir a ação de toxinas animais, bem como, o mecanismo pelos quais estas causam seus efeitos locais e sistêmicos. Para tanto, a ampliação do conhecimento sobre a ação das toxinas de venenos busca, na biodiversidade, ferramentas farmacológicas e/ou elucidação de mecanismos fisiopatológicos (PEIXOTO, 2003).

Com isso, é cada vez maior a procura por moléculas ativas que possam atuar mimetizando hormônios, ou ainda, com uso potencial no sistema cardiovascular (VERANO-BRAGA *et al.*, 2008). Um alvo desta nova tendência remete aos peptídeos potenciadores de bradicinina, que reduzem a pressão sanguínea e podem inibir a atividade da Enzima Conversora de Angiotensina (ECA). O conhecimento destes peptídeos foi essencial no desenvolvimento de fármacos anti-hipertensivos relacionados à ECA (FERNANDEZ *et al.*, 2004).

Após o isolamento de peptídeos potenciadores da bradicinina a partir do veneno de *Bothrops jararaca* (FERREIRA *et al.*, 1970), outros foram encontrados em venenos de outras serpentes (KATO *et al.*, 1971; LANZER *et al.*, 2004), aranhas (SOSNINA *et al.*, 1990; FERREIRA *et al.*, 1996) e escorpiões (FERREIRA *et al.*, 1993; MEKI *et al.*, 1995).

Verano-Braga e colaboradores (2008) isolaram, determinaram a estrutura primária e caracterizaram algumas atividades farmacológicas de uma nova família de toxinas escorpiônicas, chamadas hipotensinas, do veneno do escorpião *Tityus serrulatus*. Estes peptídeos provavelmente atuam na função endotelial, contribuindo para o efeito anti-hipertensivo demonstrado.

Entretanto, os efeitos do veneno bruto de *T. serrulatus* nos parâmetros de função renal, utilizando o sistema de perfusão de rim isolado (FONTELES *et al.*, 1980; 1983), demonstraram alteração significativa da função renal (ALVES *et al.*, 2005). Outro achado do estudo foi a elevação da pressão de perfusão do leito vascular mesentérico induzido pela mesma concentração, demonstrando uma potente ação vasoconstrictora do veneno.

O veneno de escorpião e suas toxinas têm sido extensivamente utilizados como ferramentas para a compreensão de uma ampla faixa de efeitos farmacológicos e a base molecular da excitabilidade elétrica e neurotransmissão (CECCHINI *et al.*, 2006).

Além disso, a utilização destas frações torna-se um recurso válido como ferramenta de pesquisa de novos mecanismos envolvendo processos dependentes de canais de sódio (CECCHINI *et al.*, 2006). O importante papel que os canais iônicos exercem em diversas patologias humanas estimula a contínua pesquisa por drogas capazes de modular a função destes canais (PLESSIS *et al.*, 2008).

O veneno bruto e suas frações TsTX V (uma α -toxina), toxina γ (β -toxina) e natriurética (um novo peptídeo de aproximadamente 3KDa recentemente isolado do veneno) serão estudados quanto a sua atuação em diferentes sistemas, incluindo estudos na hemodinâmica renal, a fim de investigar o papel de cada um nos efeitos do veneno bruto.

A compreensão das alterações induzidas pelo veneno e suas frações sobre a fisiologia renal, vascular e metabólica pode permitir a interferência em alguns pontos de suas vias de sinalização com vistas à interrupção da seqüência de eventos celulares e moleculares que poderiam ser responsáveis pela ação tóxica do veneno. Isto propiciará um novo passo em nossos estudos, levando a uma visão mais profunda dos processos envolvidos na toxicidade renal gerada pelo veneno de *Tityus serrulatus*.

OBJETIVOS

Um problema adequadamente diagnosticado está a caminho de ser solucionado.

Richard Buckminster Fuller

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Estudar o veneno do escorpião *Tityus serrulatus* e suas frações TsTx-V, Toxina γ e Natriurética, em relação aos efeitos renais e vasculares, na perspectiva de compreender o mecanismo de ação envolvido e na descoberta de ferramentas farmacológicas.

3.2 Objetivos específicos

- Avaliar a participação α -adrenérgica nos efeitos renais induzidos pelo veneno de *Tityus serrulatus* utilizando, para tanto, o bloqueador alfa-adrenérgico prazosin;
- Estudar os efeitos renais e vasculares das frações TsTx-V e Toxina γ isoladas do veneno de *Tityus serrulatus*;
- Estudar os efeitos renais da fração Natriurética do veneno de *Tityus serrulatus*;
- Verificar a participação do GMPc nas ações renais da fração Natriurética do veneno de *Tityus serrulatus*;
- Verificar as alterações induzidas pelo veneno em modelo neurogênico de Canal deferente;
- Observar as alterações histopatológicas em rins tratados com veneno, prazosin, prazosin + veneno, frações TsTx-V, Toxina γ e Natriurética do veneno de *Tityus serrulatus*;
- Avaliar as alterações na pressão arterial média de ratos tratados com o veneno bruto e a fração Natriurética do veneno de *Tityus serrulatus*;
- Verificar as alterações no clearance de inulina e p-aminohipurato na perfusão renal *in vivo* de animais tratados com o veneno bruto e a fração Natriurética do veneno de *Tityus serrulatus*.

MATERIAL E MÉTODOS

Transportai um punhado de terra todos os dias e fareis uma montanha.

Confúcio

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 ANIMAIS DE EXPERIMENTAÇÃO

Foram utilizados ratos Wistar adultos, machos, pesando entre 250 e 300g. Os animais foram mantidos em jejum 8 a 12 horas antes dos experimentos, com água “*ad libitum*”, para os experimentos de perfusão renal, leito vascular e para os experimentos de clearance renal e pressão arterial *in vivo*.

Para os experimentos de canal deferente foram utilizados camundongos Swiss, machos, pesando entre 30 e 40g, sem tratamento prévio.

4.2 VENENO E DROGAS UTILIZADAS

O veneno e as frações (TsTx-V, toxina γ e fração Natriurética) de *Tityus serrulatus* foram gentilmente cedidos pelo professor Marcos H. Toyama, da Universidade Estadual Paulista (UNESP), para realização dos ensaios biológicos.

As drogas e sais foram obtidos da Sigma (USA) com alto grau de pureza.

O kit imunoenzimático para determinação de GMPc foi obtido da Sigma (CG-201) e a técnica realizada seguindo as orientações do fabricante.

4.3 PERFUSÃO DE RIM ISOLADO

4.3.1 Sistema utilizado

A necessidade do conhecimento dos mecanismos de controle da função renal levou inúmeros pesquisadores a desenvolverem a técnica de perfusão de rim isolado. O nosso sistema consiste na perfusão de rim isolado com recirculação (FONTELES *et al.*, 1983; MONTEIRO *et al.*, 1990) com dois subsistemas, um *in situ* e outro em circuito fechado, para perfusão *in vitro*, mantidos ambos à mesma temperatura de 37 °C. Este sistema apresenta a vantagem da manutenção constante de parâmetros funcionais renais com utilização de albumina na solução perfusora, em menor volume, mantendo constantes as substâncias dialisáveis com oxigenação adaptada ao próprio sistema (Figura 4).

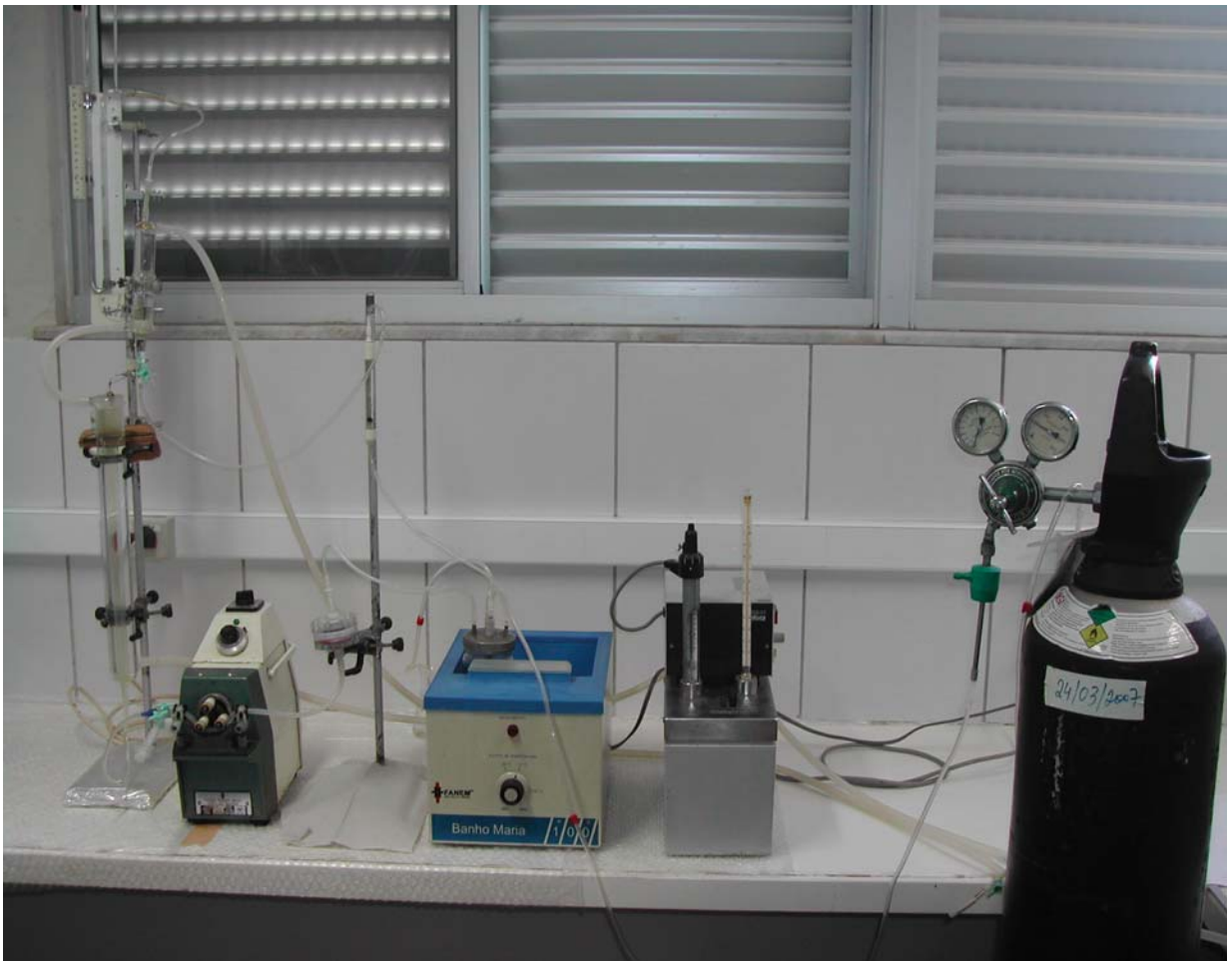


Figura 4: Foto do sistema de perfusão de rim isolado.

Fonte: LAFAVET – UFC.

4.3.2 Calibração do sistema

O sistema foi calibrado sempre antes do início dos experimentos. Foi avaliado em cada uma das bombas a pressão de perfusão (PP) em mmHg, o fluxo urinário (L/h) e o volume de urina coletado em um minuto (mL/min). Os resultados estão demonstrados nas figuras 5, 6 e 7, a seguir.

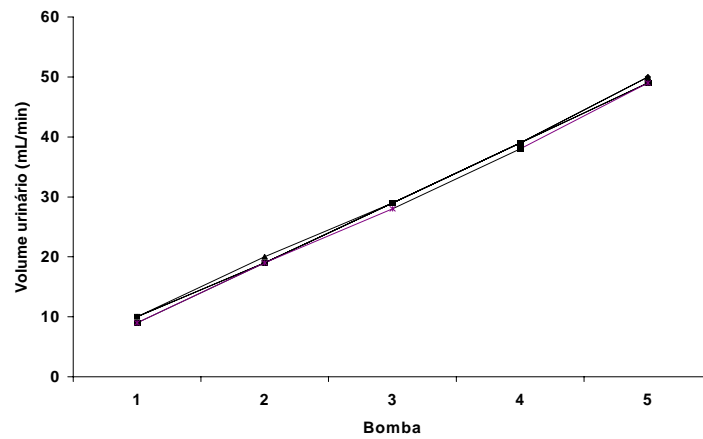


Figura 5: Valores de pressão de perfusão (PP) registrados durante a calibração do sistema (n = 6).

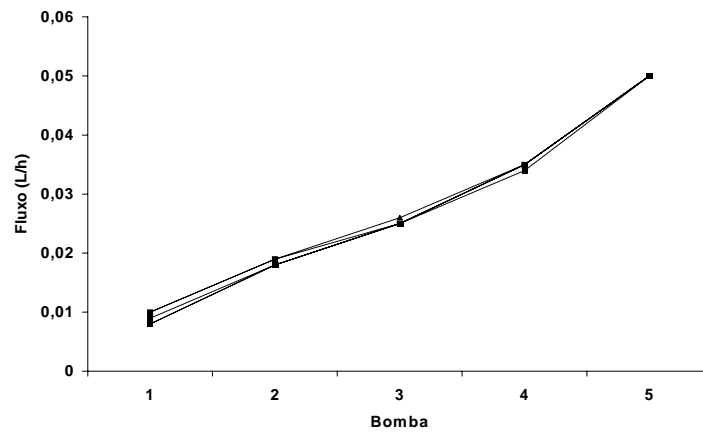


Figura 6: Valores registrados pelo Fluxômetro (L/h) durante a calibração do sistema (n=6).

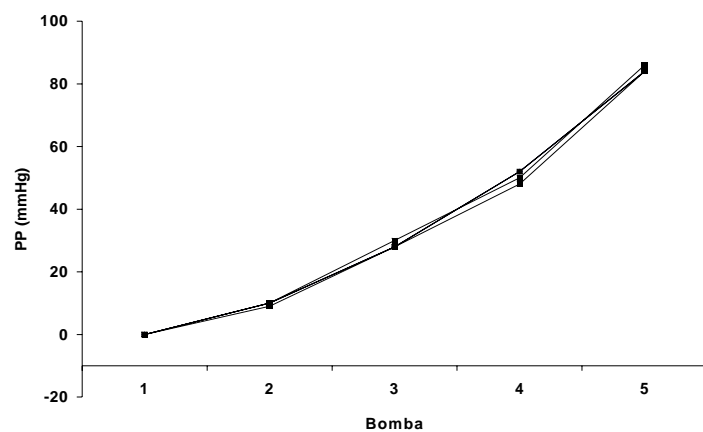


Figura 7: Valores de volume urinário (mL/min) registrados durante a calibração do sistema (n = 6).

4.3.3 Solução perfusora

A solução perfusora utilizada foi Krebs-Henseleit, contendo albumina a 6g% dialisada por 48 horas antes do experimento para retirar várias substâncias contaminantes como citrato, piruvato, lactato (HANSON e BALLARD, 1968).

4.3.4 Técnica cirúrgica

Os animais foram anestesiados com pentobarbital sódico na dose de 50mg/Kg de peso corporal. Inicialmente a veia femoral foi isolada e o manitol (100 mg) administrado, a fim de facilitar a fixação da cânula ao ureter.

Com uma lupa (7X) a artéria mesentérica superior foi identificada e dissecada, bem como o ureter e a glândula supra-renal. O rim direito foi descapsulado e a glândula supra-renal isolada. A cânula arterial renal foi introduzida na artéria mesentérica superior até a artéria renal, onde foi feita a fixação da cânula.

No início do procedimento cirúrgico uma parte da solução (40 mL) foi desviada para o sistema de perfusão *in situ*, já oxigenada para perfundir o rim ainda *in vivo* evitando qualquer isquemia ao órgão. Finalmente o rim foi transportado para o sistema de perfusão *in vitro*, sem interrupção do fluxo (figura 8).

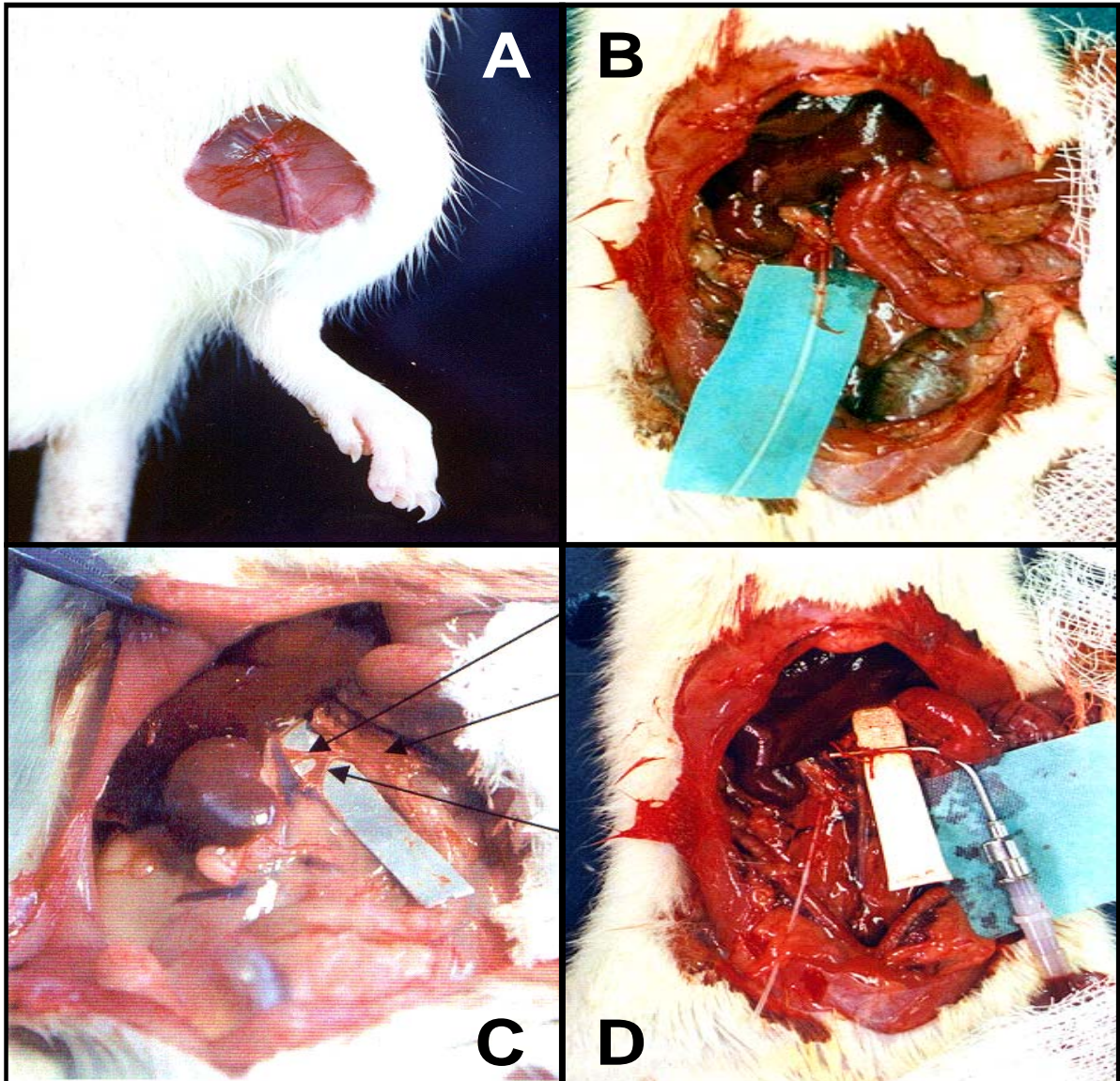


Figura 8: Procedimento cirúrgico para retirada de rim isolado de rato. **A:** isolamento da artéria femoral para administração de manitol; **B:** isolamento e fixação da cânula ao ureter; **C:** isolamento das artérias mesentérica e renal; **D:** cânula fixada a artéria renal.

Fonte: LFAVET – UFC.

4.3.5 Protocolo experimental

Os experimentos foram iniciados após a estabilização e adaptação do órgão às novas condições. Os 30 min iniciais foram utilizados como controle interno para os experimentos com as frações TsTx-V (3µg/mL), Toxina γ (3µg/mL) e Natriurética (0,03µg/mL e 0,1µg/mL) (n=6 por grupo). Para os experimentos de bloqueio farmacológico com prazosin (3µg/mL e 10µg/mL), este foi adicionado no tempo zero e após 30 minutos foi adicionado o veneno de *Tityus serrulatus* (3µg/mL). A cada cinco minutos foram registrados a pressão de perfusão e o fluxo de perfusão em manômetro e fluxômetro, respectivamente, em um período total de 120 min. Amostras de urina e perfusato foram coletadas a cada dez minutos e depois congeladas a -20°C para posterior dosagem de sódio, potássio, cloreto, inulina e osmolaridade, importantes na determinação dos parâmetros de função renal.

4.3.6 Análises bioquímicas

Em amostras de urina e perfusato foram realizadas dosagens de sódio e potássio pelo método de fotometria de chama (Fotômetro de Chama - modelo 443 IL). As dosagens de cloreto foram realizadas seguindo o método descrito pelo kit do fabricante Labtest. A inulina do perfusato e urina foi determinada por hidrólise direta, conforme Walser e cols. (1955) e Fonteles e cols. (1983), com modificações que reduziram as quantidades de amostras e reagentes utilizados. A osmolaridade das amostras de urina e perfusato foi medida utilizando um osmômetro (Osmômetro de Pressão a Vapor - modelo 5100c WESCOR). Todos os testes bioquímicos foram realizados no Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas e Unidade de Pesquisas Clínicas da Universidade Federal do Ceará.

4.3.7 Cálculos de parâmetros funcionais renais

O quadro 3 apresenta as fórmulas utilizadas para determinação de parâmetros funcionais renais (MARTINEZ-MALDONADO *et al.*, 1978; FONTELES, 1980).

Quadro 3: Cálculos para determinação de parâmetros funcionais renais.**1. FU (mL.g⁻¹. min⁻¹) = Fluxo urinário**

FU = (Peso do volume urinário / Peso do rim esquerdo) x 10 (admitiu-se que a urina possui a mesma densidade da água)

2. PP (mmHg) = Pressão de perfusão. Leitura em manômetro**3. RFG (mL.g⁻¹.min⁻¹) = Ritmo de filtração glomerular**

RFG = (DOU in / DOP in x FU) sendo DOU in = densidade ótica da inulina na urina e DOP in = densidade ótica da inulina no perfusato

4. FPR (mL.g⁻¹.min⁻¹) = Fluxo de perfusão renal (registrado a cada 10 min/peso do rim/intervalo de tempo)**5. RVR (mmHg/mL.g⁻¹.min⁻¹) = Resistência vascular renal**

RVR = PP (mmHg) / FPR

6. FNa⁺ (μEq.g⁻¹. min⁻¹) = Sódio filtrado

FNa⁺ = RFG x PNa⁺ (PNa⁺ = Concentração de sódio no perfusato)

7. ENa⁺ (μEq.g⁻¹. min⁻¹) = Sódio excretado

ENa⁺ = FU x UNa⁺ (UNa⁺ = Concentração de sódio na urina)

8. TNa⁺ (μEq.g⁻¹. min⁻¹) = Sódio transportado

TNa⁺ = FNa⁺ - ENa⁺

9. %TNa⁺ = Percentual de sódio transportado

%TNa⁺ = TNa⁺ x 100 / FNa⁺

10. TpNa⁺ = Transporte proximal de sódio

TpNa⁺ = FNa⁺ x AdNa⁺

11. AdNa⁺ = Aporte distal de sódio

AdNa⁺ = dTNa⁺ + ENa⁺

12. dTNa⁺ (uEq.g⁻¹.min⁻¹) = Transporte distal de sódio

dTNa⁺ = CH₂O. PNa⁺

13. %TpNa⁺ = Percentual de sódio proximal transportado

%TpNa⁺ = TpNa⁺ x 100 / FNa⁺

14. FK⁺ (μEq.g⁻¹. min⁻¹) = Potássio filtrado

FK⁺ = RFG x PK⁺ (PK⁺ = concentração de potássio no perfusato)

15. EK⁺ (μEq.g⁻¹. min⁻¹) = Potássio excretado

EK⁺ = FU x UK⁺ (UK⁺ = Concentração de potássio na urina)

16. TK⁺ (μEq.g⁻¹. min⁻¹) = Potássio transportado

TK⁺ = FK⁺ x EK⁺

17. %TK⁺ = Percentual de potássio transportado

$$\%TK^+ = TK^+ \times 100 / FK^+$$

18. %TpK⁺ = Percentual de potássio proximal transportado

$$\%TpK^+ = TpK^+ \times 100 / FK^+$$

19. TCl⁻ (μEq.g⁻¹.min⁻¹) = Cloreto transportado

$$TCl^- = FCl^- \times ECl^-$$

20. % TCl⁻ = Percentual de cloreto transportado

$$\% TCl^- = TCl^- \times 100 / F TCl^-$$

21. % TpCl⁻ = Percentual de cloreto proximal transportado

$$\% TpCl^- = TpCl^- \times 100 / F TCl^-$$

22. CH₂O (mL.g⁻¹.min⁻¹) = Clearance de água livre

$$CH_2O = FU - Cosm$$

23. Cosm (mL.g⁻¹.min⁻¹) = Clearance osmótico

$[U_{osm} / P_{osm}] \times FU$ (onde U_{osm} = Osmolaridade urinária e P_{osm} = Osmolaridade do perfusato)

4.3.8 Estudo histológico

Ao final de cada experimento foi retirado um fragmento longitudinal do rim perfundido (direito) e não perfundido (esquerdo) e colocados em formol a 10% para posterior exame histológico. Os fragmentos obtidos foram submetidos à desidratação e diafanização, e em seguida cortados, em uma espessura de 5μm. Foram realizadas colorações de hematoxilina-eosina (HE) e as lâminas analisadas através de um microscópio óptico (NIKON). Também foi realizado o estudo histológico nos rins perfundidos somente com solução de Krebs-Henseleit modificada (controle perfundido).

4.4 DOSAGEM DE GMPc

A Guanetidina 3'-5'-monofosfato cíclica (GMPc) foi descoberta em 1963 (ASHMAN *et al.*, 1963) e está envolvida em inúmeros processos biológicos, como o efeito natriurético. Alguns hormônios, como acetilcolina, inulina e ocitocina, além de

serotonina e histamina aumentam a concentração de GMPc. Peptídeos, como o Peptídeo Atrial Natriurético, que relaxam o músculo liso vascular também são responsáveis por elevação de GMPc.

As urinas provenientes de rins isolados tratados com o peptídeo natriurético isolado do veneno de *Tityus serrulatus*, foram utilizadas para determinação da excreção de GMPc induzido pela fração.

As urinas foram previamente diluídas (1:50) no tampão do Kit segundo as recomendações do fabricante (Sigma).

O Kit utilizado foi imunoenensaio competitivo em microplacas de 96 poços, para a determinação quantitativa de GMPc. A dosagem consistiu na utilização de um anticorpo policlonal que se liga ao GMPc ou a fosfatase alcalina complexada ao GMPc (complexo presente no Kit) de maneira competitiva. As amostras ou padrões foram, então, incubados a temperatura ambiente e, em seguida, adicionado um substrato para a enzima fosfatase alcalina. Após um breve período de incubação a reação foi parada com solução “stop” e a cor amarela formada foi lida em 405nm.

A intensidade da cor formada foi inversamente proporcional a concentração do GMPc nas amostras. Os resultados foram calculados a partir da curva padrão dos controles e expressos em pmol/mL/g, compilados em intervalos de 30 minutos.

4.5 PERFUSÃO DE LEITO VASCULAR ISOLADO

Para avaliar a ação direta das frações do veneno de *Tityus serrulatus* sobre o sistema vascular, utilizou-se o modelo de leito vascular mesentérico, onde se podem observar as ações das toxinas em um sistema aberto (a solução passa uma única vez pelo tecido). Assim, nenhuma substância liberada pelo leito poderia voltar a agir sobre o sistema, justificando a ação direta do veneno.

A perfusão seguiu a descrição de McGregor (1965). Ratos Wistar machos, pesando entre 280-350g foram anestesiados com pentobarbital sódico (50 mg/Kg). Depois de aberto o abdômen, a artéria mesentérica superior foi isolada e canulada

com uma cânula de polietileno (PE20). O intestino foi separado do leito mesentérico com o ligamento do leito nas extremidades intestinais (duodeno e ceco). O mesentério foi perfundido em sistema aberto (figuras 9 e 10) com solução de Krebs contendo: 114,0mM de NaCl; 4,96mM de KCl; 1,24mM de KH_2PO_4 ; 0,5mM de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 24,99mM de NaHCO_3 ; 2,10mM de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; e 3,60mM de glicose. A solução foi mantida a 37°C e o leito foi perfundido a um fluxo constante (4 mL/min), enquanto a variação da pressão foi mensurada pela média das pressões de perfusão através de um transdutor (Statham P23, Gould, Oxnard, CA, USA) conectado ao sistema. As variações na pressão de perfusão foram continuamente grafadas por um fisiógrafo quatro-canais (Narco BioSystems, Houston, TX, USA). Com isso, analisamos o efeito vascular das frações TsTx-V e Toxina γ isoladas do veneno de *Tityus serrulatus* ($3\mu\text{g}/\text{mL}/\text{min}.$; $n = 6$), infundido a uma taxa constante de $0,1\text{mL}/\text{min}$, comparado com a infusão do veículo sozinho.

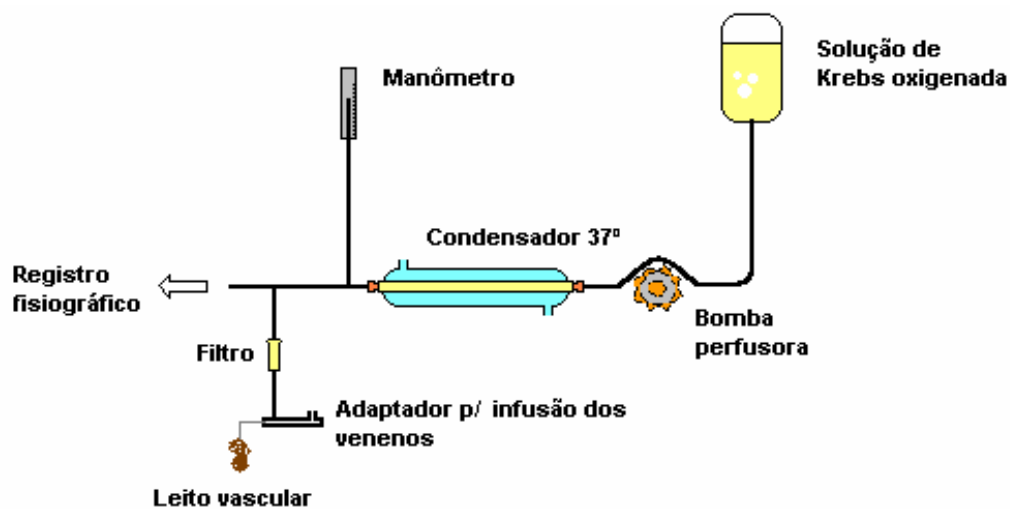


Figura 9: Desenho esquemático do sistema de perfusão de leito vascular mesentérico. Fonte:

LAFAVET – UFC.



Figura 10: Foto do sistema de perfusão de leito vascular mesentérico.

Fonte: LAFAVET – UFC.

4.6 CANAL DEFERENTE

Para testar a participação adrenérgica nos efeitos de *T. serrulatus*, o veneno foi testado frente a uma preparação neurogênica, que permite verificar também a co-transmissão noradrenalina/ATP e ações pré-sinápticas de substâncias.

O canal deferente de camundongo foi montado como descrito por Hughes *et al.*, 1975c. Camundongos albinos Swiss foram sacrificados por deslocamento cervical e a seguir 1cm do seguimento prostático do canal deferente foi cuidadosamente separado dos outros tecidos. Logo após, o tecido foi verticalmente suspenso entre dois eletrodos de platina paralelos sob uma tensão de 0,3g, banhado em solução de Krebs modificada (pH 7,4; 37°C e oxigenado com solução carbogênica contendo 95% O₂ e 5% CO₂), sem a presença de Mg²⁺, contendo: NaCl 118mM; KCl 4,75mM; CaCl₂ 2,54mM; KH₂PO₄ 0,93mM; NaHCO₃ 24mM; Glicose 11mM; EDTA 0,027mM e Ácido ascórbico 0,1mM. Os tecidos foram acoplados a um transdutor isométrico de registro fisiográfico (F-60 Narco Biosystems, Houston, TX,

USA), figura 11. Após uma hora de equilíbrio com lavagens em intervalos de 15 minutos, a resposta contrátil foi induzida com estimulação do órgão por um campo elétrico transmural (0,1Hz de freqüência/1ms). O efeito das frações e drogas controle foram expressos como percentual de aumento da amplitude antes da adição destes compostos. A natureza neurogênica da preparação foi comprovada pelo bloqueio do efeito com tetrodotoxina (100nM) conforme descrito por Rae e Calixto (1990).

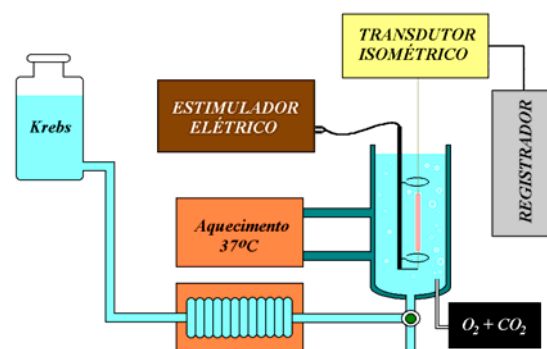


Figura 11: Desenho esquemático do sistema de perfusão de canal deferente de camundongo.

Fonte: ISCB – UECE

4.7 CLEARANCE *in vivo* e MEDIDA DA PRESSÃO ARTERIAL MÉDIA

4.7.1 Técnica cirúrgica

Foram utilizados ratos Wistar machos, pesando de 250-350g, submetidos a jejum de 12 horas para a técnica de *clearance in vivo* de acordo com a técnica descrita por Nascimento Gomes *et al.* (2005). Os animais foram anestesiados com xilazina 2% (10mg/Kg) e ketamina 5% (90mg/Kg) e submetidos à cirurgia onde foi seccionada a linha mediana da região cervical. Após afastamento das glândulas parótidas direita e esquerda, a incisão foi aprofundada até a traquéia, a qual foi isolada para uma possível traqueostomia. Após divulsão marginal deste órgão, o feixe vaso-nervoso foi identificado, sendo isolada a artéria carótida esquerda,

cuidadosamente para não lesar o nervo vago. Procedeu-se, então, a canulação desta artéria com cânula de polietileno (PE 50). Através desta artéria, a pressão arterial média (PAM) foi monitorada e amostras de sangue colhidas ao longo do experimento. Igual manobra foi realizada com vistas à canulação das veias jugulares direita e esquerda (PE 20) com o propósito de injetar as soluções infusoras (soro homólogo de rato e solução de inulina/PAH) e substâncias teste (veneno e fração natriurética). Por sua vez, a canulação da bexiga foi realizada utilizando-se uma cânula de polietileno (PE 20). Os registros pressóricos das experiências foram realizados com transdutores P23 Stath acoplados a um polígrafo Isgo Basile Gemini 7070 (Figura 12A). Antes do início dos experimentos procedeu-se a calibração do instrumento utilizando como padrão um manômetro ameróide em uma escala de 50 a 250 mmHg. A frequência cardíaca foi registrada através de um eletrocardiógrafo (EK-8 Burdick) (Figura 12B).

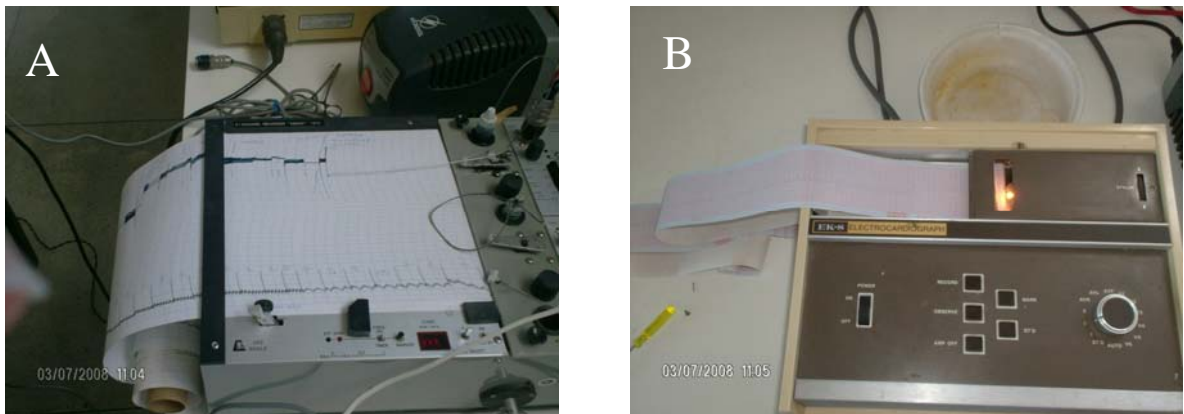


Figura 12: A. Fisiógrafo Isgo Basile Gemini 7070 para registro da pressão arterial. **B.** Eletrocardiógrafo Burdick para registro da frequência cardíaca.

Fonte: ISCB – UECE

4.7.2 Protocolo experimental

Através das veias jugulares foram aplicadas as substâncias exógenas. Através da veia esquerda foi administrado o prime (solução concentrada de inulina

(300mg/Kg) e p-amino-hipurato (PAH; 2mg/animal) *in bolus*) seguindo o princípio de conservação de Fick; solução de infusão contínua (constituída de inulina (15mg/mL) e PAH (4mg/L) na velocidade de 0,08 mL/min) e o veneno ou peptídeo natriurético isolado do veneno (taxa de infusão de 10 µl/min).

As concentrações do veneno de *Tityus serrulatus* (VTs) e fração natriurética (PNVTs) foram calculadas com base na concentração utilizada no rim isolado, para que os resultados pudessem ser sobrepostos e comparados. Com isso, administramos uma concentração de 120 µg/Kg/h de VTs e 0,4 µg/Kg/h de PNVTs.

Pela veia jugular direita foi infundido, através de bomba de infusão contínua, soro homólogo de rato na velocidade de 6µL/100g/min, visando repor o volume plasmático perdido durante a cirurgia (MADDOX e cols., 1977). O controle e ajuste dessa taxa de infusão foram realizados por medidas do hematócrito inicial e final.

Concluída a cirurgia, seguiu-se um período de equilíbrio de 1 hora para estabilização do animal. Após este período foi iniciada a avaliação do *clearance* renal (Figura 13). Os animais foram mantidos em mesa cirúrgica aquecida, de forma a manter a temperatura corpórea entre 36,5 e 37,0°C e registrada a PAM₀ (inicial), procedimento seguido pela coleta de uma amostra de sangue para avaliação do hematócrito inicial (Htc₀) (ICHIKAWA e cols., 1978). A bexiga foi lavada com solução salina 0,9% e, a seguir, aplicado o prime e iniciadas as infusões de solução de infusão e soro homólogo de rato por 30 minutos (controle interno). A partir disso foi iniciada a infusão das substâncias teste por 2 períodos de igual duração, totalizando 90 minutos de experimento. Ao término de cada período foram coletadas amostras de sangue e urina para avaliação da função renal. A coleta de urina foi realizada durante os últimos 20 minutos de cada período.

Ao final do experimento, os animais foram sacrificados com KCl, as urinas medidas e os plasmas congelados a -20°C para posterior dosagens bioquímicas (inulina e PAH).



Figura 13: Protocolo experimental para determinação da pressão arterial média e clearance *in vivo*.

Fonte: ISCB – UECE

4.7.3 Análises bioquímicas e cálculos dos parâmetros renais

O clearance de inulina foi realizado através da metodologia descrita por Alving & Miller (1940) para determinar a taxa de filtração glomerular (TFG). A determinação de para-aminohipurato (PAH), realizada conforme descrito por Bratton & Marshall (1939), foi utilizada para estimar o fluxo plasmático renal cortical.

A inulina (Figura 14) é um polissacarídeo com peso molecular de aproximadamente 5000 Da que é completamente excretada pelos glomérulos e não reabsorvida pelos túbulos. Com isto, a determinação do clearance de inulina nos fornece uma melhor interpretação do fluxo sanguíneo renal e da função glomerular (WINSTEN e DALAL, 1972).

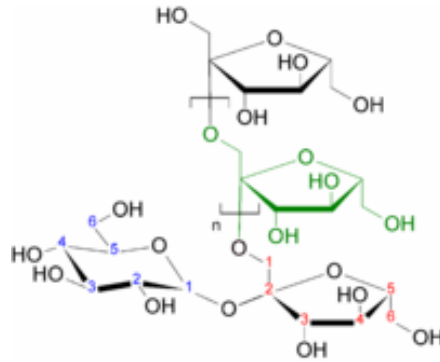


Figura 14: Estrutura química da inulina.

Fonte – pt.wikipedia.org/wiki/Inulina

Foram utilizados três cálculos para a determinação do clearance de inulina e, a seguir, obteve-se a média ponderada para os grupos. Os cálculos estão descritos a seguir.

$$\text{Inulina na urina (mg\%)} = \frac{\text{Absorbância da urina}}{\text{Absorbância do padrão}} \times \text{concentração do padrão}$$

$$\text{Inulina no plasma (mg\%)} = \frac{\text{Absorbância do plasma}}{\text{Absorbância do padrão}} \times \text{concentração do padrão}$$

$$\text{Clearance de Inulina} = \frac{\text{Inulina na urina (mg\%)}}{\text{Inulina no plasma (mg\%)}} \times \text{volume urina (mL/min)}$$

O ácido para-aminohipúrico (Figura 15) é um ácido orgânico excretado na urina de animais domésticos e outros herbívoros, mas que raramente é encontrado na urina humana. É um análogo do aminoácido glicina e muito utilizado na medicina para avaliação da função renal. Isto ocorre, pois o PAH é excretado tanto por filtração como por secreção tubular e isso o torna um bom marcador das funções glomerular e tubular, além de servir para estimar o fluxo sanguíneo renal (WINSTEN e DALAL, 1972).

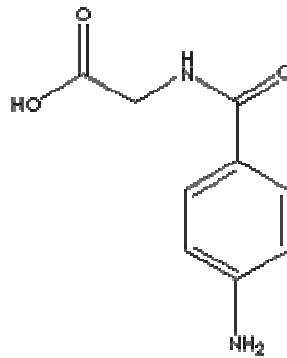


Figura 15: Estrutura química do Ácido para-aminohipúrico.

Fonte – <http://chemicaland21.com/lifescience/phar/4-MINOHIPPURIC%20ACID.htm>

O clearance de PAH foi calculado individualmente para posterior determinação da média \pm erro padrão de cada um dos grupos testados. O cálculo foi feito de acordo com a fórmula abaixo:

$$\text{Clearance de PAH (mL/min)} = \frac{\text{PAH urina(mg)/100 mL}}{(\text{PAH plasma (mg)/100 mL} - \text{PAH veia (mg)/100 mL})} \times \text{mL de urina/min}$$

O Fluxo Plasmático Renal Cortical (FPRc) foi estimado pela fórmula descrita abaixo e o valor de PAH venoso foi obtido considerando-se uma extração renal de PAH de 80%, ou seja, o valor venoso estimado como sendo 20% do valor arterial.

$$\text{FPRc} = \frac{(\text{PAH urina} \times \text{Volume urinário (mL/min)})}{(\text{PAH plasma} - \text{PAH venoso})}$$

4.8 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os resultados foram mostrados como média \pm erro padrão de seis experimentos em cada grupo. Diferenças entre os grupos foram comparadas utilizando teste *t* de Student ou Análise de Variância (ANOVA) seguida do teste de Mann-Whitney com significância de 5%.

4.9 COMITÊ DE ÉTICA

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Animais (CEPA) do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal do Ceará, sob o número 107/07, conforme anexo 1.

RESULTADOS

Você não pode provar uma definição. O que você pode fazer é mostrar que ela tem sentido.

Albert Einstein

5.1 PERFUSÃO DE RIM ISOLADO

5.1.1 Bloqueio farmacológico dos efeitos renais induzidos pelo veneno de *T. serrulatus* utilizando Prazosin 10 µg/mL

O pré-tratamento dos rins com Prazosin (Pz; 10µg/mL), promoveu um bloqueio total do efeito exercido pelo veneno de *Tityus serrulatus* (VTs; 3µg/mL) sobre a pressão de perfusão (PP) aos 60 minutos (tabela 1/figura 16).

Da mesma forma, o aumento da resistência vascular renal com a perfusão do veneno, também foi revertido significativamente aos 60 minutos de experimento com o pré-tratamento dos rins com prazosin, conforme a tabela 2/figura 17.

A tabela 3/figura 18 demonstra o comportamento do fluxo urinário que se elevou aos 60 minutos no grupo do veneno e foi revertido na presença de prazosin. Entretanto, aos 90 e 120 minutos, a diurese diminuiu significativamente, sendo revertida somente no tempo de 120 minutos.

O ritmo de filtração glomerular foi aumentado aos 60 minutos experimentais pelo veneno, mas foi significativamente diminuído na presença do bloqueador α -adrenérgico, mantendo-se diminuído durante todo o restante do experimento, conforme pode ser observado na tabela 4/figura 19.

O transporte tubular de sódio foi alterado aos 90 minutos de perfusão, mas havendo uma reversão absoluta sobre esse efeito com a utilização de Prazosin. Este resultado foi mantido aos 120 minutos de experimento (tabela 5/figura 20).

O transporte tubular proximal de sódio, tabela 6, foi reduzido aos 90 e 120 minutos quando o antagonista foi associado ao veneno, entretanto esse efeito se deve ao prazosin, pois ocorreu mesmo com o bloqueador sozinho.

A tabela 7/figura 21 mostra a excreção de sódio, onde houve um aumento significativo aos 60 minutos após a administração de VTs, que foi revertido pelo Pz.

O transporte tubular total e proximal de potássio não foi afetado significativamente pelo veneno de *Tityus serrulatus*. Entretanto, estes transportes

percentuais foram alterados na presença do Prazosin 10 μ g/mL com efeito máximo aos 120 minutos, conforme tabelas 8 e 9.

A excreção de potássio (tabela 10/figura 22) foi significativamente diminuída aos 90 e 120 minutos, sendo mais evidente neste último, enquanto o prazosin reverteu essa ação do veneno.

O transporte de cloreto total e proximal e a excreção deste eletrólito, não mostraram diferença significativa quando os rins foram tratados com o veneno escorpiónico, conforme tabelas 11, 12 e 13, respectivamente.

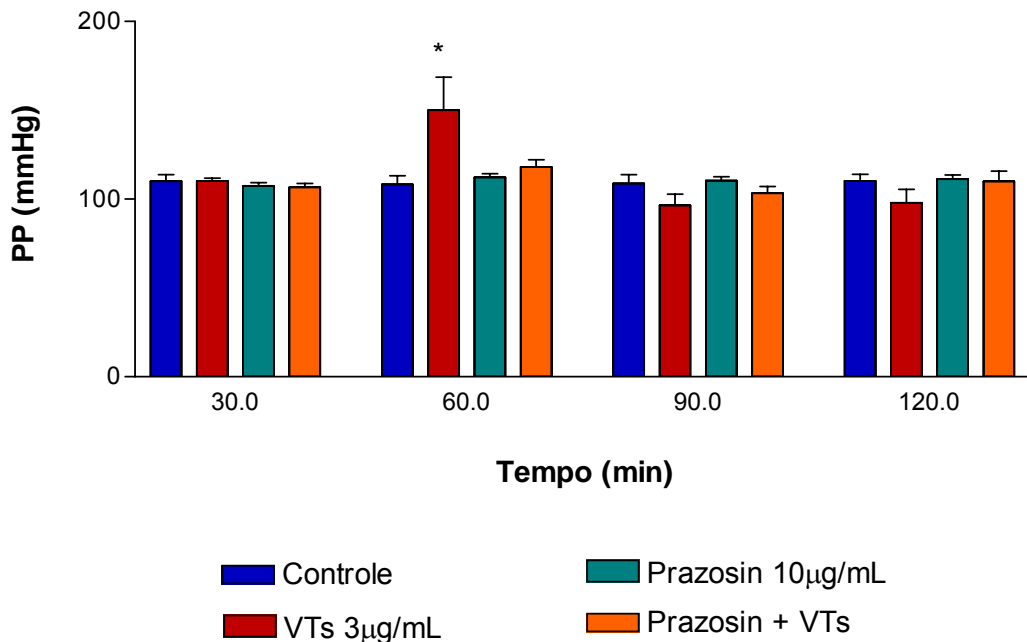


Figura 16: Pressão de Perfusão (PP) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs; 3 μ g/mL), Prazosin (10 μ g/mL) e Prazosin (10 μ g/mL) + VTs (3 μ g/mL). Valores comparados ao controle nos mesmos períodos com *p<0,05.

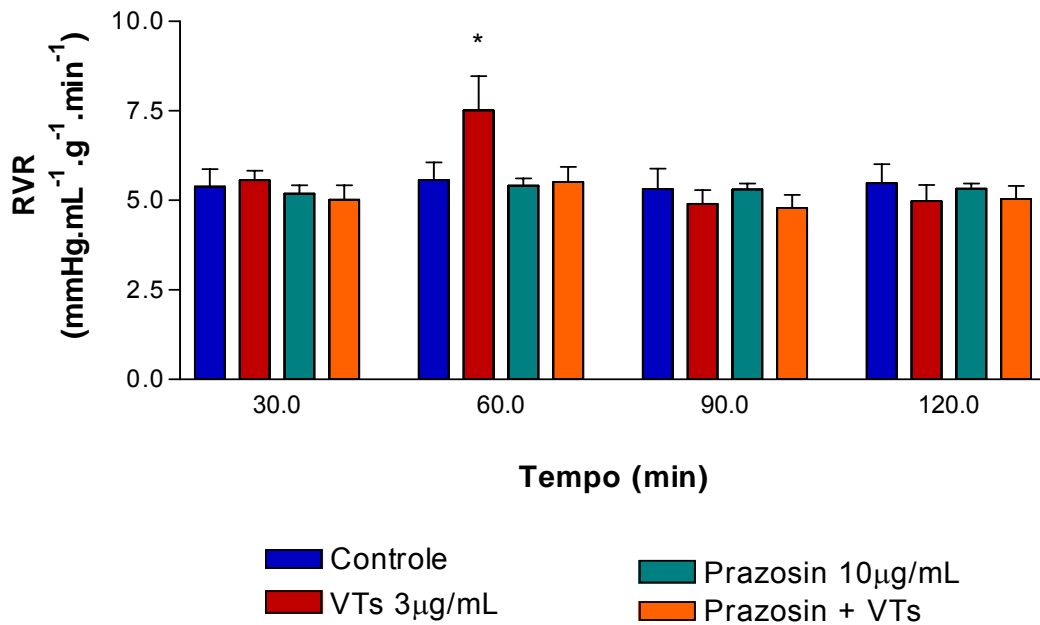


Figura 17: Resistência Vascular Renal (RVR) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n=6) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs; 3 µg/mL), Prazosin (10 µg/mL) e Prazosin (10 µg/mL) + VTs (3 µg/mL). Valores comparados ao controle nos mesmos períodos com *p<0,05.

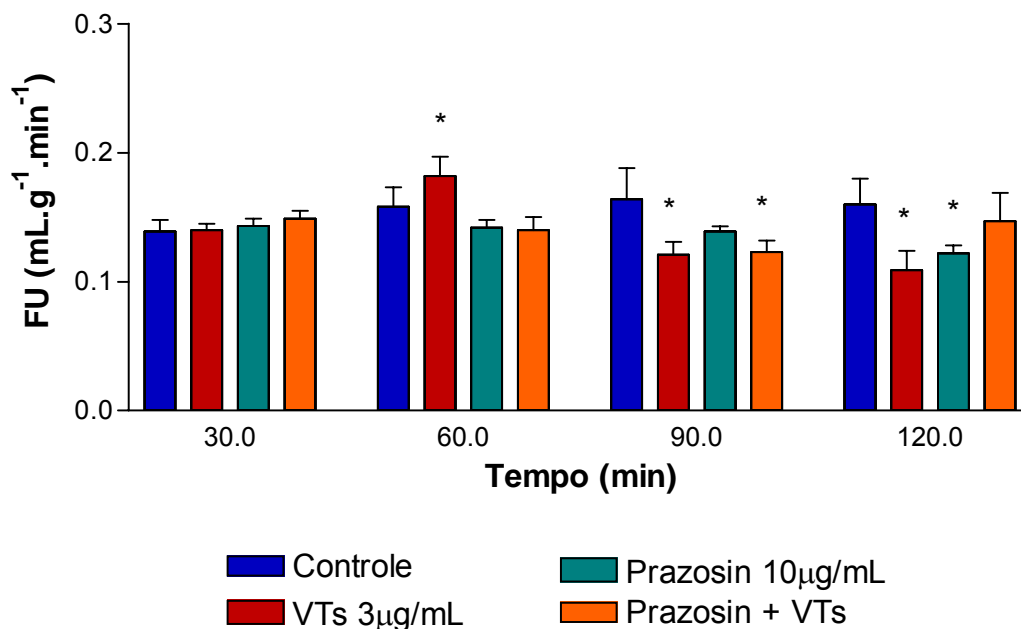


Figura 18: Fluxo Urinário (FU) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs; 3 µg/mL), Prazosin (10 µg/mL) e Prazosin (10 µg/mL) + VTs (3 µg/mL). Valores comparados ao controle nos mesmos períodos com *p<0,05.

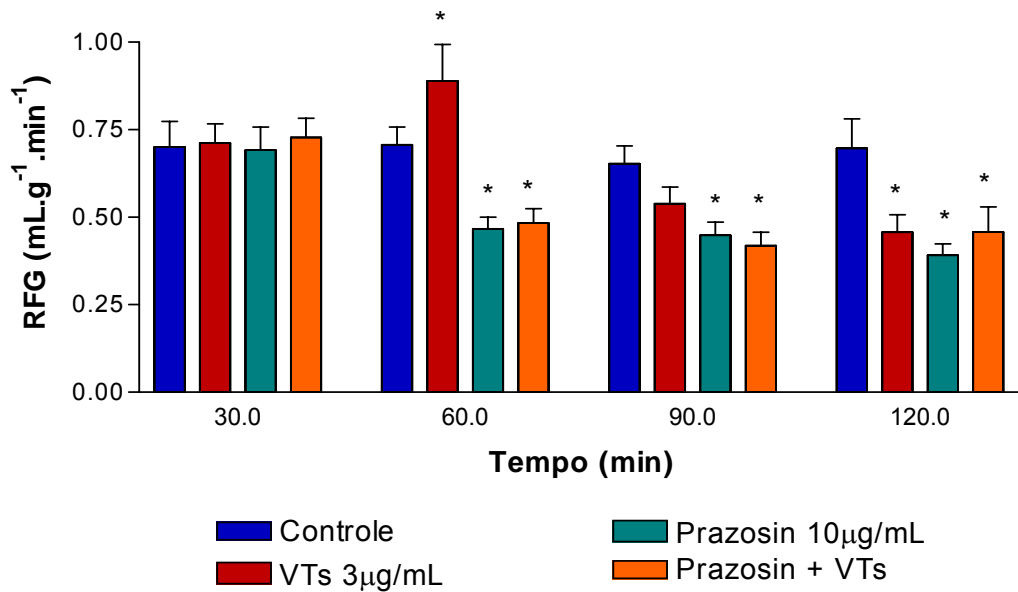


Figura 19: Ritmo de Filtração Glomerular (RFG) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs; 3 µg/mL), Prazosin (10 µg/mL) e Prazosin (10 µg/mL) + VTs (3 µg/mL). Valores comparados ao controle nos mesmos períodos com *p<0,05.

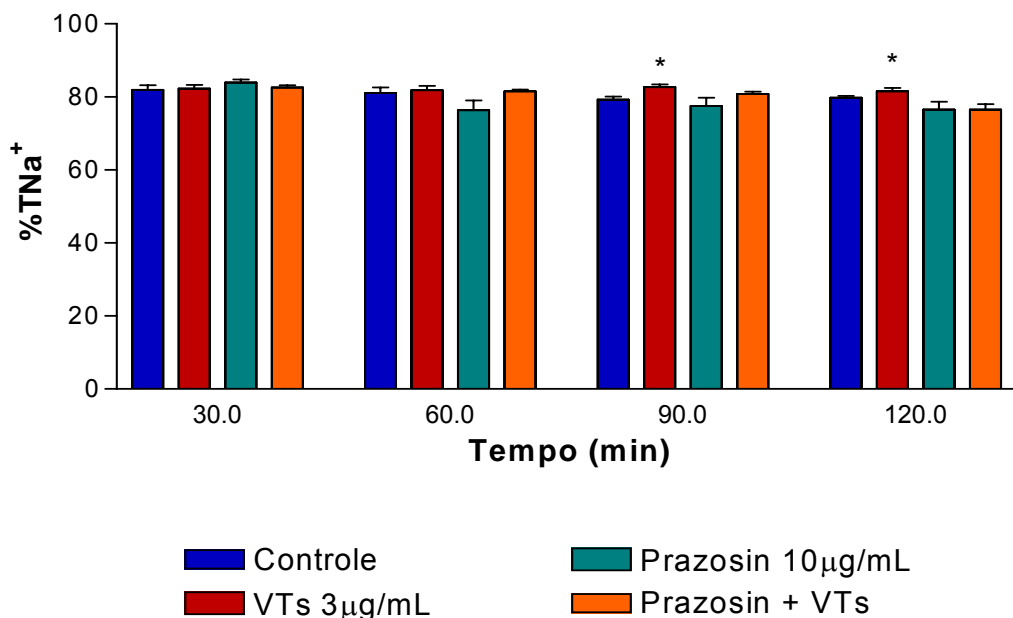


Figura 20: Percentual de Transporte Tubular de Sódio (%TNa⁺) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs; 3 µg/mL), Prazosin (10 µg/mL) e Prazosin (10 µg/mL) + VTs (3 µg/mL). Valores comparados ao controle nos mesmos períodos com *p<0,05.

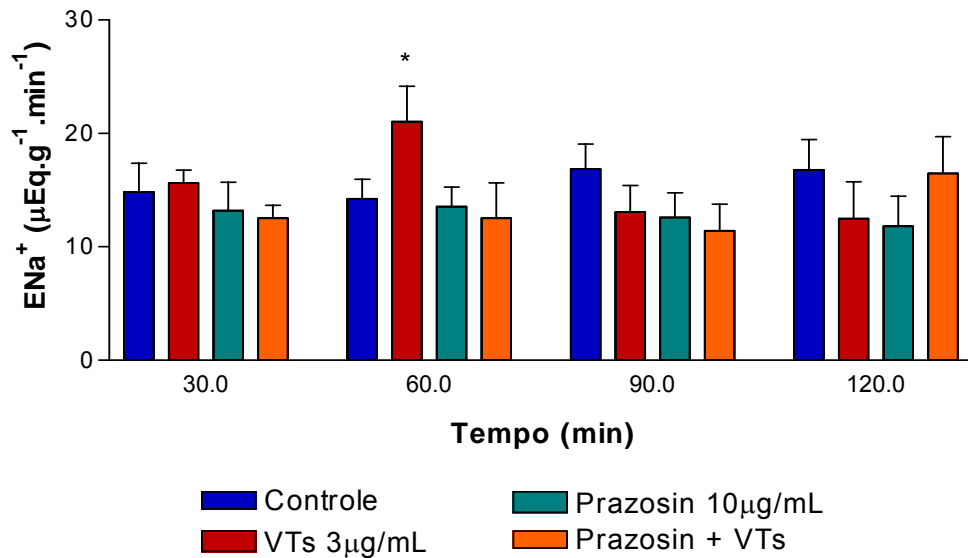


Figura 21: Excreção de Sódio (ENa^+) nos grupos controle ($n = 6$) e tratados ($n = 6$) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs; $3 \mu\text{g/mL}$), Prazosin ($10 \mu\text{g/mL}$) e Prazosin ($10 \mu\text{g/mL}$) + VTs ($3 \mu\text{g/mL}$). Valores comparados ao controle nos mesmos períodos com $*p < 0,05$.

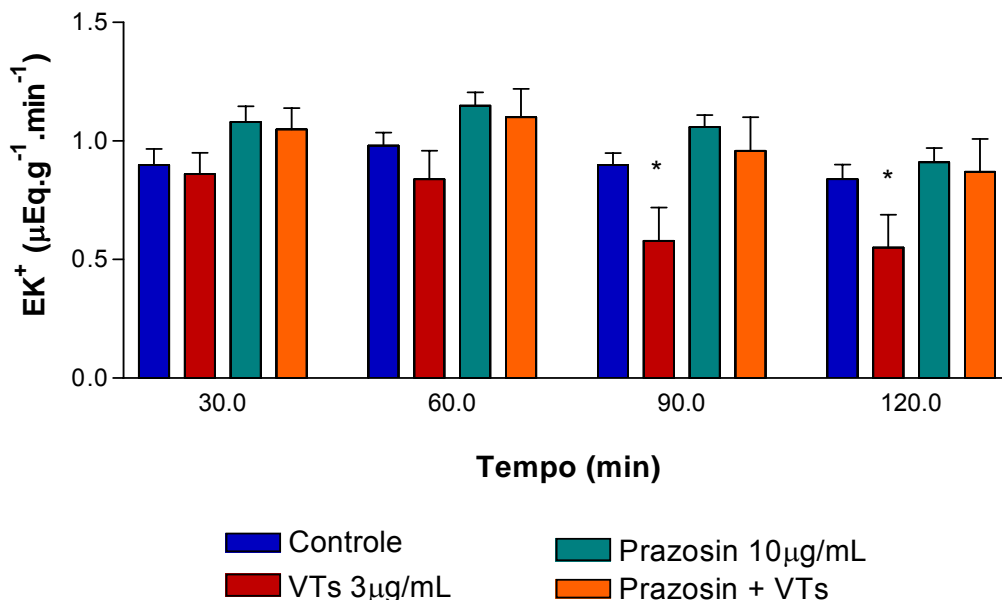


Figura 22: Excreção de Potássio (EK^+) nos grupos controle ($n = 6$) e tratados ($n = 6$) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs; $3 \mu\text{g/mL}$), Prazosin ($10 \mu\text{g/mL}$) e Prazosin ($10 \mu\text{g/mL}$) + VTs ($3 \mu\text{g/mL}$). Valores comparados ao controle nos mesmos períodos com $*p < 0,05$.

5.1.2 Bloqueio farmacológico dos efeitos renais induzidos pelo veneno de *T. serrulatus* utilizando Prazosin 3µg/mL

O estudo com Prazosin em menor concentração (3µg/mL), demonstrou que este também exerceu uma reversão total do efeito sobre a pressão de perfusão (PP) aos 60 minutos quando foi utilizado veneno de *Tityus serrulatus* (VTs; 3µg/mL) (tabela 14/figura 23).

Da mesma forma, o aumento da resistência vascular renal também foi inibido significativamente aos 60 minutos de experimento, conforme a tabela 15/figura 24.

A tabela 16/figura 25 ilustra o comportamento do fluxo urinário, em que houve a reversão total dos efeitos induzidos pelo veneno. Entretanto, na presença de prazosin sozinho, o fluxo urinário foi consideravelmente elevado.

O efeito do veneno sobre o ritmo de filtração glomerular foi prontamente revertido na presença de prazosin (3µg/mL) aos 60 minutos, conforme pode ser observado na tabela 17/figura 26.

Mesmo com uma concentração mais baixa de Prazosin, o transporte tubular de sódio foi alterado na presença deste bloqueador aos 90 e 120 minutos de perfusão, revertendo e modificando o resultado, levando a uma diminuição da reabsorção de sódio (tabela 18/figura 27).

O transporte tubular proximal de sódio, quando utilizado uma menor concentração de prazosin, ainda assim foi alterado por essa substância (resultado visto na tabela 19).

A tabela 20/figura 28 mostra que doses menores de prazosin foram capazes de reverter o efeito natriurético do veneno aos 60 minutos, embora levem ao aumento da excreção aos 120 minutos de perfusão.

O transporte de potássio total (tabela 21) e proximal (tabela 22) novamente apresentaram influência do antagonista sozinho ou em associação com o veneno.

A excreção de potássio (tabela 23/figura 29) foi significativamente diminuída pelo veneno aos 90 e 120 minutos, sendo mais evidente neste último, enquanto o prazosin reverteu esse efeito aos 90 minutos e elevou a excreção aos 120 minutos.

De acordo com as tabelas 24 e 25, os transportes de cloreto total e proximal, respectivamente, não foram significativamente alterados com a perfusão do veneno de *T. serrulatus*.

A excreção de cloreto mostrou-se variável, mas sem alterações significativas quando comparado ao controle, conforme a tabela 26.

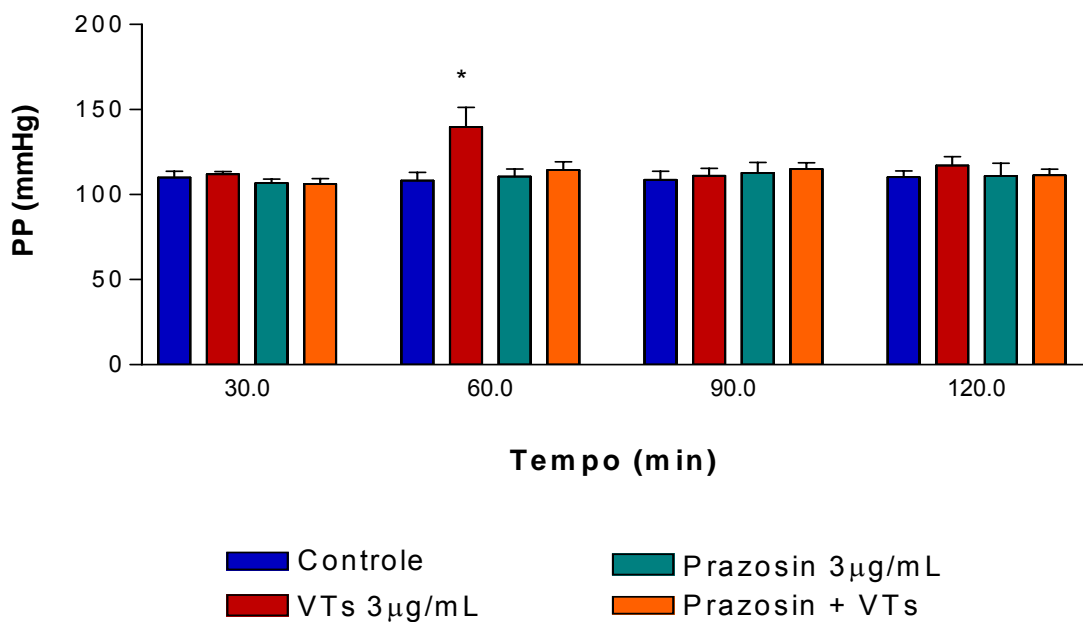


Figura 23: Pressão de Perfusão (PP) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs; 3 µg/mL), Prazosin (3 µg/mL) e Prazosin (3 µg/mL) + VTs (3 µg/mL). Valores comparados ao controle nos mesmos períodos com *p<0,05.

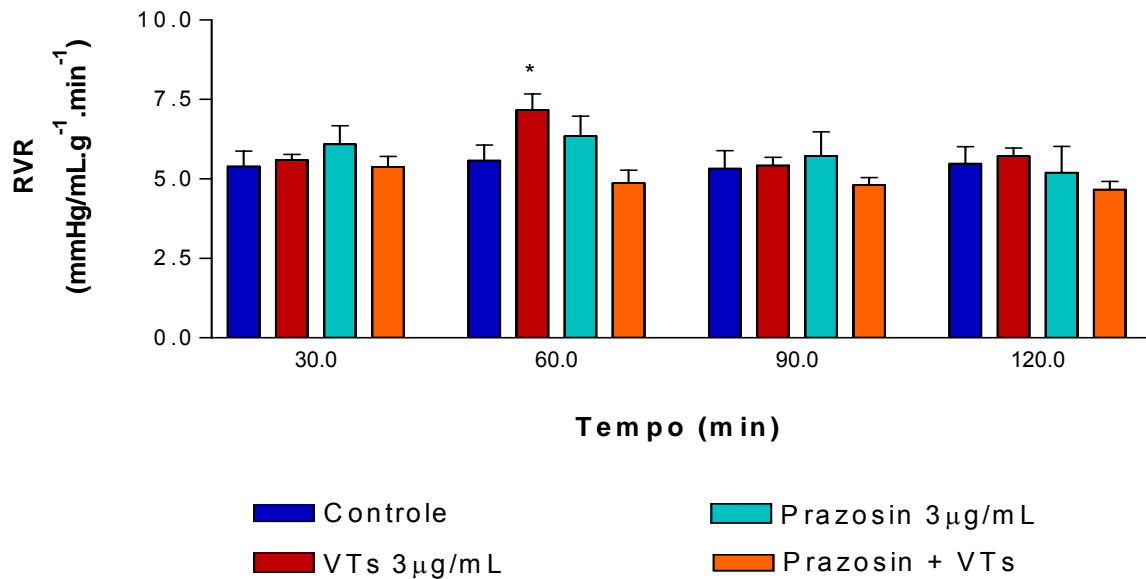


Figura 24: Resistência Vascular Renal (RVR) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n=6) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs; 3 µg/mL), Prazosin (3 µg/mL) e Prazosin (3 µg/mL) + VTs (3 µg/mL). Valores comparados ao controle nos mesmos períodos com $p < 0,05$.

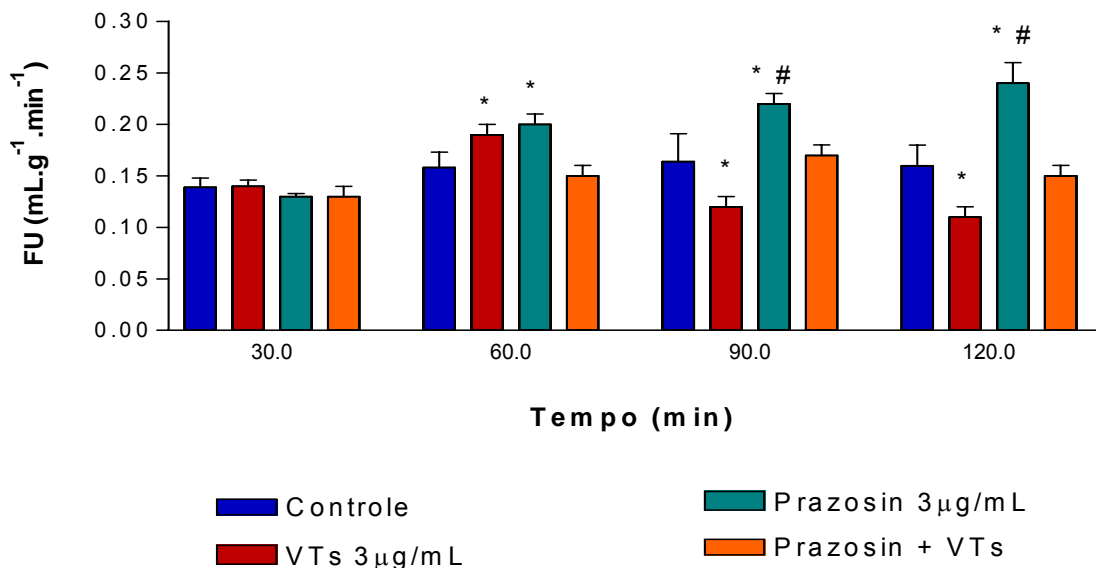


Figura 25: Fluxo Urinário (FU) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs; 3 µg/mL), Prazosin (3 µg/mL) e Prazosin (3 µg/mL) + VTs (3 µg/mL). Valores comparados ao controle nos mesmos períodos com * $p < 0,05$. # $p < 0,05$ quando comprado com VTs no mesmo período.

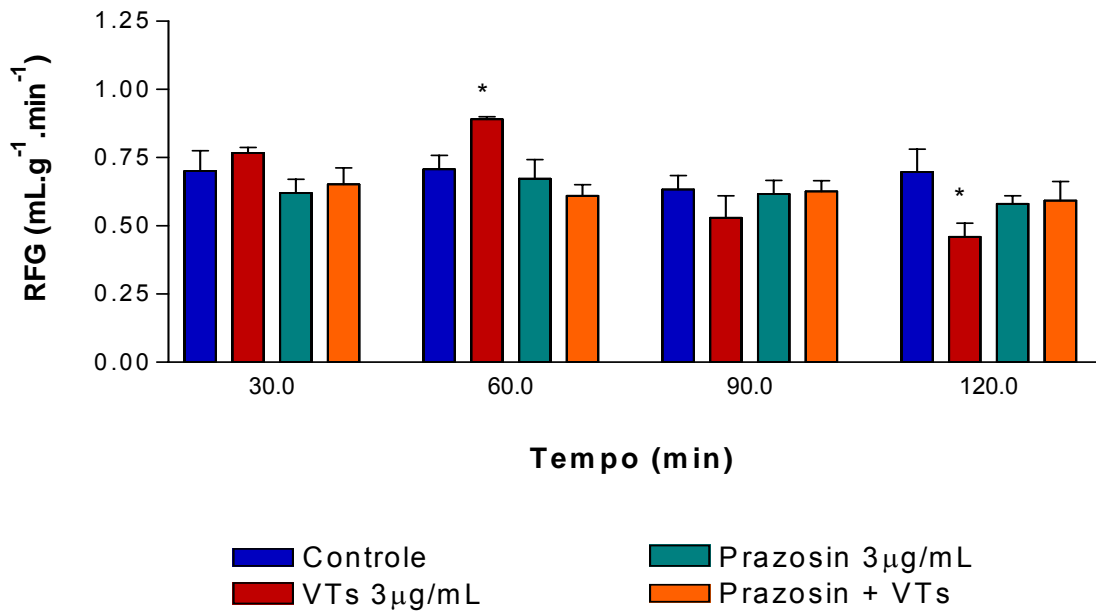


Figura 26: Ritmo de Filtração Glomerular (RFG) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs; 3 µg/mL), Prazosin (3 µg/mL) e Prazosin (3 µg/mL) + VTs (3 µg/mL). Valores comparados ao controle nos mesmos períodos com p<0,05.

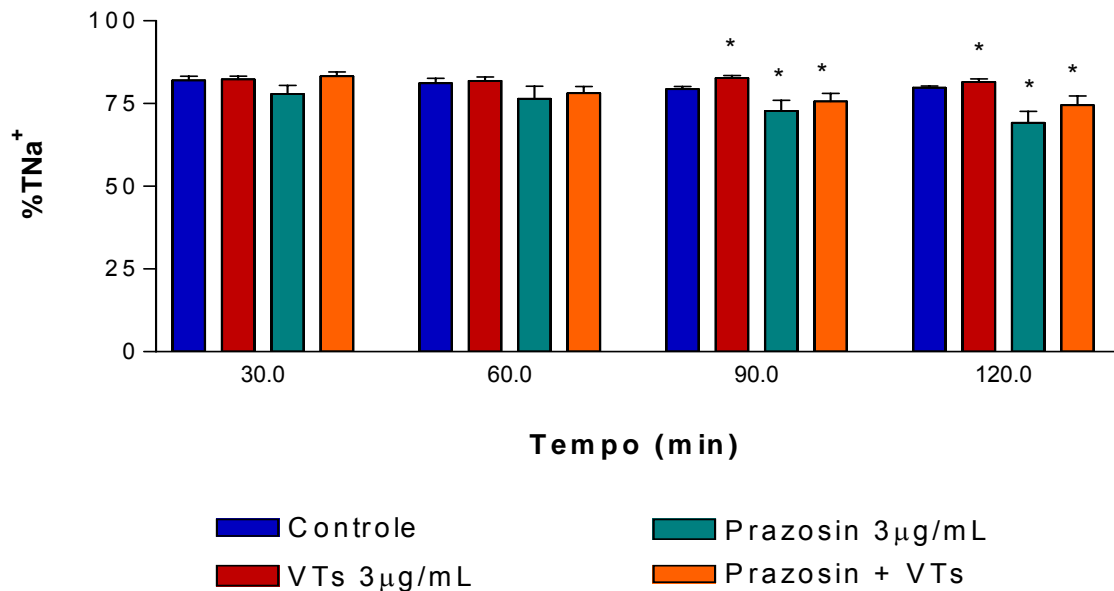


Figura 27: Percentual de Transporte Tubular de Sódio (%TNa⁺) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs; 3 µg/mL), Prazosin (3 µg/mL) e Prazosin (3 µg/mL) + VTs (3 µg/mL). Valores comparados ao controle nos mesmos períodos com p<0,05.

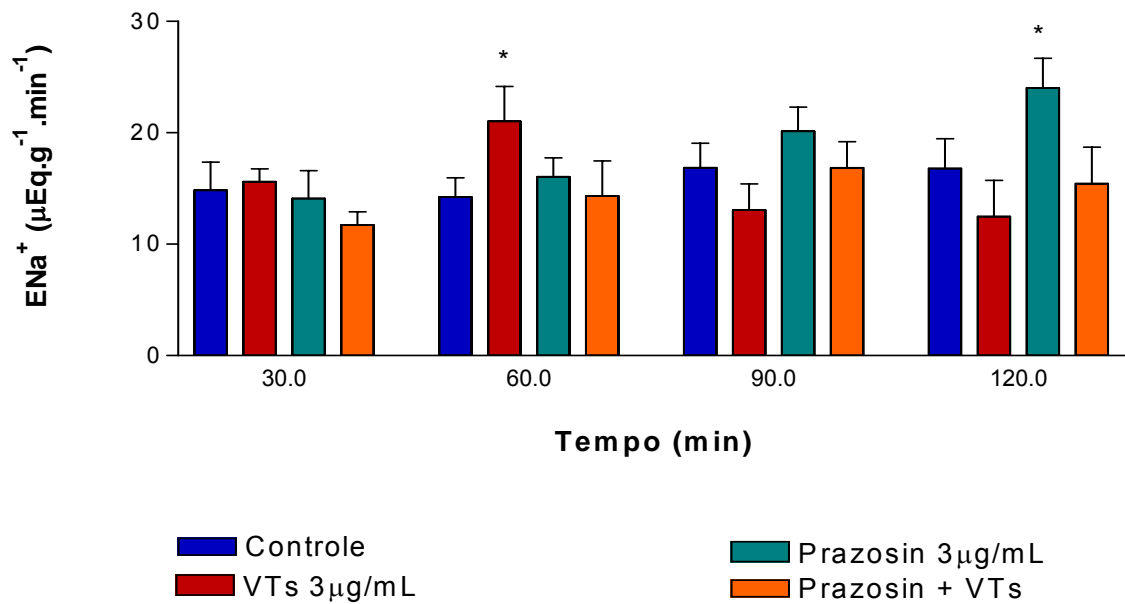


Figura 28: Excreção de Sódio (ENa⁺) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs; 3 μg/mL), Prazosin (3 μg/mL) e Prazosin (3 μg/mL) + VTs (3 μg/mL). Valores comparados ao controle nos mesmos períodos com p<0,05.

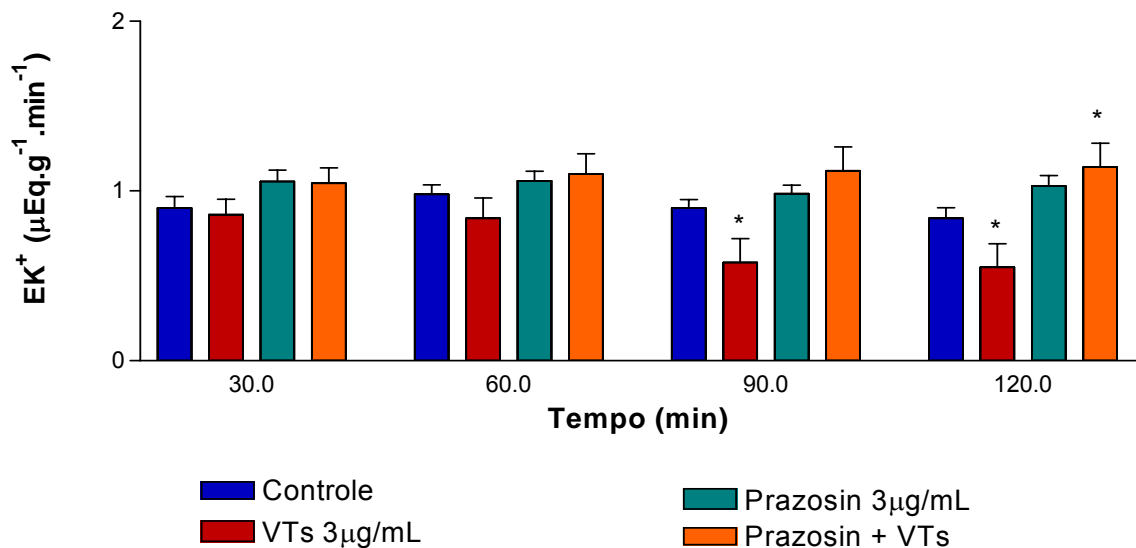


Figura 29: Excreção de Potássio (EK⁺) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs; 3 μg/mL), Prazosin (3 μg/mL) e Prazosin (3 μg/mL) + VTs (3 μg/mL). Valores comparados ao controle nos mesmos períodos com p<0,05.

5.1.3 Perfusão de rim isolado com as frações TsTx-V e Toxina γ do veneno de *Tityus serrulatus*

As principais frações do veneno de *T. serrulatus*, TsTx-V e Toxina γ , mostraram atividade diferente em relação a pressão de perfusão (PP), pois está só foi aumentada pela fração γ (Tsg) aos 60 minutos de perfusão, como observado na tabela 27/figura 30.

Da mesma forma, a resistência vascular renal, tabela 28/figura 31, foi elevada significativamente aos 60 minutos somente pela Tsg.

A tabela 29/figura 32 demonstra o comportamento do fluxo urinário, em que houve elevação induzida pelas duas frações do veneno ao fim do experimento, com efeitos mais intensos e induzidos logo aos 90 minutos de perfusão pela fração TsTx-V.

O efeito do veneno sobre o ritmo de filtração glomerular, entretanto, somente foi alterado na presença de Tsg aos 120 minutos, conforme pode ser observado na tabela 30/figura 33.

O transporte tubular de sódio foi alterado na presença das duas frações aos 90 minutos de perfusão (tabela 31/figura 34).

Semelhante ao transporte de sódio, o transporte de potássio foi afetado da mesma forma com efeito máximo aos 90 minutos, conforme tabela 32/figura 35.

O transporte de cloreto, tabela 24/figura 36, foi alterado exatamente nas mesmas proporções que os demais eletrólitos.

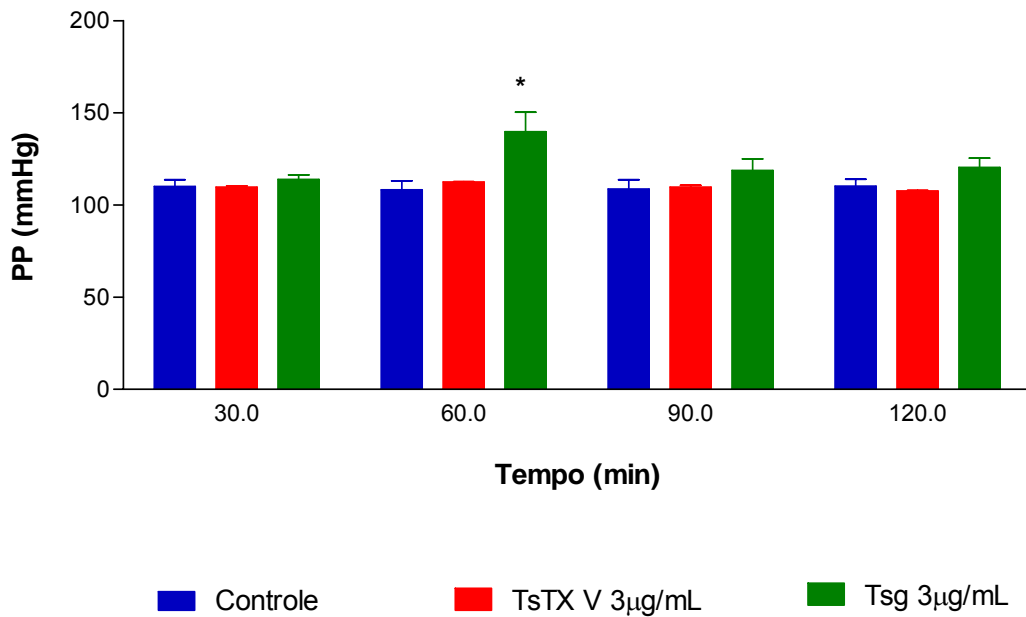


Figura 30: Pressão de Perfusão (PP) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com TsTX V (3µg/mL) e toxina gama (Tsg 3µg/mL) do veneno de *Tityus serrulatus*. Valores comparados ao controle nos mesmos períodos com *p<0,05.

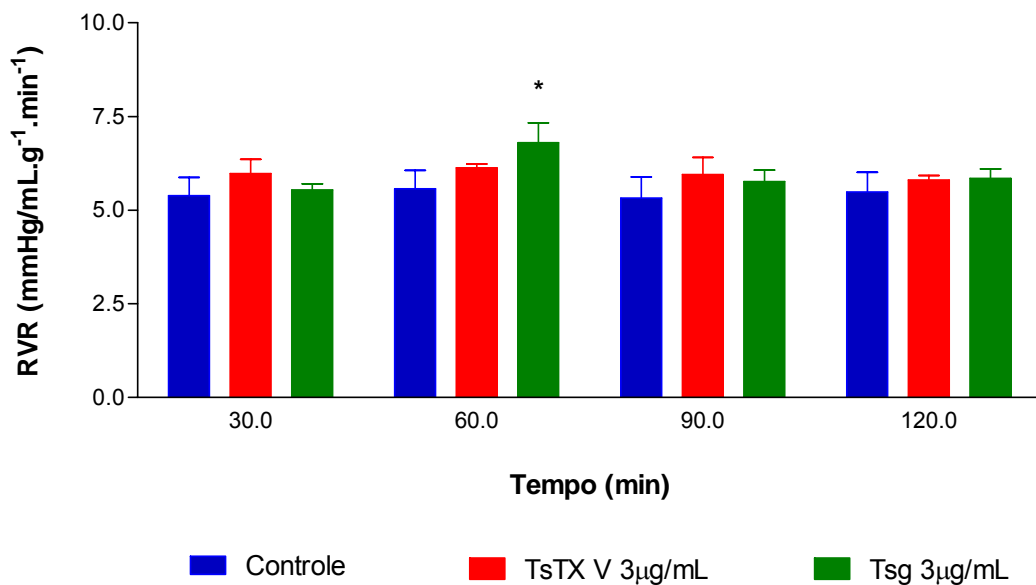


Figura 31: Resistência Vascular Renal (RVR) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com TsTX V (3µg/mL) e toxina gama (Tsg 3µg/mL) do veneno de *Tityus serrulatus*. Valores comparados ao controle nos mesmos períodos com *p<0,05.

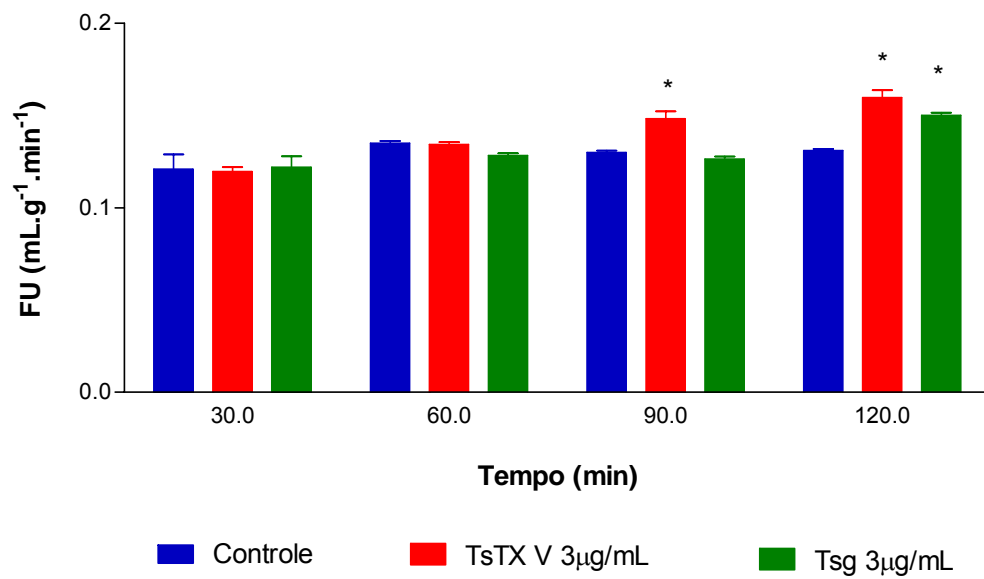


Figura 32: Fluxo Urinário (FU) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com TsTX V (3µg/mL) e toxina gama (Tsg 3µg/mL) do veneno de *Tityus serrulatus*. Valores comparados ao controle nos mesmos períodos com *p<0,05.

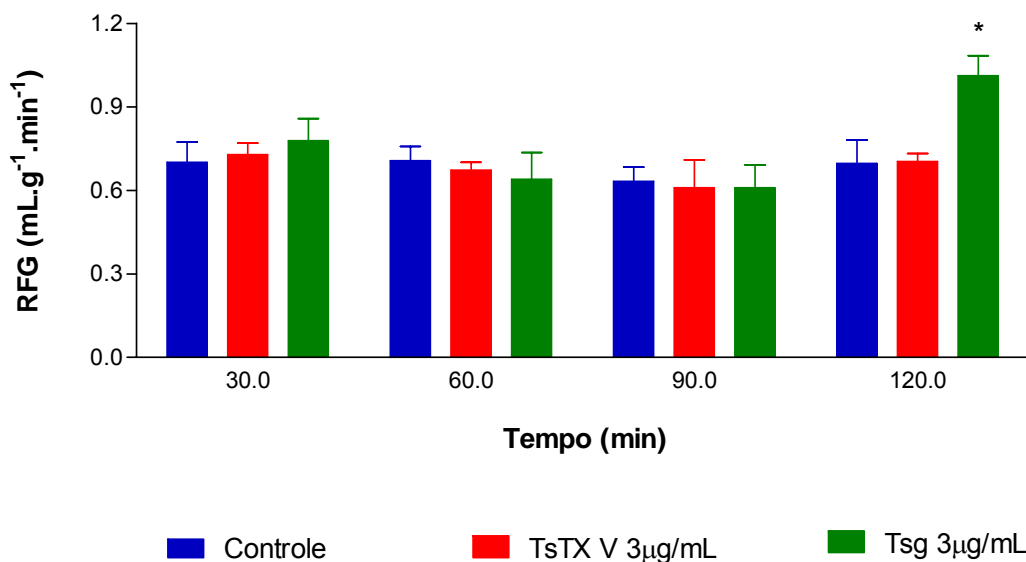


Figura 33: Ritmo de Filtração Glomerular (RFG) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com TsTX V (3µg/mL) e toxina gama (Tsg 3µg/mL) do veneno de *Tityus serrulatus*. Valores comparados ao controle nos mesmos períodos com *p<0,05.

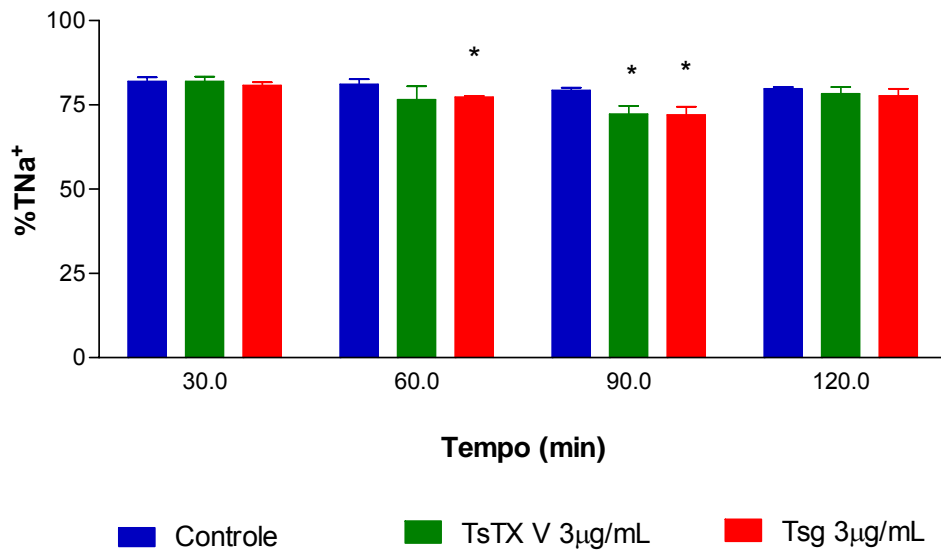


Figura 34: Percentual de Transporte Tubular de Sódio (%TNa⁺) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com TsTX V (3µg/mL) e toxina gama (Tsg 3µg/mL) do veneno de *Tityus serrulatus*. Valores comparados ao controle nos mesmos períodos com *p<0,05.

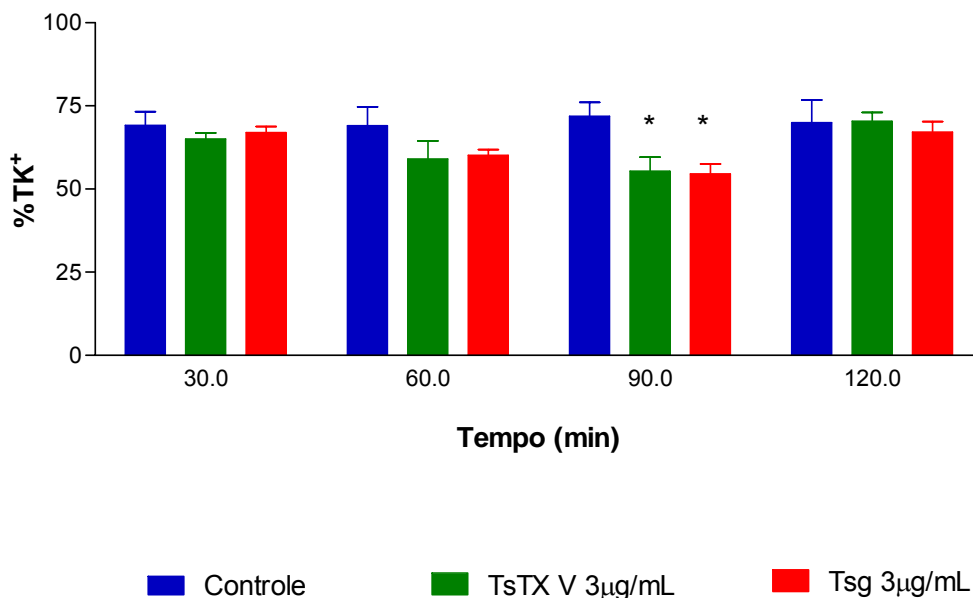


Figura 35: Percentual de Transporte Tubular de Potássio (%TK⁺) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com TsTX V (3µg/mL) e toxina gama (Tsg 3µg/mL) do veneno de *Tityus serrulatus*. Valores comparados ao controle nos mesmos períodos com p<0,05.

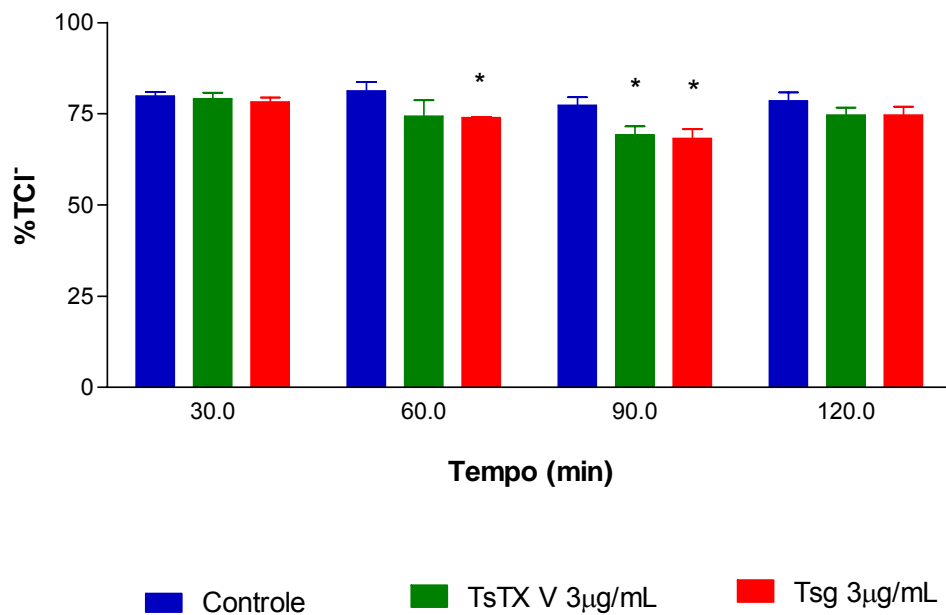


Figura 36: Percentual de Transporte Tubular de Cloreto (%TCI) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com TsTX V (3µg/mL) e toxina gama (Tsg 3µg/mL) do veneno de *Tityus serrulatus*. Valores comparados ao controle nos mesmos períodos com $p < 0,05$.

5.1.4 Perfusão de rim isolado com a fração Natriurética isolada do veneno de *Tityus serrulatus*.

Observando a tabela 34/figura 37, podemos perceber uma relação tempo e concentração dependente, nos efeitos pressóricos induzidos pela fração natriurética em duas diferentes concentrações: 0,03 µg/mL e 0,1 µg/mL. Esse efeito foi mais evidente aos 120 minutos.

Entretanto, a resistência vascular renal foi elevada significativamente aos 120 minutos somente pela maior concentração de peptídeo, conforme a tabela 35/figura 38.

O fluxo urinário foi elevado por ambas as concentrações aos 60 e 120 minutos, mostrando um maior efeito com a concentração de 0,1 µg/mL, porém não significativo entre as duas concentrações (tabela 36/figura 39).

O ritmo de filtração glomerular foi significativamente aumentado aos 120 minutos pelo peptídeo, de forma semelhante ao fluxo urinário, conforme pode ser observado na tabela 37/figura 40.

O transporte tubular de sódio foi alterado logo aos 60 minutos de perfusão pela concentração mais elevada do peptídeo e por ambas aos 120 minutos (tabela 38/figura 41).

O transporte de potássio foi afetado significativamente com PNVTs 0,1 µg/mL logo aos 60 minutos e este efeito permaneceu até o fim do experimento, conforme tabela 39/figura 42.

De acordo com a tabela 40/figura 43, houve uma redução significativa do transporte de cloretos aos 120 minutos, induzida pelas duas concentrações do peptídeo.

Na tabela 41/figura 44, avaliou-se o transporte tubular proximal de sódio, cujos valores foram reduzidos aos 120 pelas duas concentrações de peptídeo estudadas.

Avaliando o transporte tubular proximal de potássio (tabela 42/figura 45), verificamos não houve diferença significativa no transporte que pudesse ser associada a fração estudada.

O transporte tubular proximal de cloretos mostrou uma redução significativa no transporte deste eletrólito aos 120 minutos, induzida pelo PNVTs 0,1 µg/mL, como pode ser observado na tabela 43/figura 46.

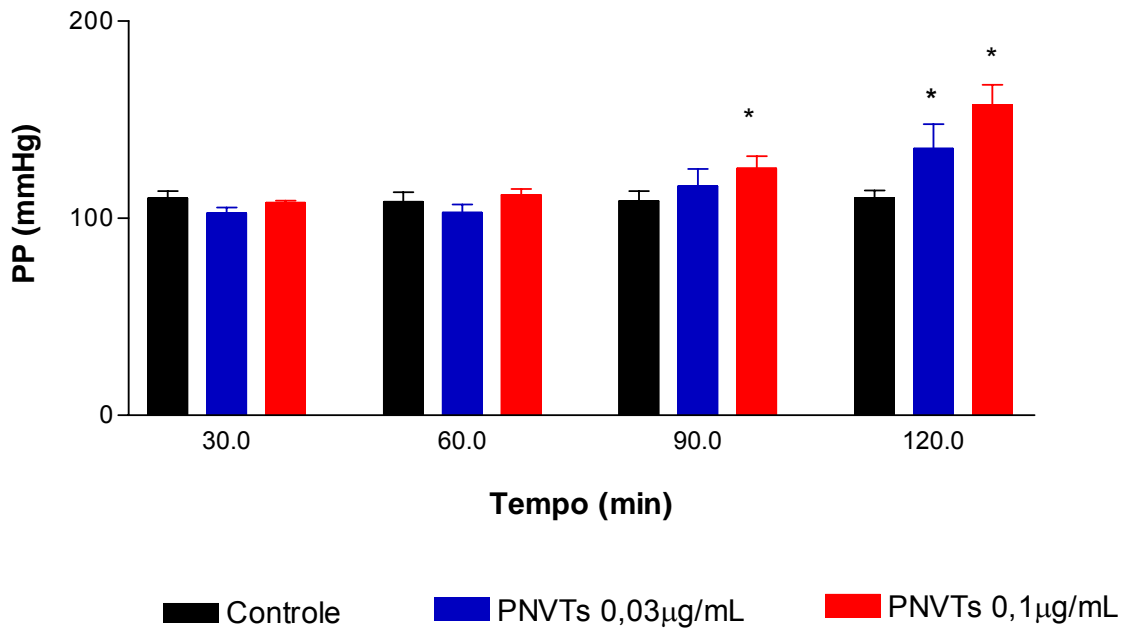


Figura 37: Pressão de Perfusão (PP) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com o peptídeo natriurético do veneno de *Tityus serrulatus* (PNVTs; 0,03 µg/mL e 0,1µg/mL). Valores comparados ao controle nos mesmos períodos com *p<0,05.

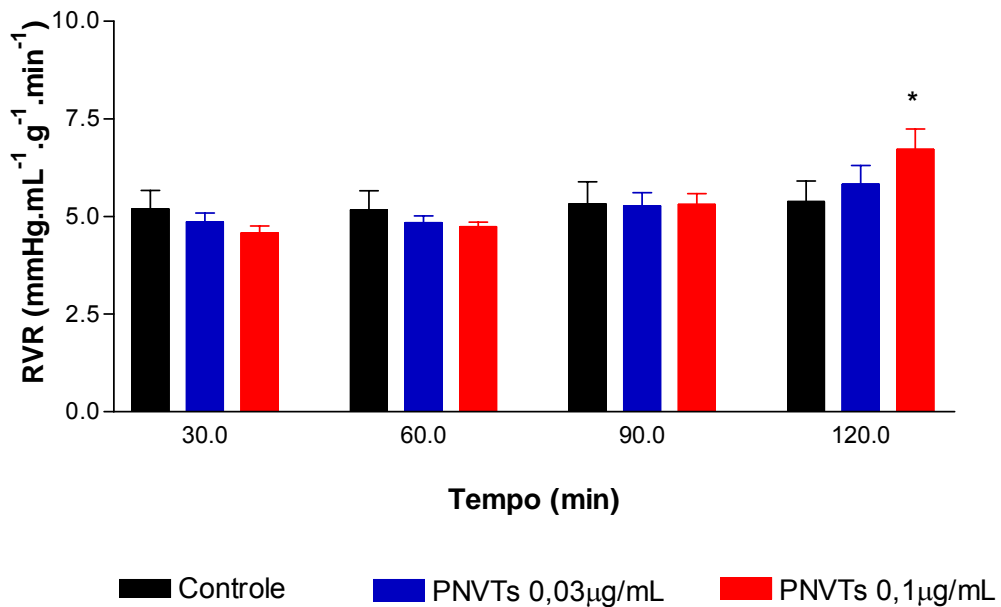


Figura 38: Resistência Vascular Renal (RVR) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com o peptídeo natriurético do veneno de *Tityus serrulatus* (PNVTs; 0,03 µg/mL e 0,1µg/mL). Valores comparados ao controle nos mesmos períodos com *p<0,05.

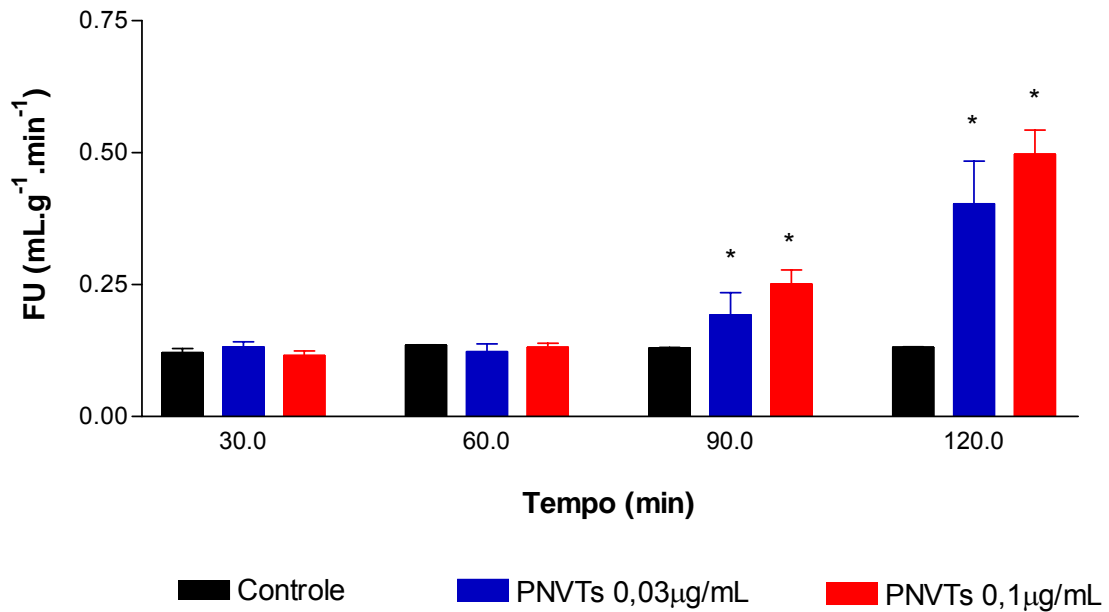


Figura 39: Fluxo Urinário (FU) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com o peptídeo natriurético do veneno de *Tityus serrulatus* (PNVTs; 0,03 µg/mL e 0,1µg/mL). Valores comparados ao controle nos mesmos períodos com *p<0,05.

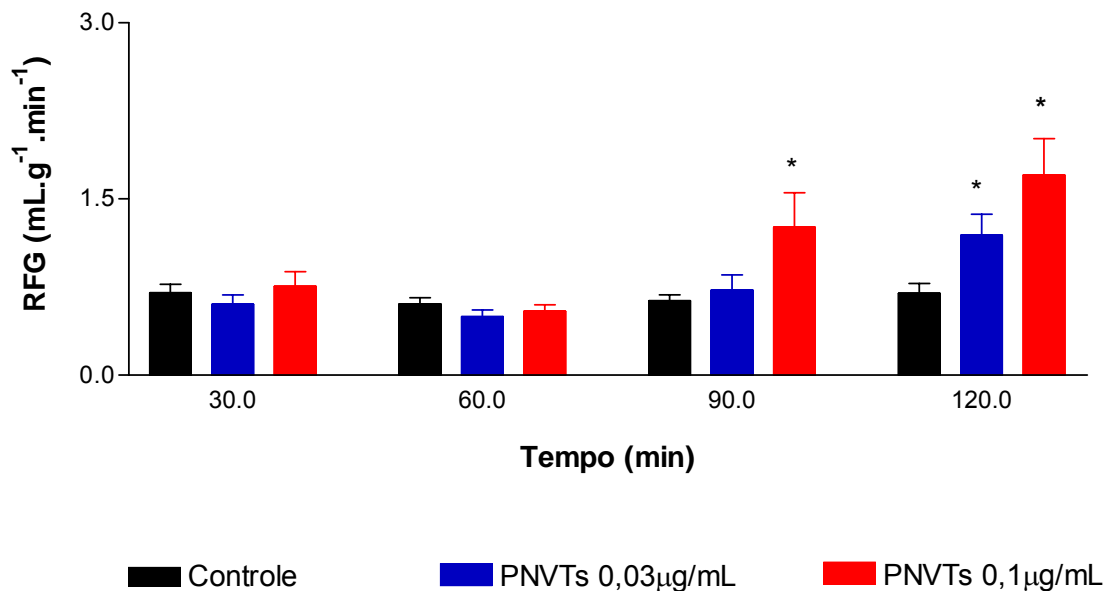


Figura 40: Ritmo de Filtração Glomerular (RFG) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com o peptídeo natriurético do veneno de *Tityus serrulatus* (PNVTs; 0,03 µg/mL e 0,1µg/mL). Valores comparados ao controle nos mesmos períodos com *p<0,05.

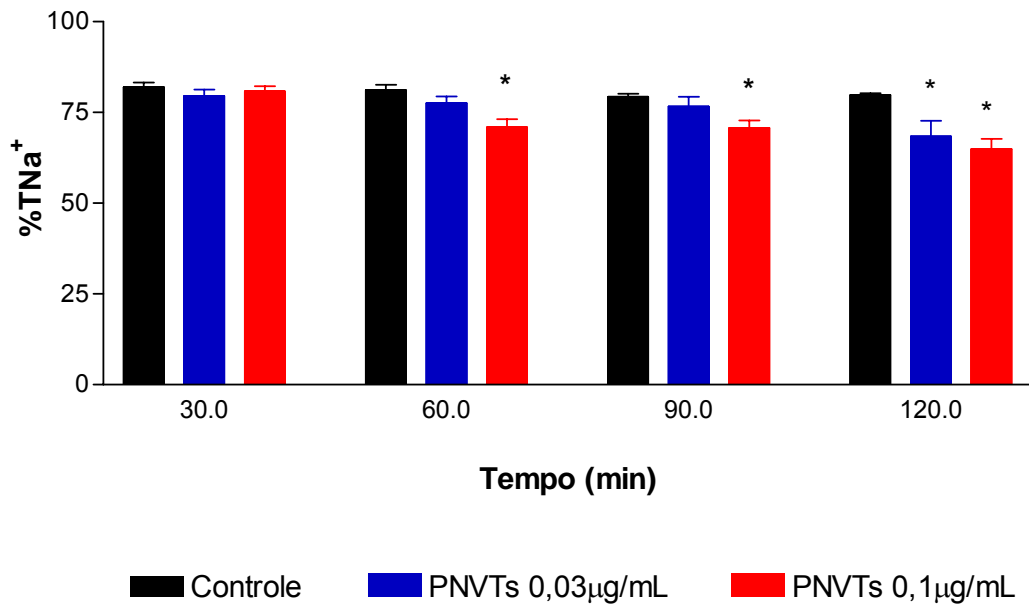


Figura 41: Percentual de Transporte Tubular de Sódio (%TNa⁺) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com o peptídeo natriurético do veneno de *Tityus serrulatus* (PNVTs; 0,03 µg/mL e 0,1µg/mL). Valores comparados ao controle nos mesmos períodos com *p<0,05.

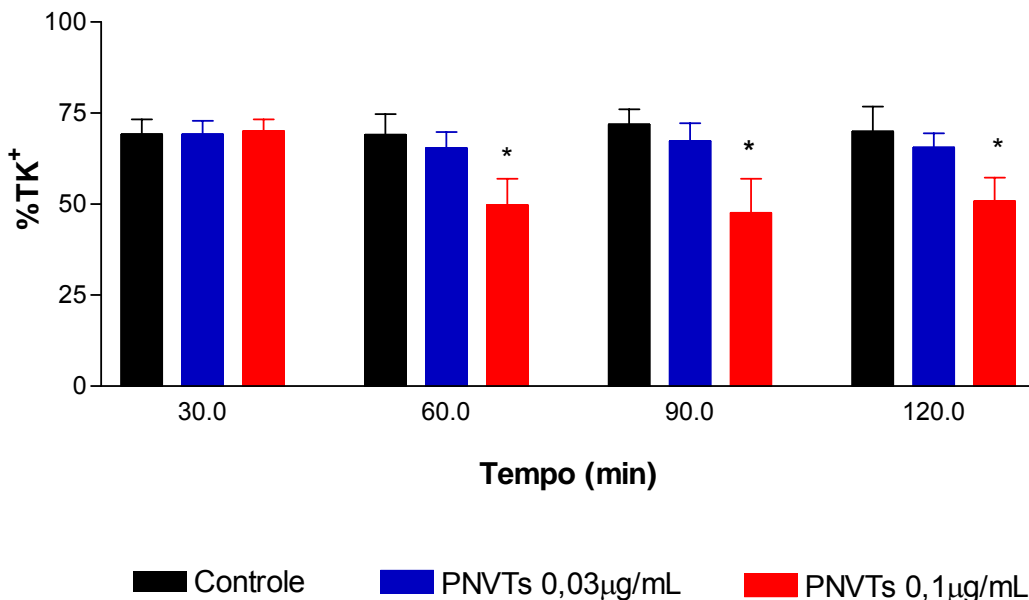


Figura 42: Percentual de Transporte Tubular de Potássio (%TK⁺) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com o peptídeo natriurético do veneno de *Tityus serrulatus* (PNVTs; 0,03 µg/mL e 0,1µg/mL). Valores comparados ao controle nos mesmos períodos com *p<0,05.

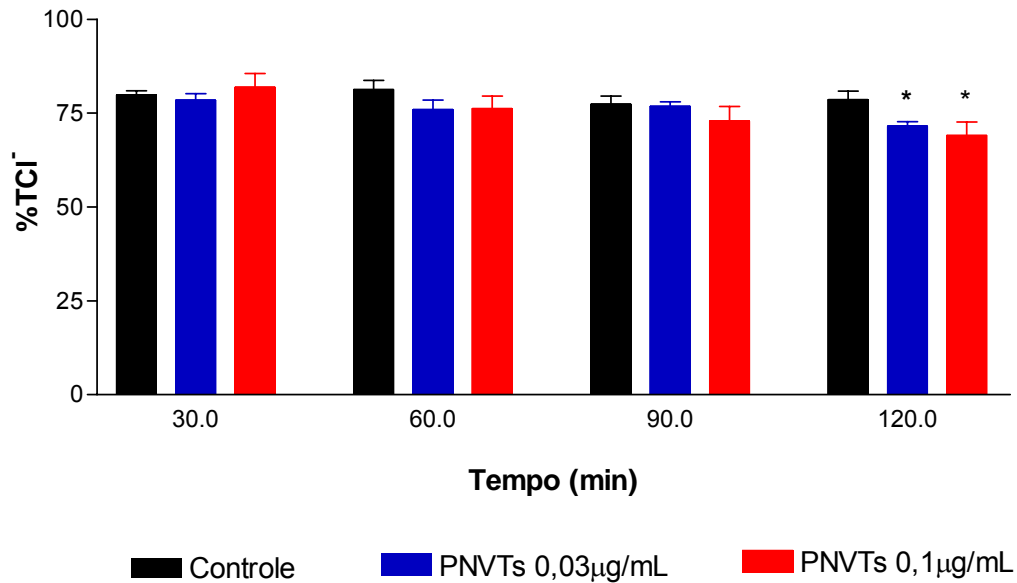


Figura 43: Percentual de Transporte Tubular de Cloreto (%TCl⁻) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com o peptídeo natriurético do veneno de *Tityus serrulatus* (PNVTs; 0,03 μg/mL e 0,1μg/mL). Valores comparados ao controle nos mesmos períodos com *p<0,05.

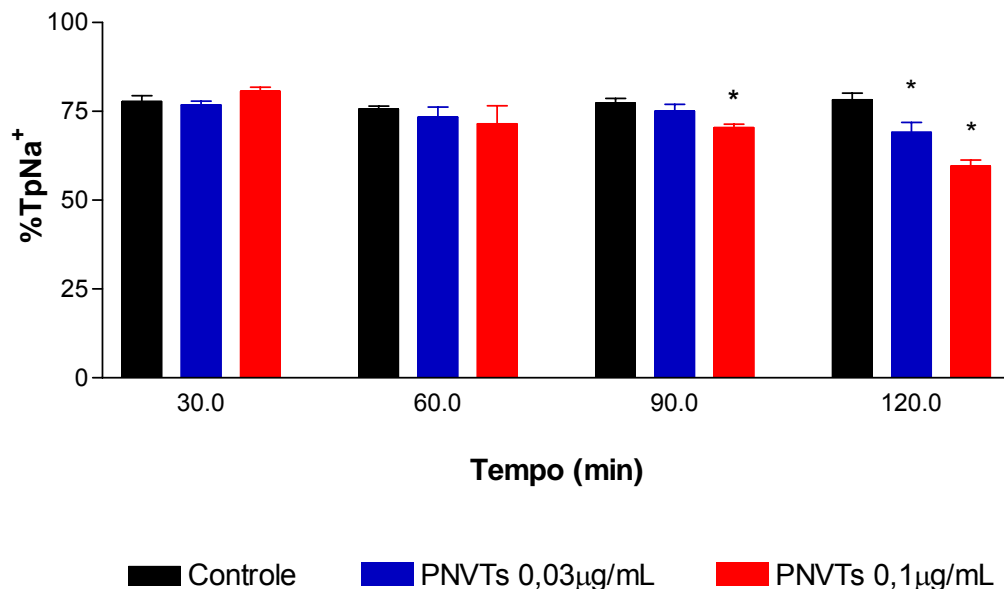


Figura 44: Percentual de Transporte Tubular Proximal de Sódio (%pTNa⁺) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com o peptídeo natriurético do veneno de *Tityus serrulatus* (PNVTs; 0,03 μg/mL e 0,1μg/mL). Valores comparados ao controle nos mesmos períodos com *p<0,05.

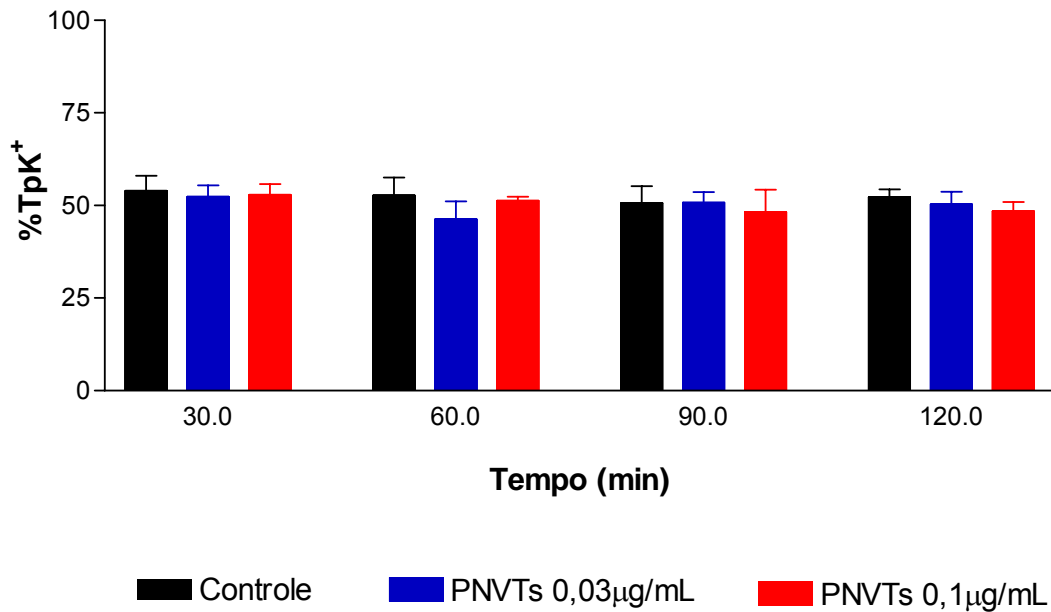


Figura 45: Percentual de Transporte Tubular Proximal de Potássio (%pTK⁺) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com o peptídeo natriurético do veneno de *Tityus serrulatus* (PNVTs; 0,03 µg/mL e 0,1µg/mL).

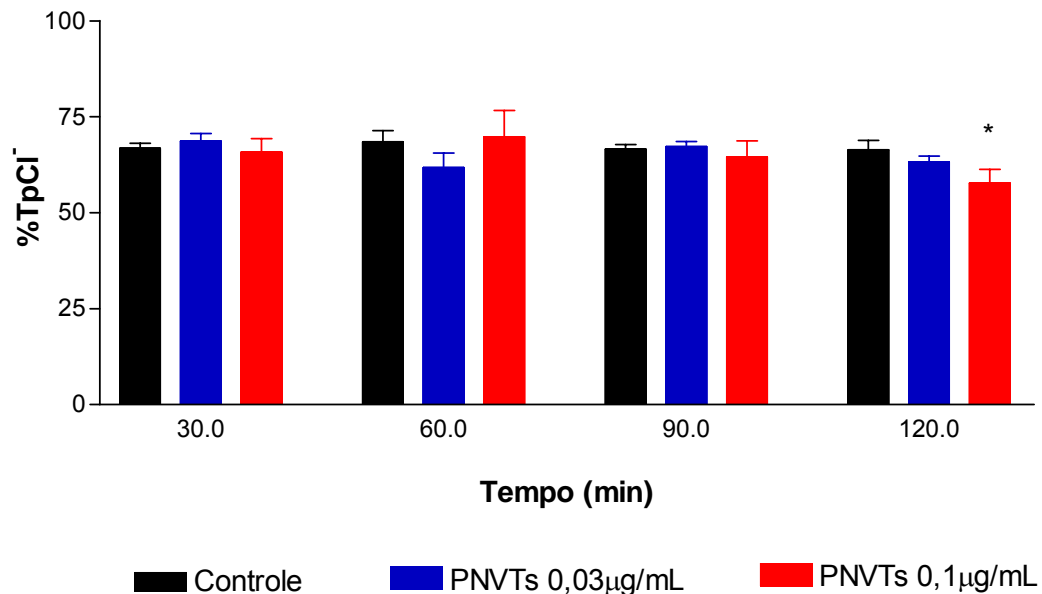


Figura 46: Percentual de Transporte Tubular Proximal de Cloreto (%pTCl⁻) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com o peptídeo natriurético do veneno de *Tityus serrulatus* (PNVTs; 0,03 µg/mL e 0,1µg/mL). Valores comparados ao controle nos mesmos períodos com *p<0,05.

5.2 ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA DOS RINS PERFUNDIDOS COM PRAZOSIN, VENENO TOTAL E FRAÇÕES (TsTx-V, TOXINA γ E NATRIURÉTICA) E PRE-TRATADOS COM PRAZOSIN + VENENO DE *Tityus serrulatus*.

Os achados histopatológicos indicaram presença de material proteináceo depositado nos espaços urinários e luzes tubulares.

A figura 47 mostra um corte histológico de rim perfundido somente com solução de Krebs-hanseleit mostrando que não há alterações provocadas pelo veículo.

Na figura 48 observamos moderado depósito de material protéico nos túbulos e espaços urinários quando comparado ao controle (rim não perfundido), induzido por 3 μ g/mL do veneno de *Tityus serrulatus*.

Foi observado que o Prazosin causou discreto depósito na concentração de 3 μ g/mL, mas não induziu nenhum depósito na concentração mais elevada (10 μ g/mL), conforme pode ser observado nas figuras 49 e 50, respectivamente.

Entretanto, os rins pré-tratados (30 minutos antes) com prazosin em baixa (3 μ g/mL; figura 51) e alta concentração (10 μ g/mL; figura 52) não conseguiram reverter as alterações histológicas induzidas pelo veneno escorpiônico.

A fração TsTx-V (3 μ g/mL; figura 53) também demonstrou depósito de material proteináceo nas luzes tubulares e espaços urinários mas de maneira menos pronunciada que a fração γ (Tsg 3 μ g/mL; figura 54).

Nas figuras 55 e 56, observa-se evidente depósito de material nos glomérulos e túbulos, causados pelas concentrações de 0,03 μ g/mL e 0,1 μ g/mL do peptídeo natriurético, respectivamente.

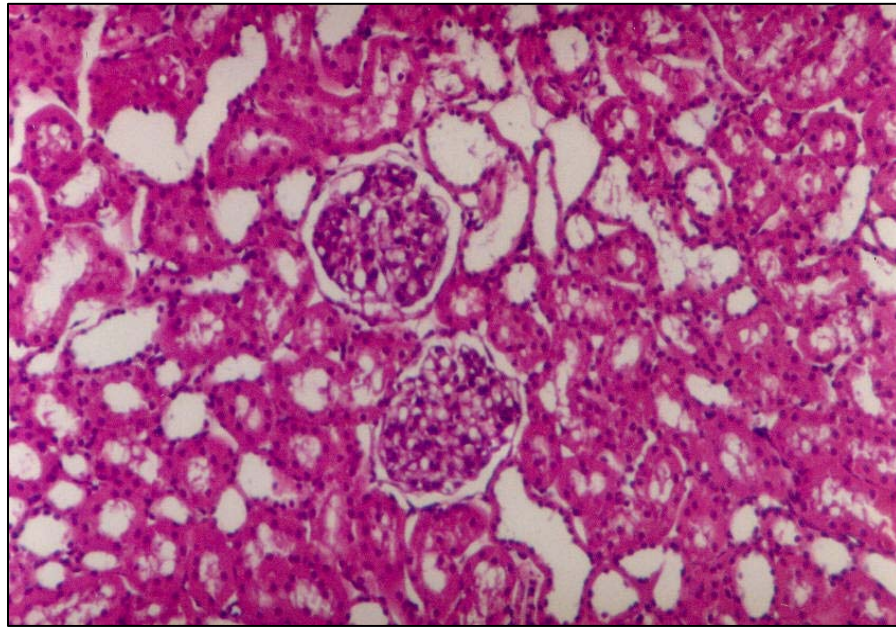


Figura 47. Corte histopatológico de rim perfundido somente com solução de Krebs-Hanseleit modificada, mostrando que a perfusão não altera a fisiologia renal (aumento 400x; n=6)

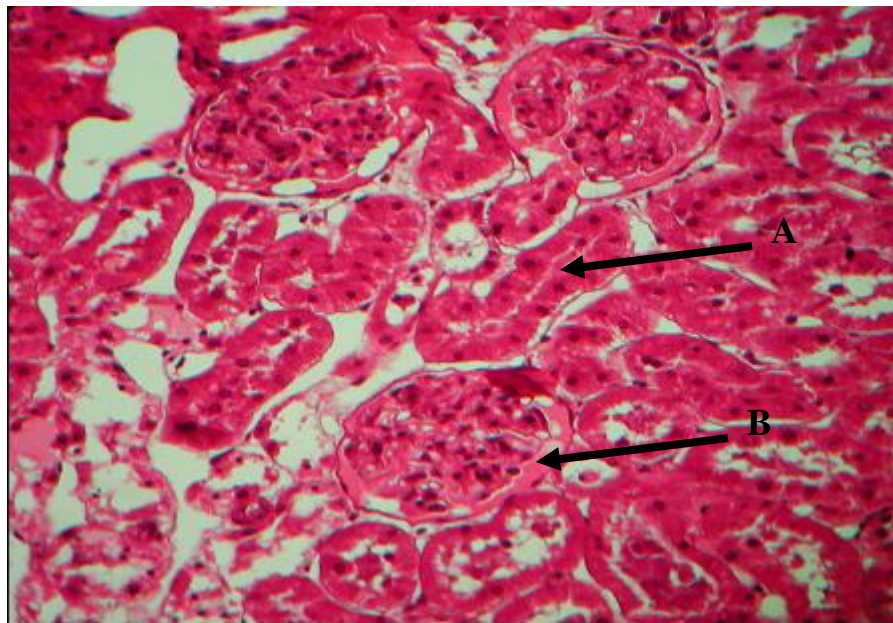


Figura 48. Corte histológico de rim perfundido com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs) na concentração de 3 $\mu\text{g}/\text{mL}$, demonstrando moderado depósito de material protéico nos túbulos (A) e espaço urinário (B) (aumento 400x; n=6).

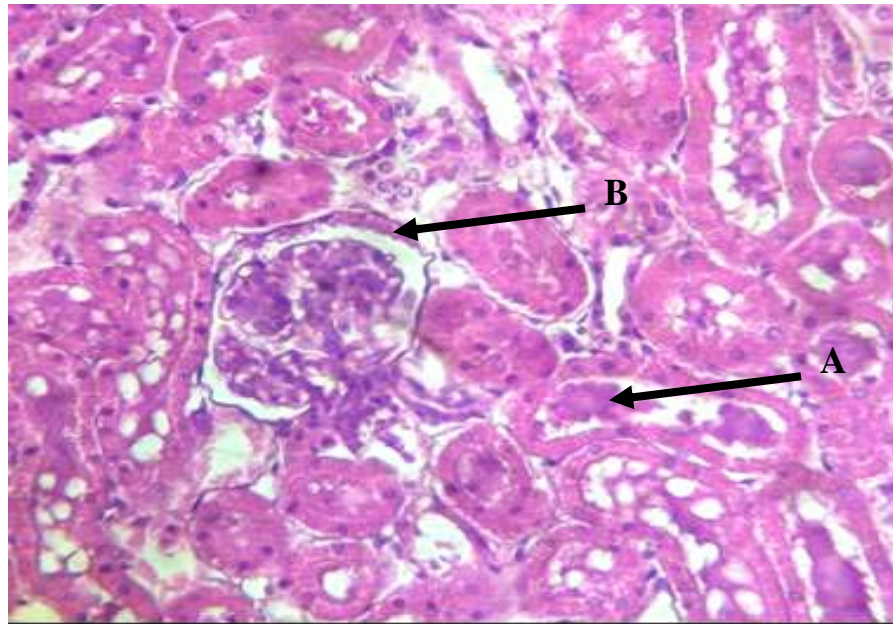
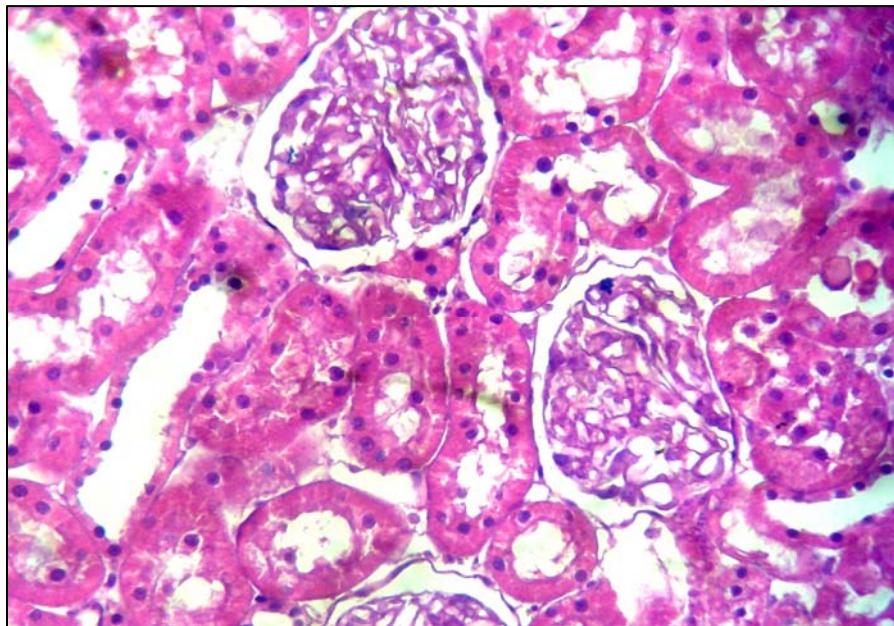


Figura 49. Corte histológico de rim perfundido com Prazosin (Pz) na concentração de 3 $\mu\text{g/mL}$, demonstrando discreto depósito de material protéico nos túbulos (A) e espaço urinário (B) (aumento 400x; n=6).



Figuras 50. Corte histológico de rim perfundido com Prazosin (Pz) na concentração de 10 $\mu\text{g/mL}$, demonstrando que não houve alteração morfológica quando se utilizou a maior concentração do antagonista (aumento 400x; n=6).

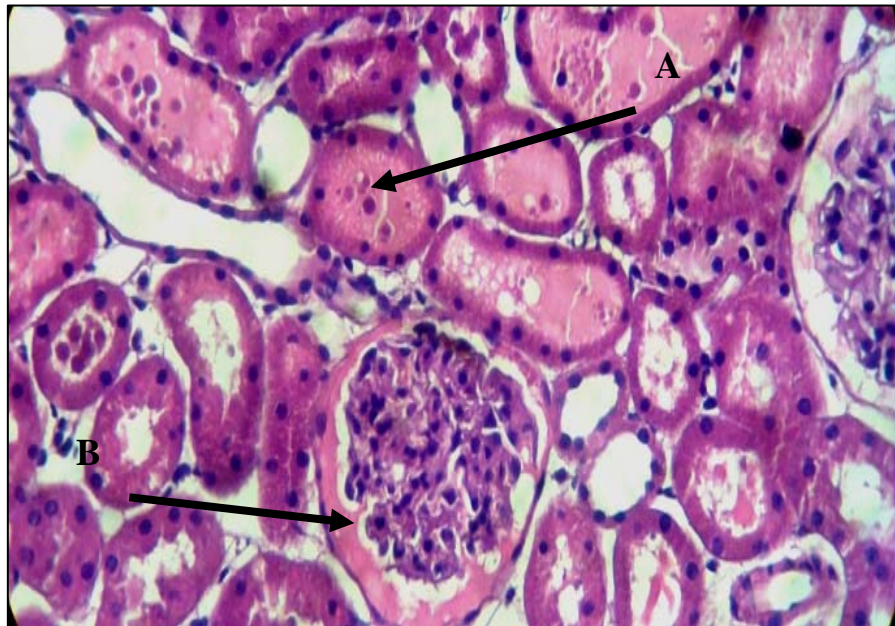
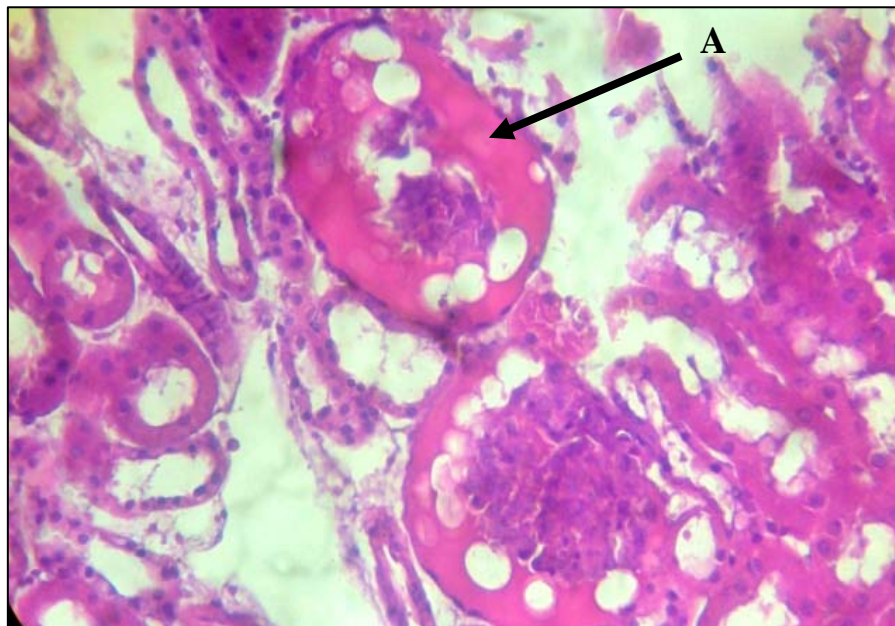
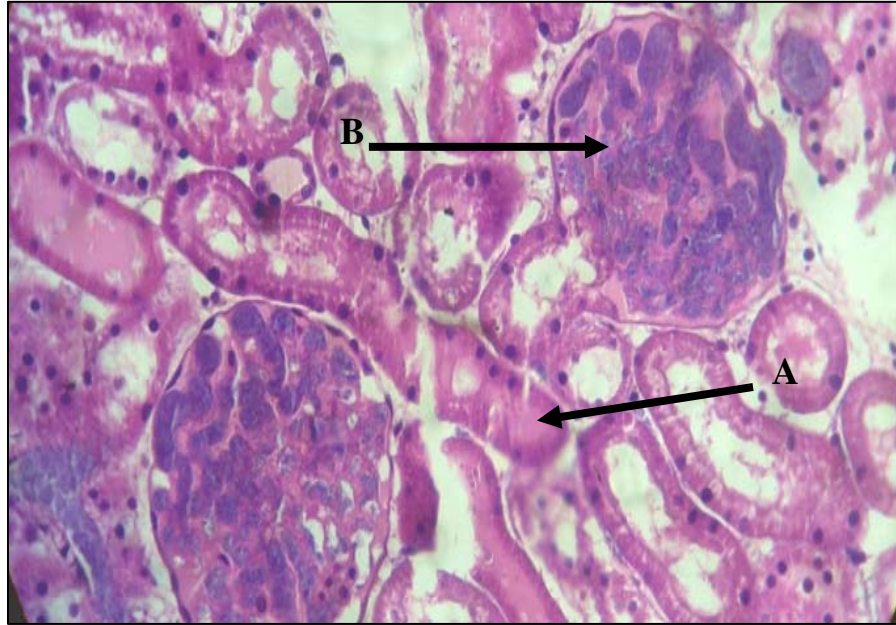


Figura 51. Corte histológico de rim pré-tratado com Prazosin ($3 \mu\text{g/mL}$) e perfundido veneno de *Tityus serrulatus* na concentração de $3 \mu\text{g/mL}$, demonstrando que o antagonista não reverteu o efeito induzido pelo veneno. Verificamos acentuado depósito de material protéico nos túbulos (A) e espaço urinário (B) (aumento 400x; n=6).



Figuras 52. Corte histológico de rim pré-tratado com Prazosin ($10 \mu\text{g/mL}$) e perfundido veneno de *Tityus serrulatus* na concentração de $3 \mu\text{g/mL}$, demonstrando que mesmo a concentração mais elevada do antagonista não foi capaz de reverter o o acentuado depósito de material protéico principalmente nos espaços urinários (A) induzido pelo veneno (aumento 400x; n=6).



Figuras 53. Corte histológico de rim perfundido com TsTx-V isolada do veneno de *Tityus serrulatus* na concentração de $3\mu\text{g}/\text{mL}$ onde verificamos moderada deposição de material protéico nos túbulos (A) e espaços urinários (B) (aumento 400x; n=6).

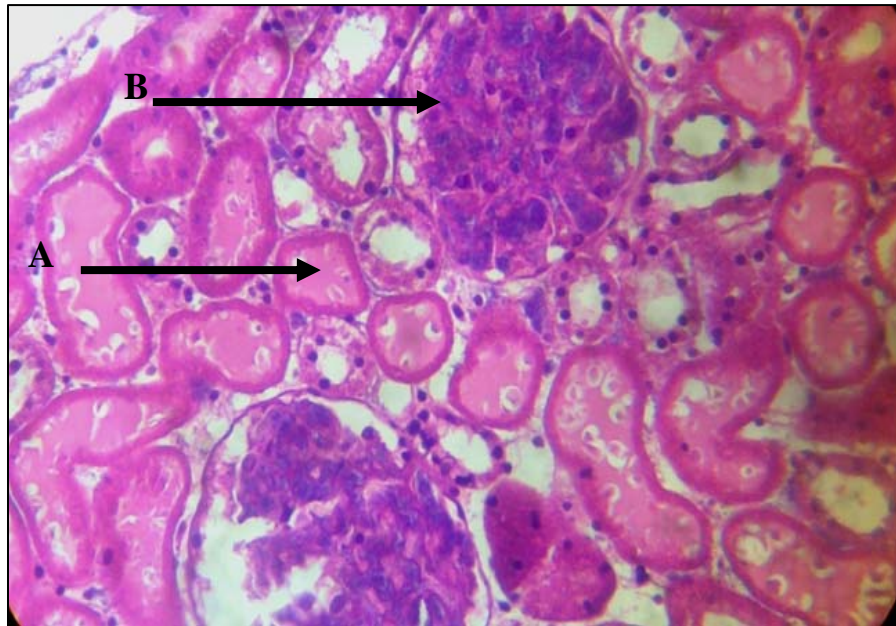


Figura 54. Corte histológico de rim perfundido com Toxina γ isolada do veneno de *Tityus serrulatus* na concentração de $3\mu\text{g}/\text{mL}$, demonstrando efeitos mais pronunciado (quando comparado com a TsTx-V) com acentuado depósito de material protéico nos túbulos (A) e espaço urinário (B) (aumento 400x; n=6).

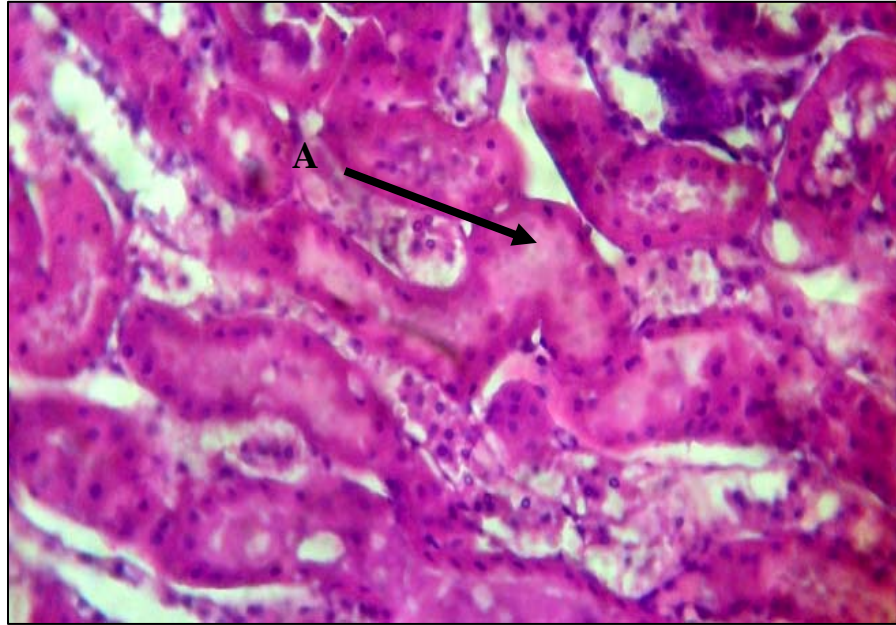


Figura 55. Corte histológico de rim perfundido com Peptídeo natriurético isolado do veneno de *Tityus serrulatus* na concentração de $0,03\mu\text{g/mL}$ em que verificamos acentuado depósito de material protéico principalmente nos túbulos (A) (aumento 400x; n=6).

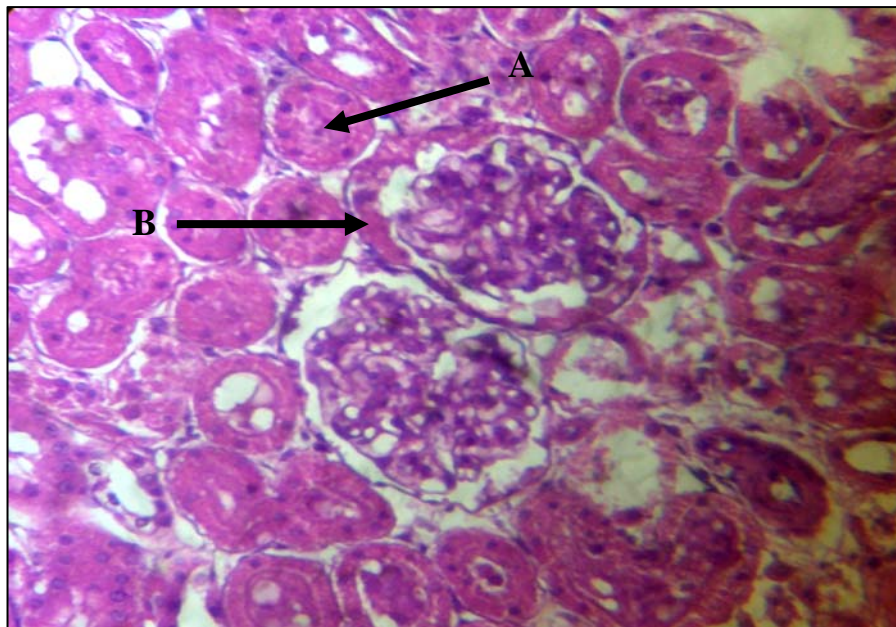


Figura 56. Corte histológico de rim perfundido com Peptídeo natriurético isolado do veneno de *Tityus serrulatus* na concentração de $0,1\mu\text{g/mL}$ demonstrando que a concentração mais elevada do peptídeo ocasionou moderado depósito de material protéico nos túbulos (A) e espaços urinários (B) (aumento 400x; n=6).

5.3 DOSAGEM DE GMPc

5.3.1 Quantificação da excreção de GMPc em urinas de rins perfundidos com a Fração Natriurética

Observou-se uma relação de dependência, pois os rins que foram tratados com a concentração mais alta do peptídeo (PNVTs 0,1µg/mL), apresentaram os maiores resultados para a quantificação de GMPc de forma tempo-dependente, com efeito máximo aos 120 minutos.

A menor concentração do peptídeo também apresentou efeito, sendo este mais agudo que o anterior, mas que foi revertido espontaneamente antes do final do experimento.

Esses resultados foram comparados ao grupo controle, infundido somente com solução de Krebs modificada e apresentados na tabela 44/figura 57.

Tabela 44: Dosagem de GMPc em amostras de urina de rim isolado nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com Peptídeo Natriurético isolado do veneno de *Tityus serrulatus* nas concentrações de 0,03 μ g/mL (PNVTs 0,03) e 0,1 μ g/mL (PNVTs 0,1) em diferentes períodos.

Tempo (min)	Controle	PNVTs 0,03	PNVTs 0,1
30	7,30 \pm 2,40	10,00 \pm 2,40	6,51 \pm 1,25
60	8,83 \pm 0,70	29,50 \pm 5,67*	41,18 \pm 3,25*
90	13,81 \pm 0,54	18,07 \pm 6,09	46,67 \pm 1,60*
120	9,84 \pm 1,39	12,84 \pm 5,08	68,00 \pm 7,60*

Resultados expressos em Média \pm EPM. *p<0,05

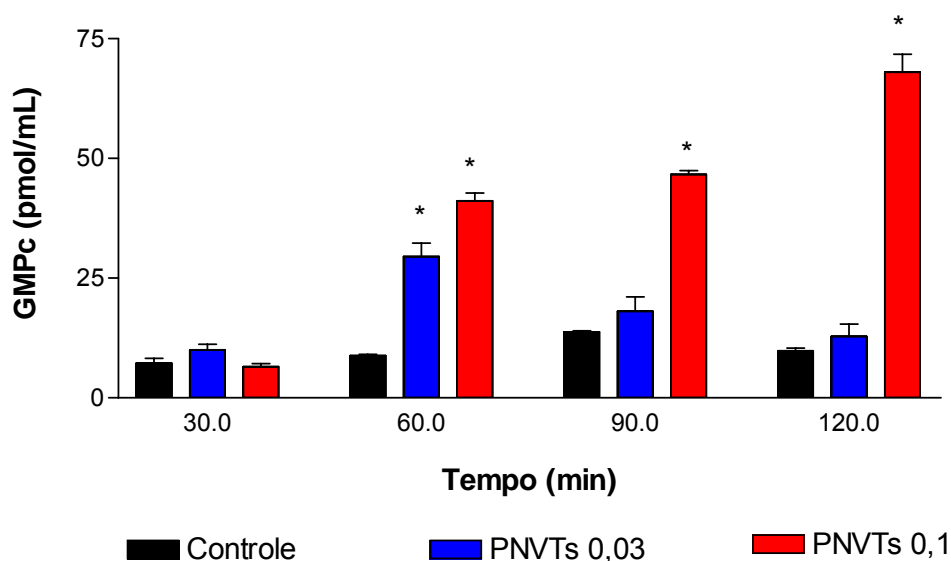


Figura 57: Dosagem de GMPc em amostras de urina de rim isolado nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com Peptídeo Natriurético isolado do veneno de *Tityus serrulatus* nas concentrações de 0,03 μ g/mL (PNVTs 0,03) e 0,1 μ g/mL (PNVTs 0,1) em diferentes períodos. *p < 0,05 em relação ao controle nos mesmos períodos.

5.4 AÇÕES SOBRE A PRESSÃO DE PERFUSÃO DE LEITO VASCULAR MESENTÉRICO

5.4.1 Efeitos das Frações Toxina γ e TsTx-V

Os resultados com as frações TsTx-V e Tsg do veneno de *Tityus serrulatus* na pressão de perfusão do leito vascular mesentérico demonstram que a fração ativa neste caso parece ser a Toxina γ , uma vez que a TsTx-V não apresentou efeitos significativos.

Os valores da pressão de perfusão com a toxina γ variaram de $33,45 \pm 0,653$ mmHg (pressão basal de estabilização do leito) para $46,33 \pm 5,503$ mmHg* (* $p < 0,05$) após a infusão do veneno. Este aumento corresponde a aproximadamente 40% da contração máxima ($114,8 \pm 9,1$ mmHg) do sistema, obtida com a infusão de fenilefrina (10 mg/mL), dados observados na tabela 45/figura 58.

Para visualizar uma possível interação entre a toxina γ e a fenilefrina, infundindo-os simultaneamente. Com isso observamos uma diminuição do efeito ($99,07 \pm 2,592$ mmHg), que não foi significativa em relação a fenilefrina sozinha, mas ainda mantendo diferença estatística frente a pressão basal.

Os resultados para TsTx-V, mostrados na tabela 46/figura 59, observamos que esta fração não atua fisiologicamente na pressão do leito, semelhante a ausência de ação renal.

Tabela 45. Pressão de Perfusão de leito mesentérico em ratos tratados com a Toxina γ do veneno de *Tityus serrulatus* (3 μ g/mL; infundido a 0,1mL/min; n=6); Fenilefrina (10 μ g/mL; infundido a 0,1mL/min; n=6) e Fenilefrina + toxina γ (mesmas condições citadas anteriormente).

	Pressão (mmHg)
Basal	33,45 \pm 0,653
Toxina γ (3μg/mL)	46,33 \pm 5,503*
Fenilefrina (10μg/mL)	114,8 \pm 9,100*
Fenilefrina + Toxina γ	99,07 \pm 2,592*

Resultados expressos em Média \pm EPM. *p<0,05 em relação a pressão basal.

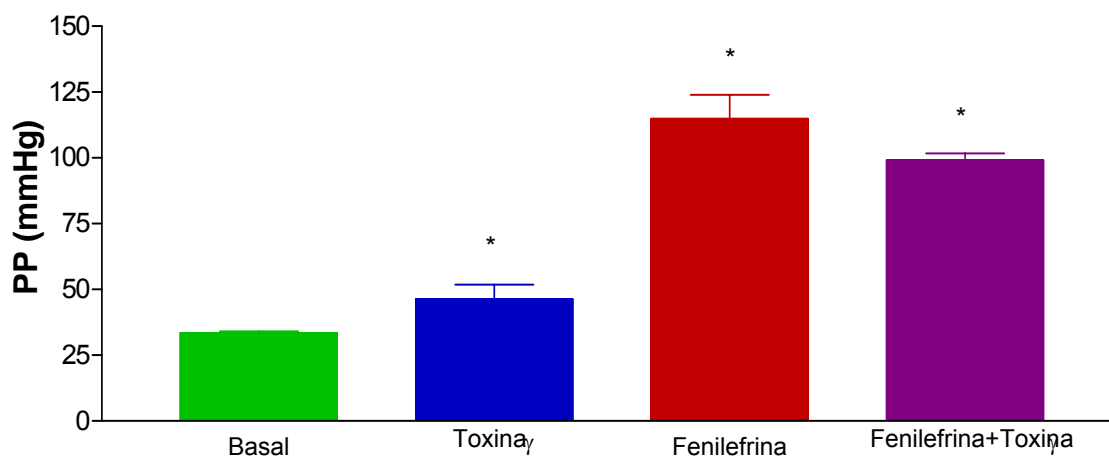


Figura 58. Pressão de Perfusão de leito mesentérico (PP) em ratos tratados com a Toxina γ do veneno de *Tityus serrulatus* (3 μ g/mL; infundido a 0,1mL/min; n=6); Fenilefrina (10 μ g/mL; infundido a 0,1mL/min; n=6) e Fenilefrina + toxina γ (mesmas condições citadas anteriormente). Resultados expressos em Média \pm EPM; * p<0,05 em relação a pressão basal.

Tabela 46. Pressão de Perfusão de leito mesentérico em ratos tratados com a TsTx-V do veneno de *Tityus serrulatus* (3µg/mL; infundido a 0,1mL/min; n=6); Fenilefrina (10µg/mL; infundido a 0,1mL/min; n=6) e Fenilefrina + TsTx-V (mesmas condições citadas anteriormente).

	Pressão (mmHg)
Basal	38,00 ± 0,436
TsTx-V (3µg/mL)	37,55 ± 0,525
Fenilefrina (10µg/mL)	133,40 ± 11,51*
Fenilefrina + TsTx-V	114,60 ± 0,210*

Resultados expressos em Média ± EPM

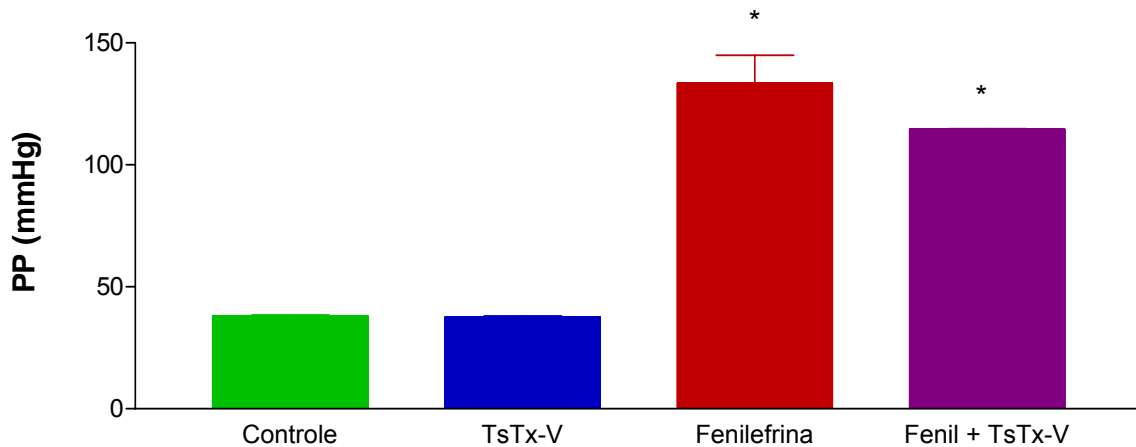


Figura 59. Pressão de Perfusão de leito mesentérico (PP) em ratos tratados com TsTx-V do veneno de *Tityus serrulatus* (3µg/mL; infundido a 0,1mL/min; n=6); Fenilefrina (10µg/mL; infundido a 0,1mL/min; n=6) e Fenilefrina + TsTx-V (mesmas condições citadas anteriormente). Resultados expressos em Média ± EPM; * p<0,05 em relação a pressão basal.

5.5 AÇÕES DO VENENO BRUTO DE *Tityus serrulatus* EM CANAL DEFERENTE

As ações do veneno sobre o canal deferente de camundongo foram antagônicas, pois doses menores do veneno promoveram um relaxamento do órgão, enquanto doses maiores promoveram o aumento da amplitude das contrações, quando comparado com o controle basal.

Os resultados podem ser vistos na figura 60 (registro fisiográfico de canal deferente tratado com veneno de *Tityus serrulatus*) e na tabela 47/figura 67 (controle = $9,45 \pm 1,69\%$; 1ng = $-12,65 \pm 3,26\%$; 3ng = $-20,61 \pm 6,08\%$; 10ng = $-31,56 \pm 8,58\%$; 30ng = $-32,09 \pm 9,95\%$; 100ng = $-40,7 \pm 6,78\%$; 300ng = $-11,93 \pm 15,5\%$; 1 μ g = $36,62 \pm 31,63\%$; 3 μ g = $258,41 \pm 86,95\%*$; TTX = $-69,97 \pm 2,22\%$; * $p < 0,05$).

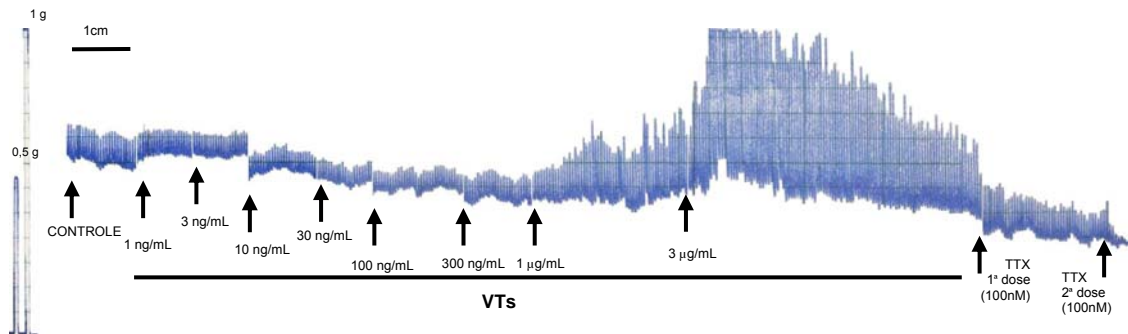


Figura 60: Registro Fisiográfico do percentual de contração de Canal deferente de camundongos Swiss tratados com o veneno de *Tityus serrulatus* em curva cumulativa de 1, 3, 10, 30, 100, 300 ng/mL, 1 e 3 µg/mL (*in bolus*; n = 6) e Tetrodotoxina (TTX; 100 nM *in bolus*; n = 6)

Tabela 47. Avaliação do percentual de contração de Canal deferente de camundongos Swiss tratados com o veneno de *Tityus serrulatus* em curva cumulativa de 1, 3, 10, 30, 100, 300 ng/mL, 1 e 3 µg/mL (*in bolus*; n = 6) e Tetrodotoxina (TTX; 100 nM *in bolus*; n = 6).

CONTROLE	1ng	3ng	10ng	30ng	100ng	300ng	1µg	3µg	TTX
9,45 ± 1,69	-12,65 ± 3,26	-20,61 ± 6,08	-31,56 ± 8,58	-32,09 ± 9,95	-40,7 ± 6,78	-11,93 ± 15,5	36,62 ± 31,63	258,41 ± 86,95*	-69,97 ± 2,22

Resultados expressos em Média ± E.P.M

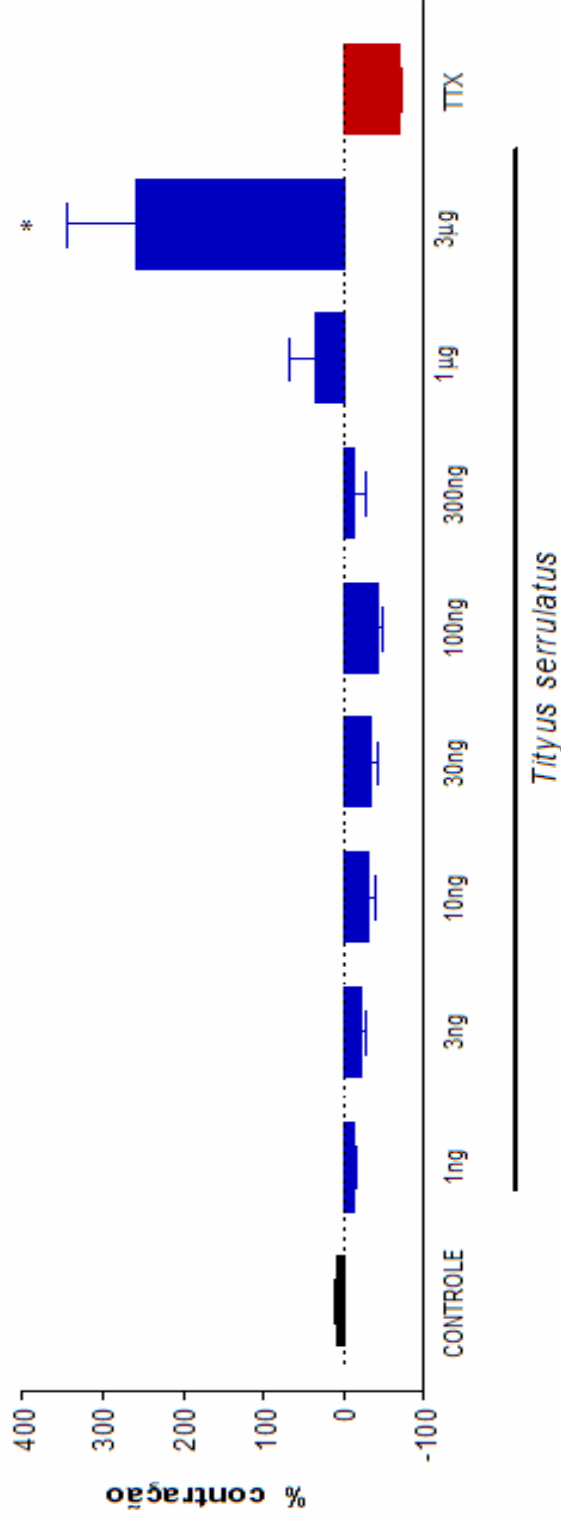


Figura 61. Avaliação do percentual de contração de Canal deferente de camundongos Swiss tratados com o veneno de *Tityus serrulatus* em curva cumulativa de 1, 3, 10, 30, 100, 300 ng/mL, 1 e 3 µg/mL (*in bolus*; n = 6) e Tetrodotoxina (TTX; 100 nM *in bolus*; n = 6). Resultados expressos em Média ± EPM; * p < 0,05 em relação ao controle.

5.6 PRESSÃO ARTERIAL MÉDIA DE RATOS

5.6.1 Efeitos do Veneno Bruto de *Tityus serrulatus* e Fração Natriurética

Os animais foram avaliados em relação a pressão arterial média (PAM) enquanto estavam sendo realizados para clearance in vivo. Os grupos (n = 6 por grupo) controle, veneno bruto de *Tityus serrulatus* (VTs; 120 μ g/Kg) e fração natriurética do veneno (PNVTs; 0,4 μ g/Kg) foram avaliados por três períodos de 30 minutos.

Houve elevação significativa da pressão arterial média nos grupos tratados com VTs e PNVTs no último período do experimento conforme pode ser observado na tabela 48/figura 63.

Na figura 62 podemos observar o registro fisiográfico do grupo controle. Nas figuras 64 e 65, encontram-se os registros dos grupos tratados com VTs e PNVTs, respectivamente.

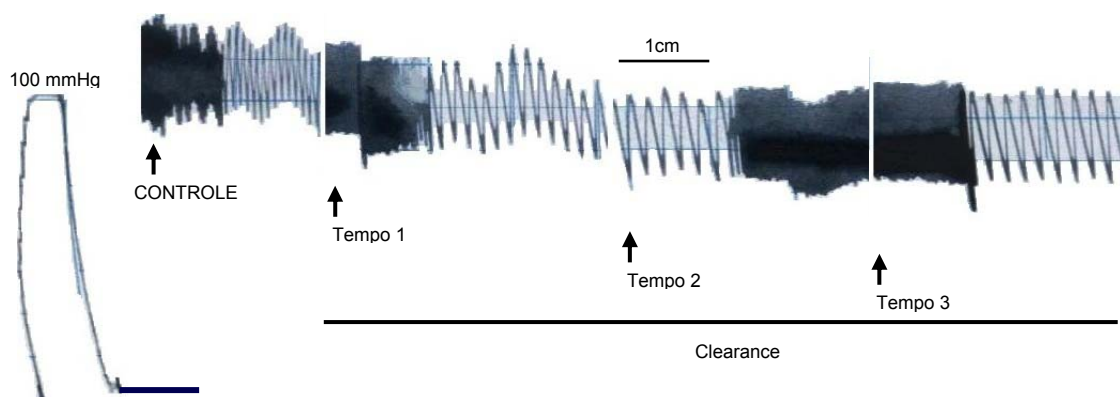


Figura 62: Registro fisiográfico da Pressão Arterial dos primeiros 30 minutos (Tempo 1), de 30-60 minutos (Tempo 2) e de 60-90 minutos (Tempo 3) no grupo controle (n = 6).

Tabela 48: Pressão Arterial Média (PAM; mmHg) dos primeiros 30 minutos (0-30'), de 30-60 minutos (30-60') e de 60-90 minutos (60-90'), nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs; 120µg/Kg) e Fração Natriurética isolada do veneno de *T. serrulatus* (PNVTs 0,4µg/Kg).

PAM (mmHg)	Controle	VTs 120µg/Kg	PNVTs 0,4µg/Kg
0 – 30'	109,72 ± 3,049	107,92 ± 9,420	103,89 ± 2,570
30 – 60'	107,87 ± 3,241	119,86 ± 8,030	112,78 ± 3,790
60 – 90'	102,50 ± 3,505	134,17 ± 6,300*	115,97 ± 4,150* #

Resultados expressos em Média ± EPM. *, # p<0,05

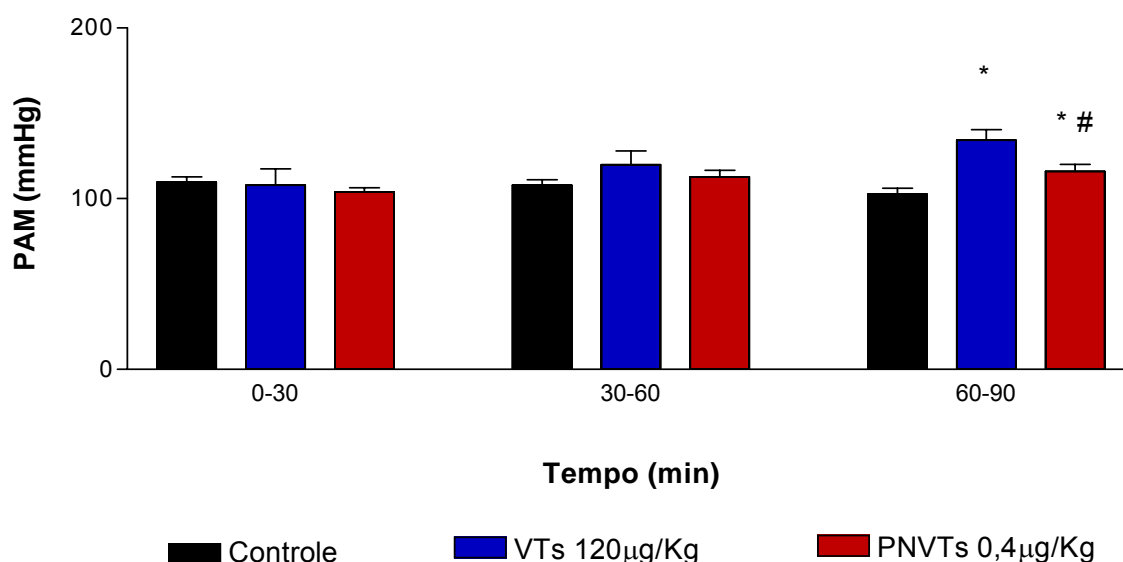


Figura 63: Pressão Arterial Média (PAM; mmHg) dos primeiros 30 minutos (0-30'), de 30-60 minutos (30-60') e de 60-90 minutos (60-90'), nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs; 120µg/Kg) e Fração Natriurética isolada do veneno de *T. serrulatus* (PNVTs 0,4µg/Kg). *p<0,05 em relação ao controle no mesmo período. #p<0,05 em relação ao PNVTs nos primeiros 30 minutos.

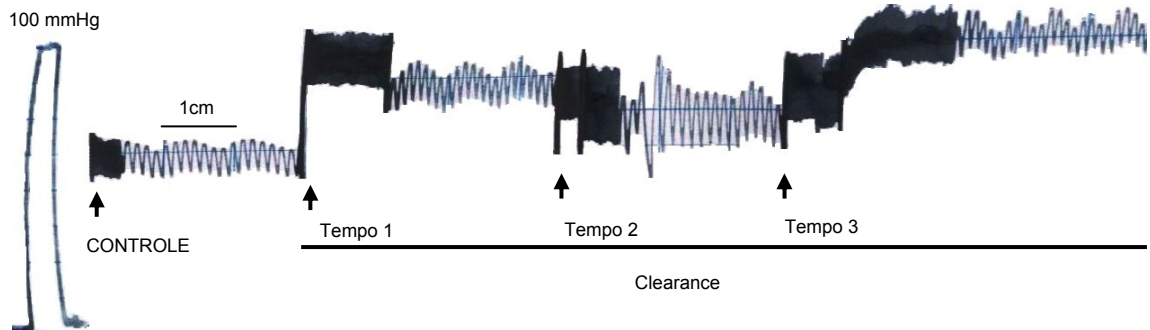


Figura 64: Registro fisiográfico da Pressão Arterial dos primeiros 30 minutos (Tempo 1), de 30-60 minutos (Tempo 2) e de 60-90 minutos (Tempo 3) no grupo tratado (n = 6) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs; 0,6 μ g/min).

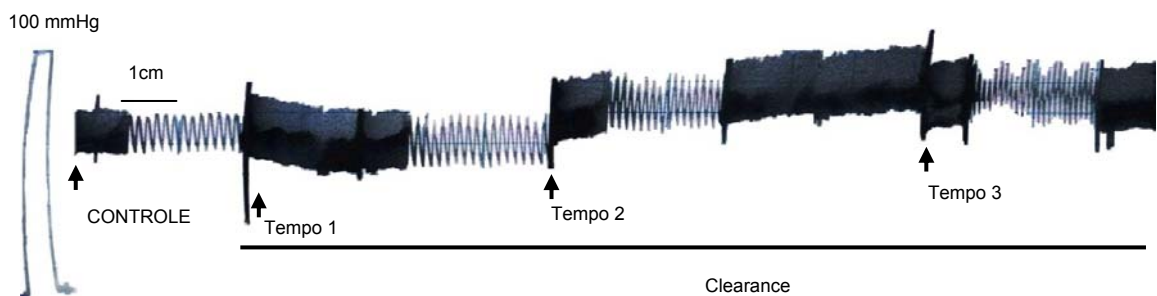


Figura 65: Registro fisiográfico da Pressão Arterial dos primeiros 30 minutos (Tempo 1), de 30-60 minutos (Tempo 2) e de 60-90 minutos (Tempo 3) no grupo tratado (n = 6) com a Fração Natriúrica isolada do veneno de *T. serrulatus* (PNVTs 0,2 μ g/min).

5.7 FREQUENCIA CARDÍACA DE RATOS

5.7.1 Efeitos do Veneno Bruto de *Tityus serrulatus* e Fração Natriurética

Da mesma forma que a pressão arterial média, a frequência cardíaca foi captada durante o experimento de clearance *in vivo*. Os grupos (n = 6 por grupo) controle, veneno bruto de *Tityus serrulatus* (VTs; 120 μ g/Kg) e Fração Natriurética isolada do veneno de *T. serrulatus* (PNVTs 0,4 μ g/Kg) foram avaliados por três períodos de 30 minutos.

Houve elevação significativa da frequência cardíaca somente no terceiro período pela fração natriurética do veneno ($FC_C = 239,8 \pm 29,35$ bpm; $FC_{VTs} = 319,0 \pm 27,95$ bpm; $FC_{VTs} = 355,0 \pm 25,30$ *; * $p < 0,05$) conforme pode ser observado na tabela 49/figura 67.

Na figura 66 podemos observar o registro eletrocardiográfico do grupo controle. Nas figuras 68 e 69, encontram-se os registros dos grupos tratados com VTs e PNVTs, respectivamente.

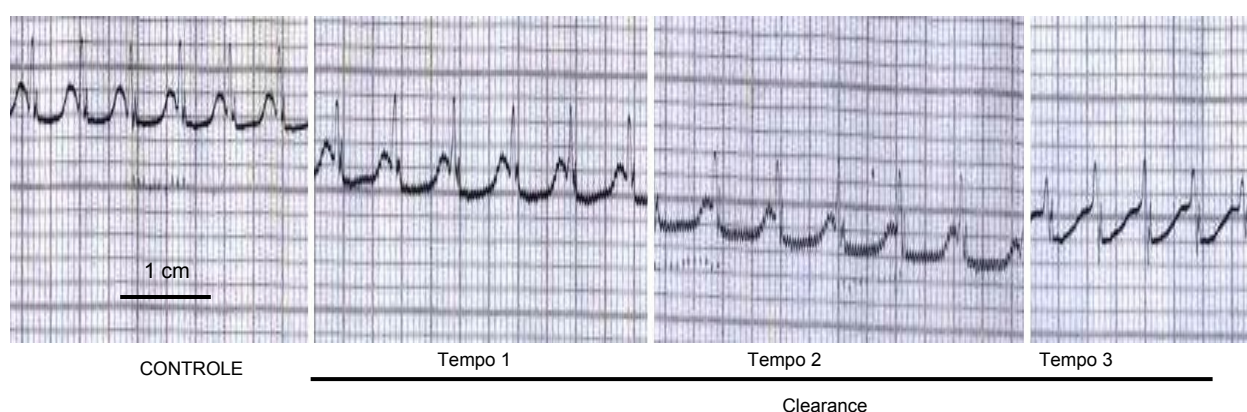


Figura 66: Registro eletrocardiográfico da Frequência cardíaca (bpm) do grupo controle nos primeiros 30 minutos (Tempo 1), de 30-60 minutos (Tempo 2) e de 60-90 minutos (Tempo 3), no grupo controle (n = 6). Velocidade: 25mm/s

Tabela 49: Frequência cardíaca (bpm) dos primeiros 30 minutos (30'), de 30-60 minutos (60') e de 60-90 minutos (90'), nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs; 120 μ g/Kg) e Fração Natriurética isolada do veneno de *T. serrulatus* (PNVTs 0,4 μ g/Kg).

Frequência cardíaca (bpm)	Controle	VTs 120 μ g/Kg	PNVTs 0,4 μ g/Kg
30'	232,5 \pm 21,12	280,0 \pm 12,65	262,5 \pm 13,28
60'	242,1 \pm 36,82	325,0 \pm 24,70	300,0 \pm 34,42
90'	239,8 \pm 29,35	319,0 \pm 27,95	355,0 \pm 25,30*

Resultados expressos em Média \pm EPM. *p<0,05

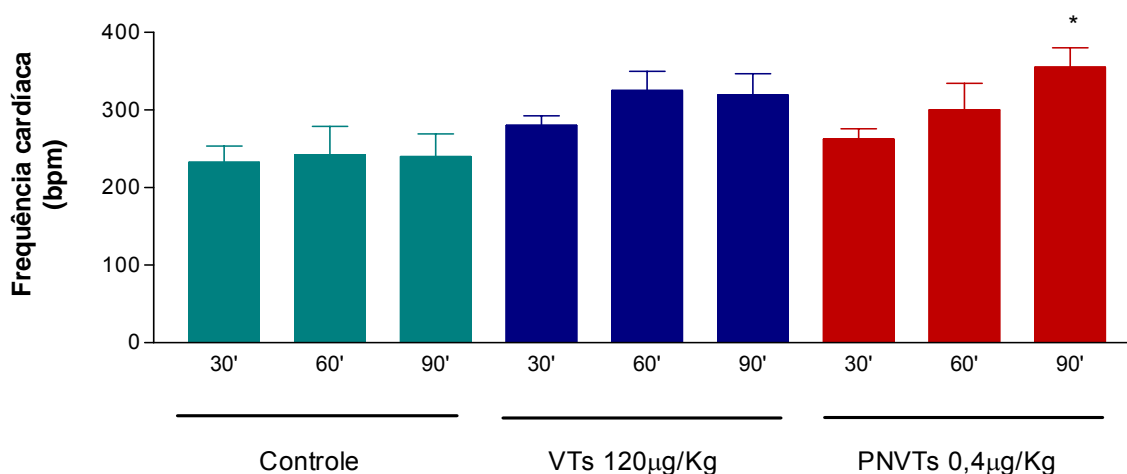


Figura 67: Frequência cardíaca (bpm) dos primeiros 30 minutos (30'), de 30-60 minutos (60') e de 60-90 minutos (90'), nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs; 120 μ g/Kg) e Fração Natriurética isolada do veneno de *T. serrulatus* (PNVTs 0,4 μ g/Kg). *p<0,05 em relação aos primeiros 30 minutos.

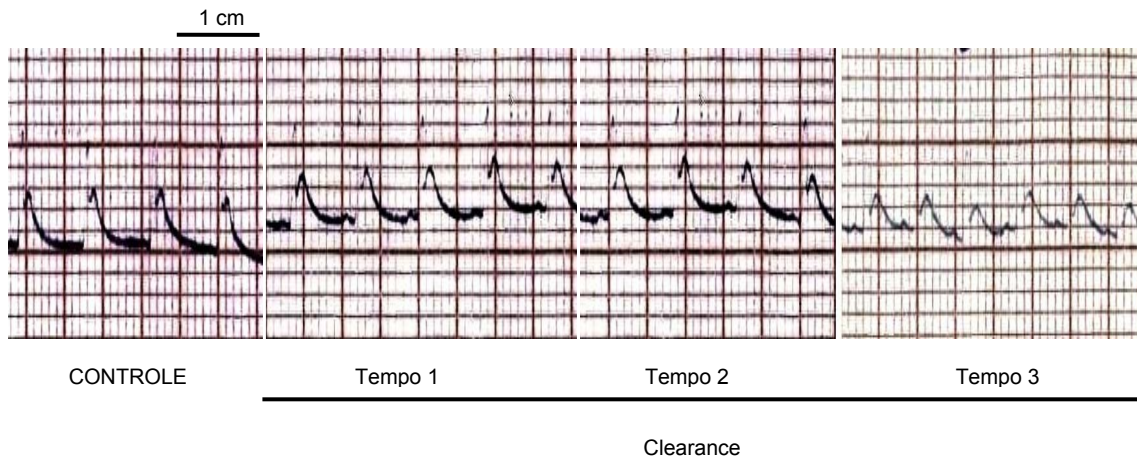


Figura 68: Registro eletrocardiográfico da Frequência cardíaca (bpm) dos primeiros 30 minutos (Tempo 1), de 30-60 minutos (Tempo 2) e de 60-90 minutos (Tempo 3), no grupo tratado (n = 6) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs; 120µg/Kg)

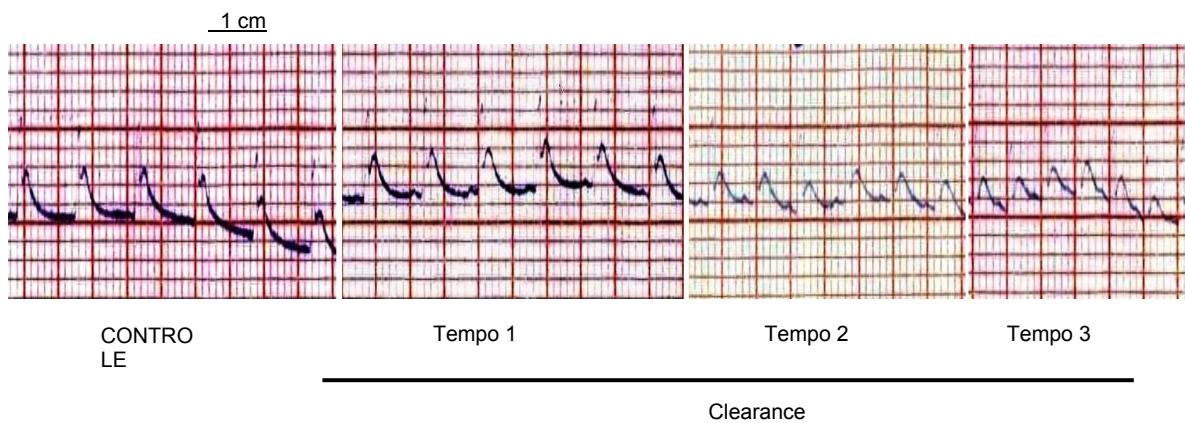


Figura 69: Registro eletrocardiográfico da Frequência cardíaca (bpm) dos primeiros 30 minutos (Tempo 1), de 30-60 minutos (Tempo 2) e de 60-90 minutos (Tempo 3), no grupo tratado (n = 6) com a Fração Natriurética isolada do veneno de *T. serrulatus* (PNVTs 0,4µg/Kg).

5.8 PERFUSÃO RENAL DE RATOS *in vivo*

5.8.1 Efeitos do Veneno Bruto e Fração Natriurética

Os grupos (n = 6 por grupo) controle, veneno bruto de *Tityus serrulatus* (VTs; 120 μ g/Kg) e Fração Natriurética isolada do veneno de *T. serrulatus* (PNVTs 0,4 μ g/Kg) foram avaliados por três períodos de 30 minutos. O primeiro período foi considerado controle interno do experimento, pois não havia infusão de veneno ou toxina durante este período.

Em relação ao hematócrito, tabela 50/figura 70, foi observando uma diminuição de analito nos grupos tratados com VTs e PNVTs ao início (Ht0: controle = 32,18 \pm 2,13; VTs = 33,15 \pm 1,09; PNVTs = 33,62 \pm 0,46%) e fim do experimento (Ht3: controle = 29,00 \pm 3,17; VTs = 21,03 \pm 2,09*; PNVTs = 26,70 \pm 0,95%*; *p<0,05).

Na tabela 51/figura 71, observamos que o fluxo urinário foi significativamente elevado pela fração natriurética isolada do veneno de *Tityus serrulatus* ao fim do experimento (U3_C = 8,90 \pm 1,86; U3_{VTs} = 7,15 \pm 3,54; U3_{PNVTs} = 33,80 \pm 6,24 μ L/min*; *p<0,05).

O clearance de inulina apresentou resultados opostos quando utilizamos veneno bruto ou a fração natriurética isolada deste no terceiro período de experimento, conforme pode ser visto na tabela 52/figura 72.

Em relação ao fluxo plasmático renal cortical, obtido através da determinação de p-aminohipurato (PAH) nas amostras, observou-se que somente o veneno total foi capaz de reduzir o fluxo plasmático renal (tabela 53/figura 73) ao final do experimento.

Tabela 50: Hematócrito inicial (Ht0) e final (Ht3) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs; 120 μ g/Kg) e Fração Natriurética isolada do veneno de *T. serrulatus* (PNVTs 0,4 μ g/Kg).

Hematócrito	Controle	VTs 120 μ g/Kg	PNVTs 0,4 μ g/Kg
Ht0	32,18 \pm 2,129	33,15 \pm 1,091	33,62 \pm 0,4571
Ht3	29,00 \pm 3,171	21,03 \pm 2,097*	26,70 \pm 0,9529*

Resultados expressos em Média \pm EPM. *p<0,05

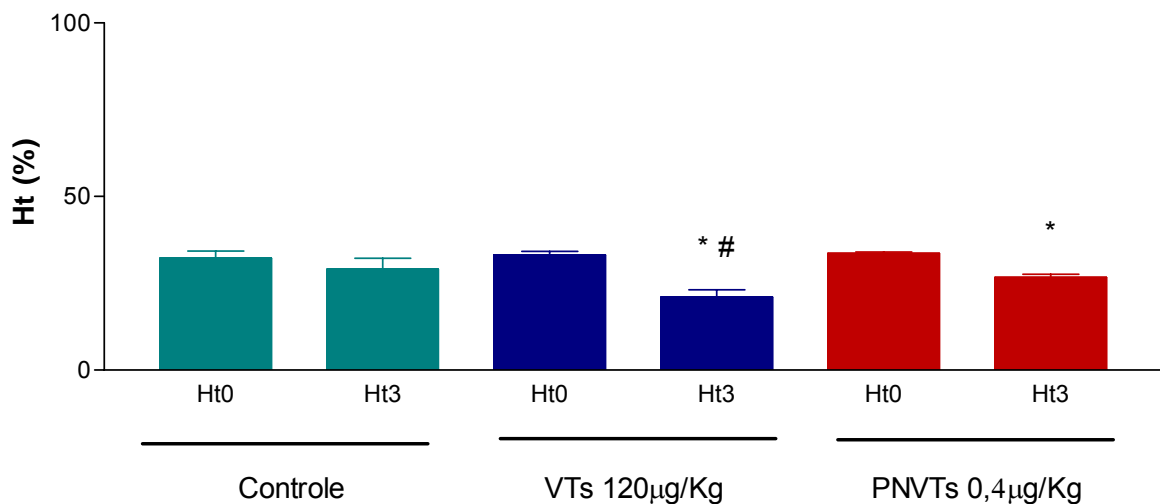


Figura 70: Hematócrito inicial (Ht0) e final (Ht3) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs; 120 μ g/Kg) e Fração Natriurética isolada do veneno de *T. serrulatus* (PNVTs 0,4 μ g/Kg). *p<0,05 em relação ao Ht0. #p<0,05 em relação ao Ht3 de PNVTs.

Tabela 51: Fluxo urinário ($\mu\text{L}/\text{min}$) dos primeiros 30 minutos (Urina 1), de 30-60 minutos (Urina 2) e de 60-90 minutos (Urina 3), nos grupos controle ($n = 6$) e tratados ($n = 6$) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs; $120\mu\text{g}/\text{Kg}$) e Fração Natriurética isolada do veneno de *T. serrulatus* (PNVTs $0,4\mu\text{g}/\text{Kg}$).

Volume ($\mu\text{L}/\text{min}$)	Controle	VTs $120\mu\text{g}/\text{Kg}$	PNVTs $0,4\mu\text{g}/\text{Kg}$
Urina 1	$12,30 \pm 1,828$	$7,167 \pm 3,248$	$11,20 \pm 4,466$
Urina 2	$10,65 \pm 1,756$	$6,630 \pm 3,765$	$18,90 \pm 4,297$
Urina 3	$8,900 \pm 1,865$	$7,150 \pm 3,546$	$33,80 \pm 6,238^*$

Resultados expressos em Média \pm EPM. * $p < 0,05$

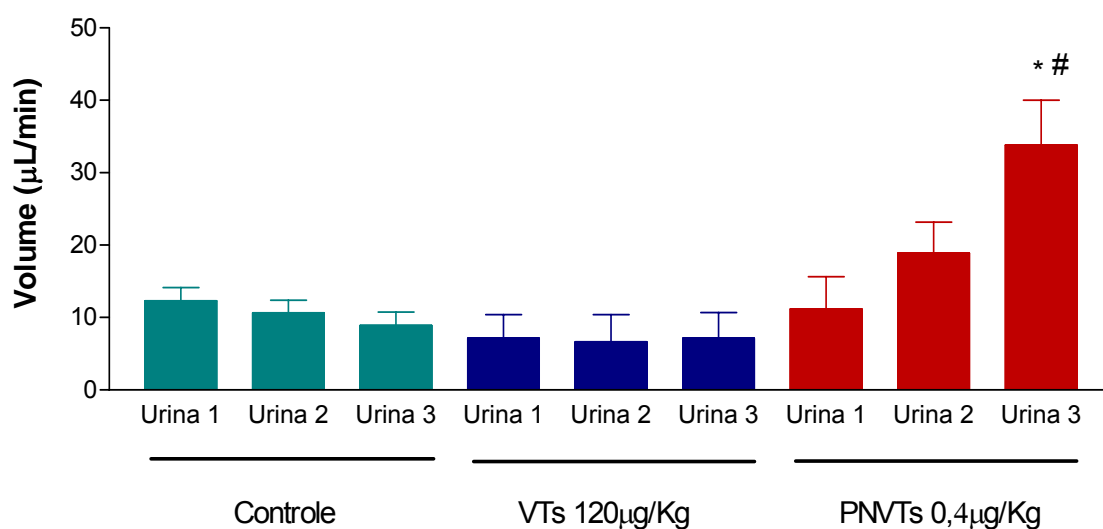


Figura 71: Fluxo urinário ($\mu\text{L}/\text{min}$) dos primeiros 30 minutos (Urina 1), de 30-60 minutos (Urina 2) e de 60-90 minutos (Urina 3), nos grupos controle ($n = 6$) e tratados ($n = 6$) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs; $120\mu\text{g}/\text{Kg}$) e Fração Natriurética isolada do veneno de *T. serrulatus* (PNVTs $0,4\mu\text{g}/\text{Kg}$). * $p < 0,05$ em relação a urina 1 do mesmo grupo. # $p < 0,05$ em relação a urina 3 de VTs.

Tabela 52: Clearance de inulina ($\mu\text{L}/\text{min}/100\text{g}$) dos primeiros 30 minutos (Urina 1), de 30-60 minutos (Urina 2) e de 60-90 minutos (Urina 3), nos grupos controle ($n = 6$) e tratados ($n = 6$) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs; $120\mu\text{g}/\text{Kg}$) e Fração Natriurética isolada do veneno de *T. serrulatus* (PNVTs $0,4\mu\text{g}/\text{Kg}$).

Clearance ($\mu\text{L}/\text{min}/100\text{g}$)	Controle	VTs $120\mu\text{g}/\text{Kg}$	PNVTs $0,4\mu\text{g}/\text{Kg}$
Urina 1	$1,2948 \pm 0,1586$	$1,344 \pm 0,280$	$1,5579 \pm 0,1269$
Urina 2	$1,2818 \pm 0,1508$	$1,484 \pm 0,560$	$1,4904 \pm 0,1512$
Urina 3	$1,2428 \pm 0,1872$	$0,476 \pm 0,196^*$	$1,5768 \pm 0,1134^*$

Resultados expressos em Média \pm EPM. * $p < 0,05$

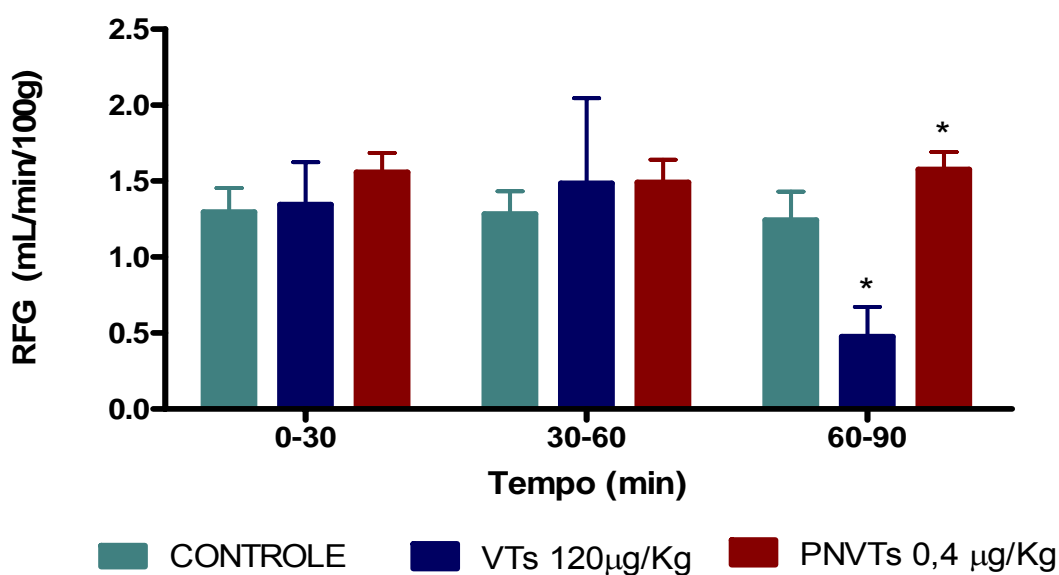


Figura 72: Clearance de inulina ($\mu\text{L}/\text{min}/100\text{g}$) dos primeiros 30 minutos (Urina 1), de 30-60 minutos (Urina 2) e de 60-90 minutos (Urina 3), nos grupos controle ($n = 6$) e tratados ($n = 6$) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs; $120\mu\text{g}/\text{Kg}$) e Fração Natriurética isolada do veneno de *T. serrulatus* (PNVTs $0,4\mu\text{g}/\text{Kg}$). * $p < 0,05$ em relação a urina 1 do mesmo grupo.

Tabela 53: Fluxo Plasmático Renal Cortical (FPRc; mL/min/100g) dos primeiros 30 minutos (30), de 30-60 minutos (60) e de 60-90 minutos (90), nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs; 120µg/Kg) e Fração Natriurética isolada do veneno de *T. serrulatus* (PNVTs 0,4µg/Kg).

FPRc (mL/min/100g)	Controle	VTs 120µg/Kg	PNVTs 0,4µg/Kg
30	4,98 ± 0,61	4,80 ± 1,00	5,77 ± 0,47
60	4,93 ± 0,58	5,30 ± 2,00	5,52 ± 0,56
90	4,72 ± 0,72	1,70 ± 0,70*	5,84 ± 0,42

Resultados expressos em Média ± EPM. *p<0,05

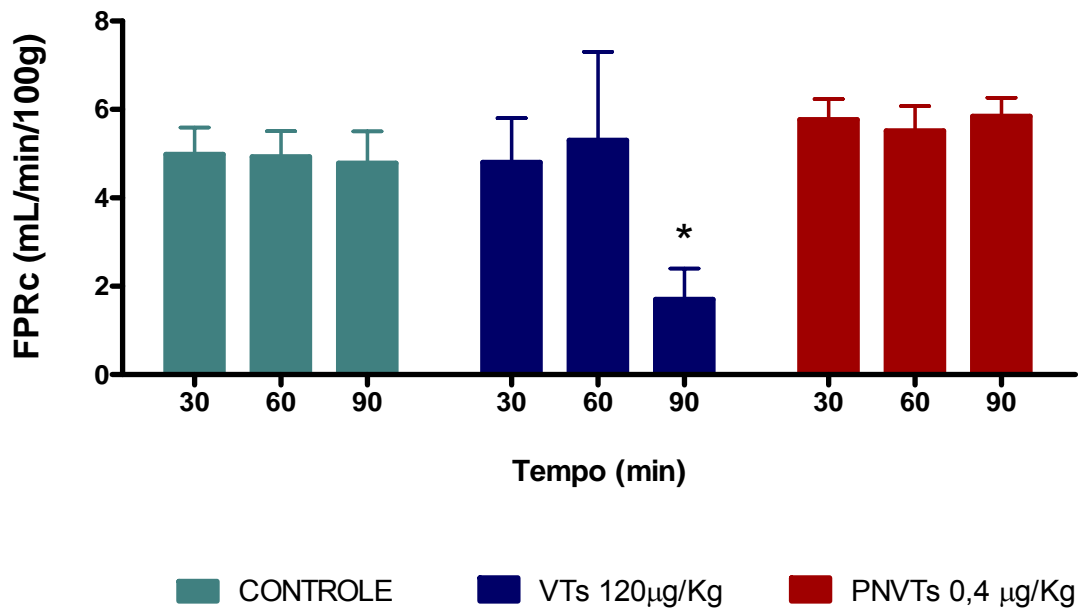


Figura 73: Fluxo Plasmático Renal Cortical (FPRc; mL/min/100g) dos primeiros 30 minutos (30), de 30-60 minutos (60) e de 60-90 minutos (90), nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs; 120µg/Kg) e Fração Natriurética isolada do veneno de *T. serrulatus* (PNVTs 0,4µg/Kg). *p<0,05 em relação ao controle no mesmo período (90).

DISCUSSÃO

Se o seu problema tem solução, então não há com o que se preocupar. E se o seu problema não tem solução, toda preocupação será em vão.

Provérbio tibetano

6 DISCUSSÃO

A ocorrência de acidentes escorpiônicos tem se elevado nos últimos anos, principalmente pela rápida proliferação destes animais e a ausência de predadores (LOURENÇO, 2008). No Brasil foram reportados mais de 30 mil casos de acidentes escorpiônicos em um intervalo de cinco anos, resultando em mais de cem mortes (CRUTTENDEN *et al.*, 2008 *in press*).

No nordeste, foram registrados mais de 21.022 acidentes em 2003 e taxa de incidência de 12 casos por 100 mil habitantes. Mesmo com baixa letalidade (0,2%) apresentado pelo veneno, crianças abaixo de 14 anos têm cerca de 3% a mais de risco de evoluir para óbito. Em 2003, foram registrados 48 óbitos, a quase totalidade em menores de 14 anos (GUIA DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA, 2005).

No Ceará, os dados atuais da secretaria de saúde relatam 663 acidentes escorpiônicos (648 na capital e 15 no interior) somente em 2005. Em 2006 este número chegou a 570 (450 na capital e 120 interior).

Diversos estudos têm sido conduzidos no intuito de descrever os efeitos cardiovasculares (CUPO e HERING, 2002; ZEGHAL *et al.*, 2000), renais (ALVES *et al.*, 2005), neuromusculares (D'SUZE *et al.*, 1995), respiratórios (DE MATOS *et al.*, 2001), pancreáticos (BECERRIL *et al.*, 1997), gastrointestinais (CUNHA-MELO *et al.*, 1991), sobre o sistema nervoso central (MESQUITA *et al.*, 2003; NENCIONE *et al.*, 2003), ações em canal deferente (CONCEIÇÃO *et al.*, 2005) e no período pós-natal (BARÃO *et al.*, 2008) induzidos pelos venenos escorpiônicos e suas toxinas.

Vítimas de acidente escorpiônico apresentam uma variedade de sintomas que envolvem o sistema nervoso central e suas divisões: simpática (taquicardia, hipertensão, sudorese e midríase) e parassimpática (bradicardia, hipotensão, aumento de secreções e miose), além de estímulos centrais com sintomas como irritabilidade, hipertermia, vômitos, tremores e convulsões e alterações renais (ANDRADE FILHO *et al.*, 2001; NUNAN *et al.*, 2003; ALVARENGA *et al.*, 2005; ALVES *et al.*, 2005).

O veneno bruto de *T. serrulatus* promoveu elevação transitória na pressão de perfusão e resistência vascular renal, além de diminuir o fluxo renal. Isto provavelmente ocorreu por ação vasoconstrictora direta, uma vez que o veneno é capaz de induzir vasoconstricção em leito vascular isolado (ALVES *et al.*, 2005).

Este aumento pressórico pode estar relacionado a ativação renal de α 1-adrenoreceptores, secundária a ativação de canais de sódio, reduzindo a velocidade ou bloqueando mecanismos de inativação (CATTERALL, 1986; COURAUD *et al.*, 1982). O aumento da atividade adrenérgica foi observado em músculo anococcígeno de ratos por Teixeira *et al.* (2003).

A pressão arterial renal pode variar de 80 a 200mmHg mantendo o fluxo sanguíneo renal constante. Somente com uma pressão abaixo de 80mmHg, o FSR diminui. Quando a pressão arterial renal aumenta, tanto o fluxo sanguíneo renal como o ritmo de filtração glomerular aumentam, provavelmente por ativação de receptores adrenérgicos (EATON e POOLER, 2008).

O rim tem uma densa inervação adrenérgica e as catecolaminas liberadas regulam a hemodinâmica renal predominantemente com vasoconstricção mediada por receptores α 1, geralmente mediada via proteína G (Gq). A ativação destes receptores aumenta a resistência vascular, afeta a redistribuição do fluxo sanguíneo cortical para regiões mais medulares e elevam a síntese de renina (AWE e ADEAGBO, 2007).

Tanto arteríolas aferentes quanto eferentes possuem inervação simpática que provoca vasoconstricção pela ativação de receptores α 1-adrenérgicos, entretanto, existem maior densidade de receptores nas arteríolas aferentes (STRASSER *et al.*, 1992).

Schwinn *et al.* (2004) encontraram aumento da expressão de RNAm para o subtipo α 1b no rim e que antagonistas de receptores α -adrenérgicos auxiliam no relaxamento e vasodilatação do músculo liso, podendo levar a alterações na função erétil. Experimentalmente, esses resultados ocorrem via receptor α 1d.

Entretanto, outros autores também sugerem a participação de receptores α_1a e α_1d (AWE e ADEAGBO, 2007), contribuindo para a resposta constritora em rins perfundidos. Ou seja, os três subtipos estariam implicados na vasoconstricção renal.

Consideramos que o veneno pode agir estimulando neurônios adrenérgicos e, conseqüentemente, produzir a vasoconstricção. Entretanto, o tempo do efeito vasopressor de VTs no leito vascular renal é extremamente efêmero (começo agudo e 5-10 min de duração). Isto pode representar inativação de canal iônico (i.e., canal de Na^+ neuronal voltagem-dependente) ou o fenômeno de escape vascular adrenérgico (FOLKOW *et al.*, 1964), em que o próprio tecido contraído libera substâncias vasoativas causando relaxamento.

Seguindo este raciocínio, utilizamos o bloqueio de receptores α -adrenérgicos 30 minutos antes da adição do veneno. Os efeitos gerados pelo veneno foram investigados na presença de prazosin, um inibidor para os três subtipos de receptores α_1 -adrenérgicos (SCHWINN *et al.*, 2004), utilizado inicialmente em uma concentração acima da utilizada com o veneno, para garantir total ocupação dos receptores renais.

Os resultados permitiram observar uma reversão completa dos efeitos vasculares induzidos pelo veneno sobre a pressão de perfusão e resistência vascular renal, quando os rins eram pré-tratados com o prazosin. O bloqueio também se mostrou efetivo em relação ao ritmo de filtração glomerular e transporte tubular de sódio. Entretanto, esta concentração do antagonista só reverteu os efeitos do veneno sobre o fluxo urinário (FU) aos 60 e 120 minutos, além de modificar, *per si*, o transporte de potássio e cloreto.

O ritmo de filtração glomerular foi determinado pelo clearance de inulina, um marcador glomerular que é livremente filtrado através dos capilares glomerulares, não reabsorvido ou secretado pelo túbulo renal e que não altera o ritmo de filtração glomerular (WINSTEN e DALAL, 1972).

O aumento do RFG resulta em maior aporte de soluto e água para a região da mácula densa e aparelho justaglomerular. Este responde à liberação aumentada secretando uma substância vasoativa que causa constrição nas arteríolas aferentes e, depois, reduz o fluxo sanguíneo renal e o ritmo de filtração glomerular aos níveis

normais, fenômeno conhecido como feedback túbulo-glomerular (EATON e POOLER, 2008).

Entretanto, esse efeito de feedback não foi observado em nossos experimentos, pois o veneno leva a uma diminuição significativa do RFG e FU no modelo de rim isolado. Isto se correlaciona com os achados clínicos de envenenamentos severos onde há diminuição da função renal com elevação de uréia e creatinina séricas (NUNAN *et al.*, 2003).

Em relação a excreção de eletrólitos podemos observar que o veneno age de forma irregular, mas com potente natriurese e diurese pressórica, além de diminuir a excreção de potássio ao final do experimento. Estes efeitos foram completamente revertidos pelo prazosin.

Na tentativa de diminuir os efeitos observados com o prazosin sozinho, reduziu-se a concentração desta substância, utilizando concentrações semelhantes de prazosin e veneno bruto. Da mesma forma, ainda pudemos observar uma boa correlação dos efeitos, com bloqueio efetivo de PP e RVR, RFG e excreção de sódio e potássio. Entretanto, os efeitos sobre o FU foram ainda mais significativos, com aumento significativo da diurese.

A peçonha escorpionica é uma mistura complexa composta de muco insolúvel, mucopolissacarídeos, oligopeptídeos, nucleotídeos, moléculas de baixo peso molecular como serotonina ou histamina, inibidores de proteases, liberadores de histamina, aminoácidos, enzimas (hialuronidase), lípidos e diversas proteínas básicas de baixo peso molecular (neurotoxinas), que conferem as ações do veneno (POSSANI *et al.*, 1984; VASCONCELOS *et al.*, 2005).

Existem diversas evidências que as espécies do gênero *Tityus* têm muitos componentes, seqüências e funções similares. Por exemplo, a butantoxina, uma toxina com ação em canais de potássio, que está presente nos venenos de *T. serrulatus*, *T. bahiensis*, *T. stigmurus* e *T. trivittatus* (BATISTA *et al.*, 2007).

Já Becerril *et al.* (1996) mostrou que *T. bahiensis* e *T. stigmurus* produzem um homólogo funcional e antigenicamente semelhante ao *Tityus serrulatus*

(BORGES *et al.*, 2008). Isto justifica a presença de reatividade cruzada entre as espécies.

Entretanto, existe um grande polimorfismo antigênico entre o veneno de diferentes espécies, um anticorpo produzido contra uma toxina geralmente falha em reconhecer outra proteína no mesmo veneno ou em outro de outra espécie (ALVARENGA *et al.*, 2005). As maiores toxinas presentes no veneno de *T. serrulatus* são TsTx-1 também chamada Ts1 ou toxina γ (uma β -toxina, representando aproximadamente 16% do veneno) e TsTx-V, uma importante α -toxina bastante tóxica, mas que representa apenas 2% do veneno total (ALVARENGA *et al.*, 2005; DIEGO-GARCÍA *et al.*, 2005; VASCONCELOS *et al.*, 2005). A DL50 para essas frações foi de $76 \pm 9 \mu\text{g/kg}$ e $94 \pm 7 \mu\text{g/kg}$ i.v., respectivamente (VASCONCELOS *et al.*, 2005).

Variações intra-específicas em populações isoladas por barreiras geográficas podem apresentar implicações médicas importantes (BORGES e ROJAS-RUNJAC, 2007). No veneno de *Tityus serrulatus* há um sinergismo de ação entre as α e β toxinas, bem como toxinas que agem em canais de potássio (butantoxina; TsTX α e Tsk) que, em conjunto, levariam a letalidade do acidente escorpiônico (DIEGO-GARCÍA *et al.*, 2005).

O veneno bruto de *T. serrulatus*, e as toxinas purificadas deste, evocam uma complexidade de efeitos sobre canais de sódio, culminando em maciça liberação de neurotransmissores diretamente relacionados à instabilidade clínica observada em envenenamentos severos (DIEGO-GARCÍA *et al.*, 2005).

Estudando as duas principais frações constituintes do veneno foi possível verificar que o efeito renal do veneno se deve a soma das duas frações, pois enquanto a fração γ (Tsg) seria a principal responsável pelos efeitos vasculares de pressão de perfusão e resistência vascular, a TsTx-V estaria mais relacionada ao fluxo urinário e diminuição do transporte de eletrólitos. As toxinas presentes no veneno, ao ativarem canais de sódio, liberam quantidades maciças de catecolaminas responsáveis pelos efeitos. Em nossos experimentos, a toxina γ mostrou-se mais eficaz em alterar os parâmetros funcionais renais que TsTx-V.

Esses resultados também podem ser resultado de interações das toxinas isoladas com o sistema adrenérgico, entretanto, o bloqueio dos efeitos com a antagonista α -adrenérgico não foi realizado.

Em relação aos resultados das alterações histopatológicas foi possível identificar apenas depósito de material protéico nos rins perfundidos com VTs e suas frações, sem alterações morfológicas significativas. Isto demonstra que a ação renal de forma aguda estaria levando às alterações hemodinâmicas, responsáveis pelos efeitos, contudo sem alterações estruturais.

Semelhantes aos nossos resultados, a análise histopatológica em ratas prenhes (10 dias) expostas a altas doses de VTs não mostrou alterações renais importantes. As amostras de rim apresentaram normalidade em relação aos glomérulos, vasos, túbulos e interstício (CRUTTENDEN *et al.*, 2008 *in press*).

Embora o antagonista adrenérgico tenha sido hábil no bloqueio dos efeitos pressóricos do veneno, não foi capaz de inibir a formação destes depósitos. Isto pode ter ocorrido, pois a infusão somente de prazosin em baixa concentração induz discreta deposição de material protéico, que pode ter contribuído de forma sinérgica a ação do veneno. Os rins perfundidos com altas concentrações do antagonista também apresentaram material protéico mesmo sem ação do prazosin sozinho. Isto pode ter sido causado por “peptídeos formadores de poros” presentes no veneno que desestabilizariam a membrana basal glomerular e contribuiriam para o extravasamento protéico (VERDONCK *et al.*, 2000; DAÍ *et al.*, 2002).

Entretanto, Pessini e colaboradores (2003) demonstraram que o veneno de *Tityus serrulatus* e a TsTX, mostraram congestão hepática com hemólise e degeneração hidrópica, edema pulmonar, hipertrofia de fibras com degeneração em áreas do coração, além de congestão e hemorragia renal, efeitos não observados em nosso modelo mesmo em concentrações elevadas do veneno (ALVES *et al.*, 2005).

Por outro lado, a fração natriurética isolada de VTs mostrou-se capaz de induzir aumento tanto dos efeitos vasculares (PP, RVR, RFG), quanto de excreção/reabsorção (FU e diminuição do transporte de sódio, potássio e cloreto) de

forma concentração e tempo dependente, causando alterações mais pronunciadas aos 120 minutos.

Os peptídeos natriuréticos isolados de veneno teriam a estrutura e as ações semelhantes à dos peptídeos natriuréticos endógenos e seus efeitos biológicos seriam mediados por ligações dos peptídeos com receptores de membrana específicos (ESPINER *et al.*, 1995). Já foram isolados receptores específicos dos peptídeos natriuréticos em vários tecidos, incluindo o coração, árvore vascular, rins, adrenais, pulmões e áreas específicas do sistema nervoso central (ESPINER, 1994).

As alterações observadas com o peptídeo isolado do veneno de *T. Serrulatus* podem, então, estar relacionadas aos receptores natriuréticos presentes no rim ou de outros sistemas envolvidos, como o sistema purinérgico.

A ativação renal do receptor A_1 -R na arteríola aferente resulta em vasoconstrição que reduz a taxa de filtração glomerular e fluxo sanguíneo renal, além de mediar o feedback tubuloglomerular (MODLINGER & WELCH, 2003). A infusão de antagonistas A_1 -R não seletivos na vasculatura renal causa diurese e natriurese, o que demonstra a importância destes receptores na reabsorção de água e sódio (WELCH, 2002).

Pode-se, então, sugerir a inativação de receptores de adenosina (A_1) em rins tratados com a fração natriurética isolada do veneno. A inativação desses receptores leva a uma ação natriurética por diminuição da reabsorção de sódio proximal (BAK e THOMSEN, 2004). Entretanto, seriam necessários testes com agonistas desses receptores para garantir a participação dessa via na ação observada em nossos experimentos.

Fazem parte da família de peptídeos endógenos, o peptídeo atrial (PNA), cerebral (PNB) e a urodilatina, um peptídeo natriurético secretado pelo rim e que atua na regulação renal de sódio e água. De modo semelhante ao PNA, a urodilatina induz vasodilatação aferente e vasoconstrição eferente, elevando o ritmo de filtração glomerular. Os receptores para os peptídeos renais podem sofrer *up-regulation* ou *down-regulation* e com isso modular os efeitos desses peptídeos (LUSS *et al.*, 2008).

Este peptídeo renal age sobre receptores na superfície das células tubulares e inibe a reabsorção tubular distal de sódio. Este efeito ocorre via GMPc liberado (LEE e BURNETT JR., 2007) e eleva a diurese. Doses de até 20 ng/kg/min de urodilatina sintética foram capazes de diminuir significativamente o transporte, mas com pouca alteração sobre a pressão sanguínea (CARSTENS *et al.*, 2007).

Em nossos resultados observamos claramente o aumento da concentração de GMPc nas urinas de rins perfundidos com o peptídeo natriurético isolado, o que pode ter contribuído para a ação natriurética do peptídeo. Esse efeito variou com o tempo e com a concentração do peptídeo utilizada.

Nos rins, uma infusão de PNA (peptídeo natriurético atrial) induz a natriurese e diurese, acompanhada de aumentos de fosfato, cálcio, magnésio, cloreto, e excreção de GMPc (BRENNER *et al.*, 1990).

Estudos *in vitro* sugerem que os níveis extracelulares de GMPc controlam o transporte de Na⁺ nas células tubulares inibindo a reabsorção renal de sódio via ação direta no túbulo renal. Entretanto, esse efeito *in vivo* ainda não está completamente esclarecido. Alguns estudos sugerem a ligação do GMPc na membrana basolateral renal e, com isso, medeia o transporte de sódio pela membrana (AHMED *et al.*, 2007).

O GMPc é um nucleotídeo cíclico que atua em uma grande variedade de processos fisiológicos. Sua ação sobre a reabsorção de sódio ocorre via proteína quinase G (PKG), independentemente de alterações na hemodinâmica renal. O GMPc, então, atuaria no túbulo proximal diminuindo a reabsorção de sódio por inibir a bomba Na-K-ATPase e o transporte Na-H, levando a natriurese *in vivo* (JIN *et al.*, 2004).

Sasaki *et al.* (2004) relatam que o GMPc é produzido por ação do NO sobre a guanilato ciclase solúvel. A enzima óxido nítrico sintase (NOS) está localizada nas células da mácula densa e arteríolas glomerulares e é induzida após estímulo específico. A hipóxia mostra-se hábil na síntese de NO em células tubulares proximais de rato.

Essa produção de NO levaria a natriurese pressórica, um termo usado para descrever a relação fisiológica entre o aumento da pressão arterial e a excreção de sódio. Os mediadores envolvidos ainda são desconhecidos, no entanto, diversos estudos sugerem que a geração de óxido nítrico (NO) pode ser um importante componente desse efeito (AHMED *et al.*, 2007).

A formação de GMPc também resulta em diminuição dos níveis de cálcio intracelular e, conseqüentemente, ao relaxamento do músculo liso vascular. Quando isso ocorre no corpo cavernoso leva a ereção peniana (TEIXEIRA *et al.*, 2004). Diversos estudos epidemiológicos têm reportado a ocorrência de priapismo como um dos sintomas do envenenamento escorpiônico (BAWASKAR, 1982).

Em relação a outras ações do veneno, pôde-se observar que o efeito vasoconstrictor direto induzido por VTs também ocorre no leito vascular mesentérico. Alternativamente, este efeito poderia ser secundário ao bloqueio de canais de potássio que conduzem a despolarização do músculo liso vascular e contração. Por exemplo, vários "peptídeos curtos" (30-40 resíduos de aminoácidos) presentes no veneno apresentam especificidade para diferentes tipos de canais de potássio e poderiam estar implicados na ação vasoconstrictora (TYTGAT *et al.*, 1999).

O músculo liso nas paredes das arteríolas é tonicamente ativo (sempre contraído) e extremamente inervado por fibras nervosas adrenérgicas simpáticas. Os receptores α -adrenérgicos são encontrados nas arteríolas de vários leitos vasculares (pele e vasculatura esplâncnica) e, quando ativados, esses receptores causam contração ou constricção do músculo liso vascular. Isto produz uma diminuição no diâmetro da arteríola aumentando sua resistência ao fluxo de sangue (COSTANZO, 2004).

As frações do veneno novamente mostraram-se dicotômicas em relação ao efeito em leito vascular, com a toxina γ sendo a única com ação nesse sistema. Neste efeito, entretanto, não houve dano celular, pois o leito continuou responsivo a fenilefrina e, quando associamos o α -bloqueador e o veneno, não houve sinergismo da ação.

Nossos resultados em leito vascular mesentérico mostram que a contração máxima, com a infusão de toxina γ chegou a aproximadamente 40% da contração

induzida por fenilefrina nesse órgão, enquanto a TsTx-V não apresentou efeito pressórico neste modelo. Novamente esses achados corroboram com nossos experimentos, uma vez que, na perfusão de rim isolado, somente a toxina γ eleva a pressão (mesmo de forma transitória), efeito anteriormente observado com o veneno total por Alves *et al.* (2005).

Pessini *et al.* (2006) também observaram vasoconstricção de leito vascular local em ratos tratados com 150 $\mu\text{g}/\text{kg}$, i.p., de veneno entre 0,5 e 1,5 hora após a administração. Uma vez que a regulação do fluxo sanguíneo é controlada pelo sistema simpático, o veneno estimulou a vasoconstricção dos vasos cutâneos da cauda, diminuiu a dissipação de calor e gerou hipertermia.

Os efeitos de diversos venenos escorpionicos sobre a transmissão noradrenérgica/nitrérgica no músculo anococcígeno isolado de rato revelou que venenos medeiam seus efeitos farmacológicos pré-sinápticos através de um mecanismo que envolve a ativação de canais de sódio voltagem-dependentes, com conseqüente liberação de neurotransmissores, responsáveis pelas respostas dos órgãos-alvo (MATTHEW *et al.*, 2002).

O músculo anococcígeno é uma excelente preparação mioneural para investigar os efeitos de agentes bioativos sobre o sistema nitrérgico noradrenérgico, bem como determinar as ações diretas pós-sinápticas desses agentes e também a participação de receptores α -adrenérgicos colinérgicos muscarínicos (M3). Apesar de muitos estudos que têm documentado efeitos do veneno e toxinas de escorpião por seus efeitos pré-sinápticos, um mecanismo que leva à marcada libertação de vários neurotransmissores autonômicos, exceções a este fenômeno podem ser aceitas (MATTHEW *et al.*, 2002).

A ação do veneno de *Tityus serrulatus* também foi investigada, neste trabalho, quanto a ativação do sistema autonômico, utilizando canal deferente de camundongos. Os resultados revelaram contração significativa do tecido (em curva cumulativa) quando adicionadas concentrações micromolares do veneno. O efeito do veneno foi bloqueado com a adição de tetrodotoxina (TTX).

A tetrodotoxina é um potente bloqueador que exclui a entrada de sódio pelos canais e é amplamente estudada como uma ferramenta para apoiar a origem

neurogênica em resposta a um estímulo elétrico ou pela presença de veneno escorpionico ou suas frações (TEIXEIRA *et al.*, 2004).

Os canais deferentes apresentam rica inervação simpática e adenosina trifosfato (ATP) como principal mecanismo neuro-efetor na co-transmissão de noradrenalina. O estímulo do tecido resulta em respostas mediadas pela ativação de receptores purinérgicos pelo ATP e ativação de receptores α -adrenérgicos pela noradrenalina. A resposta neurogênica é bifásica e consiste na ativação rápida e na manutenção da contração. A primeira fase é mediada principalmente pelo ATP enquanto a segunda fase é mediada principalmente pela noradrenalina. O pré-tratamento deste órgão com 6-hidroxidopamina, um agente específico na inativação de nervos adrenérgicos, leva a ausência das duas fases da contração neurogênica (FEDAN e BESSE, 1980).

Em diferentes tecidos inervados pelo sistema nervoso autônomo como leito vascular e canal deferente, existem evidências da coexistência de noradrenalina e ATP no mesmo terminal, mas ainda não é claro se estão estocados na mesma vesícula. Alguns trabalhos sugerem que estes neurotransmissores são armazenados em vesículas diferentes e liberados por mecanismos distintos (CONCEIÇÃO *et al.*, 2005; NASCIMENTO JR *et al.*, 2005).

Evidências da liberação diferenciada podem ser sugeridas através da utilização de drogas que modulam a neuro-transmissão. Drogas como a angiotensina II, agonistas ou antagonistas de receptores adrenérgicos e baixas dose de tetrodotoxina afetam a liberação de noradrenalina de forma bem mais evidente que a liberação de ATP nos canais deferentes e alguns outros músculos lisos vasculares. Por outro lado, prostaglandina E2 e atrotoxina são drogas que liberam modulam preferencialmente a liberação do ATP. O estímulo elétrico também influencia na liberação, pois a resposta a estímulos de baixa frequência é primariamente mediada pelo ATP e, em alta frequência, também pela participação adrenérgica (CONCEIÇÃO *et al.*, 2005). A possibilidade de que agonistas simpatomiméticos presentes no veneno interajam com outros sítios também não pode ser excluída (BURT *et al.*, 1988).

Os receptores $\alpha 1a$ são os responsáveis pela contração dos canais deferentes de rato, entretanto o subtipo dos vasos prostáticos ainda não foi completamente caracterizado. Estes receptores estão acoplados aos receptores da proteína G que levam a ativação de fosfolipase C (PLC), que leva a produção de trifosfatidil inositol (IP3) e diacilglicerol (DAG). IP3 mobiliza os estoques intracelulares de cálcio enquanto o DAG estimula a proteína quinase C (PKC).

A contração de canal deferente utilizando toxina γ (150nM) chegou $84,4 \pm 10,4\%$ da contração máxima induzida por $BaCl_2$ (CONCEIÇÃO *et al.*, 2005). Entretanto, a contração máxima foi observada em 1-2 minutos após a administração da toxina, decaído rapidamente logo em seguida (CONCEIÇÃO *et al.*, 2005). Em nossos experimentos esta contração chegou a aproximadamente $260 \pm 87\%$ com a utilização de $3\mu g$ do veneno bruto de *T. serrulatus*.

A participação purinérgica nos efeitos do veneno de *T. serrulatus* foi comprovada com a diminuição do efeito quando o canal deferente foi pré-tratado com suramim (bloqueador de receptores purinérgicos) (CONCEIÇÃO *et al.*, 2005). Nestes experimentos, ao contrário de Vasconcelos *et al.* (2005) não foram vistos aumentos significativos na liberação de noradrenalina, sugerindo a liberação seletiva de purinas por essa toxina.

A contração encontrada em canal deferente de camundongo com a utilização de altas concentrações do veneno de *Tityus serrulatus* pode ter sido devida a ativação de receptores $\alpha 1$ -adrenérgicos (subtipo $\alpha 1a$), principais mediadores neste órgão. Estes receptores estão acoplados a proteína Gq e atuam por ativação de fosfolipase C.

Clemente *et al.* (2002) também evidenciaram a ação do veneno sobre o sistema nervoso autônomo por sua ação sobre glândulas salivares, levando ao aumento da salivação e secreção enzimática (amilase salivar). Esses efeitos foram antagonizados por atropina, propranolol e prazosin, demonstrando realmente a participação adrenérgica e sugerindo a co-transmissão noradrenalina/ATP.

Os efeitos de TsTx-I também foram estudados em tecidos inervados pelo sistema nervoso autônomo e atribuídos a liberação de neurotransmissores de sítios pré-sinápticos (CONCEIÇÃO *et al.*, 2005). Outra toxina presente no veneno (uma α -

toxina conhecida como Ts3) também teve sua ação comprovada nesse sistema pelo bloqueio dos efeitos quando utilizado um inibidor da guanilato ciclase solúvel – ODQ (TEIXEIRA *et al.*, 2003).

Todos os escorpiões são conhecidos por seus efeitos hipertensivos em animais experimentais e crianças, a exceção daqueles com altas concentrações de histamina e baixa letalidade. Esses efeitos hipertensivos são considerados o fator responsável pelo desenvolvimento de falência cardíaca e edema pulmonar induzidos pelo veneno (VASCONCELOS *et al.*, 2005).

As toxinas presentes no veneno são capazes de alterar a pressão arterial média (PAM) e liberação de catecolaminas em ratos. Os ensaios realizados por Vasconcelos e colaboradores (2005), utilizando 100 µg/kg de VTs dissolvidos em 0,5mL de salina 0,9% e administrado através da artéria jugular após 15 minutos de estabilização e realizando monitoramento da pressão por 90 minutos, demonstraram importante elevação da pressão arterial causado pela infusão do veneno e também de suas frações (30 µg/kg de cada fração). O aumento da pressão arterial foi mais pronunciado com o veneno total (cerca de 12 vezes mais que o basal) e Toxina γ (elevação de 6 vezes), enquanto a TsTx-V apresentou aumento de aproximadamente 3 vezes aos 30 minutos, mas evoluiu para queda da pressão arterial ao final dos 90 minutos.

Esses achados corroboram com nossos resultados na pressão de perfusão de rim isolado, onde a fração gama (toxina γ) foi a mais efetiva.

Baseados nesses achados nos propomos a investigar as alterações induzidas pela infusão do veneno bruto e o peptídeo natriurético isolado (VTs e PNVTs, respectivamente) nos animais *in vivo*, observando as variações causadas pela infusão sobre a pressão arterial média (PAM), frequência cardíaca e função renal, com avaliação do clearance de inulina e p-aminohipurato (PAH).

O veneno bruto de *T.serrulatus* causou elevação significativa na PAM, diminuição do hematócrito (efeito não esperado) e hipofunção renal, com diminuição do clearance de inulina e do fluxo plasmático renal cortical, estimado pelo clearance de PAH.

O peptídeo de 3KDa isolado do veneno escorpiônico apresenta características semelhantes aos peptídeos natriuréticos isolados de outros venenos, embora seu seqüenciamento ainda não tenha sido completamente estabelecido. As ações deste peptídeo em concentrações nanomolares no rim revelam potente natriurese, mas ainda com efeitos pressóricos positivos significativos. Isto pode estar relacionado a alguma diferença estrutural neste peptídeo, que mesmo induzindo diurese/natriurese ainda exerce seus efeitos em células endoteliais, levando ao aumento da pressão.

Este efeito pressórico pode ser semelhante ao dos peptídeos endógenos. As ações do PNA e do PNB na pressão sanguínea são muitas vezes mal compreendidas. Apesar de ser conhecidos como hormônios vasodilatadores, essa ação não é predominante em animais normais *in vivo*. Apenas em altas doses de infusão dos peptídeos ou em casos de falência cardíaca (WOODS, 2004).

Em humanos normotensos e animais experimentais, uma dose alta e única de PNA causa pequena e sustentada queda na pressão arterial média e pequeno aumento da taxa cardíaca (RICHARDS *et al.*, 1985). Esse efeito é provavelmente devido à ação direta no tônus vascular (vasorrelaxamento), também observado durante infusões intra-arteriais locais diretas do hormônio (BOLLI, 1987).

Nossos achados demonstram, entretanto, que a infusão contínua de peptídeo isolado do veneno de *Tityus serrulatus* eleva a pressão arterial média e diminui o hematócrito, seguindo os efeitos do veneno bruto, mas de maneira menos intensa. Talvez isso tenha ocorrido pela intensa diurese gerada pelo peptídeo, diminuindo a volemia e contribuindo para um aumento reduzido da PAM.

O efeito na diurese induzido pelo PNVTs parece ser semelhante ao do peptídeo endógeno que causa aumento da pressão hidrostática glomerular devido a dilatação das arteríolas aferentes e vasoconstrição das eferentes, causando aumento do ritmo de filtração glomerular e fluxo urinário (CARSTENS *et al.*, 1998; LEE e BURNETT JR., 2007).

As alterações induzidas pelo veneno bruto e fração natriurética do veneno *in vivo* podem reforçar os achados experimentais com rim isolado, pois houve elevação

da pressão em ambos os casos, embora bem mais significativo com a infusão do veneno bruto.

O veneno e suas toxinas induziram marcado aumento sobre a pressão arterial média de ratos, que pode ter sido acompanhada de uma intensa liberação de catecolaminas, semelhante ao que acontece no envenenamento por *Leiurus quinquestriatus* (GUERON e SOFER, 1990).

Entretanto, já foram isolados do veneno, pequenos peptídeos com ação hipotensora (VERANO-BRAGA *et al.*, 2008) e que vêm sendo recentemente estudados na busca por uma nova classe de drogas para o tratamento da hipertensão arterial.

Esses peptídeos têm entre 2600 e 2800 Da, são dependentes de endotélio, atenuados na presença de L-NAME e não alteram a pressão média em ratos normotensos. Também não alteram a enzima conversora de angiotensina ou atuam como antagonistas de angiotensina II (VERANO-BRAGA *et al.*, 2008).

As toxinas presentes no veneno, ao ativarem canais de sódio, liberam quantidades maciças de catecolaminas, entretanto, a toxina γ mostrou-se mais eficaz na elevação da PAM que TsTx-V. Então, é possível que a toxicidade de TsTx-V não seja devida a liberação de catecolaminas e que, possivelmente, acetilcolina pode estar envolvida na toxicidade desta fração. A hipotensão final observada por Vasconcelos *et al.* (2005), apesar dos elevados níveis de catecolaminas circulantes, corrobora com este achado e sugere a participação de cininas e/ou prostaglandinas neste efeito.

Outra explicação para a diferença de ação das frações seria a diferença estrutural dos canais de sódio em diferentes inervações, como constatado em músculo retrator peniano por Bomfim *et al.* (2005).

Apesar de sua alta toxicidade, TsTx-V mostrou menor efeito pressórico sobre PAM (VASCONCELOS *et al.*, 2005), semelhante aos efeitos pressóricos verificados no rim isolado.

Outro fator importante em relação a PAM é que esta sofre influência do anestésico utilizado. Ratos tratados com toxina γ (112 $\mu\text{g}/\text{kg}$ i.v.) apresentaram um pico hipertensivo seguido de hipotensão quando anestesiados com uretano (Sampaio *et al.*, 1991) ou pentobarbital sódico (ANDRADE *et al.*, 2004). Estes resultados não foram reproduzidos por Vasconcelos *et al.* (2005), que utilizou tribromoetanol, possivelmente pela infusão de maiores concentrações do veneno e pelo anestésico utilizado.

Outros anestésicos que podem interferir na determinação da PAM são barbitúricos, uretano, halotano, ciclopropano, ketamina e hidroclorados, pois interferem ou inibem o estímulo simpático/adrenal (GROUZMANN *et al.*, 2003).

Semelhante aos nossos resultados, experimentos anteriores também verificaram uma intensa oscilação da pressão após administração de VTs, indicando espasmos vasculares (VASCONCELOS *et al.*, 2005), provavelmente por oscilação do tônus simpático e parassimpático.

Outro achado interessante foi o aumento da frequência cardíaca induzido pela infusão do peptídeo natriurético. Segundo Janssen *et al.* (1989) a infusão de doses muito baixas de PNA apresentaram aumento de excreção de sódio e elevação da frequência cardíaca. Entretanto, os autores relatam a diminuição da pressão arterial, que não foi observada em nossos experimentos.

A disfunção renal e a falência cardíaca dependem de múltiplos fatores (FONAROW e HEYWOOD, 2006). Um desses fatores é a redução do fluxo sanguíneo renal, conseqüente a uma alteração da hemodinâmica (LUSS *et al.*, 2008). Esse efeito pode ser observado quando avaliamos a diminuição do fluxo plasmático renal cortical visto com a infusão do veneno bruto. Este pode ser implicado como uma das causas de falência renal observada em acidentes escorpionicos severos.

Nos animais infundidos com o veneno bruto o clearance de inulina foi substancialmente diminuído no último período de experimento, mostrando a influencia do veneno na fisiologia renal. Esses achados se equivalem àqueles obtidos no sistema de rim isolado em que há uma elevação transitória do fluxo urinário, mas que é diminuído significativamente ao final do experimento.

Coelho *et al.* (2007) observaram 100% de letalidade quando administrado VTS (22 µg/kg) aproximadamente 33 minutos após a administração. Em nossos experimentos conseguimos infundir uma concentração total de 120 µg/kg sem morte dos animais durante os experimentos. No entanto, um dos animais apresentou sérias dificuldades respiratórias ao final do experimento. Isso talvez tenha ocorrido, pois os pulmões acumulam altos níveis de veneno e parecem ser especialmente sensíveis a ele, levando ao envolvimento respiratório de acidentes graves (CRUTTENDEN *et al.*, 2008 *in press*).

A administração i.v. de VTs aumenta a permeabilidade vascular (COELHO *et al.*, 2007). O mesmo ocorre por efeitos dos peptídeos endógenos, causando o extravasamento vascular com conseqüente elevação do hematócrito e concentração protéica no plasma (PIECHOTA *et al.*, 2008).

No entanto, ao contrário de relatos da literatura, os ensaios hemodinâmicos demonstraram diminuição do hematócrito em ambos os grupos (VTs e PNVTs), embora mais efetivo no grupo tratado com o veneno total. É possível que isso ocorra devido a uma ação hemolítica do veneno, que não foi estudada.

Outros escorpiões já demonstram a presença de peptídeos com atividade hemolítica, antibacteriana e antifúngica, provavelmente por ação “formadora de poros” (MOERMAN *et al.*, 2002).

Embora a interação entre esses peptídeos formadores de poros e as membranas biológicas seja intensamente estudada, ela não foi completamente compreendida. Diferentes modelos descrevem essa ação como uma desestabilização de estruturas de membrana e interações com a sinalização intracelular, como ativação de proteína G, já foram descritas em diferentes tipos celulares (MOERMAN *et al.*, 2002).

Os estudos de filtração glomerular com o clearance de PAH (para-amino hipurato de sódio), um excelente marcador de fluxo sanguíneo renal (AMARO *et al.*, 1997), têm sugerido evidências de toxicidade tubular, apesar de que este efeito poderia ser igualmente o resultado de um reajuste das taxas de reabsorção e secreção. Isto poderia ter ocorrido em resposta a alteração da pressão de filtração e

fluxo sanguíneo renal causado pelo aumento da resistência vascular renal induzido pelo veneno de *Tityus serrulatus*.

Além disso, nossos resultados demonstram aumento no clearance renal de inulina, induzido pela fração. Isso poderia explicar o aumento menos significativo da pressão arterial média, pois mesmo a fração apresentando atividade hipertensora, o mecanismo de excreção de água e eletrólitos associado contrabalança esse efeito, levando a um aumento menos intenso da PAM nesses animais. Esses resultados corroboram os achados da perfusão de rim isolado, quando PNVTs eleva significativamente o RFG aos 90 e 120 minutos.

Estas ações sistêmicas podem, também, estar associadas à liberação de outros mediadores endógenos, como mediadores inflamatórios. A liberação de mediadores inflamatórios vasoativos por células mesangiais também pode contribuir para os efeitos do veneno. Por exemplo, Barraviera *et al.* (1995), confirmaram que em pacientes envenenados, podem haver liberação de prostaglandinas, citocinas (IL-1 α ; IL-1 β ; IL-6), bradicinina, frações de complemento e fator ativador de plaquetas (PAF) (COELHO *et al.*, 2007; PETRICEVICH *et al.*, 2007; BARÃO *et al.*, 2008; CRUTTENDEN *et al.*, 2008 *in press*).

Entretanto, devemos salientar que o veneno bruto de *T. serrulatus*, assim como as toxinas purificadas deste, evocam uma complexidade de efeitos sobre canais de sódio voltagem dependentes, culminando em maciça liberação de neurotransmissores diretamente relacionados à instabilidade clínica observada em envenenamentos severos. Com isso, esses canais tornam-se importantes alvos para a ação de toxinas animais como anêmonas, moluscos, escorpiões, aranhas e peixes (OLIVEIRA *et al.*, 2004).

Desta forma, os efeitos induzidos pelo veneno de *Tityus serrulatus* parecem envolver a liberação maciça de catecolaminas, que ocorreria em resposta a modulação dos canais de sódio, com efeitos adrenérgicos intensos. Entretanto, o estudo da participação de outros sistemas como nitrérgico e purinérgico auxiliaria na compreensão da complexidade dos efeitos observados no acidente escorpiônico severo.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Sê breve em teus raciocínios, que a ninguém agrada ser longo.

Miguel de Cervantes

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

- O veneno de *Tityus serrulatus* induziu alterações vasculares renais que foram plenamente revertidas pelo bloqueador de receptores α -adrenérgicos, prazosin.
- O bloqueio dos efeitos sobre o fluxo urinário e o ritmo de filtração glomerular mostrou-se heterogêneo, podendo ser explicado pela inervação adrenérgica diferenciada em arteríolas aferentes e eferentes renais.
- Os efeitos sobre o transporte tubular, transporte proximal e excreção de eletrólitos induzidos pelo veneno mostraram reversão heterogênea quando associado o antagonista adrenérgico.
- O efeito do veneno total sobre o rim pode ser atribuído as duas principais frações que o constituem, pois as frações toxina γ e TsTx-V isoladas do veneno de *Tityus serrulatus* foram capazes de induzir alterações renais, sendo a toxina γ a principal responsável pelos efeitos vasculares e a TsTx-V associada as ações de secreção/reabsorção.
- A fração natriurética do veneno também ocasionou alterações significativas na função renal, com elevação da resistência vascular, pressão de perfusão, ritmo de filtração, fluxo urinário e, principalmente, transporte de eletrólitos, demonstrando-se um potente agente natriurético e caliurético, mesmo em concentrações micromolares.
- Os resultados histopatológicos renais demonstraram depósito de material protéico nos espaços urinários e túbulos renais pelas frações do veneno de *T. serrulatus* e estes depósitos não foram revertidos quando os órgãos foram pré-tratados com prazosin.
- A Toxina γ promoveu aumento significativo da pressão de perfusão do leito vascular mesentérico demonstrando uma ação vasoconstrictora. Entretanto, este mesmo efeito não foi observado quando a perfusão foi realizada com a fração TsTx-V.

- A ação sobre o canal deferente de camundongo confirma a ação do veneno sobre o sistema nervoso autônomo. Entretanto, esse efeito só ocorre com a administração de concentrações mais altas do veneno.
- Os efeitos sobre a pressão arterial demonstraram que tanto o veneno bruto quanto o peptídeo natriurético isolado elevam a pressão arterial média, provavelmente pela liberação maciça de neurotransmissores.
- O volume urinário foi significativamente elevado com a perfusão da fração natriurética isolada de *Tityus serrulatus in vivo*.
- Os experimentos *in vivo* revelaram ainda aumento da frequência cardíaca do grupo infundido com o peptídeo natriurético isolado.
- O fluxo plasmático renal cortical foi alterado com a infusão do veneno total, corroborando com a diminuição da função renal presente nos acidentes escorpiônicos.
- O clearance renal foi significativa e inversamente alterado nos grupos perfundidos com veneno bruto e peptídeo natriurético isolado, pois o veneno causou diminuição, enquanto o peptídeo causou elevação significativa do clearance de inulina. Isto demonstra a ação diferenciada do peptídeo presente no veneno e que não é observado no efeito do veneno total, provavelmente, por estar mascarado por outros componentes presentes.

CONCLUSÕES

Contra fatos não há argumentos.

Adágio Popular

8 CONCLUSÕES

Em conclusão, pode-se observar que os efeitos induzidos pelo veneno de *T. serrulatus* foram antagonizados pelo prazosin, confirmando as especulações de ação direta em receptores α -adrenérgicos e que as ações da peçonha se dão por um somatório das frações constituintes, sendo a toxina γ a principal responsável pelos efeitos vasculares e a TsTx-V associada as ações de secreção/reabsorção.

As alterações na perfusão *in vivo* melhoram a compreensão dos efeitos, permitindo a verificação de alterações sistêmicas decorrentes, provavelmente, pela ação direta dos peptídeos presentes no veneno, bem como a liberação de fatores endógenos em resposta a essas alterações.

Por fim, os estudos do veneno e suas frações em diferentes sistemas propiciam um maior conhecimento da fisiologia das alterações e pode levar a descoberta de importantes ferramentas farmacológicas em componentes presentes no veneno.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Quem, voltando a fazer o caminho velho aprende o novo, pode considerar-se um mestre.

Confúcio

9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AFIF, E. U.; AL-KHALIL, S.; AQEL, M.; AL-MUHTESEB, M. H.; JAGHABIR, M.; SAKET, M.; MUHEID, A. (1990). Antagonist effect of *Eryngium creticum* extract on scorpion venom in vitor. ***Journal of Ethnopharmacology*** 29: 43-9.
- AHMED, F.; KEMP, B. A.; HOWELL, N. L.; SIRAGY, H. M.; CAREY, R. M. (2007). Extracellular Renal Guanosine Cyclic 3'5'-Monophosphate Modulates Nitric Oxide_ and Pressure-Induced Natriuresis ***Hypertension*** 50:958-963.
- ALBUQUERQUE, I. C. S.; ALBUQUERQUE, H. N.; ALBUQUERQUE, E. F.; (2004). Escorpionismo em Campina Grande-PB. ***Revista de Biologia e Ciências da Terra***, 4 (1).
- ALVARENGA, L. M.; MACHADO DE ALIVIA, R. A.; AMIM, P. R.; MARTINS, M. S.; KALAPOTHAKIS, E.; LIMA, M. E.; SANTOS, R. G.; GRANIER, C.; CHÁVEZ-OLÓRTEGUI, C. (2005). Molecular characterization of a neutralizing murine monoclonal antibody against *Tityus serrulatus* scorpion venom. ***Toxicon*** 46: 664-71.
- ALVES, R. S.; NASCIMENTO, N. R. F.; BARBOSA, P. S. F.; KERNTOPF, M. R.; LESSA, L. M. A.; SOUSA, C. M.; MARTINS, R. D.; SOUSA, D. F.; QUEIROZ, M. G. R.; TOYAMA, M. H.; FONTELES, M. C.; MARTINS, A. M. C.; MONTEIRO, H. S. A. (2005). Renal Effects and Vascular Reactivity induced by *Tityus serrulatus* venom. ***Toxicon*** 46(3):271-276.
- ALVES, R. S.; MARTINS, R. D.; SOUSA, D. F.; ALVES, C. D.; BARBOSA, P. S. F.; QUEIROZ, M. G. R.; MARTINS, A. M. C.; MONTEIRO, H. S. A. (2007). Aspectos epidemiológicos dos acidentes escorpiônicos no estado do Ceará no período de 2003 a 2004. ***Revista Eletrônica Pesquisa Médica***. Vol.1(3).
- ALVING, A. S.; MILLER, B. F. (1940). A practical method for measurement of glomerular filtration rate (inulin clearance) with an elevation of clinical significance of this determination. ***Arch. Intern. Med.*** 66:306.
- AMARO, C. R. P. R.; PADOVANI, C. R.; GONTIJO, J. A. R.; FIGUEIREDO, J. F. (1997). Avaliação da função tubular proximal utilizando o clearance de lítio no tratamento pela ciclosporina A em ratos. ***Jornal Brasileiro de Nefrologia*** 19(4): 369-75.
- ANDRADE, M. V.; CARAMAZ, M. P. R.; ABREU, E. M. N. N.; DOLNIKOFF, M. OMAR, E. D.; VELASCO, I. T.; CUNHA-MELO, J. R. (2004). Lung compliance, plasma electrolyte levels and acid-base balance are affected by scorpion envenomation in anesthetized rats under mechanical ventilation. ***Comp. Biochem. Physiol. C, Pharmacol. Toxicol.*** 138: 97-104.
- ANDRADE FILHO, A.; DIAS, M. B.; CAMPOLINA, D.; GUERRA, S. D. (2001). Escorpionismo, In: Andrade Filho, A.; Campolina, D.; Dias, M. B. (eds) – ***Toxicologia na Prática Clínica***. Folium; Belo Horizonte, p. 155-166.

ARANTES, E. C.; Sampaio, S. V.; Vieira, C. A.; Giglio, J. R. (1992). What is tityustoxin? **Toxicon** 30:786-789.

ARANTES, E. C.; RICCIOPPO NETO, F.; SAMPAIO, S. V.; VIEIRA, C. A.; GIGLIO, J. R. (1994). Isolation and characterization of TsTX-V, a new neurotoxin from *Tityus serrulatus* scorpion venom which delays the inactivation of Na⁺ channels. **Biochim Biophys Acta**. 5;1199(1):69-75.

ASANO, M. E.; ARNUND, R. M.; LOPES, F. O. B.; PARDAL, J. S. O.; PARDAL, P. P. O. (1996). Estudo clínico e epidemiológico de 12 acidentes por escorpiões atendidos no Hospital Universitário João de Barros Barreto Belém-Pará, no período de 1992-1995. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** 29 (supl. 1): 243.

ASHMAN, D. F.; LIPTON, R.; MELICOW, M. M.; PRICE, T. D. (1963). Isolation of adenosine 3', 5'-monophosphate and guanosine 3', 5'-monophosphate from rat urine. **Biochem Biophys Res Commun**. 22;11:330-4

AWE, S. O.; ADEAGBO, S. O. (2007). Vascular α_1 -adrenoreceptors in isolated perfused rat kidney: influence of ageing. **Autonomic e Autacoig Pharmacology** 27: 19-26.

AZEVEDO MARQUES, M. M. (1994). Animais peçonhentos de importância médica no Brasil. Diagnóstico e condutas nos acidentes por escorpiões e abelhas. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 27(supl. IV): 683-688.

BAK, M.; THOMSEN, K. (2004). Effects of the adenosine A₁ receptor inhibitor FK 838 on proximal tubular fluid output in rats. **Nephrology Dialysis Transplantation** 19: 1077-82.

BARÃO, A. A. S.; BELLOT, R. G.; DORCE, V. A. C. (2008). Developmental effects of *Tityus serrulatus* scorpion venom on the rat offspring. **Brain Research Bulletin** 76: 499-504.

BARBOSA, A. M.; DO AMARAL, R. O.; TEIXEIRA, C. F.; HYSLOP, S.; COGO, J.C. (2003). Pharmacological characterization of mouse hind paw oedema induced by *Bothrops insularis* (jararaca ilhoa) snake venom. **Toxicon**. 42(5):515-23.

BARRAVIERA, B.; LOMONTE, B., TARKOWIKI, A.; HANSON, L. A.; MEIRA, D. A. (1995). Acute phase reactions, including cytokines, in patients bitten by *Bothrops* spp and *Crotalus durissus terrificus* in Brazil. **J. Venom. Anim. Toxins**. 1:11-22.

BATISTA, C. V. F.; POZO, L.; ZAMUDIO, F. Z.; CONTRERAS, S.; BECERRIL, B.; WANKE, E. (2004). Proteomics of the venom from the Amazonian scorpion *Tityus cambridgei* and the role of prolines on mass spectrometry analysis of toxins. **Journal of Chromatography B** 803: 55-66.

BATISTA, C. V. F.; ROMÁN-GONZÁLEZ, S. A.; SALAS-CASTILLO, S. P.; ZAMUDIO, F.Z.; GÓMEZ-LAGUNAS, F.; POSSANI, L. D. (2007). Proteomic analysis of the venom from the scorpion *Tityus stigmurus*: Biochemical and physiological

comparison with other *Tityus* species. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Part C, 146: 147-57.

BAWASKAR, H. S. (1982). Diagnostic cardiac premonitory signs and symptoms of red sting. **Lancet** 1: 552-4.

BECERRIL, B.; CORONA, M.; MEJÍA, M. C.; MARTIN, B. M.; LUCAS, S.; BOLIVAR, F.; POSSANI, L. D. (1993). The genomic encoding toxin gamma from the scorpion *Tityus serrulatus* contains an intron. **Federation of European Biochemical Societies** 335(1): 6-8.

BECERRIL B., CORONA M., CORONAS F.I.V., ZAMUDIO F., CALDERON ARANDA E.S., FLETCHER P.L., MARTIN B.M., POSSANI L.D. (1996). **Biochemical Journal**, Part 3, 313:753-760.

BECERRIL B, MARANGONI S., POSSANI L.D. (1997). Toxins and genes isolated from scorpions of the genus *Tityus*. **Toxicon** 35:821-835.

BENOIT, E. (1998). Mechanism of action of neurotoxins acting on the inactivation of voltage-gated sodium channels. **C R Seances Soc Biol Fil.** 192(3):409-36.

BERTAZZI, T. D.; ASSIS-PANDOCHI, A. I.; AZZOLINI, A. E. C. S.; TALHAFERRO, V. L.; LAZZARINI, M.; ARANTES, E. C. (2003). Effect of *tityus serrulatus* scorpion venom and its major toxin, TsTX-I, on the complement system in vivo. **Toxicon** 41(4): 501-508.

BLONDEL, J. (1976). Stratégies démographiques et successions écologiques. **Bull. Soc. Zool. France** 101:695-718.

BOLLI, P.; MÜLLER, F. B.; LINDER, L.; RAINE, A. E.; RESINK, T. J.; ERNE, P.; KIOWSKI, W.; RITZ, R.; BÜHLER, F. R. (1987). The vasodilator potency of atrial natriuretic peptide in man. **Circulation**. 75(1):221-8.

BOMFIM, J. H. G. G.; GODOY, M. A. F.; GIGLIO, J. R.; DE OLIVEIRA, A. M.; ARANTES, E. C. (2005). Effects induced by *Tityus serrulatus* scorpion venom and its toxins TsTX-I and TsTX-V on the rat isolated retractor penis muscle. **Pharmacology** 73: 190-8.

BORGES, A.; DE SOUSA, L.; MANZANILLA, J. (2006). Description of a new *Tityus* species (Scorpiones: Buthidae) from Sierra de Portuguesa, western Venezuela, based on morphological and mitochondrial DNA evidence. **Zootaxa** 1107: 49-68.

BORGES, A.; ROJAS-RUNJAIC, F. J. M. (2007). *Tityus perijanensis* González-Sponga (Scorpiones, Buthidae): molecular assessment of its geographical distribution and venom lethality of Venezuelan populations. **Toxicon** 50: 1005-10.

BORGES, A.; DE SOUSA, L.; ESPINOZA, J.; SANTOS, R. G.; KALAPOTHAKIS, E.; VALADARES, D.; CHÁVEZ-OLÓRTEGUI, C. (2008). Characterization of *Tityus* scorpion venoms using synaptosome binding assays and reactivity towards Venezuelan and Brazilian Antivenoms. **Toxicon** 51: 66-79.

BRASIL. IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística/Ceará (2000). **Dados populacionais da cidade de Fortaleza, Ceará**. Rio de Janeiro.

BRATTON, A. C.; MARSHALL, E. K. (1939). A new coupling component for sulfonamide determination. **J. Biol. Chem.** 128:537.

BRENNER, B. M.; BALLERMANN, B. J. ; GUNNING, M. E. ; ZEIDEL, M. L. (1990). Diverse biological actions of atrial natriuretic peptide. **Physiol. Rev.** 3:665-699.

BUCARETCHI, F.; BARACAT, E. C.; NOGUEIRA, R. J.; CHAVES, A.; ZAMBRONE, F. A.; FONSECA, M. R.; TOURINHO, F.S. (1995). A comparative study of severe scorpion envenomation in children caused by *Tityus bahiensis* and *Tityus serrulatus*. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 37(4):331-6.

BÜCHERL, W. (1968). Brazilian scorpions and spiders: I. Biology of scorpions and effects of their venoms. II. The poisonous and aggressive spiders of the genus *Phoneutria* Perty 1833. **Revista Brasileira de Pesquisas Médicas e Biológicas**, 1:181-190.

BÜCHERL, W. (1971). Classification, biology and venom extraction of scorpions. In: *Venomous Animals and their Venoms. Venomous Invertebrates*, vol. III:317-347. New York: Academic Press.

BURT, R. P.; CHAPPLE, C.R. e MARSHALL, I (1988). α 1A-Adrenoceptor mediated contraction of rat prostatic vas deferens and the involvement of ryanodine stores and Ca^{2+} influx stimulated by diacylglycerol and PKC. **British Journal of Pharmacology** 123, 317-325.

CANDIDO, D. M. (1999). Escorpiões. In: Joly C. A., Bicudo C.E.M. (eds). **Biodiversidade do Estado de São Paulo**, Fundação de amparo à pesquisa do Estado de São Paulo, São Paulo, p. 25-34.

CARSTENS, J.; GREISEN, J.; JENSEN, K. T.; VILSTRUP, H.; PEDERSEN, E. B. (1998). Renal effects of a urodilatin infusion in patients with liver cirrhosis, with and without ascites. **Journal of the American Society of Nephrology** 9: 1489-98.

CARTENS, J.; GRØNBÆK, H.; LARSEN, H. K.; PEDERSEN, E. B.; VILSTRUP, H. (2007). Effects of urodilatin on natriuresis in cirrhosis patients with sodium retention. **BMC Gastroenterology** 7(1): 1-9.

CARVALHO, F.F., NENCIONI, A.L., LEBRUN, I., SANDOVAL, M.R., DORCE, V.A. (1998) Behavioral, Electroencephalographic, And Histopathologic Effects Of A Neuropeptide Isolated From *Tityus Serrulatus* Scorpion Venom In Rats. **Pharmacol Biochem Behav.** 60(1):7-14.

CATTERALL, W. A. (1986). Molecular properties of voltage-sensitive sodium channels. **Annu. Rev. Biochem.** 55, 953-985.

CECCHINI, A. L.; VASCONCELOS, F.; AMARA, S. G.; GIGLIO, J. R.; ARANTES, E. C. (2006). Effects of *Tityus serrulatus* scorpion venom and its toxin TsTX-V on neurotransmitter uptake *in vitro*. ***Toxicology and Applied Pharmacology*** 217: 196-203.

CESTELE, S.; CATTERALL, W. A. (2000). Molecular mechanisms of neurotoxin action on voltage-gated sodium channels. ***Biochemie*** 82:883-892.

CHAVÉS-OLÓRTEGUI, C.; FONSECA, S. C. G.; CAMPOLINA, D.; AMARAL, C. F. S.; DINIZ, C. R. (1994). ELISA for the detection of toxic antigens in experimental and clinical envenoming by *Tityus serrulatus* scorpion venom. ***Toxicon*** 32(12):1649-1656.

CHARLOUX, A.; PIQUARD, F.; DOUTRELEAU, S.; ET AL. (2003). Mechanisms of renal hyporesponsiveness to ANP in heart failure. ***Eur. J. Clin. Invest.*** 33: 769-78.

CLEMENTE, G. T.; ROSSONI, R. B.; SAFE, J. M. M.; FREIRE-MAIA, L. (1999). Effects of crude venom, tityustoxin and toxin Ts- γ from *Tityus serrulatus* scorpion on secretion and structure of the rat submandibular gland. ***Arch. Oral. Biol.*** 44:103-110.

CLEMENTE, G. T.; TEIXEIRA, M. M.; FREIRE-MAIA, L.; ROSSONI, R. B. (2002). Mechanisms underlying the structural alterations of the rat submandibular gland induced by *Tityus serrulatus* tityustoxin. ***Toxicon*** 40: 731-8.

COELHO, F. M.; PESSINI, A. C.; COELHO, A. M.; PINHO, V. S.; SOUZA, D. G.; ARANTES, E. C.; TEIXEIRA, M. M.; TEIXEIRA, A. L. (2007) Platelet activating factor receptors drive CXC chemokine production, neutrophil influx and edema formation in the lungs of mice injected with *Tityus serrulatus* venom. ***Toxicon*** 50: 420-27.

CONCEIÇÃO, I.M., JURKIEWICZ, A.; FONSECA, D.R.; OPPERMAN, A. R.; FREITAS, T.A.; LEBRUN, I e GARCEZ-DO-CARMO, L. (2005). Selective release of ATP from sympathetic nerves of rat vas deferens by the toxin TsTX-I from Brazilian scorpion *Tityus serrulatus*. ***British Journal of Pharmacology*** 144, 519–527.

CORRÊA, M.M.; SAMPAIO, S.V.; LOPES, R.A.; MANCUSO, L.C.; CUNHA, O.A.B.; FRANCO, J.J.; GIGLIO, J.R. (1997). Biochemical and histopathological alterations induced in rats by *Tityus serrulatus* scorpion venom and its major neurotoxin tityustoxin-I. ***Toxicon*** 35(7): 1053-1067.

CORZO, G.; ESCOUBAS, P.; VILLEGAS, E.; BARNHAM, K.J.; HE, W.; NORTON, R.S.; NAKAJIMA, T. (2001). Characterization of unique amphipathic antimicrobial peptides from venom of the scorpion *Pandinus imperator*. ***Biochem. J.*** 359, 35-45.

COSTANZO, L.S. (2004). ***Fisiologia***. Rio de Janeiro: Elsevier. 2 ed. p. 223-284.

COURAUD, F.; JOVER, E.; DUBOIS, J.M.; ROCHAT, H. (1982). Two types of scorpion receptor sites, one related to the activation the other to the inactivation of the action potential sodium channel. ***Toxicon*** 20, 9-16.

CRUTTENDEN, K.; NENCIONI, A. L. A.; BERNARDI, M. M.; DORCE, V. A. C. (2008). Reproductive toxic effects of *Tityus serrulatus* scorpion venom in rats. **Reproductive Toxicology** 25(4): 497-503.

CUNHA-MELO, J. R.; TOPPA, N. H.; MARTINS, P.; COLARES, C. N.; CASTRO, Y. S.; FREIRE-MAIA, L. (1991). Acute gastric mucosal injury induced by toxins from *Tityus serrulatus* scorpion venom: a novel experimental model in the rat. **Toxicon**. 29(11):1395-401.

CUPO P., AZEVEDO-MARQUES M.M., HERING S.E. (1992). Escorpionismo. In: Schvartsman S (ed) **Plantas venenosas e animais peçonhentos**. Sarvier, São Paulo, p. 216-227.

CUPO P, AZEVEDO-MARQUES M.M., HERING S.E. (1994). Escorpionismo. In: Barraviera B (ed) **Venenos animais**. Uma visão integrada. EPUC, Rio de Janeiro, p. 299-312.

CUPO P.; HERING S.E. (2002). Cardiac troponin I release after severe scorpion envenoming by *Tityus serrulatus*. **Toxicon** 40: 823-830.

DAI, L.; YASUDA, A.; NAOKI, H.; CORZO, G.; ANDRIANTSIFERANA, M.; NAKAJIMA, T. (2001). IsCT, a novel cytotoxic linear peptide from scorpion *Opisthacanthus madagascariensis*. **Biochem. Biophys. Res. Commun.** 286, 820-825.

DAI, L.; Corzo, G.; NAOKI, H.; ANDRIANTSIFERANA, M.; NAKAJIMA, T. (2002). Purification, structure-function analysis and molecular characterization of novel linear peptides from scorpion *Opisthacanthus madagascariensis*. **Biochem. Biophys. Res. Commun.** 293, 1514-1522.

DEBIN, J. A.; MAGGIO, J. E.; STRICHARTZ, G. R. (1993). Purification and characterization of chlorotoxin, a chloride channel ligand from the venom of the scorpion. **Am J Physiol.** Feb; 264:361-9.

DE BOLD AJ, BORENSTEIN HB, VERESS AT, SONNENBERG H. (1981). A rapid and potent natriuretic response to intravenous injection of atrial myocardial extract in rats. **Life Sci.** 28:89-94.

DE LIMA, M.E.; MARTIN-EAUCLAIRE, M.F. (1995). The toxins purified from *Tityus serrulatus* (Lutz e Mello) venom. **J. Toxicol. Toxin Rev.** 14(3): 457-481.

DE MATOS, I. M.; TALVANI, A.; ROCHA, O. O.; FREIRE-MAIA, L.; TEIXEIRA, M. M. (2001) Evidence for a role of mast cells in the lung edema induced by *Tityus serrulatus* venom in rats. **Toxicon**. 39(6):863-7.

DEVI, C.S.; REDDY, C.N.; DEVI, S.L.; SUBRAHMANYAM, Y.R.; BHATT, H.V., SUVARNAKUMARI, G.; MURTHY, D.P.; REDDY, C.R.R.M. (1970). Defibrination syndrome due to scorpion venom poisoning. **BMJ** 1: 345-347.

DIBONA GF. (1992). Sympathetic neural control of the kidney in hypertension. *Hypertension* 19(suppl 1):128-135.

DIEGO-GARCÍA, E.; BATISTA, C. V. F.; GARCÍA-GOMÉZ, B. I.; LUCAS, S.; CANDIDO, D. M.; GÓMEZ-LAGUNAS, F.; POSSANI, L. D. (2005). The Brazilian scorpion *Tityus serrulatus* Karsh: genes, peptides and function. *Toxicon* 45: 273-83.

DINIZ, C. R. (1978). Chemical and pharmacologic aspects of Titynae venoms. In: *Arthropod Venoms*. p. 379-394 (Bettini, S., Ed.). Berlin: Springer.

DOCHERTY, J. R. (1998). Subtypes of functional α_1 - and α_2 -adrenoreceptors. *Eur. J. Pharmacol.* 361: 01-15.

DOTSENKO O, CHACKATHAYIL J, PATEL JV, GILL PS, LIP GY. (2008). Candidate circulating biomarkers for the cardiovascular disease continuum. *Curr Pharm Des.*;14(24):2445-61.

D'SUZE, G.; SEVCIK, C.; RAMOS, M. (1995). Presence of curarizing polypeptide and pancreatitis-inducing fraction without muscarinic effects in the venom of the Venezuelan scorpions *Tityus discrepans* (Karsch). *Toxicon* 33:333-345.

D'SUZE, G.; MONCADA, S.; GONZALEZ, C.; SEVICIK, C.; AGUILAR, V.; ALAGON, A (2003). Relationship between plasmatic levels of various cytokines, tumour necrosis factor, enzymes, glucose and venom concentration following *Tityus* scorpion sting. *Toxicon* 41: 367-375.

EATON, D. C.; POOLER, J. P. (2008). Fisiologia Renal de Vander. Editora Artmed. Porto Alegre, 6 ed.

EICHELBAUM, E. J.; SUN, Y.; ALLI, A. A.; GOWER JR., W. R.; VESELY, D. L. (2008). Cardiac and kidney hormones cure up to 86% of human small-cell lung cancers in mice. *European Journal of Clinical Investigation* 38: 562-70.

EICKSTEDT, V. R. D. (1983/1984). Escorpionismo por *Tityus stigmurus* no nordeste do Brasil (scorpions; Buthidae). *Mem. Inst. Butantan* 47/48:133-137.

ELGAR, D. ; VERDONCK, F. ; GROBLER, A. ; FOURIE, C. ; DU PLESSIS, J. (2006). Ion selectivity of scorpion toxin-induced pores in cardiac myocytes. *Peptides*. 27(1):55-61.

ESPINER, E. A.; RICHARDS, A. M. (1989). Atrial natriuretic peptide. An important factor in sodium and blood pressure regulation. *Lancet*. 1;1(8640):707-10.

ESPINER, E.A. (1994). Minisymposium: the natriuretic peptides hormones. physiology of natriuretic peptides. *Journal of Internal Medicine*, Oxford, v. 235, n. 6, p. 527- 541.

ESPINER, E.A. (1995). Natriuretic hormones. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, Philadelphia, v. 24, n. 23, p. 481-509.

FAGUNDES, V. (2003). Veneno de escorpião “sob medida”. **Ciência Hoje**. Minas Gerais, vol. 33, n. 196. Seção biotecnologia. Disponível em: <www2.uol.com.Br/cienciahoje/chmais/pass/ch196/emdia.pdf>. Acesso em: abril 2004.

FARAES, E. A.; MARTINS, K. P.; ARAÚJO, L. M.; SAUMA FILHO, M. (2004). O universo das sociedades numa perspectiva relativa: exercícios de etnoastronomia. **Revista Latino-Americana de Educação em Astronomia** - RELEA, (1):77-85.

FEDAN, J.S. e BESSE, J.C. (1980). Distensibility and responsiveness of the rat seminal vesicle: effects of denervation and pretreatment of animals with 6-hydroxydopamine and reserpine. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, 214, 472–477.

FEDOROVA, O. V.; AGALAKOVA, N. I.; MORRELL, C. H.; LAKATTA, E. G.; BAGROV, A. Y. (2008). ANP differentially modulates marinobufagenin-induced sodium pump inhibition in kidney and aorta. **Hypertension** 48: 1160-8.

FERNANDEZ, J. H.; NESHICH, G.; CAMARGO, A. C. (2004). Using bradykinin-potentiating peptide structures to develop new antihypertensive drugs. **Genet. Mol. Res.** 3: 554-63.

FERREIRA, S. H.; BARTELT, D. C.; GREENE, L. J. (1970). Isolation of bradykinin-potentiating peptides from *Bothrops jararaca* venom. **Biochemistry** 9: 2583-93.

FERREIRA, L. A.; ALVES, E. W.; HENRIQUES, O. B. (1993). Peptide T, a novel bradykinin potentiator isolated from *Tityus serrulatus* scorpion venom. **Toxicon** 31: 941-7.

FERREIRA, L. A.; ALVES, W. E.; LUCAS, M. S.; HABERMEHL, G. G. (1996). Isolation and characterization of a bradykinin potentiating peptide (BPP-S) isolated from *Scaptocosa raptoria* venom. **Toxicon** 34: 599-603.

FERREIRA, L. A. F.; BERGAMASCO, M.; ANGNES, L. (1996). Measurement of bradykinin, protein, Na⁺, Cl⁻, K⁺, and Zn⁺⁺ concentrations in rat urine after intraperitoneal injection of *Tityus serrulatus* venom. **Journal of Venomous Animals and Toxins** 2(2).

FIGUEROA, S.V.; BARBOSA D. S. V. (1983). Acidentes por picada de escorpião na infância: uma experiência clínica. In: resumos do XXIII Congresso Brasileiro de Pediatria, Recife p.167.

FOLKOW, B., LEWIS, D.H., LUNDGREN, O., MELLANDER, S., WALLENTIN, I. (1964). The effect of the sympathetic vasoconstrictor fibres on the distribution of capillary blood flow in the intestine. **Acta Physiol Scand** 61:458-66.

FONAROW, G. C.; HEYWOOD, T. J. (2006). The confounding issue of comorbid renal insufficiency. **Am. J. Med.** 119: S17-25.

FONTELES, M.C. (1980). Efeitos do ácido 2-tetradecilglicídido no rim isolado: papel dos lipídios endógenos no transporte de sódio e função renal. Fortaleza. **Dissertação** (mestrado). Centro de Ciências da Saúde.

FONTELES, M.C., COHEN, J.J., BLACK, A.J. AND WERTHEIM, S.J. (1983). Support of renal kidney function by long-chain fatty acids derived from renal tissue. **Am. J. Physiol.** 244: 235-246.

FREIRE-MAIA, L. (1995). Peripheral effects of *Tityus serrulatus* scorpion venom. **J. Toxicol.**, 14:423-435.

FREIRE-MAIA, L.; CAMPOS, J. A. (1988). Pathophysiology and treatment of scorpion poisoning. Proceeding of the 9th World Congress on Animal, Plant and Microbial Toxins. Oklahoma.

FREIRE-MAIA, L., CAMPOS, J.A. (1989). Pathophysiology and treatment of scorpion poisoning. In: Ownby, C. L., Odell, G. V. (Eds.). Natural Toxins, Characterization, Pharmacology and Therapeutics, Proceedings of the 9th World Congress on Animal, Plant and Microbial Toxins. Stillwater. Oklahoma. **Pergamon Press**. Oxford. pp: 139-159.

FREIRE-MAIA, L.; CAMPOS, J. A.; AMARAL, C. F. (1994). Approaches to the treatment of scorpion envenoming. **Toxicon** 32:1009-1014.

FREIRE-MAIA, L., MATOS, M. (2003). Heparin or a PAF antagonist (BR-52021) prevents the acute pulmonary edema induced by *Tityus serrulatus* scorpion venom in the rat. **Toxicon** 31: 1207-1210.

FUKUHARA, Y.D.M.; DELLALIBERA-JOVILIANO, R.; CUNHA, F.Q.C.; REIS, M.L.; DONADI, E.A. (2004). The kinin system in the envenomation caused by the *Tityus serrulatus* scorpion sting. **Toxicology and Applied Pharmacology** 196: 390-395.

FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE. (1998). Manual de diagnóstico e tratamento de acidentes por animais peçonhentos. Gerencia Técnica da Coordenação e Comunicação, Educação e Documentação. Ministério da Saúde, Brasília.

FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE. (2001). Manual de diagnóstico e tratamento de acidentes por animais peçonhentos. Gerencia Técnica da Coordenação e Comunicação, Educação e Documentação. Ministério da Saúde, Brasília.

FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE. (2005). Manual de diagnóstico e tratamento de acidentes por animais peçonhentos. Gerencia Técnica da Coordenação e Comunicação, Educação e Documentação. Ministério da Saúde, Brasília.

GARFIELD, R. E. (1986). Structural studies of innervation on non-pregnant rat uterus. **Am. J. Physiol.** 251:41-54.

GARTHWAITE, J.; SOUTHAM, E.; BOULTON, C. L.; NIELSEN EB, SCHMIDT K, MAYER B. (1995). Potent and selective inhibition of nitric oxide-sensitive guanylyl

cyclase by 1H-[1,2,4] oxadiazolo [4,3-alquinoxalin-1-one]. *Mol. Pharmacol.* 48: 184-8.

GAUER OH, HENRY JP, SEIKER HO. (1956). Cardiac receptors and fluid volume control. *Prog Cardiovasc Dis* 1961; 4:1-26.3.

GOETZ, K. L. (1991). Renal natriuretic peptide (urodilatin?) and atriopeptin: evolving concepts. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 261: F921-32.

GOMEZ, M.V. e DINIZ, C.R. (1966) Separation Of Toxic Components From The Brazilian Scorpion -Tityus serrulatus Venom. *Mem. Inst. Butantan Simp. Internc.* 33:899-902.

GREENWAY, C.V.; SCOTT, G.D.; ZINK, J. (1976). Sites of autoregulatory escape of blood flow in the mesenteric vascular bed. *J Physiol.* 259(1):1-12.

GROUZMANN, E.; CAVADAS, C.; GRAND, D. S.; BRUNNER, H. R.; MAZZOLAI, L. (2003). Blood sampling methodology is crucial for precise measurement of plasma catecholamines concentrations in mice. *Arch.-Eur. J. Physiol.* 447: 254-8.

GUERON, M.; OVSYSHCHER, I. (1987). What is the treatment for the cardiovascular manifestations of scorpion envenomation? *Toxicon* 25:121-124.

GUERON, M.; SOFER, S. (1990). Vasodilators and calcium blocking agents as treatment of cardiovascular manifestations of human scorpion envenomation. *Toxicon* 28: 127-8.

GUIA BUTANTAN. Instituto Butantan. Escorpiões. Disponível em <<http://www.GuiaButantan.com.htm>> Acesso em 12 de junho de 2005.

GUIA DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA. (2005). Capítulo 5: Acidentes por animais peçonhentos. Programa Nacional de Controle de Acidentes por Animais Peçonhentos. Brasil.

GUIA DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA. (2004). Capítulo 5.1: Acidentes por animais peçonhentos. Programa Nacional de Controle de Acidentes por Animais Peçonhentos. Brasil.

HANSON, R.W., BALLARD, F.S. (1968). Citrate, pyruvate and lactate contaminants of commercial serum albumin. *J. Lipid Res.* 9: 667-668.

HAVT, A.; FONTELES, M. C.; MONTEIRO, H. S. A. (2001). The renal effects of *Bothrops jararacussu* venom and the role of PLA2 and PAF. *Toxicon* 39(12):1841-1846.

HENRY JP, GAUER OH, REEVES JL. (1956). Evidence of the atrial location of receptors influencing urine flow. *Circ Res*; 4:85-90.

HERING, E.S.; AZEVEDO-MARQUES, M.M.; CUPO P. (1997). *Tityus* (escorpião amarelo) In: Nicolella A, Barros E, Torres JB, Marques MG (eds) Acidentes com animais peçonhentos. Consulta rápida. Capítulo VII. 141-148.

HIRSCH, J. R.; MEYER M.; FORSSMANN, W. G. (2006). ANP and urodilatin: who is who in the kidney. *Eur. J. Med. Res.* 11: 447-54.

HUGHES, J; KOSTERLITZ, H. W.; LESLIE, F. M. (1975). Effect of morphine on adrenergic transmission in the mouse vas deferens. Assessment of agonist and antagonist potencies of narcotic analgesics. *Br. F. Pharmacol.* 53:371-381.

HUTT, M. J.; HOUGHTON, P. J. (1998). A survey from the literature of plants used to treat scorpion stings. *Journal of Ethnopharmacology* 60: 97-110.

ICHIKAWA, I.; MADDOX, D. A.; COGAN, M. C.; BRENNER, B. M. (1978). Dynamics of glomerular ultrafiltration in euvoletic Munich-Wistar rats. *Renal Physiol* 1:121-131.

ISMAIL, M.; KERTESZ, G.; OSMAN O. H.; SIDRA, M. S. (1974). Distribution of ¹²⁵I-labelled scorpion (*Leiurus quinquestriatus*) venom in rats tissues. *Toxicon* 12:209-211.

ISMAIL, M.; GUMMA, K. A.; OSMAN O. H.; EL-ASMAR, M. F. (1978). Effect of *Buthus minas* (L. Kock) scorpion venom on plasma and urinary electrolyte levels. *Toxicon* 16:392-395.

ISMAIL, M.; ABDULAH, M. E.; MORAD, A. M.; AGEEL, A. M. (1980). Pharmacokinetics of ¹²⁵I-labelled venom-from the scorpion *Androctonus amoreuxi*. *Toxicon* 18:301-308.

ISMAIL, M.; ELSALAM, A. (1988). Are the toxicological effects of scorpion envenomation related to tissue venom concentration? *Toxicon* 26: 233-236.

ISMAIL, M. (1995). The scorpion envenoming syndrome. *Toxicon* 33(7):825-58.

INSTITUTO BUTANTAN. Aranhas e Escorpiões. Série didática 4. São Paulo, SP s/d. Disponível em <<http://www.butantan.gov.br/materialdidatico/numero4/numero4.htm>> Acesso em 12 de junho de 2005.

JANSSEN, W. M.; DE ZEEUW, D.; VAN DER HEM, G. K.; DE JONG, P. E. (1989). Atrial natriuretic peptide-induced decreases in renal blood flow in man: implications for the natriuretic mechanism. *Clin Sci* (Lond). 77(1):55-60.

JIN, X-H.; MCGRATH, H. E.; GILDEA, J. J.; SIRAGY, H. M.; FELDER, R. A.; CAREY, R. M. (2004). Renal Interstitial Guanosine Cyclic 3', 5'-Monophosphate Mediates Pressure-Natriuresis Via Protein Kinase G. *Hypertension* 43:1133-1139.

JUHG, K.N., KOKATE, T.G., YAMAGUCHI, S., KIM, B.Y., ROGOWSKI, R.S., BLAUSTEIN, M.P. ROGAWSKI, M. A. (1999) Induction Of Seizures By The Potent K⁺

Channel-Blocking Scorpion Venom Peptide Toxins Tityustoxin-K(Alpha) And Pandinustoxin-K(Alpha). *Epilepsy Res.* 34:(2-3), 177-86.

JULIUS S. (1990). Changing role of the autonomic nervous system in human hypertension. *J Hypertens* 9 (suppl 7):S-59-65.

JURKIEWICZ A., JURKIEWICZ N.H. (1976) Dual Effect Of A-Adrenoceptor Antagonists In Rat Isolated Vas Deferens. *Br. J. Pharmac.* 56, 169-178.

KALAPOTHAKIS, E.; CHÁVEZ-OLERTIEGUI, C. (1997). Venom variability among several *Tityus serrulatus* specimens. *Toxicon* 35: 1523-1529.

KANGWA, K.; MATSUO, H. (1984). Purification and complete amino acid sequence of α -human atrial natriuretic polypeptide (α -hANP). *Biochemical and Biophysical Research Communications*, San Diego, v. 118, n. 1, p. 131-139.

KATO, H.; SUZUKI, T. (1971). Bradykinin-potentiating peptides from the venom of *Agkistrodon halys blomhoffi*. Isolation of five bradykinin potentiators and the amino acid sequences of two of them, potentiators B and C. *Biochemistry* 10: 972-80.

KHAIRALLAH, M.; KHAIRALLAH, R. J.; YOUNG, M. E.; ALLEN, B. G.; GILLIS, M. A.; DANIALOU, G.; DESCHEPPER, C. F.; PETROF, B. J.; DES ROSIERS, C. (2008). Sildenafil and cardiomyocyte-specific cGMP signaling prevent cardiomyopathic changes associated with dystrophin deficiency. *PNAS* 105(19): 7028-33.

KIRSCH, G. E.; SKATTEBOL, A.; POSSANI, L. D.; BROWN, A. M. (1989). Modification of Na channel gating by an alpha scorpion toxin from *Tityus serrulatus*. *J. Gen. Physiol.* 93:67-83.

KOLLER, K.J.; GOEDDEL, V.D. (1982). Molecular biology of the natriuretic peptides and their receptors. *Circulation*, Dallas, v. 86, n. 4, p. 1081-1088.

KOPEYAN, C.; MANSUELLE, P.; MARTIN-EUCLAIRE, M. F.; ROCHAT, H., MIRANDA, F. (1993). Characterization of toxin III of the scorpion *Leiurus quinquestriatus*: a new type of alpha-toxin highly toxic both to mammals and insects. *Nat. Toxins* 1:308-312.

KOPP UC, DIBONA GF. (1992). The neural control of renal function. In: *The Kidney: Physiology and pathophysiology*. Seldin DW, Giebisch G, eds. New York, NY: Raven Press:1157-1204.

KREIL, G. (1995). Hyaluronidases – a group of neglected enzymes. *Protein Sci.* 4(9), p. 1666-1669.

LANZER, D.; KONNO, K.; MARQUES-PORTO, R. ; VIEIRA PORTARO, F. C.; STÖCKLIN, R.; CAMARGO, A. C.; PIMENTA, D. C. (2004). Identification of Five new bradykinin potentiating peptides (BPPs) from Bothrops jararaca crude venom electrospray ionization tandem mass spectrometry after a two-step liquid chromatography. *Peptides* 25: 1085-1092.

LEE, C. Y. W.; BURNETT JR., J. C. (2007). Natriuretic peptides and therapeutic applications. **Heart Failure Reviews** 12(2): 131-42.

LEGROS, C.; OUGHUIDENI, R.; DARBON, H.; ROCHAT, H.; BOUGIS, P. E.; MARTIN-EUCLAIRE, M. F. (1996). Characterization of a new peptide from *Tityus serrulatus* scorpion venom which is a ligand of the apamin-binding site. **Federation of European Biochemical Societies Letters** 390: 81-4.

LIRA-DA-SILVA, R. M.; AMORIM, A. M.; BRAZIL, T. K. (2000). Envenenamento por *Tityus stigmurus* (Scorpiones; Buthidae) no Estado da Bahia, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 33(3):239-245, mai-jun.

LOMBERT, A.; LAZDUNSKI, M. (1984). Characterization, solubilization, affinity labeling and purification of the cardiac Na⁺ channel using *Tityus* toxin gamma. **Eur. of Biochem.** 141: 651-660.

LOURENÇO, R. W. (1981). Sur la systématique des scorpions appartenant au "complexe" *Tityus stigmurus* (Thorell, 1877) (Buthidae). **Revista Brasileira de Biologia** 41: 351-362.

LOURENÇO, R. W.; CUELLAR, O. (1995). Scorpions, scorpionism, life history strategies and parthenogenesis. **J. Venom. Anim. Toxins** 1(2):51-62.

LOURENÇO, R. W.; CLOUDSLEY-THOMPSON, J. L.; CUELLAR, O.; VON EICKSTEDT, V. R. D.; BARRAVIERA, B.; KNOX, M. B. (1996). The evolution of scorpionism in Brazil in recent years. **Journal of Venomous Animals and Toxins**, 2(2).

LOURENÇO, R. W.; CLOUDSLEY-THOMPSON, J. L. (1999). Discovery of a sexual population of *Tityus serrulatus*, one of the morphs within the complex *Tityus stigmurus* (Scorpiones, Buthidae). **The Journal of Arachnology** 27: 154-158.

LOURENÇO, W. R. (2008). Parthenogenesis in scorpions: Some history – new data. **J. Venom. Anim. Toxins Incl. Trop. Dis.** 14(1): 19-44.

LUCAS, S. (2003). O Laboratório de Artrópodes do Instituto Butantan e os aracnídeos peçonhentos, vol. 10, no. 3, Rio de Janeiro, Set./Dez. 2003. Disponível em **Scielo Brazil** <História, Ciências, Saúde-Manguinhos - The Butantan Institute's Arthropod Laboratory and poisonous arachnids > acesso em 11 de maio de 2004.

LUCAS, S. M.; SILVA JR, P. I. (1992). Escorpiões de interesse médico no Brasil. In: Schwartsman, S. **Plantas venenosas e animais peçonhentos**. Sarvier: São Paulo, p. 211-227.

LÜSS, H.; MITROVIC, V.; SEFEROVIC, P. M.; SIMEUNOVIC, D.; RISTIĆ, A. D.; MOISEYEV, V. S.; FORSSMANN, W.; HAMDY, A. M.; MEYER, M. (2008). Renal effects of ularitide in patients with decompensated heart failure. **American Heart Journal** 155(6) 1012e1-8.

LUTZ, A.; MELO C. O. (1922). Cinco novos escorpiões brasileiros dos gêneros *Tityus* e *Rhopalurus*. **A. Folha Méd.** 3:25-26.

MADDOX, D. A.; PRICE, D. C.; RECTOR JR, F. C. (1977). Effects of surgery on plasma volume and salt and water excretion in rats. **Am J Physiol** 233.

MAGALHÃES, O. (1945). O Escorpionismo. **Monografias do Instituto Oswaldo Cruz**. IV Memória.

MAGALHÃES, O.; TUPINAMBÁ A. (1938). Escorpionismo. **Brasil Médico**, 29:28-29.

MAGALHÃES, M. M.; PEREIRA, M. E. S.; AMARAL, C. F. S.; REZENDE, N. A.; CAMPOLINA, D.; BUCARETCHI, F.; GAZZINELLI, R. T.; CUNHA-MELLO, J. R. (1999). Serum levels of cytokines in patients envenomed by *Tityus serrulatus* scorpion sting. **Toxicon** 37:1155-1164.

MARANGONI, S., TOYAMA, M. H., ARANTES, E. C., GIGLIO, J. R., SILVA, C. A., CARNEIRO, E. M., GONÇALVES, A. A., OLIVEIRA, B. (1995). Amino Acid Sequence Of Tstx-V, An A-Toxin From *Tityus Serrulatus* Scorpion Venom And Its Effect On K⁺ Permeability Of B-Cells From Isolated Rats Islet Of Langerhans. **Biochim. Biophys. Acta**. 1243:309-314.

MARTINEZ-MALDONADO, M.; STAWROULAKI-TSAPARA, A.; TSAPARA, N.; SUKI, W.N.; EKNOYAN, G. (1978). Renal effects of Lithium administration in rats: alteration in water and electrolyte metabolism and the response to vasopressin and cyclic-adenosine monophosphate during prolonged administration. **J. Lab. Clin. Med.**, 80(3): 445-461.

MATTHEW, C. E.; GWEE, SELVANAYAGAM NIRTHANAN, HOON-ENG KHOO, PONNAMPALAM GOPALAKRISHNAKONE, R MANJUNATHA KINI E LI-SAM CHEAH (2002). Autonomic effects of some scorpion venoms and toxins. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology** 29(9):795-801.

MATTHIENSEN, F.A. (1971). The breeding of *T. serrulatus* Lutz e Mello, 1922 in captivity (Scorpiones, Buthidae). **Revista Brasileira de Pesquisas Médicas e Biológicas** 4:299-300.

MATTHIENSEN, F.A. (1988). Os escorpiões e suas relações com o homem: uma revisão. **Ciência e cultura** 40: 299-300.

MAURANO, H. R. (1915). *Do escorpionismo*. **Tese de doutoramento**, Rio de Janeiro. Faculdade de Medicina do Rio de Janeiro, pp. 1- 267.

McGRATH, M. F.; DE BOLD, A. J. (2005). Determinants of natriuretic peptide gene expression. **Peptides**. 26(6):933-43.

McGREGOR, D.D. (1965). The effect of sympathetic nerve stimulation on vasoconstrictor responses in perfused mesenteric blood vessels of the rat. **J. Physiol**. 177: 21-30.

MEKI, A. R.; NASSAR, A. Y.; ROCHAT, H. (1995). A bradykinin-potentiating peptide (peptide K12) isolated from the venom of Egyptian scorpion *Buthus occitanus*. **Peptides** 16: 1359-65.

MELLO-CAMPOS, O. (1924). Os escorpiões brasileiros. **Mem. Inst. Osw. Cruz** 17(2): 237-363.

MELLO-LEITÃO, C. (1939). Revisão do Gênero *Tityus*. **Physiology** 17: 57-76.

MENDONÇA, M.; PROFETA DA LUZ, M. M.; FREIRE-MAIA, L.; CUNHA-MELLO, J. R. (1995). Effect of scorpion toxin from *Tityus serrulatus* on the contraction of the isolated rat uterus. **Toxicon** 33(3):355-361.

MESQUITA, M. B.; MORAES-SANTOS, T.; MORAES, M. F. (2003). Centrally injected tityustoxin produces the systemic manifestations observed in severe scorpion poisoning. **Toxicol Appl Pharmacol**. Feb 15;187(1):58-66.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. (2001). Relatório técnico da campanha nacional de detecção de suspeitos de diabetes mellitus. Brasília: Secretaria de Políticas da Saúde, Ministério da Saúde.

MITRE, M. (2001). Aranhas e escorpiões de cativeiro. **Ciência Hoje**. Minas Gerais, vol. 29, n. 171. Seção Farmacologia. Disponível em: <www2.uol.com.br/cienciahoje/chmais/pass/ch171/emdia.pdf>. Acesso em: abril 2004.

MOERMAN, L.; BOSTEELS, S.; NOPPE, W.; WILLEMS, J.; CLYNEN, E.; SCHOOF, L.; THEVISSSEN, K.; TYTGAT, J.; VAN ELDERE, J.; VAN DER WALT, J.; VERDONCK, F. (2002). Antibacterial and antifungal properties of α -helical, cationic peptides in the venom of scorpions from southern Africa. **Eur. J. Biochem**. 269: 4779-810.

MOTA, J.V.; GHERSY DE NIETO, M.T.; BASTARDO, M.C., RODRIGUEZ, J.C.; DUQUE, L.; FREITEZ, L.A. (1994). Emponzoñamiento escorpiónico, clínica y laboratorio usando antivenina. **Boletín del Hospital Niños**. 30:35-40.

MOUSLI, M.; BUED, J.L.; BRONNER, C.; ROUOT, B.; LANDRY, Y. (1990). G protein activation: a receptor-independent mode of action for cationic amphiphilic neuropeptides and venom peptides. **Trends Pharmacol. Sci**. 11, 358-362.

MURTHY, K. R. K. BALASUBRAMANIAM, P.; YEOLEKAR, M. E. (1987). Hiperglycemia and reduction in glycogen content of atria and liver in dogs with acute myocarditis produced by scorpion (*Buthus tamulus*) venom. **J. Ass. Phys. Ind**. 35:189-190.

NAKAO, K.; OGAWA, Y.; SUGA, S.; IMURA H. (1992b). Molecular biology and biochemistry of the natriuretic peptide system. II: natriuretic peptides receptors. **Journal of Hypertension**, London, v. 10, n.10, p. 1111-1114.

NASCIMENTO GOMES, G.; BARBOSA, F. T.; RADAELE, R. F.; CAVANAL, M. F.; MELLO AIRES, M.; ZALADEK GIL, F. (2005). Effect of D-a-tocopherol on tubular nephron acidification by rats with induced diabetes mellitus. **Braz J Med Biol Res** 38(7):1043-1051.

NASCIMENTO JR., E. B.; COSTA, K. A.; BERTOLLO, C. M.; OLIVEIRA, A. C. P.; ROCHA, T. S.; SOUZA, A. L. S.; GLÓRIA, M. B. A. MORAES-SANTOS, T.; COELHO, M. M. (2005). Pharmacological investigation of the nociceptive response and edema induced by venom of the scorpion *Tityus serrulatus*. **Toxicon** 45: 585-93.

NAOMI, K. F. (1984). Hormonal regulation of hepatic gluconeogenesis. **Physiol. Rev.** 64:170.

NETO, C. C.; FILHO, P. G.; YASSUDA, C. R. W. (1994). Ensaio de campo no controle de escorpiões (*T. serrulatus*) empregando Diazinon microencapsulado, na cidade de Aparecida, SP. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** 27:123.

NENCIONI, A. L.; LEBRUN, I.; DORCE, V. A. (2003). A microdialysis study of glutamate concentration in the hippocampus of rats after TsTX toxin injection and blockade of toxin effects by glutamate receptor antagonists. **Pharmacol Biochem Behav.** 74(2):455-63.

NIELSEN, C. B.; FLYVBJERG, A.; BRUUN, J. M.; FORMAN, A.; WOGENSEN, L.; THOMSEN, K. (2003). Decreases in renal functional reserve and proximal tubular fluid output in conscious oophorectomized rats: Normalization with sex hormone substitution. **J. Am. Soc. Nephrol.** 14: 3102-10.

NOVAES, G.; CHETTO-DE-QUEIROZ, A.; CARVALHO-CARDOSO, C.; BURLLACHANI-DE-CARVALHO, M. H.; RIBEIRO-FILHO, L. A.; OLIVEIRA-GONÇALVES, A. (1990). Nesibioblastosis associated with chronic experimental pancreatitis produced by a scorpion toxin, tityustoxin, in rat. **Braz. J. Med. Biol. Res.** 23:1149-1151.

NUNAN, E.A.; MORAES, M.F.D.; CARDOSO, V.N.; MORAES-SANTOS, T. (2003). Effect of age on body distribution of Tityustoxin from *Tityus serrulatus* scorpion venom in rats. **Life Sciences** 73: 319-325.

NUNAN, E. A.; HOCHHAUS, G.; CARDOSO, V. N.; MORAES-SANTOS, T. (2004). Age effects on the pharmacokinetics of Tityustoxin from *Tityus serrulatus* scorpion venom in rats. **Brazilian Journal Med. Biol. Research** 37(3): 385-390.

OLIVEIRA, J. S.; REDAELLI, E.; ZAHARENKO, A. J.; CASSULINI, R. R.; KONNO, K.; PIMENTA, D. C.; FREITAS, J. C.; CLARE, J. J. (2004). Binding specificity of sea anemone toxins to Na_v 1.1-1.6 sodium channels. **The Journal of Biological Chemistry** 279(32): 33323-35.

PALMER BF. (2008). Hypertension management in patients with chronic kidney disease. **Curr Hypertens Rep.** Oct;10(5):367-73.

PARDAL, P. P. O.; CASTRO, L. C.; JENNINGS, E.; PARDAL, J. S. O. P.; MONTEIRO, M. R. C. C. (2003). Aspectos epidemiológicos e clínicos do escorpionismo na região de Santarém, estado do Pará, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** 36(3): 349-353.

PEIXOTO, E. B. M. I. (2003). Modulação in vitro da função de barreira epitelial e integridade da junção de oclusão, em linhagem celular MDCK. **Dissertação** (mestrado) Instituto de Biologia. Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 100 f.

PESSINI, A. C.; TAKAO, T. T.; CAVALHEIRO, E. C.; VICHNEWSKI, W.; SAMPAIO, S. V.; GIGLIO, J. R.; ARANTES, E. C. (2001). A hyaluronidase from *Tityus serrulatus* scorpion venom: isolation, characterization and inhibition by flavonoids. **Toxicon** 39: 1495-1504.

PESSINI, A. C.; SOUZA, A. M.; FACCIOLI, L. H.; GREGÓRIO, Z. M. O.; ARANTES, E. C. (2003). Time course of acute-phase response induced by *Tityus serrulatus* venom and TsTX-I in mice. **International Immunopharmacology** 3: 765-774.

PESSINI, A. C.; SANTOS, D. R.; ARANTES, E. C.; SOUZA, G. E. P. (2006). Mediators involved in the febrile response induced by *Tityus serrulatus* scorpion venom in rats. **Toxicon** 48: 556-66.

PETRICEVICH, V. L. (2002). Effect of *Tityus serrulatus* venom on cytokine production and the activity of murine macrophages. **Mediators of Inflammation** 11(1): 23-31.

PETRICEVICH, V. L.; LEBRUN, I. (2005). Immunomodulatory effects of the *Tityus serrulatus* venom on murine macrophage functions in vitro. **Mediators of Inflammation** 2005(1): 39-49.

PETRICEVICH, V. L., CRUZ, A. H., CORONAS, F. I. V., LOURIVAL, P. D. (2007). Toxin gamma from *Tityus serrulatus* scorpion venom plays an essential role in immunomodulation of macrophages. **Toxicon** 50: 666-75.

PIECHOTA, M.; BANACH, M.; JACON, A.; RYSZ, J. (2008). Natriuretic peptides in cardiovascular diseases. **Cellular e Molecular Biology Letters** 13: 155-81.

PINTO, L. M. O. (1998). Revisão/atualização em nefrologia clínica: Células mesangiais e matriz mesangial: Sua interação mediando o processo de cronificação de lesão glomerular. **Jornal Brasileiro de Nefrologia** 20(2): 178-85.

PLESSIS, L. H.; ELGAR, D.; PLESSIS, J. L. (2008). Southern African scorpion toxins: an overview. **Toxicon** 51(1): 1-9.

POSSANI, L. D., ALAGÓN, A. C., FLETCHER JR., P. L., ERICKSON, B. W. (1977). Purification and properties of mammalian toxins from the Brazilian scorpion *Tityus Serrulatus* Lutz and Mello. **Arch. Biochem. Biophys.** 180:394-403.

- POSSANI, L. D., MARTIN, B. M., MOCHA-MORALES, J., SVENDESEN, I. (1984). Purification And Chemical Characterization Of The Major Toxins From The Venom Of The Brazilian Scorpion *Tityus Serrulatus* Lutz And Mello. **Calrsberg Res. Commun.** 46:195-205.
- POSSANI, L. D.; MARTIN, B. M.; YATANI, A.; MOCHCA-MORALES, J.; ZAMUDIO, F. Z.; GURROLA, G. B.; BROWN, A. M. (1992). Isolation and physiological characterization of taicatoxin, a complex toxin with specific effects on calcium channels. **Toxicon.** 30(11):1343-64.
- POSSANI, L. D.; BECERRIL, B.; DELEPIERRE, M.; TYTGAT, J. (1999). Scorpion toxins specific for Na⁺-channels. **Eur J Biochem.** 264(2): 287-300.
- RAE G. A.; CALIXTO J. B. (1990). Effects of endothelins on nerve-mediated contractions of the mouse vas deferens. **Life Sci.** 47(17):83-89.
- RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M.; MOORE, P. K. (2008). Farmacologia. Editora Elsevier, Rio de Janeiro, 6 ed.
- REDDY, C. R. R. M.; SUVARNAKUMARI, G.; DEVI, C. S.; REDDY, C. N. (1972). Pathology of scorpion venom poisoning. **J. Trop. Med. Hyg** 75: 98-100.
- REVELO, M. P.; BAMBIRRA, E. A.; FERREIRA, A. P.; DINIZ, C. R.; CHÁVEZ-OLÓRTEGUI. (1996). Body distribution of *Tityus serrulatus* scorpion venom in mice and effects of scorpion antivenom. **Toxicon** 34(10):1119-1125.
- RICCIOPPO NETO, F. (1983). Effects of the venom of the Brazilian scorpion (*Tityus serrulatus*) on the action potential of the rabbit vagus nerve fibres. **Br. J. Pharmac.** 78:529-532.
- RICHARDS, A. M.; NICHOLLS, M. G.; ESPINER, E. A.; IKRAM, H.; YANDLE, T. G.; JOYCE, S. L.; CULLENS, M. M. (1985). Effects of alpha-human atrial natriuretic peptide in essential hypertension. **Hypertension.** 7(5):812-7.
- RICHARDS, A. M.; TONOLO, G.; TREE, M.; ROBERTSON, J. I.; MONTORSI, P.; LECKIE, B. J.; POLONIA, J. (1988). Atrial natriuretic peptides and renin release. **Am J Med.** 11;84(3A):112-8.
- ROBERT, A. B. (1991). Envenomation by the scorpion *Centruroides exilicauda sculpturatus*. Severe and unusual manifestations. **Pediatrics** 87: 930.
- RODRÍGUEZ DE LA VEGA, R. C.; POSSANI, L. D. (2005). Overview of scorpion toxins specific for Na⁺ channels and related peptides: biodiversity, structure-function relationships and evolution. **Toxicon.** 15;46(8):831-44.
- SAITO H, OGIHARA T, NAKAMARU M, HARA H, HIGAKI J, RAKUGI H, TATEYAMA H, MINAMINO T, IINUMA K, KUMAHARA Y. (1987). Hemodynamic, renal, and hormonal responses to alpha-human atrial natriuretic peptide in patients with congestive heart failure. **Clin Pharmacol Ther.** 42(2):142-7.

SAMPAIO, S.V., LAURE, C.J., GIGLIO, J.R. (1983) Isolation And Characterization Of Toxic Proteins From The Venom Of The Brazilian Scorpion *Tityus serrulatus*. **Toxicon**. 21:265-277.

SAMPAIO, S. V.; ARANTES, E. C.; PRADO, W. A.; RICCIOPPO NETO, F.; GIGLIO, J. R. (1991). Further characterization of toxins T₁IV (TsTX-III) and T₂IV from *Tityus serrulatus* scorpion venom. **Toxicon** 29: 663-72.

SANDOVAL, M. R. L.; DORCE, V. A. C. (1993). Behavioral and encephalographic effects of *Tityus serrulatus* scorpion venom in rats. **Toxicon** 31: 205-12.

SANDOVAL, M. R. L.; LEBRUM, I. (2003). TSII toxin isolated from *Tityus serrulatus* scorpion venom: behavioral, electroencephalographic, and histopathological studies. **Brain Research Bulletin** 62: 165-172.

SASAKI, S.; SIRAGY, H. M.; GILDEA, J. J.; FELDER, R. A.; CAREY, R. M. (2004). Production and Role of Extracellular Guanosine Cyclic 3'-5'-Monophosphate in Sodium Uptake in Human Proximal Tubule Cells **Hypertension** 43:286-291.

SCHWINN, D. A.; PRICE, D. T.; NARAYAN, P. (2004). α_1 -Adrenoreceptor subtype selectivity and lower urinary tract symptoms. **Mayo Clin. Proc.** 79(11) 1423-34.

SEALEY JE, BLUMENFELD JD, BELL GM, PECKER MS, SOMMERS SC, LARAGH JH. (1988). On the renal basis for essential hypertension: nephron heterogeneity with discordant renin secretion and sodium excretion causing a hypertensive vasoconstriction-volume relationship. **J Hypertens**. 6:763-777.

SECRETARIA DE SAÚDE DE SÃO PAULO. (1993). Acidentes por animais peçonhentos. Identificação, diagnóstico e tratamento. **Manual de vigilância epidemiológica**, São Paulo.

SEIDMAN, C.E. (1984). The structure of rat preproatrial natriuretic factor as defined by complementary DNA clone. **Science**, Washington, v. 4.659, n. 225, p. 324-326.

SILVA, M. C. (1992). Escorpião e escorpionismo no contexto urbano: bairro Antonio Ribeiro de Abreu. Belo Horizonte. **Monografia** (Bacharelado) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

SILVA NETO, LB; CLAUSELL, N. (2004). BNP: do Laboratório à Beira do Leito. **Revista da Sociedade de Cardiologia do Rio Grande do Sul**, Ano XIII nº 03.

SMYTHIES, J. R.; BENINGTON, F.; MORIN, R. D. (1971). Model for the action of tetrodotoxin and batrachotoxin. **Nature** 231: 188-90.

SOARES, M. R. M.; AZEVEDO, C. S.; DE-MARIA, M. (2002). Escorpionismo em Belo Horizonte, MG: um estudo retrospectivo. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** 35(4): 359-363.

SOFER, S.; GUERON, M.; WHITE, R.; LIFSHITZ, M.; APTE, R. (1996). Interleukin-6 release following scorpion sting in children. **Toxicon** 34: 389-392.

SOSNINA, N. A.; GOLUBENKO, Z.; AKHUNOV, A. A.; KUGAEVSKAIA, E. V.; ELISEEVA LU, E.; OREKHOVICH, V. N. (1990). Bradykinin-potentiating peptides from the spider *Latrodectus tredecimguttatus* inhibitors of carboxycathepsin and of a preparation of karakurt venom kininase. **Dokl. Akad. Nauk. SSSR** 315: 236-9.

STRASSER, R. H., IHL-VAL, R., MARQUETANT, R. (1992). Molecular Review: Molecular biology of adrenergic receptors. **J. of Hypert.**, 10:501-506.

SUDOH, T. MINAMINO N, KANGAWA K, MATSUO H. (1990). C-type natriuretic peptide (CNP): a new member of natriuretic peptide family identified in porcine brain. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, San Diego, v. 168, n. 2, p. 863-870.

SUDOH T, KANGAWA K, MINAMINO N, MATSUO H. (1988). A new natriuretic peptide in porcine brain. **Nature**; 332:78-81.

TAVARES, A; PLAVNIK, F. L. (1998). Inibidores do sistema simpático. **HiperAtivo**; 2:91-6.

TEIXEIRA, C. E.; BENTO, A. C.; LOPES-MARTINS, R. A. B.; TEIXEIRA, S. A.; VON EICKESTEDT, V.; MUSCARÁ, M. N.; ARANTES, E. C.; GIGLIO, J. R.; ANTUNES, E.; DE NUCCI, G. (1998). Effect of *Tityus serrulatus* scorpion venom on the rabbit isolated corpus cavernosum and the involvement of NANC nitrenergic nerve fibres. **British Journal of Pharmacology** 123: 435-42.

TEIXEIRA, C. E.; FARO, R.; MORENO, R. A.; NETTO JR., N. R.; FREGONESI, A.; ANTUNES, E.; DE NUCCI, G. (2001). Nonadrenergic, noncholinergic relaxation of human isolated corpus cavernosum induced by scorpion venom. **Urology** 57(4): 816-20.

TEIXEIRA, C. E.; IFA, D. R.; CORSO, G.; SANTAGADA, V.; CALIENDO, G.; ANTUNES, E.; DE NUCCI, G. (2003). Sequence and structure-activity relationship of a scorpion venom toxin with nitrenergic activity in rabbit corpus cavernosum. **The FASEB Journal** 17: 485-7.

TEIXEIRA, C.E., PRIVIERO, F.B., OKUYAMA, C.E., DE NUCCI, G., ANTUNES, E. (2003). Pharmacological characterization of the presynaptic activity of *Tityus serrulatus* venom in the rat anococcygeus muscle. **Toxicon**, 42(5):451-60.

TEIXEIRA, C. E.; OLIVEIRA, J. F.; BACARAT, J. S.; PRIVIERO, F. B. M.; OKUYAMA, C. E.; NETTO JR, N. R.; FREGONESI, A.; ANTUNES, E.; DE NUCCI, G. (2004). Nitric oxide release from human corpus cavernosum induced by a purified scorpion toxin. **Urology** 63(1): 184-9.

TEIXEIRA Jr, A.L.; FONTOURA, B.F.; FREIRE-MAIA, L.; MACHADO, C.R.S.; CAMARGOS, E.R.S.; TEIXEIRA, M.M. (2001). Evidence for a direct action of *Tityus serrulatus* scorpion venom on the cardiac muscle. **Toxicon** 39:703-709.

THOMSEN, K.; OLSEN, O. V. (1984). Renal lithium clearance as a measure of the delivery of water and sodium from the proximal tubules in human. **Am. J. Med. Sci.** 288: 158-61.

THOMSEN, K. (1990). Lithium clearance as a measure of sodium and water delivery from the proximal tubules. **Kidney Int.** 37: 510-6.

TORRES-LARIOS, A.; GURROLA, G.B.; ZAMUDIO, F.Z.; POSAN, L.D. (2000). Hadrurin, a new antimicrobial peptide from venom of the scorpion *Hadrurus aztecus*. **Eur. J. Biochem.** 267, 5023-5031.

TORRES, J. B.; MARQUES, M. G. B.; MARTINI, R. K.; BORGES, C. V. A. (2002). Acidente por *Tityus serrulatus* e suas implicações epidemiológicas no Rio Grande do Sul. **Rev. Saúde Pública** 36(5):631-633.

TOSSI, A.; SANDRI, L.; GIANGASPERO, A. (2000). Amphipathic, α -helical antimicrobial peptides. **Biopolymers** 55, 4-30.

TRIPATHY, A., RESCH, W., XU, L., VALDIVIA, H.H. e MEISSNER, G. (1998). Imperatoxin A induces subconductance states in Ca^{2+} release channels (ryanodine receptors) of cardiac and skeletal muscle. **J. Gen. Physiol.**, 111, 679–690.

TRONCON, L.E.A.; SANTOS, A.A.; GARBACIO, V.L.; SECAF, M.; VERCEZE, A.V.; CUNHA-MELO, J.R. (2000). Inhibition of gastric emptying and intestinal transit in anesthetized rats by *Tityus serrulatus* scorpion toxin. **Brazilian J. Med. Biol. Res.** 33(9): 1053-1058.

TYTGAT, J., CHANDY, K.G., GARCIA, M.L., GUTMAN, G.A., MARTIN-EAUCCLAIRE, M.F., VAN DER WALT, J.J., POSSANI, L.D. (1999). A unified nomenclature for short-chain peptides isolated from scorpion venoms: alpha-KTx molecular subfamilies. **Trends Pharmacol Sci.** 20(11): 444-7

VASCONCELOS, F.; LANCHOTE, V. L.; BENDHACK, L. M.; GIGLIO, J. R.; SAMPAIO, S. V.; ARANTES, E. C. (2005). Effects of voltage-gated Na^{+} channel toxins from *Tityus serrulatus* venom on rat arterial blood pressure and plasma catecholamines. **Comp. Biochem. Physiol. C Pharmacol. Toxicol.** 141(1): 85-92.

VASCONCELOS, F.; SAMPAIO, S. V.; GARÓFALO, M. A. R.; GUIMARÃES, L. F. L.; GILGIO, J. R.; ARANTES, E. C. (2004). Insulin-like effects of *Bauhinia forficata* aqueous extract upon *Tityus serrulatus* scorpion evenoming. **Journal of Ethnopharmacology** 95: 385-92.

VELLARD, J. (1932). Scorpions. In: Mission scientifique au Goyaz et au Rio Araguaya. **Mem. Soc. Zool. France**, 29(6): 539-556.

VERANO-BRAGA, T.; ROCHA-RESENDE, C.; SILVA, D. M.; IANZER, D.; MARTIN-EAUCCLAIRE, M. F.; BOUGIS, P. E.; DE LIMA, M. E.; SANTOS, R. A. S.; PIMENTA, A. M. C. (2008). *Tityus serrulatus* hypotensis: A new family of peptides from scorpion venom. **Biochemical and Biophysical Research Communications** 371: 515-50.

VERDONCK, F.; BOSTEELS, S.; DESMET, J.; MOERMAN, L.; NOPPE, W.; WILLEMS, J.; TYTGAT, J. VAN DER WALT, J. (2000). A novel class of pore-forming peptides in the venom of *Parabuthus schlechteri* Purcell (Scorpions: Buthidae). **Cimbebasia** 16, 247-260.

VILLACORTA Jr, H.; MESQUITA, E. T. (2006). Aplicações clínicas do peptídeo natriurético do tipo B. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia** 86(4): 251-5.

VILLALOBOS-MOLINA, R.; LÓPEZ-GUERRERO, J. J.; IBARRA, M. (1997) Alpha 1D- and alpha 1A-adrenoceptors mediate contraction in rat renal artery. **Eur J Pharmacol.** 19; 322(2-3):225-7.

VITAL BRAZIL. (1918). Soro antiescorpionico. **Mem. Inst. Butantan**, 1:47- 50.

WALSER, M.; DAVIDSON, D.G.; ORLOFF, J. (1955). The renal clearance of alkali-stable inulin. **J. Clin. Invest.**, 34:1520-1523.

WENZEL RR. (2005). Renal protection in hypertensive patients: selection of antihypertensive therapy. **Drugs**; 65 Suppl, 2:29-39.

WISTEN, S.; DALAL, F. R. (1972). Manual of clinical laboratory procedures for non-routine problems.

WOODS, R.L. (2004). Cardioprotective functions of atrial natriuretic peptide and B-Type natriuretic peptide: a brief review. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, Oxford, v. 31, n. 11, p. 791-794.

YATANI, A.; KIRSCH, G. E.; POSSANI, L. D.; BROWN, A. M. (1988). Effects of New World toxins on single-channel and whole cell cardiac sodium currents. **Am. J. Physiol.** 254:443-451.

YANG-FENG, T. L. FLOYD-SMITH G, NEMER M, DROUIN J, FRANCKE U. (1985). The prodilatin gene is located on the distal short arm of human chromosome 1 and on mouse chromosome 4. **American Journal of Human Genetics**, Baltimore, v. 37, n. 6, p. 1117-1128.

ZEGHAL, K.; SAHNOUN, Z.; GUINOT, M.; RICHER, C.; GIUDICELLI, J. F. (2000). Characterization and mechanisms of the cardiovascular and haemodynamic alterations induced by scorpion venom in rats. **Fundam Clin Pharmacol.** 14(4):351-61.

ZLOTKIN, E.; MIRANDA, F.; LISSITZKY, S. (1972). A factor toxic to crustacean in the venom of the scorpion *Androctonus australis* Hector. **Toxicon** 10:211-216.

ZLOTKIN, E.; EITAN, M.; BINDOKAS, V. P.; ADAMS, M. E.; MOYER, M.; BURKHART, W.; FOWLER, E. (1991). Functional duality and structural uniqueness of depressant insect-selective neurotoxins. **Biochemistry** 30:4814-4821.

APÊNDICES

Pedras no caminho? Guardo todas! Um dia vou construir um castelo.

Fernando Pessoa

Tabela 1: Pressão de Perfusão (PP; mmHg) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs; 3 µg/mL), Prazosin (10 µg/mL) e Prazosin (10 µg/mL) + VTs (3 µg/mL).

Tempo (min)	Controle	VTs 3µg/mL	Prazosin 10µg/mL	Prazosin + VTs
30	110,1 ± 3,68	110,3 ± 1,40	107,4 ± 1,90	106,6 ± 2,20
60	108,3 ± 4,88	150,1 ± 18,40*	112,3 ± 2,00	118,1 ± 4,00
90	108,7 ± 5,08	96,4 ± 6,40	110,4 ± 2,20	103,3 ± 3,80
120	110,3 ± 3,69	97,9 ± 7,50	111,3 ± 2,20	109,9 ± 5,90

Resultados expressos em Média ± EPM. *p<0,05

Tabela 2: Resistência Vascular Renal (RVR; mmHg/mL.g⁻¹.min⁻¹) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n=6) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs; 3 µg/mL), Prazosin (10 µg/mL) e Prazosin (10 µg/mL) + VTs (3 µg/mL).

Tempo (min)	Controle	VTs 3µg/mL	Prazosin 10µg/mL	Prazosin + VTs
30	5,39 ± 0,48	5,56 ± 0,27	5,19 ± 0,23	5,02 ± 0,40
60	5,57 ± 0,49	7,51 ± 0,96*	5,41 ± 0,20	5,51 ± 0,43
90	5,32 ± 0,57	4,90 ± 0,39	5,30 ± 0,17	4,79 ± 0,36
120	5,48 ± 0,53	4,98 ± 0,45	5,33 ± 0,14	5,04 ± 0,36

Resultados expressos em Média ± EPM. *p<0,05

Tabela 3: Fluxo Urinário (FU; mL.g⁻¹.min⁻¹) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs; 3 µg/mL), Prazosin (10 µg/mL) e Prazosin (10 µg/mL) + VTs (3 µg/mL).

Tempo (min)	Controle	VTs 3µg/mL	Prazosin 10µg/mL	Prazosin + VTs
30	0,139 ± 0,009	0,140 ± 0,005	0,143 ± 0,006	0,149 ± 0,006
60	0,158 ± 0,015	0,182 ± 0,015*	0,142 ± 0,006	0,140 ± 0,010
90	0,164 ± 0,024	0,121 ± 0,010*	0,139 ± 0,004*	0,123 ± 0,009*
120	0,160 ± 0,020	0,109 ± 0,015*	0,122 ± 0,006*	0,147 ± 0,022

Resultados expressos em Média ± EPM. *p<0,05

Tabela 4: Ritmo de Filtração Glomerular (RFG; mL.g⁻¹.min⁻¹) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs; 3 µg/mL), Prazosin (10 µg/mL) e Prazosin (10 µg/mL) + VTs (3 µg/mL).

Tempo (min)	Controle	VTs 3µg/mL	Prazosin 10µg/mL	Prazosin + VTs
30	0,701 ± 0,073	0,712 ± 0,055	0,692 ± 0,066	0,728 ± 0,055
60	0,707 ± 0,051	0,890 ± 0,104*	0,467 ± 0,033*	0,484 ± 0,041*
90	0,653 ± 0,051	0,539 ± 0,047	0,449 ± 0,037*	0,419 ± 0,038*
120	0,697 ± 0,084	0,457 ± 0,050*	0,391 ± 0,033*	0,458 ± 0,072*

Resultados expressos em Média ± EPM. *p<0,05

Tabela 5: Percentual de Transporte Tubular de Sódio (%TNa⁺) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs; 3 µg/mL), Prazosin (10 µg/mL) e Prazosin (10 µg/mL) + VTs (3 µg/mL).

Tempo (min)	Controle	VTs 3µg/mL	Prazosin 10µg/mL	Prazosin + VTs
30	81,94 ± 1,24	82,28 ± 1,05	83,94 ± 0,87	82,60 ± 0,63
60	81,11 ± 1,52	81,88 ± 1,12	76,40 ± 2,66	81,51 ± 0,57
90	79,26 ± 0,90	82,70 ± 0,75*	77,50 ± 2,26	80,75 ± 0,69
120	79,76 ± 0,56	81,56 ± 0,87	76,52 ± 2,18	76,51 ± 1,52

Resultados expressos em Média ± EPM. *p<0,05

Tabela 6: Percentual de Transporte Tubular Proximal de Sódio (%pTNa⁺) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs; 3 µg/mL), Prazosin (10 µg/mL) e Prazosin (10 µg/mL) + VTs (3 µg/mL).

Tempo (min)	Controle	VTs 3µg/mL	Prazosin 10µg/mL	Prazosin + VTs
30	77,69 ± 1,68	79,33 ± 1,28	77,87 ± 1,36	80,67 ± 1,15
60	75,59 ± 0,90	79,65 ± 1,57	71,79 ± 3,96	74,09 ± 0,61
90	77,33 ± 1,33	79,80 ± 1,23	70,17 ± 2,71*	73,35 ± 0,89*
120	78,18 ± 1,97	77,34 ± 1,15	69,73 ± 2,61*	69,78 ± 1,31*

Resultados expressos em Média ± EPM. *p<0,05

Tabela 7: Excreção de Sódio (ENa^+ ; $\mu\text{Eq}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs; 3 $\mu\text{g}/\text{mL}$), Prazosin (10 $\mu\text{g}/\text{mL}$) e Prazosin (10 $\mu\text{g}/\text{mL}$) + VTs (3 $\mu\text{g}/\text{mL}$).

Tempo (min)	Controle	VTs 3 $\mu\text{g}/\text{mL}$	Prazosin 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$	Prazosin + VTs
30	14,84 \pm 2,51	15,61 \pm 1,16	13,19 \pm 2,51	12,50 \pm 1,16
60	14,24 \pm 1,72	21,03 \pm 3,14*	13,54 \pm 1,72	12,50 \pm 3,14
90	16,87 \pm 2,18	13,07 \pm 2,34	12,58 \pm 2,18	11,41 \pm 2,34
120	16,80 \pm 2,66	12,48 \pm 3,26	11,81 \pm 2,66	16,45 \pm 3,26

Resultados expressos em Média \pm EPM. *p<0,05

Tabela 8: Percentual de Transporte Tubular de Potássio (%TK⁺) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs; 3 $\mu\text{g}/\text{mL}$), Prazosin (10 $\mu\text{g}/\text{mL}$) e Prazosin (10 $\mu\text{g}/\text{mL}$) + VTs (3 $\mu\text{g}/\text{mL}$).

Tempo (min)	Controle	VTs 3 $\mu\text{g}/\text{mL}$	Prazosin 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$	Prazosin + VTs
30	69,13 \pm 4,14	71,36 \pm 2,29	72,99 \pm 3,75	66,03 \pm 4,12
60	69,04 \pm 5,68	76,34 \pm 3,74	56,06 \pm 3,87*	50,83 \pm 3,37*
90	71,84 \pm 4,21	74,80 \pm 4,68	55,36 \pm 4,30*	45,72 \pm 4,48*
120	69,94 \pm 6,86	74,04 \pm 3,38	54,88 \pm 4,06*	44,36 \pm 6,54*

Resultados expressos em Média \pm EPM. *p<0,05

Tabela 9: Percentual de Transporte Tubular Proximal de Potássio (%pTK⁺) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs; 3 $\mu\text{g}/\text{mL}$), Prazosin (10 $\mu\text{g}/\text{mL}$) e Prazosin (10 $\mu\text{g}/\text{mL}$) + VTs (3 $\mu\text{g}/\text{mL}$).

Tempo (min)	Controle	VTs 3 $\mu\text{g}/\text{mL}$	Prazosin 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$	Prazosin + VTs
30	53,98 \pm 4,05	54,42 \pm 2,76	56,92 \pm 4,15	50,10 \pm 4,54
60	52,68 \pm 4,86	60,11 \pm 4,28	41,44 \pm 4,76	33,40 \pm 3,52
90	50,66 \pm 4,57	57,90 \pm 5,33	38,03 \pm 4,72*	28,31 \pm 4,76*
120	52,30 \pm 2,08	55,82 \pm 3,60	38,09 \pm 4,33*	27,63 \pm 7,37*

Resultados expressos em Média \pm EPM. *p<0,05

Tabela 10: Excreção de Potássio (EK^+ ; $\mu\text{Eq}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs; 3 $\mu\text{g}/\text{mL}$), Prazosin (10 $\mu\text{g}/\text{mL}$) e Prazosin (10 $\mu\text{g}/\text{mL}$) + VTs (3 $\mu\text{g}/\text{mL}$).

Tempo (min)	Controle	VTs 3 $\mu\text{g}/\text{mL}$	Prazosin 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$	Prazosin + VTs
30	0,90 \pm 0,067	0,86 \pm 0,09	1,08 \pm 0,067	1,05 \pm 0,09
60	0,98 \pm 0,056	0,84 \pm 0,12	1,15 \pm 0,056	1,10 \pm 0,12
90	0,90 \pm 0,050	0,58 \pm 0,14*	1,06 \pm 0,050	0,96 \pm 0,14
120	0,84 \pm 0,061	0,55 \pm 0,14*	0,91 \pm 0,061	0,87 \pm 0,14

Resultados expressos em Média \pm EPM. *p<0,05

Tabela 11: Percentual de Transporte Tubular de Cloreto (%TCl⁻) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs; 3 $\mu\text{g}/\text{mL}$), Prazosin (10 $\mu\text{g}/\text{mL}$) e Prazosin (10 $\mu\text{g}/\text{mL}$) + VTs (3 $\mu\text{g}/\text{mL}$).

Tempo (min)	Controle	VTs 3 $\mu\text{g}/\text{mL}$	Prazosin 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$	Prazosin + VTs
30	79,90 \pm 1,03	79,92 \pm 2,26	80,25 \pm 0,696	82,53 \pm 1,44
60	81,25 \pm 2,44	76,02 \pm 2,32	70,75 \pm 2,205*	75,64 \pm 1,22
90	77,32 \pm 2,22	76,99 \pm 2,00	71,66 \pm 1,374	74,55 \pm 1,48
120	78,53 \pm 2,33	76,96 \pm 2,45	70,59 \pm 0,739*	69,13 \pm 1,52*

Resultados expressos em Média \pm EPM. *p<0,05

Tabela 12: Percentual de Transporte Tubular Proximal de Cloreto (%pTCl⁻) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs; 3 $\mu\text{g}/\text{mL}$), Prazosin (10 $\mu\text{g}/\text{mL}$) e Prazosin (10 $\mu\text{g}/\text{mL}$) + VTs (3 $\mu\text{g}/\text{mL}$).

Tempo (min)	Controle	VTs 3 $\mu\text{g}/\text{mL}$	Prazosin 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$	Prazosin + VTs
30	76,81 \pm 1,25	76,97 \pm 2,57	74,18 \pm 1,25	76,60 \pm 2,57
60	78,49 \pm 2,90	73,79 \pm 2,93	66,14 \pm 2,90*	68,22 \pm 2,93*
90	76,58 \pm 1,20	74,09 \pm 2,87	64,34 \pm 1,20*	67,15 \pm 2,87*
120	76,36 \pm 2,47	72,74 \pm 2,71	63,81 \pm 2,47*	62,40 \pm 2,71*

Resultados expressos em Média \pm EPM. *p<0,05

Tabela 13: Excreção de Cloreto (Cl^- ; $\mu\text{Eq}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs; 3 $\mu\text{g}/\text{mL}$), Prazosin (10 $\mu\text{g}/\text{mL}$) e Prazosin (10 $\mu\text{g}/\text{mL}$) + VTs (3 $\mu\text{g}/\text{mL}$).

Tempo (min)	Controle	VTs 3 $\mu\text{g}/\text{mL}$	Prazosin 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$	Prazosin + VTs
30	14,65 \pm 3,45	14,85 \pm 1,55	12,88 \pm 3,45	12,90 \pm 1,55
60	15,28 \pm 3,52	22,37 \pm 3,80	13,44 \pm 3,52	12,71 \pm 3,80
90	15,44 \pm 2,75	13,65 \pm 1,98	12,54 \pm 2,75	11,41 \pm 1,98
120	15,42 \pm 2,61	13,15 \pm 3,51	11,57 \pm 2,61	15,86 \pm 3,51

Resultados expressos em Média \pm EPM. *p<0,05

Tabela 14: Pressão de Perfusão (PP; mmHg) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs; 3 $\mu\text{g}/\text{mL}$), Prazosin (3 $\mu\text{g}/\text{mL}$) e Prazosin (3 $\mu\text{g}/\text{mL}$) + VTs (3 $\mu\text{g}/\text{mL}$).

Tempo (min)	Controle	VTs 3 $\mu\text{g}/\text{mL}$	Prazosin 3 $\mu\text{g}/\text{mL}$	Prazosin + VTs
30	110,11 \pm 3,68	111,9 \pm 1,61	106,7 \pm 2,34	106,2 \pm 3,27
60	108,27 \pm 4,88	139,7 \pm 11,5*	110,5 \pm 4,65	114,4 \pm 4,85
90	108,69 \pm 5,09	111,0 \pm 4,37	112,8 \pm 6,17	115,1 \pm 3,73
120	110,28 \pm 3,69	117,1 \pm 5,07	110,9 \pm 7,45	111,4 \pm 3,56

Resultados expressos em Média \pm EPM. *p<0,05

Tabela 15: Resistência Vascular Renal (RVR; $\text{mmHg}/\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n=6) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs; 3 $\mu\text{g}/\text{mL}$), Prazosin (3 $\mu\text{g}/\text{mL}$) e Prazosin (3 $\mu\text{g}/\text{mL}$) + VTs (3 $\mu\text{g}/\text{mL}$).

Tempo (min)	Controle	VTs 3 $\mu\text{g}/\text{mL}$	Prazosin 3 $\mu\text{g}/\text{mL}$	Prazosin + VTs
30	5,39 \pm 0,48	5,60 \pm 0,17	6,09 \pm 0,58	5,38 \pm 0,32
60	5,57 \pm 0,49	7,16 \pm 0,51*	6,35 \pm 0,62	4,86 \pm 0,41
90	5,32 \pm 0,57	5,42 \pm 0,26	5,72 \pm 0,76	4,80 \pm 0,24
120	5,48 \pm 0,53	5,71 \pm 0,26	5,20 \pm 0,82	4,66 \pm 0,26

Resultados expressos em Média \pm EPM. *p<0,05

Tabela 16: Fluxo Urinário (FU; mL.g⁻¹.min⁻¹) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs; 3 µg/mL), Prazosin (3 µg/mL) e Prazosin (3 µg/mL) + VTs (3 µg/mL).

Tempo (min)	Controle	VTs 3µg/mL	Prazosin 3µg/mL	Prazosin + VTs
30	0,139 ± 0,009	0,14 ± 0,006	0,13 ± 0,003	0,13 ± 0,01
60	0,158 ± 0,015	0,19 ± 0,010*	0,20 ± 0,010*	0,15 ± 0,01
90	0,164 ± 0,027	0,12 ± 0,010*	0,22 ± 0,010*#	0,17 ± 0,01
120	0,160 ± 0,020	0,11 ± 0,010*	0,24 ± 0,020*#	0,15 ± 0,01

Resultados expressos em Média ± EPM. *p<0,05

Tabela 17: Ritmo de Filtração Glomerular (RFG; mL.g⁻¹.min⁻¹) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs; 3 µg/mL), Prazosin (3 µg/mL) e Prazosin (3 µg/mL) + VTs (3 µg/mL).

Tempo (min)	Controle	VTs 3µg/mL	Prazosin 3µg/mL	Prazosin + VTs
30	0,701 ± 0,073	0,767 ± 0,02	0,6208 ± 0,05	0,652 ± 0,06
60	0,707 ± 0,051	0,890 ± 0,01*	0,6724 ± 0,07	0,6102 ± 0,04
90	0,633 ± 0,051	0,530 ± 0,08	0,6166 ± 0,05	0,6256 ± 0,04
120	0,697 ± 0,084	0,460 ± 0,05	0,5804 ± 0,03	0,5925 ± 0,07

Resultados expressos em Média ± EPM. *p<0,05

Tabela 18: Percentual de Transporte Tubular de Sódio (%TNa⁺) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs; 3 µg/mL), Prazosin (3 µg/mL) e Prazosin (3 µg/mL) + VTs (3 µg/mL).

Tempo (min)	Controle	VTs 3µg/mL	Prazosin 3µg/mL	Prazosin + VTs
30	81,94 ± 1,24	82,28 ± 1,05	77,90 ± 2,55	83,17 ± 1,37
60	81,11 ± 1,52	81,88 ± 1,12	76,46 ± 3,77	78,16 ± 2,00
90	79,26 ± 0,90	82,70 ± 0,75	72,78 ± 3,18*	75,66 ± 2,41*
120	79,76 ± 0,56	81,56 ± 0,87	69,23 ± 3,40*	74,48 ± 2,80*

Resultados expressos em Média ± EPM. *p<0,05

Tabela 19: Percentual de Transporte Tubular Proximal de Sódio (%pTNa⁺) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs; 3 µg/mL), Prazosin (3 µg/mL) e Prazosin (3 µg/mL) + VTs (3 µg/mL).

Tempo (min)	Controle	VTs 3µg/mL	Prazosin 3µg/mL	Prazosin + VTs
30	77,69 ± 1,68	79,33 ± 1,28	78,04 ± 2,890	76,72 ± 1,498
60	75,59 ± 0,90	79,65 ± 1,57	76,60 ± 3,984	70,81 ± 2,511
90	77,33 ± 1,33	79,80 ± 1,23	72,92 ± 3,244	69,52 ± 2,706*
120	78,18 ± 1,97	77,34 ± 1,15	69,31 ± 3,484	67,94 ± 3,135*

Resultados expressos em Média ± EPM. *p<0,05

Tabela 20: Excreção de Sódio (ENa⁺; µEq.g⁻¹.min⁻¹) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs; 3 µg/mL), Prazosin (3 µg/mL) e Prazosin (3 µg/mL) + VTs (3 µg/mL).

Tempo (min)	Controle	VTs 3µg/mL	Prazosin 3µg/mL	Prazosin + VTs
30	14,84 ± 2,51	15,61 ± 1,16	14,10 ± 2,51	11,75 ± 1,16
60	14,24 ± 1,72	21,03 ± 3,14*	16,05 ± 1,72	14,34 ± 3,14
90	16,87 ± 2,18	13,07 ± 2,34	20,12 ± 2,18	16,86 ± 2,34
120	16,80 ± 2,66	12,48 ± 3,26	24,03 ± 2,66*	15,45 ± 3,26

Resultados expressos em Média ± EPM. *p<0,05

Tabela 21: Percentual de Transporte Tubular de Potássio (%TK⁺) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs; 3 µg/mL), Prazosin (3 µg/mL) e Prazosin (3 µg/mL) + VTs (3 µg/mL).

Tempo (min)	Controle	VTs 3µg/mL	Prazosin 3µg/mL	Prazosin + VTs
30	53,98 ± 4,05	54,42 ± 2,76	48,64 ± 4,59	61,74 ± 1,87
60	52,68 ± 4,86	60,11 ± 4,28	51,84 ± 5,50	49,00 ± 3,47
90	50,66 ± 4,57	57,90 ± 5,33	60,42 ± 3,21	46,72 ± 3,73
120	52,30 ± 2,08	55,82 ± 3,60	59,85 ± 3,17	43,73 ± 3,54*

Resultados expressos em Média ± EPM. *p<0,05

Tabela 22: Percentual de Transporte Tubular Proximal de Potássio (%pTK⁺) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs; 3 µg/mL), Prazosin (3 µg/mL) e Prazosin (3 µg/mL) + VTs (3 µg/mL).

Tempo (min)	Controle	VTs 3µg/mL	Prazosin 3µg/mL	Prazosin + VTs
30	53,98 ± 4,05	54,42 ± 2,76	53,78 ± 4,971	49,54 ± 3,017
60	52,68 ± 4,86	60,11 ± 4,28	56,97 ± 5,799	41,66 ± 4,082*
90	50,66 ± 4,57	57,90 ± 5,33	55,57 ± 3,427	42,51 ± 3,280*
120	52,30 ± 2,08	55,82 ± 3,60	54,92 ± 3,440	38,91 ± 3,312*

Resultados expressos em Média ± EPM. *p<0,05

Tabela 23: Excreção de Potássio (EK⁺; µEq.g⁻¹.min⁻¹) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs; 3 µg/mL), Prazosin (3 µg/mL) e Prazosin (3 µg/mL) + VTs (3 µg/mL).

Tempo (min)	Controle	VTs 3µg/mL	Prazosin 3µg/mL	Prazosin + VTs
30	0,900 ± 0,067	0,860 ± 0,090	1,0562 ± 0,067	1,0451 ± 0,090
60	0,980 ± 0,056	0,840 ± 0,120	1,0595 ± 0,056	1,0987 ± 0,120
90	0,900 ± 0,050	0,580 ± 0,140*	0,9842 ± 0,050	1,1184 ± 0,140
120	0,840 ± 0,061	0,550 ± 0,140*	1,0295 ± 0,061	1,1414 ± 0,140*

Resultados expressos em Média ± EPM. *p<0,05

Tabela 24: Percentual de Transporte Tubular de Cloreto (%TCl⁻) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs; 3 µg/mL), Prazosin (3 µg/mL) e Prazosin (3 µg/mL) + VTs (3 µg/mL).

Tempo (min)	Controle	VTs 3µg/mL	Prazosin 3µg/mL	Prazosin + VTs
30	79,90 ± 1,03	79,92 ± 2,26	75,808 ± 4,571	78,528 ± 3,700
60	81,25 ± 2,44	76,02 ± 2,32	73,497 ± 5,720	72,439 ± 3,982
90	77,32 ± 2,22	76,99 ± 2,00	70,175 ± 3,337	69,365 ± 3,250
120	78,53 ± 2,33	76,96 ± 2,45	67,282 ± 3,410	67,988 ± 3,132

Resultados expressos em Média ± EPM. *p<0,05

Tabela 25: Percentual de Transporte Tubular Proximal de Cloreto (%pTCl⁻) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs; 3 µg/mL), Prazosin (3 µg/mL) e Prazosin (3 µg/mL) + VTs (3 µg/mL).

Tempo (min)	Controle	VTs 3µg/mL	Prazosin 3µg/mL	Prazosin + VTs
30	76,81 ± 1,25	76,97 ± 2,57	70,948 ± 2,870	72,079 ± 1,434
60	78,49 ± 2,90	73,79 ± 2,93	68,634 ± 4,008	65,087 ± 2,521*
90	76,58 ± 1,20	74,09 ± 2,87	65,321 ± 3,440*	63,231 ± 2,810*
120	76,36 ± 2,47	72,74 ± 2,71	62,353 ± 3,784*	61,447 ± 3,350*

Resultados expressos em Média ± EPM. *p<0,05

Tabela 26: Excreção de Cloreto (ECI⁻; µEq.g⁻¹.min⁻¹) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs; 3 µg/mL), Prazosin (3 µg/mL) e Prazosin (3 µg/mL) + VTs (3 µg/mL).

Tempo (min)	Controle	VTs 3µg/mL	Prazosin 3µg/mL	Prazosin + VTs
30	14,65 ± 3,45	14,85 ± 1,55	16,434 ± 3,45	12,055 ± 1,55
60	15,28 ± 3,52	22,37 ± 3,80	18,308 ± 3,52	14,499 ± 3,80
90	15,44 ± 2,75	13,65 ± 1,98	21,036 ± 2,75	16,693 ± 1,98
120	15,42 ± 2,61	13,15 ± 3,51	23,414 ± 2,61	15,064 ± 3,51

Resultados expressos em Média ± EPM. *p<0,05

Tabela 27: Pressão de Perfusão (PP; mmHg) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com a *Tityus* toxina V (TsTX V 3µg/mL) e toxina gama (Tsg 3µg/mL) do veneno de *Tityus serrulatus*.

Tempo (min)	Controle	TsTX V 3µg/mL	Tsg 3µg/mL
30	110,11 ± 3,68	109,7 ± 0,750	113,9 ± 2,40
60	108,27 ± 4,88	112,5 ± 0,166	139,8 ± 10,5*
90	108,69 ± 5,09	109,8 ± 0,809	118,7 ± 6,30
120	110,28 ± 3,69	107,7 ± 0,252	120,5 ± 5,00

Resultados expressos em Média ± EPM. *p<0,05

Tabela 28: Resistência Vascular Renal (RVR; mmHg/mL.g⁻¹.min⁻¹) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com a *Tityus* toxina V (TsTX V 3µg/mL) e toxina gama (Tsg 3µg/mL) do veneno de *Tityus serrulatus*.

Tempo (min)	Controle	TsTX V 3µg/mL	Tsg 3µg/mL
30	5,39 ± 0,48	5,97 ± 0,38	5,54 ± 0,16
60	5,57 ± 0,49	6,13 ± 0,10	6,80 ± 0,53*
90	5,32 ± 0,57	5,95 ± 0,46	5,76 ± 0,31
120	5,48 ± 0,53	5,80 ± 0,12	5,85 ± 0,25

Resultados expressos em Média ± EPM. *p<0,05

Tabela 29: Fluxo Urinário (FU; mL.g⁻¹.min⁻¹) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com a *Tityus* toxina V (TsTX V 3µg/mL) e toxina gama (Tsg 3µg/mL) do veneno de *Tityus serrulatus*.

Tempo (min)	Controle	TsTX V 3µg/mL	Tsg 3µg/mL
30	0,121 ± 0,0080	0,1197 ± 0,0023	0,1220 ± 0,0060
60	0,135 ± 0,0012	0,1343 ± 0,0013	0,1284 ± 0,0012
90	0,130 ± 0,0011	0,1483 ± 0,0040*	0,1265 ± 0,0012
120	0,131 ± 0,0010	0,1597 ± 0,0040*	0,1501 ± 0,0015*

Resultados expressos em Média ± EPM. *p<0,05

Tabela 30: Ritmo de Filtração Glomerular (RFG; mL.g⁻¹.min⁻¹) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com a *Tityus* toxina V (TsTX V 3µg/mL) e toxina gama (Tsg 3µg/mL) do veneno de *Tityus serrulatus*.

Tempo (min)	Controle	TsTX V 3µg/mL	Tsg 3µg/mL
30	0,701 ± 0,073	0,729 ± 0,041	0,779 ± 0,079
60	0,707 ± 0,051	0,673 ± 0,028	0,640 ± 0,096
90	0,633 ± 0,051	0,609 ± 0,100	0,609 ± 0,082
120	0,697 ± 0,084	0,704 ± 0,029	1,012 ± 0,072*

Resultados expressos em Média ± EPM. *p<0,05

Tabela 31: Percentual de Transporte Tubular de Sódio (%TNa⁺) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com a *Tityus* toxina V (TsTX V 3µg/mL) e toxina gama (Tsg 3µg/mL) do veneno de *Tityus serrulatus*.

Tempo (min)	Controle	TsTX V 3µg/mL	Tsg 3µg/mL
30	81,94 ± 1,24	81,92 ± 1,451	80,77 ± 0,90
60	81,11 ± 1,52	76,50 ± 4,063	77,29 ± 0,35*
90	79,26 ± 0,90	72,30 ± 2,428*	72,02 ± 2,47*
120	79,76 ± 0,56	78,30 ± 2,012	77,69 ± 2,10

Resultados expressos em Média ± EPM. *p<0,05

Tabela 32: Percentual de Transporte Tubular de Potássio (%TK⁺) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com a *Tityus* toxina V (TsTX V 3µg/mL) e toxina gama (Tsg 3µg/mL) do veneno de *Tityus serrulatus*.

Tempo (min)	Controle	TsTX V 3µg/mL	Tsg 3µg/mL
30	69,13 ± 4,14	65,00 ± 1,893	66,94 ± 1,88
60	69,04 ± 5,68	59,03 ± 5,443	60,09 ± 1,76
90	71,84 ± 4,21	55,41 ± 4,235*	54,51 ± 2,99*
120	69,94 ± 6,86	70,34 ± 2,694	67,09 ± 3,19

Resultados expressos em Média ± EPM. *p<0,05

Tabela 33: Percentual de Transporte Tubular de Cloreto (%TCl⁻) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com a *Tityus* toxina V (TsTX V 3µg/mL) e toxina gama (Tsg 3µg/mL) do veneno de *Tityus serrulatus*.

Tempo (min)	Controle	TsTX V 3µg/mL	Tsg 3µg/mL
30	79,90 ± 1,03	79,13 ± 1,68	78,23 ± 1,22
60	81,25 ± 2,44	74,34 ± 4,38	73,93 ± 0,23*
90	77,32 ± 2,22	69,22 ± 2,35*	68,23 ± 2,54*
120	78,53 ± 2,33	74,64 ± 2,11	74,63 ± 2,34

Resultados expressos em Média ± EPM. *p<0,05

Tabela 34: Pressão de Perfusão (PP; mmHg) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com o peptídeo natriurético do veneno de *Tityus serrulatus* (PNVTs; 0,03 µg/mL e 0,1µg/mL).

Tempo (min)	Controle	PNVTs 0,03µg/mL	PNVTs 0,1µg/mL
30	110,11 ± 3,68	102,5 ± 2,773	107,8 ± 0,99
60	108,27 ± 4,88	102,8 ± 4,090	111,8 ± 2,95
90	108,69 ± 5,09	116,1 ± 8,775	125,1 ± 6,33*
120	110,28 ± 3,69	135,3 ± 12,28*	157,3 ± 10,23*

Resultados expressos em Média ± EPM. *p<0,05

Tabela 35: Resistência Vascular Renal (RVR; mmHg/mL.g⁻¹.min⁻¹) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com o peptídeo natriurético do veneno de *Tityus serrulatus* (PNVTs; 0,03 µg/mL e 0,1µg/mL).

Tempo (min)	Controle	PNVTs 0,03µg/mL	PNVTs 0,1µg/mL
30	5,19 ± 0,480	4,864 ± 0,221	4,574 ± 0,186
60	5,17 ± 0,490	4,840 ± 0,177	4,738 ± 0,112
90	5,32 ± 0,570	5,273 ± 0,333	5,308 ± 0,278
120	5,38 ± 0,530	5,817 ± 0,484	6,714 ± 0,525*

Resultados expressos em Média ± EPM. *p<0,05

Tabela 36: Fluxo Urinário (FU; mL.g⁻¹.min⁻¹) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com o peptídeo natriurético do veneno de *Tityus serrulatus* (PNVTs; 0,03 µg/mL e 0,1µg/mL).

Tempo (min)	Controle	PNVTs 0,03µg/mL	PNVTs 0,1µg/mL
30	0,121 ± 0,008	0,132 ± 0,010	0,115 ± 0,009
60	0,135 ± 0,001	0,123 ± 0,015	0,131 ± 0,008
90	0,130 ± 0,001	0,193 ± 0,042*	0,251 ± 0,027*
120	0,131 ± 0,001	0,403 ± 0,081*	0,497 ± 0,046*

Resultados expressos em Média ± EPM. *p<0,05

Tabela 37: Ritmo de Filtração Glomerular (RFG; mL.g⁻¹.min⁻¹) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com o peptídeo natriurético do veneno de *Tityus serrulatus* (PNVTs; 0,03 µg/mL e 0,1µg/mL).

Tempo (min)	Controle	PNVTs 0,03µg/mL	PNVTs 0,1µg/mL
30	0,701 ± 0,073	0,603 ± 0,0795	0,756 ± 0,1258
60	0,607 ± 0,051	0,500 ± 0,0569	0,545 ± 0,0535
90	0,633 ± 0,051	0,725 ± 0,1286	1,259 ± 0,2938*
120	0,697 ± 0,084	1,191 ± 0,1808*	1,703 ± 0,3112*

Resultados expressos em Média ± EPM. *p<0,05

Tabela 38: Percentual de Transporte Tubular de Sódio (%TNa⁺) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com o peptídeo natriurético do veneno de *Tityus serrulatus* (PNVTs; 0,03 µg/mL e 0,1µg/mL).

Tempo (min)	Controle	PNVTs 0,03µg/mL	PNVTs 0,1µg/mL
30	81,94 ± 1,24	79,52 ± 1,758	80,77 ± 1,424
60	81,11 ± 1,52	77,50 ± 1,858	70,88 ± 2,225*
90	79,26 ± 0,90	76,59 ± 2,680	70,72 ± 2,045*
120	79,76 ± 0,56	68,34 ± 4,369*	64,84 ± 2,905*

Resultados expressos em Média ± EPM. *p<0,05

Tabela 39: Percentual de Transporte Tubular de Potássio (%TK⁺) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com o peptídeo natriurético do veneno de *Tityus serrulatus* (PNVTs; 0,03 µg/mL e 0,1µg/mL).

Tempo (min)	Controle	PNVTs 0,03µg/mL	PNVTs 0,1µg/mL
30	69,13 ± 4,140	69,16 ± 3,685	70,04 ± 3,271
60	69,04 ± 5,680	65,41 ± 4,390	49,68 ± 7,241*
90	71,84 ± 4,210	67,32 ± 4,897	47,60 ± 9,370*
120	69,94 ± 6,860	65,54 ± 3,916	50,81 ± 6,462*

Resultados expressos em Média ± EPM. *p<0,05

Tabela 40: Percentual de Transporte Tubular de Cloreto (%TCl⁻) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com o peptídeo natriurético do veneno de *Tityus serrulatus* (PNVTs; 0,03 µg/mL e 0,1µg/mL).

Tempo (min)	Controle	PNVTs 0,03µg/mL	PNVTs 0,1µg/mL
30	79,90 ± 1,03	78,42 ± 1,778	81,90 ± 3,679
60	81,25 ± 2,44	75,95 ± 2,507	76,15 ± 3,422
90	77,32 ± 2,22	76,77 ± 1,245	72,89 ± 3,863
120	78,53 ± 2,33	71,50 ± 1,229*	69,02 ± 3,636*

Resultados expressos em Média ± EPM. *p<0,05

Tabela 41: Percentual de Transporte Tubular Proximal de Sódio (%pTNa⁺) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com o peptídeo natriurético do veneno de *Tityus serrulatus* (PNVTs; 0,03 µg/mL e 0,1µg/mL).

Tempo (min)	Controle	PNVTs 0,03µg/mL	PNVTs 0,1µg/mL
30	77,69 ± 1,680	76,77 ± 1,070	80,64 ± 1,181
60	75,59 ± 0,900	73,36 ± 2,825	71,49 ± 5,021
90	77,33 ± 1,330	75,04 ± 1,935	70,36 ± 0,984*
120	78,18 ± 1,970	69,02 ± 2,845*	59,50 ± 1,754*

Resultados expressos em Média ± EPM. *p<0,05

Tabela 42: Percentual de Transporte Tubular Proximal de Potássio (%pTK⁺) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com o peptídeo natriurético do veneno de *Tityus serrulatus* (PNVTs; 0,03 µg/mL e 0,1µg/mL).

Tempo (min)	Controle	PNVTs 0,03µg/mL	PNVTs 0,1µg/mL
30	53,98 ± 4,05	52,38 ± 3,066	52,91 ± 2,876
60	52,68 ± 4,86	46,26 ± 4,843	51,29 ± 1,050
90	50,66 ± 4,57	50,78 ± 2,825	48,24 ± 6,030
120	52,30 ± 2,08	50,27 ± 3,477	48,46 ± 2,509

Resultados expressos em Média ± EPM. *p<0,05

Tabela 43: Percentual de Transporte Tubular Proximal de Cloreto (%pTCl) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com o peptídeo natriurético do veneno de *Tityus serrulatus* (PNVTs; 0,03 µg/mL e 0,1µg/mL).

Tempo (min)	Controle	PNVTs 0,03µg/mL	PNVTs 0,1µg/mL
30	66,81 ± 1,25	68,65 ± 1,982	65,77 ± 3,573
60	68,49 ± 2,90	61,81 ± 3,725	69,77 ± 6,886
90	66,58 ± 1,20	67,23 ± 1,341	64,53 ± 4,175
120	66,36 ± 2,47	63,24 ± 1,545	57,68 ± 3,659*

Resultados expressos em Média ± EPM. *p<0,05

ANEXOS

Não importa tanto o tema da tese quanto a experiência de trabalho que ela comporta.

Umberto Eco

LISTA DE ARTIGOS PUBLICADOS DURANTE O DOUTORADO

1. SOUSA, A. P. A.; BARBOSA, P. S. F.; MARTINS, A. M. C.; Martins, R. D.; **ALVES, R. S.**; SOUSA, D. F.; ALVES, C. D.; COSTA-LOTUFO, L. V.; MONTEIRO, H. S. A. . The renal effects of alginates isolated from Brown seaweed *Sargassum vulgare*. *Journal of Applied Toxicology*, v. 28, p. 364-369, 2008.
2. BRAGA, M. D. M.; MARTINS, A. M. C.; AMORA, D. N.; MENEZES, D. B.; TOYAMA, M. H.; TOYAMA, D. O.; ALVES, C. D.; BARBOSA, P. S. F.; **ALVES, R. S.**; FONTELES, M. C.; MONTEIRO, H. S. A. Purification and biological effects of L-amino acid oxidase isolated from *Bothrops insularis* venom. *Toxicon*, v. 51, p. 199-207, 2008.
3. VASCONCELOS, S.; SOARES, P. M.; LIMA, N. M.; PEREIRA, R. F.; **ALVES, R. S.**; Queiroz, M. G. R.; MACEDO, D. S.; FREITAS, R. M.; SOUSA, F. C. F.; FONTELES, M. M. de F.; VIANA, G. S. B. Effects of Ethanol or Naltrexone after Ethanol Exposure on Plasma Levels of Hepatic Enzymes, Lipid Profile and Apolipoprotein in Rats, v. 76, p. 305-320, 2008.
4. EVANGELISTA, J. S. A. M.; MARTINS, A. M. C.; NASCIMENTO, N. R. F.; SOUSA, C. M.; **ALVES, R. S.**; TOYAMA, D.; TOYAMA, M.; EVANGELISTA, J. J. F.; MENEZES, D. B.; FONTELES, M. C.; MORAES, M. E. A.; MONTEIRO, H. S. A. Renal and vascular effects of the natriuretic peptide isolated from *Crotalus durissus cascavella* venom. *Toxicon*, p. 737, 2008.
5. **ALVES, R. S.**; MARTINS, R. D.; SOUSA, D. F.; ALVES, C. D.; BARBOSA, P. S. F.; QUEIROZ, M. G. R.; MARTINS, A. M. C.; MONTEIRO, H. S. A. Aspectos Epidemiológicos dos acidentes escorpiônicos no Estado do Ceará no Período de 2003 a 2004. *Pesquisa Médica (UFC)*, v. 01, p. 14-20, 2007.
6. BRAGA, M. D. M.; MARTINS, A. M. C.; MENEZES, D. B.; TOYAMA, M. H.; BARBOSA, P. S. F.; **ALVES, R. S.**; FONTELES, M. C.; MONTEIRO, H. S. A. Purification and biological effects of C-type lectin isolated from *Bothrops insularis* venom. *Toxicon*, v. 47, p. 859-867, 2006.
7. BARBOSA, P. S. F.; MARTINS, A. M. C.; **ALVES, R. S.**; TOYAMA, M. H.; HAVT, A.; MENEZES, D. B.; FONTELES, M. C.; MONTEIRO, H. S. A. The Role of Indomethacin and Tezosentan on Renal Effects induced by *Bothrops moojeni* Lys49 myotoxin I. *Toxicon*, v. 47, p. 831-837, 2006.
8. **ALVES, R. S.**; NASCIMENTO, N. R. F.; BARBOSA, P. S. F.; KERNTOPF, M. R.; MARTINS, R. D.; QUEIROZ, M. G. R.; TOYAMA, M. H.; FONTELES, M. C.; MARTINS, A. M. C.; MONTEIRO, H. S. A. Renal Effects and Vascular Reactivity induced by *Tityus serrulatus* venom. *Toxicon, Grã-Bretanha*, v. 46, n. 3, p. 271-276, 2005.
9. NASCIMENTO, N. R. F.; LESSA, L. M. A.; **ALVES, R. S.**; KERNTOPF, M. R.; QUEIROZ, M. G. R.; LARNER, J.; GOW, A.; BROWNLEE, M.; DAVIS, C.; FONTELES, M. C. Novel Inositols Ameliorate Endothelial Dysfunction in Diabetic Rats and Rabbit Vasculature by Scavenging Superoxide. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences Of The United States Of America*, v. 103, p. 218-223, 2005.

*De tudo ficam três coisas:
A certeza de que estamos sempre começando...
A certeza de que precisamos continuar...
A certeza de que seremos interrompidos antes de terminar...
Portanto, devemos:
Fazer da interrupção um caminho novo...
Da queda, um passo de dança...
Do medo, uma escada...
Do sonho, uma ponte...
Da procura, um encontro...*

Fernando Pessoa